

UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

TESE DE DOUTORADO

**TAXONOMIA INTEGRATIVA DE PLECOPTERA (INSECTA) NA
BACIA DO RIO MACAÉ, RIO DE JANEIRO, BRASIL**

FERNANDA AVELINO CAPISTRANO DA SILVA

2014



UFRRJ

INSTITUTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**TAXONOMIA INTEGRATIVA DE PLECOPTERA (INSECTA) DA
BACIA DO RIO MACAÉ, RIO DE JANEIRO, BRASIL**

FERNANDA AVELINO CAPISTRANO DA SILVA

Sob a Orientação da Professora

Prof^ª Dr^ª Jacenir Reis dos Santos Mallet

E Coorientação dos Professores

Prof. Dr. Jorge Luiz Nessimian (UFRJ)

Prof^ª Dr^ª Daniela Maeda Takiya (UFRJ)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro como parte dos requisitos para a obtenção do título de **Doutor em Zoologia**.

Seropédica – RJ

Fevereiro 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

FERNANDA AVELINO CAPISTRANO DA SILVA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração em Taxonomia de Grupos Recentes.

TESE APROVADA EM 24/02/2014

Jacenir Reis dos Santos Mallet (Dr.^a) FIOCRUZ-RJ
(Orientador)

Claudio Gilberto Froehlich (Dr.) USP-Ribeirão Preto

Elidiomar Ribeiro da Silva (Dr.) UNIRIO

Allan Paulo Moreira dos Santos (Dr.) Instituto Benjamin Constant

Hélio Ricardo da Silva (Dr.) UFRRJ

FICHA CATALOGRÁFICA

Avelino-Capistrano, Fernanda Silva, 1984 –
Taxonomia integrativa de Plecoptera (Insecta) da Bacia do Rio Macaé,
Rio de Janeiro, Brasil / Fernanda Avelino Capistrano da Silva – 2014
233 f.: graf., tabs, figs.,

Orientador: Jacenir Reis dos Santos Mallet
Coorientadores: Jorge Luiz Nessimian / Daniela Maeda Takiya
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Instituto de Biologia.
Referências Bibliográficas: f.169 – 189.

1. Plecoptera - Associação Molecular de Espécies - Bacia do Rio
Macaé. I. Jacenir Reis dos Santos Mallet. II. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia. III. Taxonomia
integrativa de Plecoptera (Insecta) da Bacia do Rio Macaé, Rio de
Janeiro, Brasil

Trabalho realizado no
Laboratório de Entomologia, Departamento de
Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade
Federal do Rio de Janeiro, e no Laboratório de
Transmissores de Leishmanioses,
Fundação Oswaldo Cruz.

NOTA

Segundo os critérios do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (artigos 8º e 9º), esta tese não constitui publicação e, portanto, quaisquer nomes novos propostos ou atos que afetem a nomenclatura não têm validade.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Newton e Eny que sempre me ensinaram a correr atrás dos sonhos. Ao meu grande amigo e irmão Newton, pois sem ele nada faria sentido. Ao Leandro, grande amor e amigo, por todo o carinho e ajuda ao longo de nossa jornada.

EPIGRAFE

On and On

*In times like these, in times like those
What will be will be and so it goes
And it always goes on and on and on and on and on
On, and on and on and on and on it goes*

*And there's always been laughing, crying, birth and dying
Boys and girls, with hearts to take and give and break
And heal and grow and re-create
And raise and nurture but then hurt in times*

*And times like these and times like those
What will be will be and so it goes*

*And there will always be stop and go and fast and slow
And actions, reactions, and sticks, and stones and broken bones
And those for peace and those for war
And God bless these ones not those ones but these ones made times like these and times like
those*

*What will be will be and so it goes
And it always goes on and on and on
And on and on and on and on
And on and on and on it goes*

*Somehow I know, it won't be the same
And somehow I know it won't be the same*

Jack Hody Johnson

Agradecimentos



Se eu fosse tentar agradecer a todas as pessoas que me ajudaram ao longo desses quatro anos, eu teria de ter um capítulo especial para caber todos. Mas vamos tentar!

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus queridos orientadores. Cada um, de seu jeito, ajudou a construir este trabalho.

À Profa. Jacenir Reis Santos Mallet, que tão prontamente aceitou me orientar e mesmo não convivendo diretamente, me deu oportunidade de aprender a trabalhar com microscopia. Jace, você foi uma mãezona!

Ao Prof. Jorge Luiz Nessimian, que me recebeu em seu laboratório, me dando a oportunidade de trabalhar no LABENT, bem como me dando um novo nome de batismo. Jorge, obrigada por tudo! Você é um amor!

À Profa. Daniela Maeda Takiya, que aceitou o desafio de me apresentar o mundo da molecular, do qual acho que não saio mais... Dani, você foi uma das peças mais importantes nessa tese. Obrigada pelo carinho, amizade, paciência e dedicação que você teve.

Ao Prof. Claudio Gilberto Froehlich, que me recebeu em seu laboratório e pode me ajudar a identificar parte do material da tese, além de me fornecer desenhos do tipo de *Kempnyia varipes*.

Ao Dr. Lucas Lecci, que recebeu em minha estada em Ribeirão Preto, me dando um lugar pra ficar e muitas bibliografias.

Ao Dr. Romolo Fochetti (Università degli studi della Tuscia, Italia), Dr. Peter Zwick (Limnologische Fluss-Station der MPG, Schlitz, Alemanha), Dr. Pablo Pessaq (Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Argentina) e Alejandro Veras (Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Chile) pelas bibliografias fornecidas, que foram essenciais para a revisão bibliográfica.

Aos atenciosos técnicos e profissionais da Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth pelos serviços prestados sempre com prontidão e qualidade.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Entomologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (LABENT): Allan, Juliana, Segó, Marcia, Bruninho, Gabi, Ana Lúcia, Inês, Clarkson, Luci, Clayton, Tom, Rafael, André's, Ingrid, Tati, Fernando, e todos os outros que

já entraram e saíram que por acaso eu tenha me esquecido. Aos Professores José Ricarrdo Mermudes e Nelson, pela paciência e carinho. Passar esses quatro anos com vocês discutindo coisas úteis e outras extremamente inúteis foi um grande prazer!

Aos amigos do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses da FIOCRUZ, em especial a Simone, Margareth, Catarina, Prof. Teresa, e todos os outros que de certa forma me ajudaram durante minhas passagens meteóricas pela FIOCRUZ.

Aos amigos do Laboratório de Diptera do Museu Nacional (MN-UFRJ), em especial as professoras Marcia Souto Couri e Valéria Cid Maia pela amizade e carinho ao longo desses anos.

Aos colegas do Laboratório de Polychaeta (UFRJ), em especial ao Prof. Paulo Paiva, onde desenvolvi toda a metodologia molecular.

A todas as pessoas que abriram suas casas, sítios e fazendas para que pudéssemos colocar nossas armadilhas, possibilitando a coleta de muitos dos nossos exemplares.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPQ), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo auxílio financeiro através de bolsas e fomento.

A minha amiga e companheira de muitos trabalhos, minha primeira orientadora, quem me apresentou ao mundo dos insetos aquáticos, Profa. Gisele Luziane de Almeida. Obrigada pela sua amizade e carinho ao longo desses dez anos.

Aos meus alunos, que me fizeram sua professora. Ensinar foi uma das melhores coisas que descobri na vida. Aprendo cada dia mais com vocês. À minhas queridas alunas e amigas, Isabelle e Fabiana, que me dão muito orgulho de ser professora.

A todos os meus amigos e colegas de Realengo, aquele abraço!

Aos meus pais, Newton e Eny, meu irmão Newton Filho, meu sogrão Carlos e meu avô Adriano. Vocês contribuíram grandemente na minha formação, seja me auxiliando nas minhas saídas de campo (não é Newton e Eny??) ou apoiando nas minha viagens. Amo vocês!

À todos meu amigos de quatro patas, que sempre me deram seu amor desinteressado e sincero.

Ao meu grande amigo e companheiro, Leandro Silva Barbosa, por ser meu melhor amigo, coletor, auxiliar de campo, crítico, comediante, me fazendo rir e chorar ao longo desses cinco anos juntos. Ainda temos muitas aventuras pela frente meu amor!

Por fim, a todos que eu esqueci de incluir, mas que moram no meu coração!

RESUMO

AVELINO-CAPISTRANO. F.S. **Taxonomia integrativa de Plecoptera (Insecta) da Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil.** 2014. 233f. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica. RJ. 2014.

Plecoptera é uma importante ordem de insetos aquáticos, que possuem imaturos utilizados em programas de biomonitoramento da água. No Brasil, são encontradas 168 espécies, sendo 40 dessas ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro. A taxonomia desta ordem atualmente é baseada na morfologia da armadura peniana dos machos, coloração e tamanho, mas muitas das descrições taxonômicas são incompletas, faltando assim associações entre machos, fêmeas e ninfas. O método mais utilizado para associação é criação dos imaturos para a obtenção dos adultos, entretanto, este é dificultado pela sensibilidade das ninfas à remoção do ambiente natural. Uma forma alternativa de associação é a utilização de ferramentas moleculares, sendo a utilização do marcador molecular COI utilizada com sucesso para a identificação em nível de espécie. No presente estudo, sequências de COI foram obtidas de adultos e ninfas de Plecoptera coletados em 106 pontos ao longo da Bacia do Rio Macaé (BRM). Adultos foram coletados com uma armadilha de luz do tipo Pensilvânia, enquanto as ninfas foram coletadas manualmente. O Rio Macaé é o maior rio que nasce no Estado do Rio de Janeiro e localiza-se na região norte do estado. O material foi identificado com uso de chaves específicas e descrições, e fêmeas e ninfas não identificadas foram morfotipadas. Dois exemplares de cada espécie/morfotipo foram separados para a análise molecular e imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) que foi realizada a fim de buscar características para distinguir os espécimes. Um total de 1.248 espécimes foi coletado, sendo 132 machos, 266 fêmeas e 850 ninfas. Deste total, 44 táxons foram encontrados, distribuídos em 35 espécies, nove morfotipos não associados e cinco espécies novas. Dez ninfas são descritas e novos caracteres obtidos pela MEV foram adicionados a cinco espécies já descritas anteriormente; o macho de *Kempnyia varipes* é redescrito e a genitália desta espécie é ilustrada pela primeira vez. Trinta e um novos registros são feitos para a BRM e, 16 novos registros para o RJ. Foram sequenciados 134 espécimes de Plecóptera pertencentes a 40 espécies e 6 morfotipos, sendo 27 espécimes pertencentes à BRM e os demais de regiões do Sul e Sudeste do Brasil. As sequências foram alinhadas no programa ClustalX, sendo as divergências genéticas par-a-par calculadas, ajustadas pelo modelo de evolução *Kimura-2-parameter* e uma análise de agrupamento de neighbor-joining (NJ) realizada no programa MEGA. As três árvores resultantes das análises de NJ realizadas em separado para Gripopterygidae, *Anacroneuria* e *Kempnyia* recuperaram um total de 46 linhagens genéticas distintas suportados também pela análise morfológica, sendo 27 de espécies da BRM. Com base nessas linhagens estabelecidas, as divergências interespecíficas variaram 3,3 a 25,3%, sendo as menores encontradas para *Gripopteryx* e as maiores para *Anacroneuria*. As divergências intraespecíficas variaram de zero a 15,1%, sendo as menores encontradas entre muitos espécimes da BRM e as maiores entre espécies de *Kempnyia colossica* (Navás). Os altos valores encontrados para as espécies de plecoptera na BRM podem ser associados ao isolamento de espécies em topos de montanhas, ao isolamento geográfico ou mesmo se tratar de espécies crípticas. Variações polimórficas, tais como tamanho, variações na placa subgenital feminina e coloração foram encontradas tanto entre populações simpátricas como alopátricas.

Palavras-Chave: associação de estágios; COI; Plecópteros Neotropicais.

ABSTRACT

AVELINO-CAPISTRANO. F.S. **Integrative taxonomy of Plecoptera (Insecta) from Macaé River Basin, Rio de Janeiro, Brazil.** 2014. 233f. Thesis (Doctor Science degree in Animal Biology). Instituto de Biologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica. RJ. 2014.

Plecoptera is an important order of aquatic insects, and its immatures are used in water biomonitoring programs. In Brazil, there are 168 species recorded, 40 occurring in Rio de Janeiro State. The taxonomy of this order is based on male penial armature morphology, color, and measurements, but many taxonomic descriptions are incomplete, lacking male, female, and nymphal associations. The most commonly used method for immature-imago association is immature rearing to adulthood, however, this is hampered by the sensitivity of the nymphs to the removal from natural environment. An alternative form to immature-imago association is the use of molecular tools. The molecular marker COI have been used with success to species level identification. In this study, COI sequences were obtained from adults and nymphs collected in 106 localities in Macaé River Basin. Adults were collected with light traps and nymphs by manual method. All material were identified with specific keys and descriptions, and unidentified females and nymphs were morphotyped according the morphological characteristics. Two specimens from each morphotype were used in molecular analyze and to obtained images by scanning electronic microscope (SEM). SEM images were used to search for new characteristics to distinguish species. A total of 1248 specimens were collected, being 132 males, 266 females, and 850 nymphs. Out of this total, 44 taxa were found, distributed in 35 species, nine morphotypes not associated and five new species. Ten nymphs are described and new characters obtained by SEM were added to five known nymphs; the male of *Kempnyia varipes* was redescribed and the genitalia was illustrated for the first time. Thirty-one new records were made to Macaé River Basin and 16 characterized new records to RJ. Molecular material of 134 specimens of 40 species and six morphotypes were sequenced, being 27 species/morphotypes from Macaé River Basin and the others from Southern and Southeastern Brazil. The sequences were aligned with ClustalX software, being the pairwise divergences computed, adjusted with the Kimura 2-parameter model, and a cluster based on Neighbor Joining method (NJ) performed in MEGA software. Three resulting NJ trees are given for Gripopterygidae, *Anacroneuria*, and *Kempnyia* and recovered a total of 46 distinct genetic lineages also supported by the morphological analysis, where 27 were from MRB. Based in these lineages, the interespecific divergences ranged from 3.3 to 25.3%, with the lowest for *Gripopteryx* and higher for *Anacroneuria*. Intraspecific divergences ranged from zero to 15.1%, with the lowest found among many species from BRM and the highest among *Kempnyia colossica* (Navás) species. High values found for Plecoptera species from MRB could be associated to individuals being isolated on mountaintops, to geographical range, or to cryptic species. Polymorphic variations, like female subgenital plate and color were found between sympatric and allopatric populations.

Key-words: stages association; COI; Neotropical stoneflies.

Lista de Abreviações e Símbolos



| Abreviações | Forma Latina | Significado |
|--------------------|-----------------------|---------------------|
| <i>et al.</i> | <i>et alli / alii</i> | E outros |
| <i>sp. spp.</i> | <i>species</i> | Espécie / espécies |
| μL | | Micro litro |
| m | | Metro |
| Mm | | Milímetro |
| mM | | Mili molar |
| km | | Quilômetro |
| km ² | | Quilômetro quadrado |
| PB | | Pares de base |
| O | | Oeste |
| S | | Sul |
| °C | | Grau Celsius |
| & | | E... |
| # | | Número |
| % | | Porcentagem |
| ® | | Marca registrada |

Lista de Figuras



| | Página |
|--|--------|
| Figura 1. Primeira descrição válida da Ordem Plecoptera, ainda no gênero <i>Phryganea</i> realizada por Linnaeus em seu <i>Systema Naturae</i> . Fonte: Linnaeus (1758) | 1 |
| Figura 2. Classificação filogenética atual de Plecoptera. Adaptado de Zwick, 2000..... | 3 |
| Figura 3. Ilustração original da primeira ninfa descrita para a Região Neotropical, <i>Anacroneuria</i> sp. Fonte: Needham & Broughton, 1927 (modificado) | 7 |
| Figura 4. Mapa de delimitação da Bacia do Rio Macaé e sua localização no Estado do Rio de Janeiro, Brasil..... | 20 |
| Figura 5. Rio Macaé. A. Trecho superior em 3ª ordem, em Macaé de Cima, Nova Friburgo; B. Trecho médio em 6ª ordem, Cachoeira da Fumaça, Cascata, Nova Friburgo; C. Trecho baixo em 6ª ordem, Casimiro de Abreu. Fonte: Acervo Fotográfico do Laboratório de Entomologia (UFRJ)..... | 21 |
| Figura 6. Rio Macaé. A. Trecho baixo em 6ª ordem, área retificada próxima a ponte da BR101; B. brejo formado nas margens do Rio Macaé, em áreas de alagamento. Fonte: Acervo Fotográfico do Laboratório de Entomologia (UFRJ)..... | 22 |
| Figura 7. Métodos de coleta de adultos e imaturos durante o período de estudo. A – Armadilha do tipo Luiz de Queiroz; B – Captura de adultos no Pano Branco; C – Armadilha do tipo Pensilvânia; D – Coleta manual dos imaturos. Fonte: Acervo Fotográfico do Laboratório de Entomologia (UFRJ)..... | 25 |
| Figura 8. Eletroforese em gel de agarose sob iluminação UV, apresentando bandas de DNA coradas com, GelRed™. A primeira fileira corresponde à solução escada e as seguintes aos produtos amplificados no PCR do COI. As amostras marcadas com asterisco (*) correspondem aos produtos de PCR em que houve falha de amplificação; | |

| | |
|---|-------|
| as marcadas com um sinal positivo (+) correspondem aos produtos amplificados com sucesso..... | 33 |
| Figura 9. Tipos de substituição de nucleotídeos – transversões e transições. Fonte: Vera, 2010..... | 35 |
| Figura 10. Árvore obtida através do <i>Neighbor-joining</i> de sequências de COI (471bp) de Gripopterygidae pelo modelo K2P. Os nomes estão coloridos de acordo com a espécie e os que estão em negrito foram coletados na Bacia do Rio Macaé..... | 40 |
| Figura 11. Árvore obtida através do <i>Neighbor-joining</i> de sequências de COI (471bp) de <i>Anacroneuria</i> e os plecópteros relacionados pelo modelo K2P. Os nomes estão coloridos de acordo com a espécie e os que estão em negrito foram coletados na Bacia do Rio Macaé..... | 44-45 |
| Figura 12. Árvore obtida através do <i>Neighbor-joining</i> de sequências de COI (471bp) de <i>Kempnyia</i> e os plecópteros relacionados pelo modelo K2P. Os espécimes de <i>Kempnyia</i> estão coloridos de acordo com a espécie e os que estão em negrito foram coletados na Bacia do Rio Macaé..... | 46 |
| Figura 13. Histogramas das porcentagens das distâncias intraespecíficas (preto) e interespecíficas (cinza) geradas pelas comparações K2P mostrando o <i>barcoding gap</i> para <i>Gripopteryx</i> (A) e <i>Tupiperla</i> (B)..... | 51 |
| Figura 14 – Histogramas das porcentagens das distâncias intraespecíficas (preto) e interespecíficas (cinza) geradas pelas comparações K2P mostrando o <i>barcoding gap</i> para <i>Anacroneuria</i> (A) e <i>Kempnyia</i> (B)..... | 52 |
| Figura 15. Diagrama de caixas mostrando as diferenças entre as divergências intraespecíficas de indivíduos coletados na mesma localidade (I) e indivíduos de localidades distantes mais de 100 km (II). Na figura A, a comparação é feita para todos os gêneros de Plecoptera estudados; em B, a comparação é feita para os Gripopterygidae, em C para <i>Kempnyia</i> e D para <i>Anacroneuria</i> | 53 |

| | |
|--|----|
| Figura 16. <i>Gripopteryx cancellata</i> (Pictet). Ninfã. A. Cabeça e pronoto, habitus. B. Detalhe do escape da antena. C. Pronoto. D. Teca alar do Mesanoto. E. Teca alar do Mesanoto. E. Fêmur em vista anterior. F. Fêmur em vista posterior. G. Abdome em vista dorsal, com detalhe dos espinhos dorsais. H. Tergito X, brânquias anais e cercos.. | 62 |
| Figura 17. <i>Gripopteryx coruja</i> Froehlich. Ninfã. A. Cabeça e pronoto, habitus..... | 65 |
| Figura 18. <i>Gripopteryx coruja</i> Froehlich. Ninfã. A. Cabeça. B. Detalhe do escape da antena. C. Pronoto e as projeções. D. Detalhe do ápice de uma das projeções do pronoto. E. Teca alar do Mesonoto, com detalhes das cerdas que cobrem a estrutura. F. Fêmur em vista anterior. G. Abdome em vista dorsal. H. Projeção do Tergito X, brânquias anais e cercos..... | 66 |
| Figura 19. <i>Gripopteryx flinti</i> Froehlich. Macho. A. Cabeça e pronoto. <i>Gripopteryx reticulata</i> (Pictet). Macho. B. Cabeça e pronoto..... | 68 |
| Figura 20. <i>Gripopteryx liana</i> Froehlich. Ninfã. A. Cabeça e pronoto, habitus. B. Cabeça. C. Mesanoto e teca alar. D. Detalhe das cerdas que cobrem o mesanoto. E. Fêmur em vista anterior. F. Fêmur em vista posterior. G. Abdome em vista dorsal. H. Cercos..... | 70 |
| Figura 21. <i>Gripopteryx pilosa</i> Froehlich. Macho. A. Cabeça e pronoto. <i>Gripopteryx reticulata</i> Brauer. Macho. B. Cabeça e pronoto..... | 73 |
| Figura 22. <i>Guaranyperla</i> Froehlich. Ninfã. A. Cabeça e pronoto. B. Meso- e metanoto. C. Detalhe das cerdas vesiculares sobre as tecas alares. D. Fêmur em vista anterior. E. Detalhe das cerdas que cobrem as pernas. F. Tergo IX e X. G. detalhes das cerdas que cobrem o tergo X. H. Cerdas presentes na base dos cercos | 75 |
| Figura 23. <i>Paragripopteryx analuciaie</i> sp. nov. Holótipo. Macho. A. Cabeça e pronoto. B. Abdome em vista dorsal. C. Abdome em vista lateral; detalhe do epiprocto e dos paraproctos. D. Abdome em vista látero-ventral; detalhe dos paraproctos e da placa | |

| | |
|--|----|
| subgenital..... | 78 |
| Figura 24. <i>Paragripopteryx curupira</i> sp. nov. Holotipo. Macho. A. Abdome em vista dorsal. B. Abdome em vista lateral; detalhe do epiprocto e dos paraproctos. C. Abdome em vista ventral; detalhe dos paraproctos e da placa subgenital..... | 80 |
| Figura 25. <i>Paragripopteryx klapaleki</i> Enderlein. Macho. A. Cabeça e pronoto..... | 81 |
| Figura 26. <i>Paragripopteryx</i> sp. BRM01N. Ninfa. A. Cabeça, pronoto e parte das tecas alares do mesonoto em vista dorsal..... | 82 |
| Figura 27. <i>Tupiperla gracilis</i> (Burmeister). Macho. A. Cabeça e pronoto..... | 85 |
| Figura 28. <i>Tupiperla saci</i> sp. nov. Holotipo. Macho. A. Cabeça e pronoto. B. Abdome em vista dorsal; detalhe da projeção do Tergo X. C. Abdome em vista lateral. D. Abdome em vista ventral; detalhe da placa subgenital e dos paraproctos..... | 87 |
| Figura 29. <i>Tupiperla tessellata</i> (Brauer). Ninfa. A. Cabeça e pronoto. B. Escalpo e antena. C. Teca alar do metanoto. D. Detalhe das cerdas da teca alar. E. Fêmur perna anterior. F. Detalhe do espinho do fêmur da perna anterior. G. Ultimo segmento abdominal (Tergito X) em vista dorsal. H. Detalhe das cerdas do cerco..... | 89 |
| Figura 30. <i>Tupiperla tessellata</i> (Brauer). Ninfa. A. Abdome em vista látero-ventral. B. Detalhe das cerdas e da textura do tegumento da região lateral da ninfa..... | 91 |
| Figura 31. <i>Tupiperla tessellata</i> (Brauer). Macho. A. Cabeça e pronoto..... | 91 |
| Figura 32. <i>Anacroneuria boraceiensis</i> Froehlich. Macho. A. Cabeça e pronoto. Ninfa: B. Cabeça e pronoto..... | 94 |
| Figura 33. <i>Anacroneuria boraceiensis</i> Froehlich. Ninfa: A. Cabeça. B. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Antena; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Mesonoto. F. Fêmur anterior, vista anterior; G. Fêmur em vista posterior; H. Abdome, em vista dorsal..... | 95 |

| | |
|---|-----|
| Figura 34. <i>Anacroneuria debilis</i> (Pictet). Ninfa: A. Cabeça. B. Cabeça, escape da antena; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Fêmur em vista posterior; G. Abdome, em vista dorsal; H. Cerco..... | 100 |
| Figura 35. <i>Anacroneuria debilis</i> (Pictet). Ninfa: A. <i>Anacroneuria</i> sp.01N, Cabeça e pronoto. B. <i>Anacroneuria</i> sp.03N, Cabeça e pronoto. Macho: C. Cabeça e pronoto. Fêmea: D. <i>Anacroneuria</i> sp.07♀, Cabeça e pronoto. E. <i>Anacroneuria</i> sp.07♀, Placa subgenital da fêmea. F. <i>Anacroneuria</i> sp.09♀, Placa subgenital da fêmea..... | 101 |
| Figura 36. <i>Anacroneuria flintorum</i> Froehlich. Macho. A. Cabeça e pronoto. <i>Anacroneuria itatiaiensis</i> Baldin, Bispo & Novaes. B. Cabeça e pronoto..... | 104 |
| Figura 37. <i>Anacroneuria ipiau</i> sp. nov. Machos: A. Cabeça e pronoto do espécime coletado em 2013; B. Cabeça e pronoto do espécime coletado em 2014; C. Armadura peniana do macho, em vista dorsal; D. Armadura peniana do macho, em vista lateral; E. Armadura peniana do macho, em vista ventral..... | 107 |
| Figura 38. <i>Anacroneuria ipiau</i> sp. nov. Fêmeas: <i>Anacroneuria</i> sp. 03♀. A. Cabeça e pronoto. B. Abdome em vista ventral, placa subgenital. <i>Anacroneuria</i> sp. 05♀. Cabeça e pronoto. C. Abdome em vista ventral, placa subgenital. <i>Anacroneuria</i> 06♀. E. Cabeça e pronoto. F. Placa subgenital da fêmea..... | 108 |
| Figura 39. <i>Anacroneuria ipiau</i> sp. nov. Ninfa: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Antena, escalpo; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur, vista anterior; F. Fêmur, em vista posterior; G. Abdome, em vista dorsal; H. Cerco..... | 109 |
| Figura 40. <i>Anacroneuria mantiqueirae</i> Froehlich. Ninfa. A. <i>Anacroneuria</i> sp. 09N, Cabeça e pronoto. Macho. B. Cabeça e pronoto. Fêmea. C. <i>Anacroneuria</i> sp. 11♀, Cabeça e pronoto. D. <i>Anacroneuria</i> sp. 11♀, abdome em vista ventral, placa subgenital | 112 |
| Figura 41. <i>Anacroneuria mantiqueirae</i> Froehlich. Ninfa. A. Cabeça. B. Antena, detalhe das cerdas do escape; C. Pronoto; D. Mesanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Fêmur em vista posterior; G. Abdome, em vista dorsal; H. Cercos, detalhe das cerdas..... | 113 |

| | |
|---|-----|
| Figura 42. <i>Anacroneuria toriba</i> Froehlich. Ninfa. A. <i>Anacroneuria</i> sp. 06N, Cabeça e pronoto. Macho. B. Cabeça e pronoto..... | 116 |
| Figura 43. <i>Anacroneuria toriba</i> Froehlich. Ninfa. A. Cabeça. B. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Antena; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Mesanoto. F. Fêmur anterior, vista anterior; G. Fêmur em vista posterior; H. Abdome, em vista dorsal..... | 117 |
| Figura 44. <i>Anacroneuria</i> sp. BRM01♀. Fêmea. <i>Anacroneuria</i> sp.01♀, A. Cabeça e pronoto. B. Abdome, placa subgenital. <i>Anacroneuria</i> sp.02♀, C. Cabeça e pronoto. D. Abdome, placa subgenital. <i>Anacroneuria</i> sp. 10♀, E. Cabeça e pronoto. D. Abdome em vista ventral, placa subgenital..... | 120 |
| Figura 45. <i>Anacroneuria</i> sp. BRM02♀. Fêmea. <i>Anacroneuria</i> sp.08♀, A. Cabeça e pronoto. B. Abdome, placa subgenital..... | 121 |
| Figura 46. <i>Anacroneuria</i> sp. BRM03♀. Fêmea. A. Cabeça e pronoto. B. Abdome, placa subgenital..... | 123 |
| Figura 47. <i>Anacroneuria</i> sp. BRM02N. Ninfa. A. Cabeça e pronoto. B. Cabeça, olho e escape da antena. C. Pronoto. D. Metanoto. E. Fêmur em vista anterior. F. Abdome em vista dorsal..... | 125 |
| Figura 48. <i>Anacroneuria</i> sp. BRM03N. Ninfa. A. Cabeça e pronoto..... | 126 |
| Figura 49. <i>Anacroneuria</i> sp. BRM03N. Ninfa. <i>Anacroneuria</i> sp.11N. A. Cabeça e pronoto. B. Cabeça, olho e escape da antena. C. Pronoto. D. Metanoto. E. Fêmur em vista anterior. F. Fêmur em vista posterior. G. Abdome em vista dorsal. H. Cerco..... | 128 |
| Figura 50. <i>Kempnyia alterosarum</i> Froehlich. Ninfa: A. Cabeça e pronoto; B. Flagelo da antena, vista dorsal; C. Metanoto; D. Perna anterior, vista anterior; E. Perna anterior, vista posterior; F. Tergito VI-VIII; G. Tergito X e cercos. Macho adulto: H. Cabeça e pronoto..... | 131 |
| Figura 51. <i>Kempnyia colossica</i> (Navás). Ninfa: A. Cabeça e pronoto. Macho: B. Cabeça e pronoto | 134 |

| | |
|---|-----|
| Figura 52. <i>Kempnyia gracilenta</i> (Enderlein). Ninfa: A. Cabeça, detalhes das cerdas do esclerito ocular; B. Flagelo da Antena; C. Pronoto; D. Fêmur anterior, vista anterior; E. Detalhe do fêmur em vista anterior; F. Abdome, em vista dorsal; G. Tergito X, cercos, e brânquias anais; H. Detalhe da base do cerco | 136 |
| Figura 53. <i>Kempnyia gracilenta</i> (Enderlein). Ninfa: A. Cabeça e pronoto. Macho: B. Cabeça e pronoto. Fêmea: C. Placa subgenital..... | 137 |
| Figura 54. <i>Kempnyia jatim</i> Froehlich. Adultos da Bacia do Rio Macaé. Macho: A. Cabeça e pronoto. Fêmea: B. Cabeça e pronoto. C. Placa subgenital. Adulto de Dores do Rio Preto. Macho: D. Cabeça e pronoto | 139 |
| Figura 55. <i>Kempnyia obtusa</i> Klapálek. Ninfa: A. Cabeça e pronoto. Macho: B. Cabeça e pronoto | 142 |
| Figura 56. <i>Kempnyia obtusa</i> Klapálek. Ninfa: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Base da antena, em vista dorsal; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Detalhe do fêmur anterior; G. Abdome, em vista dorsal; H. Tergito X e cerco | 143 |
| Figura 57. <i>Kempnyia petersorum</i> Froehlich. Macho adulto, Espécime marrom: A. cabeça e pronoto; B. Prato subgenital e martelo. Fêmea adulta, Espécime marrom: C. cabeça e pronoto; D. Prato subgenital e massa de ovos. Ninfa: E. Cabeça e pronoto; Macho adulto, Espécime marrom claro: F. cabeça e pronoto | 146 |
| Figura 58. <i>Kempnyia petersorum</i> Froehlich. Ninfa: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Base da antena base, em vista dorsal; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Abdome, em vista dorsal; F. Fêmur anterior, vista anterior; G. Tergito X e cerco; H. Detalhe da base do cerco | 147 |
| Figura 59. <i>Kempnyia puri</i> Avelino-Capistrano, Souza & Nessimian, Macho: A. cabeça e pronoto; B. asa anterior e posterior; C. armadura peniana, vista dorsal; D. armadura peniana, vista lateral; E. armadura peniana, vista ventral; F. armadura peniana, detalhe das crenulações das pontas dos ganchos; G, esterno IX, martelo..... | 150 |

| | |
|---|-----|
| Figura 60. <i>Kempnyia reticulata</i> (Klapálek). Ninfa: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Base da antena base, em vista dorsal; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Abdome, em vista dorsal; G. Tergito X, vista dorsal; H. Detalhe da base do cerco..... | 153 |
| Figura 61. <i>Kempnyia reticulata</i> (Klapálek). Macho adulto: A. Cabeça e pronoto. Ninfa: B. Cabeça e pronoto | 154 |
| Figura 62. <i>Kempnyia varipes</i> Klapálek. Macho adulto: A. Cabeça e pronoto. Ninfa: B. cabeça e pronoto | 157 |
| Figura 63. <i>Kempnyia varipes</i> Klapálek. Macho adulto: A-C. Armadura peniana, em vista dorsal, ventral e lateral; D. Prato subgenital e martelo; E. Tergito X; F. Paraprocto direito, em vista lateral | 158 |
| Figura 64. <i>Kempnyia varipes</i> Klapálek. Ninfa: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Base da antena base, em vista dorsal; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Abdome, em vista dorsal; G. Tergito X, cerco e brânquias anais; H. Detalhe da base do cerco..... | 159 |
| Figura 65. <i>Macrogynoplax</i> Enderlein. Ninfa: A. Cabeça e pronoto; B. Cabeça; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Abdome, em vista dorsal; G. Abdome, cerco e brânquias anais; H. Detalhe da base do cerco..... | 161 |
| Figura 66. Histograma de distribuição das medidas (mm) da cabeça (A) e da asa anterior (B) das fêmeas de <i>Anacroneuria debilis</i> (Pictet) (azul), <i>A. ipiau</i> sp.nov. (verde), <i>A. mantiqueirae</i> Froehlich (violeta) e <i>Anacroneuria</i> sp. BRM01♀ (vermelho) . | 166 |

Lista de Tabelas



| | |
|--|-------|
| Tabela 1 – Distribuição, número de espécies conhecidas e de ninfas descritas das famílias e gêneros ocorrentes na Região Neotropical | 10-11 |
| Tabela 2 - Valores máximos e mínimos das divergências intra e interespecíficas encontradas para espécies de Plecoptera em estudos pretéritos | 16 |
| Tabela 3 – Pontos de Coleta na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil | 27-30 |
| Tabela 4 - Lista de iniciadores usados no presente e a referência bibliográfica de origem (D – iniciador direto; R – iniciador reverso) | 32 |
| Tabela 5 – Número de morfotipos encontrados com base na morfologia de machos, fêmeas e ninfas de Plecoptera na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil | 38 |
| Tabela 6 - Divergências intraespecíficas encontradas para espécies de Gripopterygidae da Bacia do Rio Macaé (*) e outras regiões | 39 |
| Tabela 7 - Divergências intraespecíficas encontradas para espécies de <i>Anacroneuria</i> da Bacia do Rio Macaé (*) e outras regiões no Brasil representadas por mais de um espécime neste estudo | 42 |
| Tabela 8 - Divergências intraespecíficas encontradas para espécies de <i>Kempnyia</i> da Bacia do Rio Macaé (*) e outras regiões e outras regiões no Brasil representadas por mais de um espécime neste estudo | 43 |
| Tabela 9 – Lista das espécies de Plecoptera encontradas na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil. Em negrito, primeiros registros para o Estado do RJ; o asterisco (*) indica novos registros para a Bacia do Rio Macaé; exemplares marcados com uma cruz (†) indicam dados fornecidos apenas da literatura | 56-57 |
| Tabela 10. Lista da abundância das espécies de Plecoptera examinadas no presente estudo, separados pelos que foram coletados na Bacia do Rio Macaé (BRM) e o | |

material adicional de outras localidades inclusos na análise molecular.....

58

Sumário



| | |
|--|----|
| 1. Introdução..... | 1 |
| 1.1. Taxonomia e classificação da Ordem Plecoptera..... | 1 |
| 1.2. Caracterização da Ordem Plecoptera..... | 4 |
| 1.3. Associação de Ninfas e Adultos de Plecoptera | 6 |
| 1.4. Taxonomia Integrativa e o uso de Marcadores Moleculares em Taxonomia..... | 12 |
| 1.5. Análise Molecular de Espécies de Plecoptera | 14 |
| 1.6. Plecoptera da Bacia do Rio Macaé | 16 |
| 2. Objetivos..... | 18 |
| 3. Material e Métodos..... | 19 |
| 3.1. Área de Estudo | 19 |
| 3.2. Levantamento do Material Examinado..... | 23 |
| 3.3. Medições..... | 26 |
| 3.4. Metodologia Molecular | 31 |
| 3.4.1. Extração de ADN..... | 31 |
| 3.4.2. Amplificação e Sequenciamento | 31 |
| 3.4.3. Alinhamento e análises | 33 |
| 3.5. Imagens e Fotografias..... | 35 |
| 3.5.1. Desenhos..... | 35 |
| 3.5.2. Fotografias | 35 |
| 3.5.3. Eletromicrografias | 36 |
| 4. Resultados e Discussão..... | 37 |
| 4.1. Identificação de Plecoptera com base em Sequencias de ADN | 38 |
| 4.1.1. Gripopterygidae | 38 |
| 4.1.1. Perlidae | 41 |
| 4.1.1.1. <i>Anacroneuria</i> Klapálek | 41 |
| 4.1.1.2. <i>Kempnyia</i> Klapálek | 42 |
| 4.1.3. Divergências Intra- e Interspecíficas de COI..... | 47 |
| 4.2. Espécies de Plecoptera da Bacia do Rio Macaé | 54 |

| | |
|--|-----|
| 4.2.1. Gripopterygidae | 59 |
| 4.2.1.1. <i>Gripopteryx</i> Pictet..... | 59 |
| 4.2.1.1.1. <i>Gripopteryx cancellata</i> (Pictet, 1841) | 60 |
| 4.2.1.1.2. <i>Gripopteryx coruja</i> Froehlich, 1993..... | 63 |
| 4.2.1.1.3. <i>Gripopteryx flinti</i> Froehlich, 1993..... | 65 |
| 4.2.1.1.4. <i>Gripopteryx garbei</i> (Pictet, 1841) | 67 |
| 4.2.1.1.5. <i>Gripopteryx liana</i> Froehlich, 1993 | 69 |
| 4.2.1.1.6. <i>Gripopteryx pilosa</i> Froehlich, 1990 | 71 |
| 4.2.1.1.7. <i>Gripopteryx reticulata</i> Brauer, 1866 | 72 |
| 4.2.1.2. <i>Guaranyperla</i> Froehlich, 2001 | 74 |
| 4.2.1.3. <i>Paragripopteryx</i> Enderlein, 1909 | 76 |
| 4.2.1.3.1. <i>Paragripopteryx analuciae</i> sp. nov. | 77 |
| 4.2.1.3.2. <i>Paragripopteryx curupira</i> sp. nov. | 79 |
| 4.2.1.3.4. <i>Paragripopteryx klapaleki</i> Enderlein, 1909 | 80 |
| 4.2.1.3.5. <i>Paragripopteryx</i> sp. BRM01N | 81 |
| 4.2.1.4. <i>Tupiperla</i> Froehlich, 1969 | 83 |
| 4.2.1.4.1. <i>Tupiperla gracilis</i> (Burmeister, 1839)..... | 84 |
| 4.2.1.4.2. <i>Tupiperla reicharditi</i> Froehlich, 1998..... | 85 |
| 4.2.1.4.3. <i>Tupiperla saci</i> sp. nov. | 86 |
| 4.2.1.4.4. <i>Tupiperla tessellata</i> (Brauer, 1866)..... | 88 |
| 4.2.2. Perlidae | 91 |
| 4.2.2.1. <i>Anacroneuria</i> Klapálek | 92 |
| 4.2.2.1.1. <i>Anacroneuria boraceiensis</i> Froehlich, 2004 | 93 |
| 4.2.2.1.2. <i>Anacroneuria debilis</i> Pictet, 1841 | 96 |
| 4.2.2.1.3. <i>Anacroneuria flintorum</i> Froehlich, 2002..... | 102 |
| 4.2.2.1.4. <i>Anacroneuria itatiaiensis</i> Baldin, Bispo & Novaes, 2013 | 103 |
| 4.2.2.1.5. <i>Anacroneuria ipiau</i> sp. nov. | 104 |
| 4.2.2.1.6. <i>Anacroneuria mantiqueirae</i> Froehlich, 2010 | 110 |
| 4.2.2.1.7. <i>Anacroneuria petersi</i> Froehlich, 2002..... | 114 |
| 4.2.2.1.8. <i>Anacroneuria simulans</i> Froehlich, 2010 | 114 |
| 4.2.2.1.9. <i>Anacroneuria subcostalis</i> Klapalek, 1921..... | 115 |
| 4.2.2.1.10. <i>Anacroneuria toriba</i> Froehlich, 2002..... | 115 |

| | |
|---|-----|
| 4.2.2.1.11. <i>Anacroneuria</i> BRM01♀ | 118 |
| 4.2.2.1.12. <i>Anacroneuria</i> BRM02♀ | 121 |
| 4.2.2.1.13. <i>Anacroneuria</i> BRM03♀ | 122 |
| 4.2.2.1.14. <i>Anacroneuria</i> BRM02N | 124 |
| 4.2.2.1.15. <i>Anacroneuria</i> BRM03N | 126 |
| 4.2.2.1.16. <i>Anacroneuria</i> BRM04N | 127 |
| 4.2.2.2. <i>Kempnyia</i> Klapálek | 129 |
| 4.2.2.2.1. <i>Kempnyia alterosarum</i> Froehlich, 1998 | 129 |
| 4.2.2.2.2. <i>Kempnyia colossica</i> (Navás, 1934) | 132 |
| 4.2.2.2.3. <i>Kempnyia gracilenta</i> (Enderlein, 1909) | 134 |
| 4.2.2.2.4. <i>Kempnyia jatim</i> Froehlich, 1988 | 138 |
| 4.2.2.2.5. <i>Kempnyia obtusa</i> Klapálek, 1916..... | 140 |
| 4.2.2.2.6. <i>Kempnyia petersorum</i> Froehlich, 1996 | 144 |
| 4.2.2.2.7. <i>Kempnyia puri</i> sp.nov..... | 149 |
| 4.2.2.2.8. <i>Kempnyia reticulata</i> (Klapálek, 1916) | 151 |
| 4.2.2.2.9. <i>Kempnyia serrana</i> (Navás, 1936) | 154 |
| 4.2.2.2.10. <i>Kempnyia taunayi</i> (Navás, 1936) | 155 |
| 4.2.2.2.11. <i>Kempnyia varipes</i> Klapálek, 1916..... | 155 |
| 4.2.2.3. <i>Macrogynoplax</i> Enderlein, 1909 | 160 |
| 4.2.2.3.1. <i>Macrogynoplax</i> sp. BRM05N | 160 |
| 4.2.3. Polimorfismo em Plecoptera | 162 |
| 5. Conclusões..... | 167 |
| 6. Referencias | 169 |
| ANEXO I..... | 188 |
| ANEXO II | 192 |
| ANEXO III | 194 |
| ANEXO IV | 200 |
| ANEXO V | 210 |
| ANEXO VI..... | 216 |
| ANEXO VII..... | 219 |

1. Introdução



1.1. Taxonomia e classificação da Ordem Plecoptera

Plecoptera é uma pequena ordem de insetos neópteros que surgiram provavelmente no Carbonífero Superior (Grimaldi & Engel, 2005; Bethoux *et al.*, 2011). A primeira descrição válida de um plecóptero foi compilada por Linnaeus, em 1758, no seu trabalho *Systema Naturae*, incluindo-o em Neuroptera, juntamente com os atuais representantes das ordens Trichoptera, Ephemeroptera, Megaloptera e Odonata, dentro do gênero *Phryganea* Linnaeus (Figura 1). Em 1762, o gênero *Perla* Geoffroy foi criado para os Plecoptera por Geoffroy, utilizando um nome já proposto antes para as libélulas. Finalmente Burmeister (1839) criou para esses insetos um grupo próprio: a ordem Plecoptera (do grego *pleco* = dobra, *pteron* = asa) (Zwick, 2000).

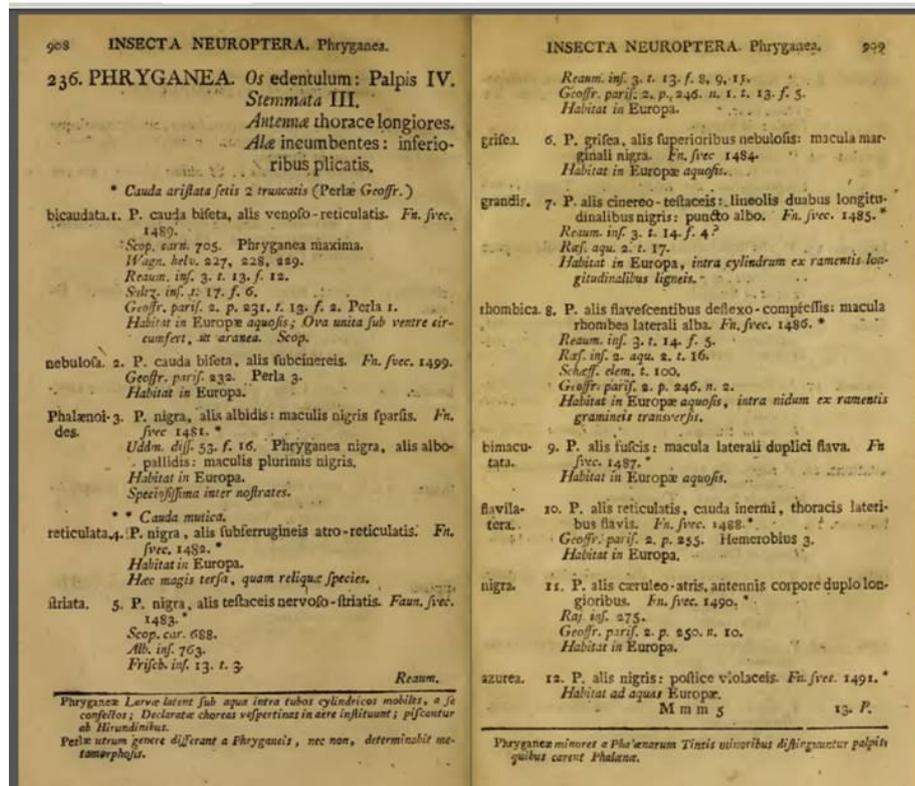


Figura 1. Primeira descrição de Plecoptera, ainda no gênero *Phryganea* por Linnaeus em seu *Systema Naturae*. Fonte: Linnaeus (1758).

Posteriormente, Klapálek (1909) e Enderlein (1909) separaram os plecópteros em duas subordens de acordo com as características do aparelho bucal. Os que possuíam o palpo maxilar subcilíndrico foram chamados por Klapálek, de Setipalpia ou Subpalpia; já os que possuíam palpos filiformes, de Filipalpia. Porém Enderlein denominou de outra forma, discordando de Klapálek sugerindo o critério baseado na presença ou ausência de mandíbulas nos adultos, designando assim duas Subordens: Systellognatha e Holognatha (Zwick, 2000).

Burmeister (1839) já havia separado os dois grupos utilizando ambos os caracteres propostos por Klapálek e Enderlein, caracterizando desta forma uma sinonímia nos dois sistemas de classificação. Esse sistema foi utilizado durante quase um século, até que Frison (1935) observou que os plecópteros que possuíam palpos longos exibiam redução da mandíbula nos adultos. Em 1965, Illies separou um pequeno grupo dos Filipalpia e criou uma terceira subordem, Archiperlaria, em virtude de sua primitividade. Segundo Zwick (1974), apenas os Setipalpia possuem caracteres derivados (mandíbulas do adulto reduzidas e tarsos alongados) e os Filipalpia e os Archiperlaria estariam unidos apenas pela ausência dessas particularidades (Zwick, 2000).

A classificação atual se estabelece em trabalhos de Zwick (2000) com base em uma filogenia proposta com clados suportados por apomorfias, na qual o monofiletismo de Plecoptera é sustentado pelos seguintes caracteres: 1 – gônadas em forma de laço, onde os ápices anteriores direito e esquerdo do ovário e dos testículos são fusionados; 2 – arranjo complexo de duas vesículas seminais superpostas nos machos; 3 - ausência de ovopositor (vestigial); 4 – presença de um músculo oblíquo intersegmental e ventro-longitudinal (permite a natação lateral); e 5 – órgão circulatório acessório.

A ordem distribui-se por todos os continentes, exceto a Antártida, e possui cerca de 3.500 espécies distribuídas em 16 famílias (Fochetti & Tierno-de-Figueiroa, 2008). A atual classificação cladística da ordem suporta duas subordens: Arctoperlaria e Antarctoperlaria (Figura 2) (Zwick, 2000; Grimaldi & Engel, 2005; Stark *et al.*, 2009). Como os nomes propõem, as subordens estão divididas entre os dois hemisférios, tendo os Arctoperlaria, origem na Laurásia, atualmente distribuídos no Hemisfério Norte e algumas regiões do Hemisfério Sul, e Antactoperlaria, de origem Gondwânica, atualmente distribuída no Hemisfério Sul (exceto África e Madagascar) (Zwick, 2000).

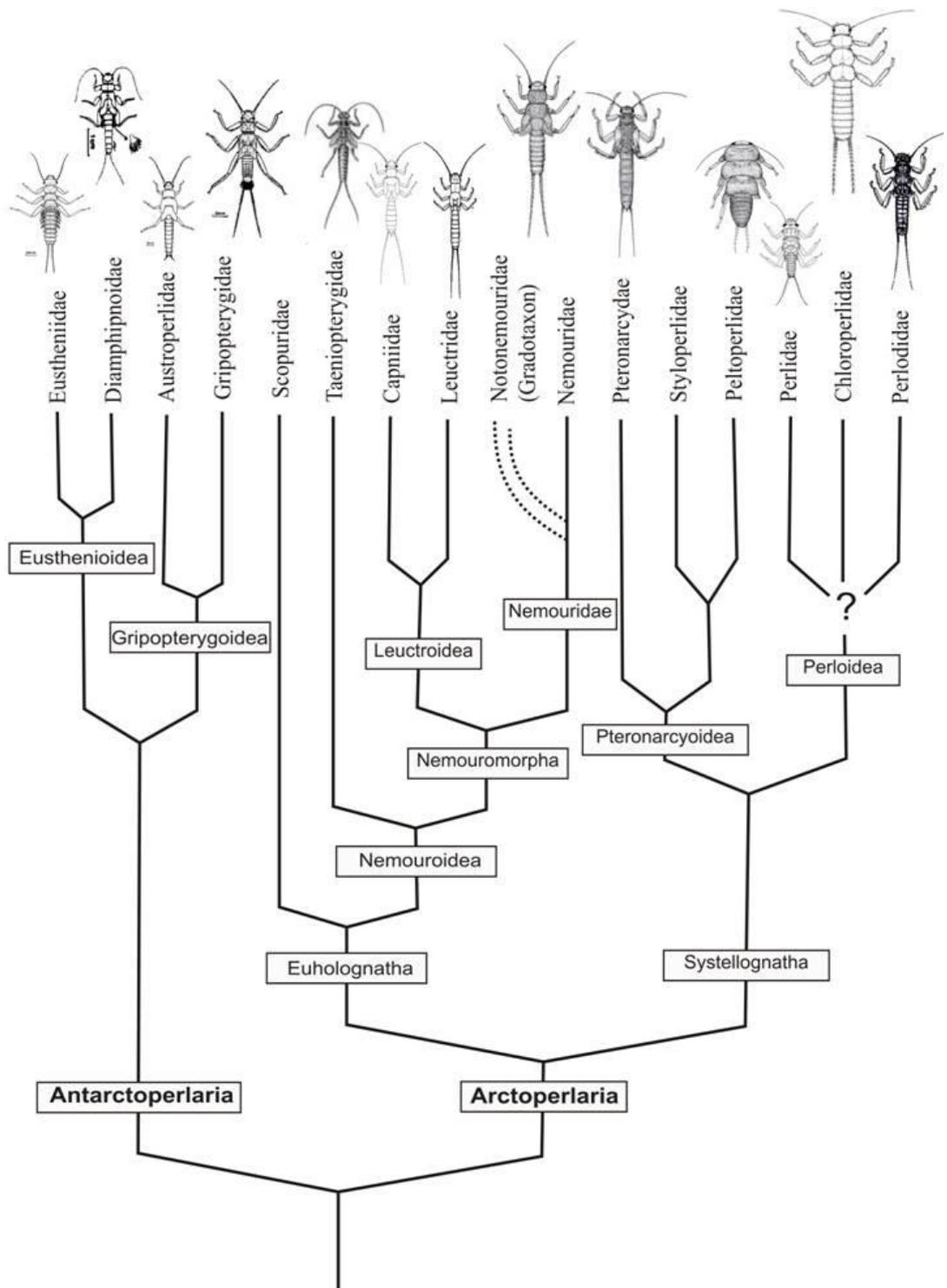


Figura 2. Classificação filogenética atual de Plecoptera. Adaptado de Zwick (2000).

A subordem Arctoperlaria é formada por duas superfamílias, contendo cada uma seis famílias: Euholognata (Capniidae, Leuctridae, Nemouridae, Notonemouridae, Scopuridae e Taeniopterygidae) e Systellognatha (Chloroperlidae, Perlidae, Perlodidae, Peltoperlidae, Pteronarcyidae e Styloperlidae) (Zwick, 2000). A subordem Antarctoperlaria é formada por duas superfamílias, ambas com duas famílias: Eusthenoidea (Diamphipnoidae e Eustheniidae) e Gripterygoidea (Austroperlidae e Griptopterygidae) (Zwick, 2000).

1.2. Caracterização da Ordem Plecoptera

Os plecópteros têm desenvolvimento hemimetábólico e caracterizam-se por possuírem corpo achatado dorso-ventralmente, e com tamanho variando de 4 a 60 mm (Froehlich, 2012).

Os imaturos são aquáticos e podem ser encontrados associados ao substrato de ambientes lóticos. Alguns grupos são predadores e se alimentam principalmente de larvas de dípteros, enquanto outros são detritívoros e raspadores, alimentando-se de matéria orgânica fina e algas perifíticas (Stewart & Harper, 1996; Dorvillé & Froehlich, 1999).

A troca gasosa é realizada através de traqueobrânquias filamentosas, dispostas ao longo do tórax e/ou no final do abdome. A posição e o número de brânquias variam conforme a espécie e podem ser pleurais, coxais e prosternais, sendo utilizadas na taxonomia dos imaturos (Ribeiro, 2003). Um movimento de flexão das pernas é realizado em situações de estresse respiratório, no qual as ninfas movimentam-se para baixo e para cima, fazendo com que a água ao redor do corpo circule com mais velocidade pelas brânquias, aumentando a ventilação respiratória (Genkai-Kato *et al.*, 2000).

Os adultos são voadores fracos, permanecendo próximos dos cursos d'água. Possuem dois pares de asas membranosas, sendo as anteriores alongadas e relativamente estreitas, enquanto que as posteriores são um pouco mais curtas, com um lobo anal bem desenvolvido, que em repouso, se dobra em forma de leque. As fêmeas não possuem ovopositor e em algumas espécies a oviposição ocorre durante o vôo. Em *Anacroneuria* Klapálek (Perlidae) os ovos formam uma massa única, em formato de “espiga” no final do abdome, enquanto que em *Kempnyia* Klapálek (Perlidae), a massa de ovos acumula-se em forma espiral também no final do abdome. Esses cordões de ovos não se desfazem na água e podem ser colados a um substrato (Lecci & Froehlich, 2007).

O padrão de coloração dos adultos e imaturos varia entre o preto e o amarelo-ocráceo, exceto por alguns representantes da família Chloroperlidae, os quais possuem coloração verde brilhante, com manchas amarelas; e os representantes da família Eustheniidae, que podem apresentar coloração verde, vermelho, púrpura ou negro (Olifiers, 2005). Algumas espécies de *Enderleina* Jewett (Perlidae) possuem coloração alaranjada, com a asa em tons de roxo (Dorvillé, 1998). Em geral, quando preservados em álcool, estes perdem a coloração, tornando-se pardos ou amarelos.

A cabeça possui formato trapezoidal, sendo prognata e fortemente articulada com o tórax. Um par de antenas longas e filiformes, com numerosos artículos (entre 30 e 100), parte da região anterior da cabeça. Os olhos são compostos e distintos e a coloração dos mesmos pode variar de preto a marrom-escuro, e em algumas espécies, a base do olho das ninfas é despigmentada. Podem possuir dois ou três ocelos, sendo esta característica utilizada na taxonomia do grupo. As peças bucais são do tipo mastigador, porém diferentes espécies as têm reduzidas e não funcionais na fase adulta, já que muitas vezes esses não se alimentam (Dorvillé, 1998; Ribeiro, 2004; Olifiers, 2005).

O tórax é dividido em três segmentos distintos, sendo o protórax bem desenvolvido com o pronoto, largo, subretangular ou elipsoidal. Meso- e metatórax apresentam tecas alares em diferentes graus de desenvolvimento. Ninfas de *Guaranyperla* Froehlich (Gripopterygidae) possuem projeções laterais no tórax, porém ainda não se sabe se estas possuem alguma função específica. Em ninfas de *Gripopteryx* (Pictet) (Gripopterygidae), projeções em forma de espinhos estão presentes no pronoto, com tamanho variado, funcionando como quilhas que quebram a tensão da água, permitindo que estas ninfas habitem regiões de correnteza forte. As pernas são cursoriais simples, possuindo as coxas bem afastadas. Os tarsos são trímeros e terminam em um par de garras e um empódio (Dorvillé, 1998; Ribeiro, 2004; Olifiers, 2005).

O abdome possui 11 segmentos; em algumas ninfas, projeções em formato de espinhos podem estar presentes, como em *Gripopteryx*. Nos adultos, o último segmento abdominal possui um par de paraproctos e um par de cercos longos e multi segmentados, sendo esses últimos, estruturas auxiliares que podem tanto ajudar no vôo (no caso dos cercos longos) como na cópula (no caso dos cercos curtos). O oitavo segmento na fêmea e o nono no macho apresentam uma placa subgenital (Dorvillé, 1998; Ribeiro, 2004; Olifiers, 2005).

1.3. Associação de ninfas e adultos de Plecoptera

A associação de ninfas com adultos de Plecoptera para a descrição desses estágios de vida é muito comum em estudos realizados nas regiões Neártica e Paleártica (Hynes, 1941; Bottorf *et al.*, 1990; Stewart & Sandberg, 2004; Zwick, 2004; Stark & Lacey, 2005; Silveri *et al.*, 2008; Sandberg, 2011).

A primeira descrição de ninfas do Novo Mundo foi realizada por Newport (1851) com uma ilustração de *Pteronarcys regalis* Newman (hoje *P. dorsata*). Posteriormente, Hagen (1873) descreveu a ninfa de *P. regalis*, incluindo também no mesmo trabalho a descrição de *P. californica* Newport. Needham (1901) faz menção à aparência de *Peltoperla arcuata* Needham, apresentando ainda a descrição de três ninfas não nomeadas, sendo separadas apenas como “N°1”, “N°2” e “N°3”. Esse mesmo autor descreveu em outro trabalho (Needham, 1905) as ninfas de *Isoperla bilineata* (Say) e *Leuctra tenella* Provancher. A partir de então, trabalhos com ênfase na biologia das ninfas passaram a ser publicados, como em Smith (1913), onde é feita tanto a descrição da ninfa, mas também são apresentados dados da biologia de *Perla immarginata* Say (hoje *Paragnetina immarginata* – Ricker, 1949). Estudos da morfologia e etologia das ninfas de *Nemura vallicularia* Wu (hoje *Soyedina vallicularia* – Illies, 1966) foram realizados por Wu (1923). Seemann (1927) publicou a descrição de dez espécies da Califórnia (EUA), incluindo os hábitos alimentares dessas ninfas. Claassen (1931) realizou o primeiro trabalho que reuniu dados gerais das ninfas conhecidas até então para o Novo Mundo em um excelente e bem ilustrado catálogo “*Plecoptera Nymphs of North America*”.

A primeira descrição de uma ninfa da Região Neotropical, foi realizada por Needham & Broughton (1927), com a descrição de uma ninfa do gênero *Anacroneuria*, com material proveniente da Colômbia, utilizando como características do aparelho bucal e a quetotaxia das pernas e cerco (Figura 3). Posteriormente, Samal (1932) descreve a ninfa de *Diamphiphoa virescentipenis* (Blanchard) com material proveniente do Chile. Nesse trabalho, Samal destaca em desenhos simples, detalhes da cabeça, pronoto e mesonoto de uma ninfa madura, além de desenhar o aparelho bucal e o último segmento abdominal. Somente algumas décadas depois, Hynes (1948) e Aubert (1956) descrevem respectivamente as ninfas de *Anacroneuria aroucana* Kimmins e *Andiperla willinki* Aubert.

Entretanto, foram os estudos de Illies (1958, 1960, 1963, 1964A, B, C, 1965) os que mais contribuíram para o conhecimento das ninfas da Região Neotropical. Em seus estudos, Illies descreveu vinte ninfas, muitas delas pertencentes a gêneros monotípicos. Em seus trabalhos, Illies destacou na descrição das ninfas, a morfologia do aparelho bucal, o formato e distribuição das brânquias e a quetotaxia (*e.g.* Illies, [1963]: Figura 17 – *Potamoperla* sp.).

Seguindo a mesma linha, o trabalho de Froehlich (1969) para os Gripopterygidae ocorrentes no Brasil, também apresentou características do aparelho bucal e da morfologia externa como diagnósticos, culminando na descrição de ninfas de *Gripopteryx* e *Paragripopteryx*, e na descrição do gênero *Tupiperla*. Froehlich ainda abordou dados da biologia das ninfas, como hábitat, comportamento e alimentação. Benedetto (1970) realizou para *Jewettoperla munoai* Benedetto (hoje, *Paragripopteryx munoai* - Zwick, 1973B) o primeiro estudo completo da biologia de uma espécie nos trópicos, incluindo o comportamento reprodutivo dos adultos, porém nesse trabalho a ninfa não é descrita de forma apropriada; entretanto, é citada pela primeira vez uma metodologia de criação de ninfas para a Região Neotropical.

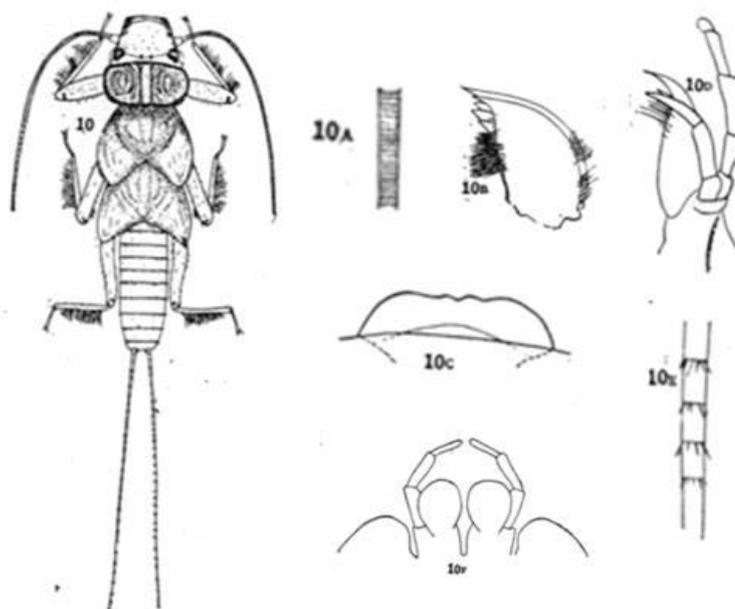


Figura 3. Ilustração original da primeira ninfa descrita da Região Neotropical, *Anacroneuria* sp. Fonte: Needham & Broughton, 1927 (modificado).

Após este período, somente em meados da década de 1980 os trabalhos abordando a descrição de ninfas voltaram a ser publicados, sempre enfatizando a morfologia externa e, nos Gripopterygidae, a forma do aparelho bucal. Froehlich (1984) descreveu a ninfa de *Macrogynoplax veneranda* Froehlich, sendo essa a primeira ninfa descrita para o gênero e o primeiro registro desse gênero para a Região Sudeste do Brasil. Froehlich (1990, 1993) ainda descreve oito ninfas de *Gripopteryx* para o Brasil.

No final dos anos 80 do século XX, Stark publica dois importantes trabalhos com os Perlidae da América do Sul. Em um deles, descreve pela primeira vez a ninfa de uma espécie de *Enderleina* (*E. flinti* Stark; Stark, 1989) e em outro trabalho, junto com seu colaborador descreve novas espécies de *Macrogynoplax*, incluindo a ninfa de *M. neblina* Stark (Stark & Zwick, 1989). No decorrer dos anos 90 do século XX, esse autor ainda descreve ninfas de espécies de *Anacroneuria* provenientes de Trindade e Tobago (Stark, 1994), Venezuela (Stark, 1995) e, Costa Rica e Panamá (Stark, 1998).

Nos primeiros anos do século XXI, com a formação de mais taxonomistas na Região Neotropical, os trabalhos de descrições de espécies e suas respectivas ninfas, prosseguem, incluindo antigos e novos colaboradores. Maldonado *et al.* (2002) descrevem mais ninfas de *Anacroneuria* para a Venezuela, e Stark & Kondratieff (2004) descrevem ninfas desse mesmo gênero para o México e Meso America. Uma grande contribuição também foi dada por McLellan que descreveu várias ninfas de Gripopterygidae, principalmente do Chile e da Argentina (McLellan, 2001A, B, 2005, 2006; McLellan & Zwick, 2007). Descrições complementares de Gripopterygidae, incluindo a descrição de ninfas, foram realizadas por Vera (2005AB, 2006A, B, C, 2007) para espécies do Chile e por Pessacq (2008, 2009) para a região da Patagônia na Argentina.

No Brasil, Dorvillé & Froehlich (2001) descrevem a ninfa de *Kempnyia tijucana* Dorvillé & Froehlich, sendo essa a primeira ninfa de *Kempnyia*. Os trabalhos de Bispo também contribuíram com descrição de ninfas de *Kempnyia*, como a de *K. neotropica* (Jacobson & Bianchi) (Bispo *et al.*, 2008) e de *K. colossica* (Navás) (Bispo *et al.*, 2013). Avelino-Capistrano *et al.* (2011B) colaboraram com a descrição das ninfas de *K. gracilenta* (Enderlein) e *K. reticulata* (Klapalek). Os trabalhos mais recentes com descrições de ninfas de *Anacroneuria* foram os de Avelino-Capistrano *et al.* (2011A) e Novaes *et al.* (2012).

Em muitos desses estudos, a associação de ninfas e adultos foi conduzida através da criação dos imaturos. Entretanto, essa não é uma tarefa fácil, pois as ninfas são muito sensíveis às mudanças na temperatura, correnteza e oxigênio dissolvido na água. Algumas espécies, não resistem à transferência do ambiente natural para os criadouros (obs. pess.).

Entre os métodos de criação de ninfas de Plecoptera, Needham (1899) apresenta uma espécie de gaiola, que deveria ser colocada em um trecho calmo da margem do rio, preenchida por substrato proveniente do próprio local. As ninfas deveriam ser colocadas nessa gaiola de preferência do mesmo rio onde fosse instalada.

Claassen (1931) desenvolveu um criadouro muito parecido com o de Needham, que também deveria ser colocado dentro de um riacho. Nesse método, as ninfas eram alimentadas e observadas até a emergência. Esse mesmo autor, ainda pontua que no caso de não ser possível a criação diretamente no rio, esta poderia ser possível utilizando-se musgo úmido ou mesmo um aquário, desde que a temperatura da água e o oxigênio dissolvido fossem controlados. Kapoor (1972) a fim de evitar tais problemas, desenvolveu um aparato de madeira, com um tanque alimentado por uma bomba d'água de fluxo contínuo.

Segundo Poulton (2005), as condições necessárias para o sucesso da criação dependem principalmente do tipo de alimentação funcional da espécie e do tempo restante de crescimento para a emergência. Esse autor ressalta a atenção na construção da “gaiola” de criação, dada importância da adaptação das ninfas nesses ambientes. Ele destaca a necessidade do material ser áspero, de forma que permita ao imaturo conseguir sair da água para a emergência. Outro aspecto interessante que o autor destaca é a facilidade de criação de ninfas herbívoras frente à dificuldade de criação de ninfas carnívoras, uma vez que as carnívoras são muito mais territorialistas, podendo haver canibalismo.

Os métodos citados acima foram desenvolvidos para ninfas que habitam a Região Neártica, e que possuem uma biologia diferente das ninfas da Região Neotropical. Um exemplo é a ocorrência de ninfas de inverno e verão no neártico,

Tabela 1. Distribuição, número de espécies conhecidas e ninfas descritas das famílias e gêneros ocorrentes na Região Neotropical.

| Táxon | Distribuição | Espécies Conhecidas | Ninfas Conhecidas |
|--|---|--------------------------------|------------------------------|
| Austroperlidae | | | |
| <i>Andesobius</i> MacLellan, 2001 | Argentina e Chile | 1 | 1 |
| <i>Klapopteryx</i> Navás, 1928 | Argentina e Chile | 2 | 1 |
| <i>Penturoperla</i> Illies, 1960 | Argentina e Chile | 1 | 1 |
| Diamphipnoidae | | | |
| <i>Diamphipnoa</i> Gerstaecker, 1873 | Argentina e Chile | 4 | 3 |
| <i>Diamphipnopsis</i> Illies, 1960 | Argentina e Chile | 2 | 1 |
| Eustheniidae | | | |
| <i>Neuroperla</i> Illies, 1960 | Argentina e Chile | 1 | 1 |
| <i>Neuroperlopiis</i> Illies, 1960 | Argentina e Chile | 1 | 1 |
| Gripopterygidae | | | |
| <i>Alfonsoperla</i> McLellan & Zwick, 2007 | Chile | 1 | 1 |
| <i>Andiperla</i> Aubert, 1956 | Argentina e Chile | 1 | 1 |
| <i>Andiperlodes</i> Illies, 1960 | Chile | 2 | 1 |
| <i>Antarctoperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 2 | 2 |
| <i>Araucanioperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 2 | 1 |
| <i>Aubertoperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 2 | 2 |
| <i>Ceratoperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 2 | 2 |
| <i>Chilenoperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 4 | 2 |
| <i>Claudioperla</i> Illies, 1963 | Chile, Bolívia, Peru, Equador e Colombia | 1 | 1 |
| <i>Falklandoperla</i> McLellan, 2001 | Ilhas Malvinas | 1 | 1 |
| <i>Gripopteryx</i> (Pictet, 1841) | Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai | 17 | 7 |
| <i>Guaranyperla</i> Froehlich, 2001 | Brasil | 3 | 1 |
| <i>Limnoperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 1 | 1 |
| <i>Megadiperla</i> Illies, 1960 | Chile | 1 | 1 |
| <i>Neopentura</i> Illies, 1965 | Argentina e Chile | 1 | 1 |
| <i>Notoperla</i> Enderlein, 1909 | Argentina e Chile | 7 | 4 |
| <i>Notoperlopiis</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 1 | 1 |
| <i>Paragripopteryx</i> Enderlein, 1909 | Argentina, Brasil e Uruguai | 12 | 5 |
| <i>Pelurgoperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 1 | 0 |
| <i>Plegoperla</i> Illies, 1963 | Chile | 1 | 0 |
| <i>Potamoperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 1 | 0 |
| <i>Rhithroperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 2 | 1 |
| <i>Senzilloides</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 1 | 1 |

Tabela 1 (cont.). Distribuição, número de espécies conhecidas e de ninfas descritas das famílias e gênero ocorrentes na Região Neotropical.

| Táxon | Distribuição | Espécies Conhecidas | Ninfas Conhecidas |
|---|--|--------------------------------|------------------------------|
| Gripopterygidae (cont.) | | | |
| <i>Teutoperla</i> Illies, 1963 | Argentina e Chile | 4 | 2 |
| <i>Tupiperla</i> Froehlich, 1969 | Argentina, Brasil e Paraguai | 15 | 1 |
| <i>Uncicauda</i> McLellan & Zwick, 2007 | Chile | 2 | 1 |
| Notonemouridae | | | |
| <i>Austronemoura</i> Aubert, 1960 | Argentina e Chile | 9 | 0 |
| <i>Neofulla</i> Claassen, 1936 | Chile | 3 | 2 |
| <i>Neonemoura</i> Navás, 1919 | Argentina e Chile | 2 | 0 |
| <i>Udamocercia</i> Enderlein, 1909 | Argentina e Chile | 3 | 1 |
| Perlidae | | | |
| <i>Anacroneuria</i> Klapalek, 1909 | Do Arizona (EUA) ao Nordeste da Argentina, Trindade e Tobago | 316 | 15 |
| <i>Enderleina</i> Jewett, 1960 | Brasil e Venezuela | 5 | 1 |
| <i>Inconeuria</i> Klapálek, 1916 | Peru e Chile | 3 | 1 |
| <i>Kempnyella</i> Illies, 1964 | Argentina e Chile | 2 | 1 |
| <i>Kempnyia</i> Klapálek, 1914 | Brasil | 40 | 5 |
| <i>Klapalekia</i> Claassen, 1936 | Colombia | 1 | 0 |
| <i>Macrogynoplax</i> Enderlein, 1909 | Brasil, Guiana, Peru, Suriname, Venezuela e Colombia | 14 | 2 |
| <i>Nigroperla</i> Illies, 1964 | Chile | 1 | 1 |
| <i>Onychoplax</i> Klapalek, 1916 | Brasil (?) | 1 | 0 |
| <i>Pictoperla</i> Illies, 1964 | Argentina e Chile | 2 | 2 |

enquanto que nos trópicos, as ninfas de uma espécie podem ser encontradas durante o ano todo. Desta forma, as técnicas desenvolvidas para a Região Neártica não necessariamente são eficazes nos trópicos e, adaptações são necessárias para o sucesso da criação.

A obtenção das ninfas em criadouros dentro de rios foi utilizada com sucesso no Brasil, principalmente na Região Amazônica (Ribeiro, 2003; Ribeiro & Rafael, 2005). Em regiões montanhosas do Sudeste, alguns autores têm obtido sucesso na criação de ninfas (Bispo *et al.*, 2013). Mas são em criadouros artificiais que se tem obtido o maior sucesso, sejam esses feitos desde caixas de isopor (Ribeiro, 2004; Avelino-Capistrano, 2010), potes de

vidro (Dorvillé, 1998) ou aquários (Avelino-Capistrano *et al.*, 2011AB). Novaes *et al.* (2012) desenvolveram um tipo de aparato semelhante ao de Kapoor (2005), feito de acrílico, com o objetivo de criar ninfas de plecópteros que necessitam de água corrente.

Apesar do aperfeiçoamento das técnicas de criação, o número de ninfas descritas ainda é escasso se comparado ao número de descrições de adultos. Na Região Neotropical, há 502 espécies descritas, sendo conhecidas apenas 81 ninfas desse total (Tabela 1). Essa falta de informação, além de ser uma lacuna na taxonomia dos grupos, ainda prejudica programas de conservação e biodiversidade, seja na elaboração de planos diretores de bacias hidrográficas e unidade de conservação, como nos programas de biomonitoramento.

1.4. Taxonomia integrativa e o uso de marcadores moleculares em taxonomia

Nos últimos anos, com o avanço das pesquisas em muitos campos da biologia, como a biologia molecular, bioinformática, desenvolvimento de fundo de investimentos e uso de ferramentas virtuais, novas ferramentas foram associadas ao estudo da Zoologia (Pires & Marinoni, 2010). Em contrapartida, a falta de taxonomistas *versus* a extrema necessidade de inventários frente à perda de espécies causada pela destruição dos habitats, nos leva à chamada “crise taxonômica”. Em muitos casos, esta crise ainda se caracteriza pela falta de taxonomistas em muitos grupos, bem como a fixação dos mesmos em determinadas regiões (Goldstein & DeSalle, 2010; Pires & Marinoni, 2010).

A união entre os métodos tradicionais e o uso dessas novas ferramentas tem-se chamado de Taxonomia integrativa (Goldstein & DeSalle, 2010; Pires & Marinoni, 2010), onde métodos tradicionais são associados às novas ferramentas na busca de soluções para problemas taxonômicos até então não resolvidos.

Uma das grandes revoluções dessa nova forma de fazer taxonomia é o uso de marcadores moleculares, que passaram a ser utilizados de forma efetiva na distinção de espécies de diversos grupos (Avice, 2004; Hebert *et al.*, 2003A, B). Entre esses marcadores, muitos são genes que compõem o DNA mitocondrial (*DNAMit*), que devido à alta taxa de mutação, herança materna e a ausência de recombinação, formam um conjunto de moléculas que permite a discriminação de espécies, mesmo que proximamente relacionadas (Palumbi, 1996; Rubinoff, 2006).

Outra característica importante encontrada no *DNAmit* é a ortologia dos seus genes, isto é, a descendência do mesmo ancestral. Tal característica permite que o conteúdo e número de genes, sejam relativamente constantes entre os metazoários, garantindo a ortologia entre os genes (Hillis *et al.*, 1996). A origem desses genes é importante, pois caso haja comparação entre genes de origens diferentes, as divergências poderiam ser superestimadas. Ainda assim, alguns fatores podem induzir em erros no estudo dos genes ortólogos, como a duplicação do gene de interesse dentro do genoma mitocondrial, a heteroplasmia (mistura de mais de um genoma mitocondrial dentro da mesma célula) e a presença de pseudogenes ou *numts*.

Em 2003, pesquisadores da Universidade de Guelph (Ontario, Canadá) propuseram a utilização de fragmento de 650 pares de bases (pb), a partir da base 58 da extremidade 5' do gene da subunidade I da citocromo oxidase do *DNAmit* como um marcador confiável universal para a identificação em nível de espécie, denominado de *DNA barcode* (Hebert *et al.*, 2003B). O *DNA barcode* ou Código de Barras de DNA funcionaria da mesma forma que um código de barras comercial, que é composto de uma sequência numérica que identifica produtos de uma loja; no caso do *DNA barcode*, as bases seriam equivalentes aos números, e a sequência dessas bases, identificaria cada espécie. Um código de barras comercial possui uma sequência de dez números alternados em 11 posições, que gera 100 bilhões de identificadores únicos; no caso do *DNA barcode*, as quatro bases que formam os nucleotídeos – adenina, citosina, guanina e timina – se alinhados formando sequências de 15 posições, por exemplo, gerariam aproximadamente 15 milhões de identificadores (Hebert *et al.*, 2003B).

Ainda dentro da proposta de Hebert *et al.* (2003B), um banco de sequências foi criado, o *DNA Barcode of Life Data System* (BOLD) onde as sequências de COI obtidas de espécies identificadas por taxonomistas seriam depositadas, formando uma base de dados pública. No BOLD, sequências obtidas de outros espécimes poderiam ser identificadas pela comparação com as sequências depositadas na base de dados. A comparação é realizada por métodos de distância genética, segundo o modelo de evolução molecular Kimura-2-parâmetros (K2P, Kimura, 1980) e utilizando uma análise de *Neighbor-Joining* (Saitou & Nei, 1987). Desta forma, a similaridade com uma sequência do BOLD só é aceita se essa for maior que 97 – 98%; se houver uma diferença maior que 2 – 3%, não há a identificação pelo BOLD, sendo necessária uma análise mais detalhada do material.

As primeiras aplicações do *DNA barcode* foram de fato com identificação de espécies. Entretanto, as aplicações do método amadureceram e atualmente, essa metodologia vem sendo utilizada com sucesso na identificação de espécies crípticas (Hebert *et al.* 2004A; Smith *et al.*, 2006), identificação de novas espécies (Monaghan *et al.*, 2005; Hebert *et al.*, 2004B; Rach *et al.*, 2008), reconstrução filogenética (Tavares *et al.*, 2006, Wright *et al.*, 2008), conservação (Hajibabaei *et al.*, 2011; Rubinoff, 2006; Smith *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 2008; Sweeney *et al.*, 2011; Vences *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2010) e biossegurança (Amstrong & Ball, 2005).

1.5. Análise molecular de espécies de Plecoptera

A eficiência do uso do COI como marcador molecular para a identificação de espécies foi satisfatória no trabalho de Hebert *et al.* (2003A). Mas, por tratar-se de um trabalho amplo, para diversos grupos de animais e, dada a baixa diversidade da ordem Plecoptera, essa possuiu uma baixa representatividade na análise, sendo utilizadas apenas sequências de seis famílias. Hebert *et al.* (2003A) ainda realizaram uma análise mais detalhada somente com exemplares de Lepidoptera, uma vez que possuíam mais exemplares, e obtiveram um sucesso de 100% das identificações, reforçando ainda mais os resultados positivos do uso do COI.

Dado o passo inicial, diversos outros trabalhos com a Ordem Plecoptera foram realizados utilizando o COI como marcador molecular, seja na identificação/descrição de espécies crípticas (Boumans & Baumann, 2012; Graf *et al.*, 2008, 2012; Gray, 2009), reconstruções filogenéticas e biogeográficas (Fochetti *et al.*, 2008, 2011; Weiss *et al.*, 2011) e associação de imaturos e adultos (Mynott *et al.*, 2011; Tierno de Figueiroa *et al.*, 2011).

Como supracitado, na metodologia de identificação do *DNA Barcoding*, as diferenças entre as sequências são analisadas com base nas distâncias entre as mesmas. Dessa forma, as diferenças entre as sequências homólogas (as substituições) são calculadas e quanto maiores essas diferenças, mais distante as mesmas estão de possuir o mesmo ancestral (Russo *et al.*, 2001). Assim, para uma boa identificação molecular utilizando o COI, é esperado que as distâncias entre indivíduos de uma mesma espécie (intraespecíficas) sejam bem menores que as distâncias entre indivíduos de espécies diferentes (interespecíficas).

Desde os trabalhos de Hebert *et al.* (2003AB), onde a média das distâncias intraespecíficas encontradas para Lepidoptera foi 3%, e Zhou *et al.*, (2009), onde as distâncias

para as ordens Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera (EPT) foi 2%, muitos autores têm utilizado esses valores para separar espécies e/ou grupo de espécies em suas análises (e.g. Boumans & Balmann, 2012; Fochetti *et al.*, 2008; Graf *et al.*, 2008; Tierno de Figueiroa *et al.*, 2011).

As distâncias intraespecíficas encontradas por Fochetti *et al.* (2008) para *Tyrrhenoleuctra* (Leuctridae) em um estudo de filogenia e filogeografia em uma análise com 34 espécimes variou de 0 a 1,3%, enquanto as distâncias interespecíficas variaram 19 a 21%. Em outro estudo, com exemplares de *Siphonoperla* (Chloroperlidae), Graf *et al.* (2008) encontraram distâncias interespecíficas também dentro dos limites, com variação de 0 a 2,7%, em um estudo de separação de espécies crípticas. Alguns autores têm verificado distâncias baixas mesmo em grupos isolados geograficamente. Tierno-de-Figueiroa *et al.* (2011) ao estudarem dois grupos de *Isoperla* (Perlidae), um continental e outro insular encontraram diferenças de 0 a 2,8%. Boumans & Balmann (2012) ao compararem espécies de *Amphinemura* (Nemouridae) isoladas em continentes diferentes (América do Norte e Europa) encontraram variações de 0 a 2,8%. Ainda assim, estes autores verificaram a alta variação interespecífica, de 3,7%, entre *A. palmeni* (Koponen) e seu sinônimo junior *A. linda*. Os autores sustentam a alta variação como resultado da baixa motilidade de muitas espécies de plecópteros, em especial as espécies isoladas em escalas geográficas pequenas.

Em alguns grupos de insetos – e.g. Ephemeroptera (Ball *et al.*, 2005) – e também dentro da Ordem Plecoptera, essas distâncias têm se apresentado altas entre sequências coespecíficas (Tabela 2). Mynott *et al.* (2011) ao realizar a associação de imaturos e adultos de *Riekoperla* encontrou divergências intraespecíficas de até 5,8%. Segundo estes autores, as altas divergências podem estar relacionadas com o isolamento de populações estudadas em altitudes elevadas, sendo a altitude, uma barreira de dispersão para esses insetos aquáticos. Weiss *et al.* (2011) trabalhando com *Siphonoperla*, encontraram divergências intraespecíficas de 5,1% entre indivíduos coletados em pontos distantes por mais de 200 km, e divergências de 6,7% entre subespécies de *S. torrentium* (Pictet).

A relação entre as divergências intra e interespecífica e a escala geográfica tem gerado muita discussão no meio acadêmico. Se de um lado o aumento da escala geográfica aumenta as divergências intraespecíficas, por outro ela também diminui as divergências interespecíficas, o que gera um menor sucesso na identificação de amostras desconhecidas

(Bergsten *et al.*, 2012). De acordo com Bergsten *et al.* (2012), para melhorar os resultados em trabalhos que envolvam a metodologia do *DNA barcode* é necessário antes de tudo, o conhecimento regional, que, relacionado a outras fontes de informação, como dispersão e história de especiação, diminuirá os efeitos da escala geográfica e do isolamento reprodutivo.

Tabela 2 – Valores máximos e mínimos das divergências intra- e interespecíficas (intra-genéricas) encontradas para gêneros de Plecoptera em estudos pretéritos.

| Família | Espécie (n indivíduos) / Gênero (n espécies) | Intraespecífica | Intragenérica | Referência |
|-----------------|---|-----------------|------------------|-----------------------------|
| Gripopterygidae | <i>Riekoperla alpina</i> (n = 06) | 0,0-5,8% | - | Mynott <i>et al.</i> 2011 |
| | <i>Riekoperla</i> (n = 65) | | 7,2-19,5% | |
| Nemouridae | <i>Amphinemura linda</i> (n = 4) | 0,0-2,8% | - | Boumans & |
| | <i>Amphinemura</i> (n = 89) | | 7,5-11,6% | Baumann 2012 |
| Perlodidae | <i>Besdolus ravizzarum</i> (n = 05) | 0,0-0,8% | - | Fochetti <i>et al.</i> 2011 |
| | <i>Besdolus</i> (n = 12) | | 12,2-17,5% | |
| Chloroperlidae | <i>Siphonoperla montana</i> (n = 05) | 0,0-2,74% | | Graft <i>et al.</i> 2008 |
| | <i>Siphonoperla ottomoogi</i> (n = 05) | 0,0-0,0% | | |
| | <i>Siphonoperla</i> (n = 10) | | 12,53- 13,04% | |

1.6. Plecoptera da Bacia do Rio Macaé

No Brasil apenas duas famílias de Plecoptera são encontradas, Perlidae e Gripopterygidae, totalizando 168 espécies (Froehlich, 2010; Zwick, 2000). Os Perlidae possuem cerca de 150 espécies descritas e são representados por quatro gêneros: *Anacroneuria* Klapálek 1909, *Kempnyia* Klapálek 1914, *Macrogynoplax* Enderlein 1909 e *Enderleina* Jewett 1960 (Froehlich, 2010). Já os Gripopterygidae possuem 39 espécies e também são representados por quatro gêneros: *Gripopteryx* (Pictet, 1841), *Guaranyperla* Froehlich 2001, *Paragripopteryx* Enderlein 1909 e *Tupiperla* Froehlich 1969 (Froehlich, 2010; Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013).

O estudo da ordem no Brasil iniciou-se com descrições realizadas por pesquisadores estrangeiros, com base em material coletado por antigos naturalistas viajantes, que depositaram muitos exemplares em museus europeus e norte americanos. Somente a partir da década de 60, o Dr. Claudio G. Froehlich iniciou seus trabalhos pioneiros, iniciando os primeiros estudos efetivos de Plecoptera no país.

Atualmente, existem 168 espécies de Plecoptera registradas para o Brasil, sendo que 40 dessas, ocorrem no Estado do Rio de Janeiro (Nessimian *et al.*, 2009; Froehlich, 2010, 2011A,B; Avelino-Capistrano *et al.*, 2013). A maior parte das espécies do Rio de Janeiro é registrada para áreas de estudo históricas, como a Serra dos Órgãos, Maciço da Tijuca e o Maciço do Itatiaia. Essas áreas foram melhor amostradas, pois eram, em parte, locais onde estudiosos mantinham suas residências de verão – como a Serra dos Órgãos – ou mesmo áreas de interesse investigativo de equipes de instituições tradicionais de pesquisa, como o Museu Nacional e do Departamento de Zoologia, ambos vinculados à Universidade Federal do Rio de Janeiro.

De acordo com Nessimian *et al.* (2009), o número de espécies ocorrentes no estado pode estar subestimado, dada à baixa amostragem de outras regiões. O Norte Fluminense é uma delas, onde até o trabalho desses autores, apenas quatro registros existiam para tal região, justamente as quatro espécies registradas para a Bacia do Rio Macaé: *Gripopteryx garbei* Navás, *Kempnyia obtusa* Klapálek, *K. serrana* (Navás) e *K. taunayi* (Navás) (Nessimian *et al.*, 2009). Um estudo ecológico realizado por Baptista *et al.* (1998) nessa mesma bacia, um total de 13 morfotipos de ninfas de plecópteros foi encontrado, demonstrando a falta de informação taxonômica para a região. Até o presente momento, nenhum levantamento taxonômico efetivo das espécies de Plecoptera foi realizado na região.

2. Objetivos



- Inventariar a fauna de Plecoptera da Bacia do Rio Macaé, Estado do Rio de Janeiro, contribuindo para o melhor conhecimento da fauna do Norte Fluminense.
- Associar machos e fêmeas, bem como suas respectivas ninfas, através da comparação das sequências do gene da subunidade I da citocromo oxidase (COI);
- Redescrever, quando necessário, as espécies de Plecoptera ocorrentes na Bacia do Rio Macaé, além de descrever possíveis espécies novas, ninfas e fêmeas associadas;
- Fornecer informação taxonômica sobre ninfas ocorrentes na Bacia do Rio Macaé, contribuindo para estudos e projetos de biomonitoramento da qualidade da água.

3. Material e Métodos



3.1. Área de Estudo

O Rio Macaé (Figura 4) nasce junto à Serra do Mar, próximo ao Pico do Tinguá (1.560 m de altitude), na Área de Proteção Ambiental de Macaé de Cima, em Nova Friburgo. É o maior rio que nasce no Estado do Rio de Janeiro, se estendendo por 136 km, desaguando no Oceano Atlântico, junto à cidade de Macaé, onde o mesmo se encontra em 7ª ordem.

Durante seu percurso, o Rio Macaé passa por diversas cidades, sendo que muitas despejam esgoto nas águas do rio, mudando gradualmente a qualidade do rio ao longo do curso. A Bacia do Rio Macaé (BRM) possui 1.765 km² e está distribuída em grande parte no município de Macaé (1.448 km²) e partes de Nova Friburgo (142 km²), Casimiro de Abreu (82 km²), Conceição de Macabu (70 km²), Rio das Ostras (11 km²) e Carapebus (11 km²) (SEMADS, 1999).

As mudanças nas características bióticas e abióticas são observadas ao longo do percurso do Rio Macaé. Na parte mais alta da bacia, o rio apresenta trechos de grande declividade, onde as margens são mais estreitas e há constância de um leito pedregoso, além de possuir áreas mais preservadas de Mata Atlântica. No trecho de Casimiro de Abreu, no bairro de Cascata, há uma queda de 30 m, chamada de Cachoeira da Fumaça. A partir da queda, a declividade diminui, até que o rio entra em um trecho onde obras de drenagem e alargamento retificam grande parte do seu percurso (Figura 5 e 6) (Jaramillo-Vila, 2010; Pereira, 2010; Rosa, 2011). A variação altitudinal entre os pontos de coleta foi de 1.103 m nas cabeceiras, a 7 m na parte baixa da Bacia do Rio Macaé.

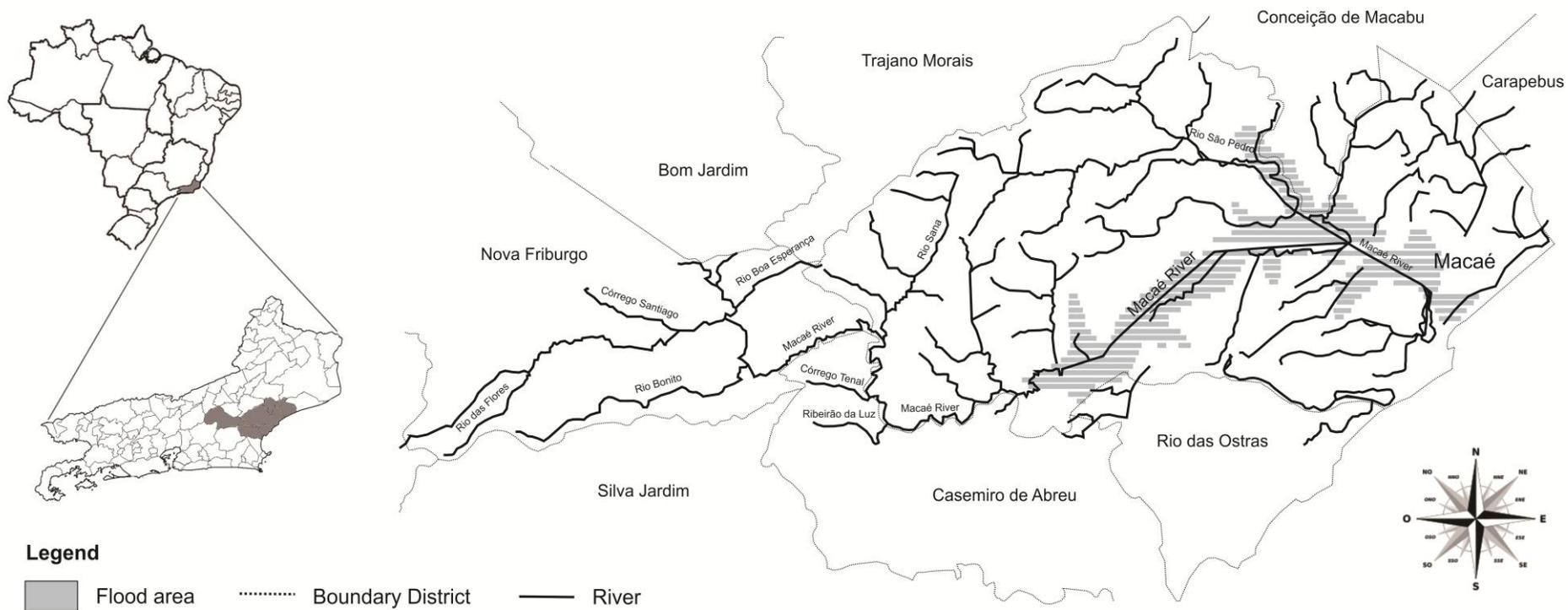


Figura 4. Mapa de delimitação da Bacia do Rio Macaé e sua localização no Estado do Rio de Janeiro, Brasil.



Figura 5. Rio Macaé. A. Trecho superior em 3^a ordem, em Macaé de Cima, Nova Friburgo; B. Trecho médio em 6^a ordem, Cachoeira da Fumaça, Cascata, Nova Friburgo; C. Trecho baixo em 6^a ordem, Casimiro de Abreu. Fonte: Acervo Fotográfico do Laboratório de Entomologia (UFRJ).



Figura 6. Rio Macaé. A. Trecho baixo em 6ª ordem, área retificada próxima à ponte da BR101; B. brejo formado nas margens do Rio Macaé, em áreas de alagamento. Fonte: Acervo Fotográfico do Laboratório de Entomologia (UFRJ).

3.2. Levantamento do Material Examinado

No presente estudo, a maior parte do material foi obtido a partir da coleta em campo, e do levantamento de material oriundo da BRM em duas coleções de referência – Coleção Entomológica Professor José Alfredo Pinheiro Dutra (DZRJ) e Coleção Entomológica do Museu Nacional (MNRJ) – onde também foi retirado material para comparação e análise molecular, e busca bibliográfica, onde catálogos e artigos foram examinados a fim de verificar material estudado por outros autores da BRM.

Durante o período de estudo, quatro estratégias de coleta foram utilizadas (Figura 7 A-D): armadilhas luminosas do tipo Luiz de Queiroz e do tipo Pensilvânia, pano branco e coleta manual. As armadilhas luminosas foram distribuídas em 106 pontos ao longo da Bacia do Rio Macaé. Junto às mesmas, ainda foi realizada coleta de adultos com o auxílio de um pano branco e coleta manual dos imaturos. Entre os pontos investigados, 24 pertenciam a trechos de primeira ordem, 25 a trechos de segunda ordem, 28 a trechos de terceira ordem, dez a trechos de quarta ordem, oito a trechos de quinta ordem e sete a trechos de sexta ordem (Tabela 2). A ordenação dos rios foi definida com base no trabalho de Strahler (1957), onde mapas dos municípios de Casimiro de Abreu, Nova Friburgo e Macaé (1: 50.000) (IBGE, 2010) foram utilizados para visualizar e classificar os rios amostrados.

As coordenadas geográficas e a altitude dos pontos foram obtidas com o auxílio de um GPS Garmin® 60CSX, e posteriormente, plotadas no programa Google Earth® (Google Inc. 2013) e verificadas junto aos mapas, a fim de confirmar a ordem do rio e o nome correto da localidade.

Ainda em campo, o material foi fixado em álcool etílico a 80%; posteriormente, em laboratório, o material foi triado e o álcool foi substituído por uma de concentração maior a fim de preservar o ADN do material.

Os coletores do material foram: Excursão I - Lumiar (13-17.xi.2008) - Jorge Luiz Nessimian (JLN), Viviani Pereira Alecrim (VPA), Inês Corrêa Gonçalves (ICG), Gabriela Abrantes Jardim (GAJ), Brunno Henrique Lanzelotti Sampaio (BHLS) e Marcia Regina de Souza (MRS); Excursão II - Macaé de Cima (28.xi-01.xii.2008): Nelson Ferreira Jr. (NFJr), VPA, Allan Paulo Moreira dos Santos (APMS), ICG, GAJ,

BHLS; Excursão III - Rio Bonito (05-09.iii.2009): JLN, VPA, Ana Lúcia Henriques Oliveira (ALHO), ICG, GAJ e BHLS; Excursão VI - Bacia do Rio São Pedro (19-23.iii.2009): JLN, VPA, ICG, GAJ, BHLS e Gisela Lefebvre (GL); Excursão V – Diversos (03-06.iv.2008): JLN, VPA, Leandro Lourenço Dumas (LLD), ICG, GAJ, BHLS; Excursão VI - Baixo Macaé (15-17.iv.2009): NFJr, VPA, ICG, GAJ, APMS; Excursão VII (12-14.ix.2009): JLN, VPA, APMS, ICG, Bruno Clarkson (BC) e Ana Luiza Pimenta (ALP); Excursão VIII - Rio Bonito de Lumiar – (29.x.01.xi.2009): JLN, LLD, ICG e BC; Excursão IX – Bacia do Rio São Pedro (09-13.ix.2010): JLN, VPA, ICG e Fernanda Avelino Capistrano (FAC); Excursão X – Sana (16-20.ix.2010): NFJr, VPA, GL e FAC; Excursão XI – Macaé de Cima/Lumiar (15-18.x.2010): Daniela Maeda Takiya (DMT), APMS, VPA e FAC; Excursão XII – Rio Bonito de Lumiar (22-25.x.2010): JLN, VPA e FAC.

A identificação das ninfas foi realizada com o auxílio de chaves de identificação publicadas por Froehlich (1984), Olifiers *et al.* (2005) e Lecci & Froehlich (2011). As ninfas foram ainda morfotipadas de acordo com características morfológicas da cabeça, tórax e abdome, incluindo a variação da cor e da ornamentação da cabeça, pronoto e mesonoto, característica de cada gênero. Os adultos foram separados inicialmente em gêneros, com o auxílio da chave de identificação proposta por Stark *et al.* (2009). As fêmeas foram morfotipadas, considerando-se a coloração e o formato da placa subgenital. Todos os morfotipos foram identificados com uma numeração, de acordo com o número de morfotipos encontrados.

Para a identificação dos machos adultos de Perlidae, o abdome de cada exemplar foi removido e submetido ao processo de diafanização em hidróxido de potássio (KOH). O material foi imerso em KOH e aquecido em um bloco térmico a 70°C durante 20 min. Posteriormente, o material foi colocado em ácido acético para neutralizar a ação do KOH. Desta forma, o material foi lavado com álcool etílico 80% e observado sob lupa para remoção dos restos de tecido do interior do abdome e da genitália. Para identificação dos exemplares de Gripopterygidae, uma vez que utiliza-se a terminália masculina, não foi necessária a diafanização do abdome, sendo mantendo o abdome intacto.



Figura 7. Métodos de coleta de adultos e imaturos durante o período de estudo. A – Armadilha do tipo Luiz de Queiroz; B – Captura de adultos no Pano Branco; C – Armadilha do tipo Pensilvânia; D – Coleta manual dos imaturos. Fonte: Acervo Fotográfico do Laboratório de Entomologia (UFRJ).

Cada conjunto de genitália + abdome foi acondicionado em um microtubo *ependorff* (1,5 mL) e preservado em álcool absoluto. Para a identificação dos Griptopterygidae, apenas o abdome foi removido (quando necessário) para melhor visualização do epiprocto (quando presente) e dos paraproctos (quando possível). Em ambos os casos, o material foi comparado às descrições originais e redescrições das espécies, a fim de realizar correta identificação do material.

O material foi depositado na Coleção Entomológica Professor José Alfredo Pinheiro Dutra (DZRJ), Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Na lista do material examinado, em cada espécie, números após a cerquilha (#) referem-se ao código do lote de depósito na coleção, os códigos ENT depois de um asterisco (*) referem-se a códigos do material testemunho na análise de DNA.

3.3. Medições

Medições foram realizadas a fim de melhor separar os morfotipos, observar variações no tamanho corporal das populações, e possibilitar a comparação com outras localidades.

Um paquímetro digital foi utilizado para a tomada das medidas da capsula cefálica (cabeça), tecas alares (nas ninfas) ou asas anteriores (adultos) e tamanho total (em ninfas de Griptopterygidae).

Assim, a medida da cabeça foi expressa pelo tamanho da cápsula cefálica, correspondente à distância dos olhos compostos. A medida da asa anterior correspondeu à distância do lóbulo anal ao ápice da asa. Nas ninfas, a medida da teca alar foi determinada pela distância do ápice da teca a parte anterior da sutura do mesonoto. Nas ninfas de Griptopterygidae, ainda foi medido o tamanho total do corpo, uma vez que nas descrições anteriores de ninfas essa informação é fornecida. Desta forma, o tamanho total é expresso pela distância entre clípeo e o tergito X. Todas as medidas se encontram expressas em milímetros (mm).

Tabela 3 - Pontos de Coleta na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil. CA. Casimiro de Abreu; CM. Conceição de Macabu; M. Macaé; NF. Nova Friburgo.

| PONTO | MUNICÍPIO | DISTRITO | SUB-BACIA | LOCALIDADE | ORDEM | COORDENADAS | | ALTITUDE |
|-------|-----------|---------------|------------------------|-------------------------------------|-------|--------------|--------------|----------|
| MC05 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Afluente do Rio Macaé | 2 | 22°25'57,6"S | 42°32'24,3"O | 1103 |
| MC07 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Afluente do Rio Macaé | 1 | 22°25'28,6"S | 42°31'55,0"O | 1063 |
| MC02 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Rio Macaé, Represa | 3 | 22°25'51,9"S | 42°32'18,9"O | 1061 |
| MC04 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Afluente do Rio Macaé | 1 | 22°25'53,3"S | 42°32'06,3"O | 1060 |
| MC1.2 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Rio Macaé | 3 | 22°25'30,6"S | 42°32'00,7"O | 1056 |
| MC03 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Rio Macaé, Ponte | 1 | 22°25'52,0"S | 42°32'14,3"O | 1055 |
| MC1.3 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Rio Macaé | 3 | 22°25'18,1"S | 42°31'45,5"O | 1034 |
| MC06 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Afluente do Rio Macaé | 2 | 22°25'33,6"S | 42°31'56,4"O | 1023 |
| MC01 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Córrego Verdum | 3 | 22°25'27,5"S | 42°32'08,4"O | 1008 |
| MC1.1 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Afluente do Córrego Verdum | 1 | 22°25'27,5"S | 42°32'08,4"O | 1008 |
| MC11 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Afluente do Rio Macaé | 1 | 22°23'35,0"S | 42°29'52,9"O | 957 |
| MC09 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Afluente do Rio Macaé | 2 | 22°23'27,9"S | 42°29'41,2"O | 956 |
| MC12 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Afluente do Rio Macaé | 2 | 22°23'39,0"S | 42°30'08,1"O | 956 |
| MC08 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Rio Macaé, Ponte | 4 | 22°23'29,7"S | 42°29'06,0"O | 944 |
| MC10 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Rio Macaé | 4 | 22°23'34,2"S | 42°29'43,1"O | 942 |
| RM2 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Rio Macaé | 4 | 22°24'46,0"S | 42°31'16,2"O | 935 |
| MC13 | NF | Macaé de Cima | Macaé (superior) | Afluente do Rio Macaé | 2 | 22°24'08,0"S | 42°30'49,0"O | 971 |
| RB28 | NF | Lumiar | Macaé (superior) | Rio Santiago | 3 | 22°21'06,4"S | 42°22'51,0"O | 806 |
| RB27 | NF | Lumiar | Macaé (superior) | Afluente do Rio Macaé | 1 | 22°21'05,6"S | 42°22'31,6"O | 760 |
| RM05 | NF | Lumiar | Macaé (superior) | Córrego do Poço Feio | 2 | 22°21'04,7"S | 42°20'02,7"O | 594 |
| L10 | NF | Lumiar | Macaé (médio-superior) | Afluente do Córrego Santa Margarida | 1 | 22°20'10,5"S | 42°17'34,2"O | 970 |
| L11 | NF | Lumiar | Macaé (médio-superior) | Afluente do Córrego Santa Margarida | 1 | 22°20'00,0"S | 42°17'24,1"O | 1005 |
| L01 | NF | Lumiar | Macaé (médio-superior) | Córrego Santa Margarida | | 22°20'00,1"S | 42°17'24,1"O | 1002 |
| L12 | NF | Lumiar | Macaé (médio-superior) | Afluente do Córrego Santa Margarida | 1 | 22°20'23,7"S | 42°17'50,2"O | 859 |
| L09 | NF | Lumiar | Macaé (médio-superior) | Afluente do Córrego Santa Margarida | 1 | 22°20'35,5"S | 42°18'00,0"O | 844 |
| L07 | NF | Lumiar | Macaé (médio-superior) | Afluente do Rio Macaé | 2 | 22°21'46,7"S | 42°18'36,4"O | 604 |
| RB19 | NF | Cascata | Macaé (médio-superior) | Afluente do Rio Macaé | 2 | 22°23'15,0"S | 42°16'16,3"O | 600 |
| L06 | NF | Lumiar | Macaé (médio-superior) | Rio Macaé | 5 | 22°21'47,3"S | 42°18'37,6"O | 600 |

Tabela 3 - Pontos de Coleta na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil (Continuação). CA. Casemiro de Abreu; CM. Conceição de Macabu; M. Macaé; NF. Nova Friburgo.

| PONTO | MUNICÍPIO | DISTRITO | SUB-BACIA | LOCALIDADE | ORDEM | COORDENADAS | | ALTITUDE |
|--------|-----------|----------------------|------------------------|--|-------|--------------|--------------|----------|
| L08 | NF | Lumiar | Macaé (médio-superior) | Afluente do Rio Macaé | 2 | 22°21'33,5"S | 42°18'44,9"O | 618 |
| RB13 | NF | Lumiar | Macaé (médio-superior) | Rio Macaé | 6 | 22°23'37,1"S | 42°18'20,6"O | 515 |
| RB18 | NF | Cascata | Macaé (médio-superior) | Córrego da Cascata | 3 | 22°21'50,1"S | 42°15'33,0"O | 413 |
| RB14 | CA | Cascata | Macaé (médio-superior) | Rio Macaé | 6 | 22°22'03,2"S | 42°15'27,8"O | 370 |
| RB16 | NF | Cascata | Macaé (médio-superior) | Rio Macaé, Cachoeira da Fumaça | 6 | 22°21'56,1"S | 42°15'13,1"O | 368 |
| RB29 | CA | | Macaé (médio-inferior) | Afluente do Rio Macaé, Cachoeira de Laje | 1 | 22°22'07,8"S | 42°15'02,6"O | 341 |
| RB15 | NF | Cascata | Macaé (médio-inferior) | Afluente do Rio Macaé | 6 | 22°21'52,3"S | 42°14'42,7"O | 322 |
| RB17 | NF | Cascata | Macaé (médio-inferior) | Afluente do Rio Macaé | 1 | 22°21'54,9"S | 42°15'20,5"O | 391 |
| RB32 | CA | | Macaé (inferior) | Rio Tenal | 3 | 22°24'50,5"S | 42°13'11,1"O | 170 |
| RB33 | CA | Figueira Branca | Macaé (inferior) | Afluente do Córrego da Luz | 2 | 22°25'47,7"S | 42°12'17,2"O | 90 |
| MB07 | M | Córrego do Ouro | Macaé (inferior) | Afluente do Córrego do Ouro | 1 | 22°17'14,2"S | 42°00'14,7"O | 81 |
| RB34 | CA | Figueira Branca | Macaé (inferior) | Córrego da Luz | 4 | 22°25'48,2"S | 42°12'14,9"O | 77 |
| RB35 | M | Cachoeiros de Macaé | Macaé (inferior) | Rio Macaé | 6 | 22°25'49,5"S | 42°12'06,6"O | 68 |
| MB08 | M | Córrego do Ouro | Macaé (inferior) | Córrego do Ouro | 4 | 22°17'14,2"S | 42°00'14,7"O | 24 |
| MB06 | M | | Macaé (inferior) | Rio Macaé | 6 | 22°17'42,9"S | 41°52'48"O | 7 |
| L04 | NF | Lumiar | Rio Boa Esperança | Córrego Boa Vista, Cachoeira Indiana Jones | 3 | 22°19'02,1"S | | 900 |
| L02 | NF | Lumiar | Rio Boa Esperança | Córrego da Pedra Vermelha | 3 | 22°18'51,3"S | 42°17'46,1"O | 850 |
| L05 | NF | Lumiar | Rio Boa Esperança | Afluente do Córrego Boa Vista | 3 | 22°23'57,9"S | 42°19'14,6"O | 583 |
| RF02 | NF | Macaé de Cima | Rio das Flores | Rio das Flores | 2 | 22°25'36,6"S | 42°30'26,4"O | 1062 |
| RF03 | NF | Macaé de Cima | Rio das Flores | Rio das Flores | 3 | 22°25'07,1"S | 42°29'54,7"O | 993 |
| RF01 | NF | Macaé de Cima | Rio das Flores | Rio das Flores | 3 | 22°24'36,3"S | 42°29'40,6"O | 971 |
| RB21 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Afluente do Rio Bonito | 3 | 22°24'15,3"S | 42°26'46,2"O | 863 |
| RB01 | NF | Macaé de Cima | Rio Bonito | Rio Bonito | 2 | 22°24'18,8"S | 42°27'55,3"O | 1038 |
| RB21.1 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Riacho afluente do Rio St. Antônio | 1 | 22°24'16,7"S | 42°26'23,5"O | 844 |
| RB25 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Afluente do Córrego Borás | 3 | 22°23'17,6"S | 42°21'57,6"O | 838 |
| RB22 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Córrego do Sertão | 3 | 22°24'54,7"S | 42°25'22,3"O | 810 |

Tabela 3 - Pontos de Coleta na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil (Continuação). CA. Casemiro de Abreu; CM. Conceição de Macabu; M. Macaé; NF. Nova Friburgo.

| PONTO | MUNICÍPIO | DISTRITO | SUB-BACIA | LOCALIDADE | ORDEM | COORDENADAS | | ALTITUDE |
|-------|-----------|----------------------|------------|----------------------------|-------|--------------|--------------|----------|
| RB23 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Rio Bonito | 4 | 22°13'47,6"S | 42°08'04,7"O | 803 |
| RB24 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Afluente do Rio Bonito | 1 | 22°13'47,6"S | 42°08'04,7"O | 803 |
| RB36 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Afluente do Rio Bonito | | 22°24'27,7"S | 42°25'05,1"O | 792 |
| RB20 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Afluente do Rio Bonito | 1 | 22°24'39,2"S | 42°24'01,7"O | 790 |
| RB12 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Rio Bonito | 3 | 22°24'46,5"S | 42°24'13,3"O | 786 |
| RB03 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Afluente do Toca da Onça | 1 | 22°23'23,7"S | 42°20'04,8"O | 716 |
| RB3.1 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Córrego das Paineiras | 3 | 22°23'30,6"S | 42°19'57,7"O | 708 |
| RB04 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Córrego das Paineiras | 3 | 22°23'27,2"S | 42°20'03,6"O | 694 |
| RB07 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Afluente do Rio Bonito | 1 | 22°24'37,9"S | 42°20'42,2"O | 676 |
| RB02 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Córrego dos Patos | 2 | 22°24'45,5"S | 42°19'10,6"O | 670 |
| RB08 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Afluente do Rio Bonito | 3 | 22°24'38,2"S | 42°20'38,6"O | 669 |
| RB09 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Afluente do Rio Bonito | 2 | 22°24'31,5"S | 42°20'09,6"O | 658 |
| RB06 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Rio Bonito | 5 | 22°24'38,5"S | 42°20'40,7"O | 656 |
| RB10 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Córrego dos Patos | 3 | 22°24'08,6"S | 42°19'14,2"O | 644 |
| RB05 | NF | Rio Bonito de Lumiar | Rio Bonito | Rio Bonito | 5 | 22°24'05,6"S | 42°19'17,8"O | 608 |
| SA17 | M | Sana | Rio Sana | Afluente do Rio Sana | 1 | 22°15'26,8"S | 42°10'37,7"O | 718 |
| SA16 | M | Sana | Rio Sana | Afluente do Rio Sana | 2 | 22°15'53,5"S | 42°10'38,8"O | 645 |
| SA12 | M | Sana | Rio Sana | Córrego Alegre | 3 | 22°15'38,8"S | 42°10'08,2"O | 573 |
| SA08 | M | Sana | Rio Sana | Afluente do Córrego Alegre | 2 | 22°15'26,6"S | 42°09'52,6"O | 569 |
| SA07 | M | Sana | Rio Sana | Rio Sana | 3 | 22°14'42,3"S | 42°09'03,2"O | 567 |
| SA09 | M | Sana | Rio Sana | Córrego Alegre | 3 | 22°15'25,3"S | 42°09'36,1"O | 564 |
| SA10 | M | Sana | Rio Sana | Rio Sana | 4 | 22°16'06,8"S | 42°09'23,4"O | 478 |
| SA11 | M | Sana | Rio Sana | Rio Sana | 4 | 22°16'15,9"S | 42°09'20,9"O | 459 |
| SA04 | M | Sana | Rio Sana | Afluente do Rio da Glória | 1 | 22°19'58,0"S | 42°10'20,4"O | 419 |
| SA05 | M | Sana | Rio Sana | Rio da Glória | 2 | 22°19'53,0"S | 42°10'16,7"O | 398 |
| SA14 | M | Sana | Rio Sana | Córrego da Ilha | 2 | 22°20'41,8"S | 42°11'03,7"O | 381 |
| SA03 | M | Sana | Rio Sana | Rio do Peito do Pombo | ? | 22°19'2,81"S | 42°11'9,47"O | 376 |

Tabela 3 - Pontos de Coleta na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil (Continuação). CA. Casemiro de Abreu; CM. Conceição de Macabu; M. Macaé; NF. Nova Friburgo.

| PONTO | MUNICÍPIO | DISTRITO | SUB-BACIA | LOCALIDADE | ORDEM | COORDENADAS | ALTITUDE |
|-------|-----------|---------------------|---------------|-------------------------------|-------|---------------------------|----------|
| SA13 | M | Sana | Rio Sana | Afluente do Rio Boa Sorte | 2 | 22°20'34,7"S 42°11'02,6"O | 373 |
| SA01 | M | Sana | Rio Sana | Afluente do Sana | 2 | 22°19'17,7"S 42°10'58,0"O | 313 |
| SA06 | M | Sana | Rio Sana | Rio do Peito do Pombo | 5 | 22°19'11,7"S 42°10'57,3"O | 310 |
| SA02 | M | Sana | Rio Sana | Rio Sana | 5 | 22°19'20,2"S 42°10'51,9"O | 306 |
| SA15 | M | Sana | Rio Sana | Córrego do Colégio | 4 | 22°20'23,4"S 42°12'13,5"O | 294 |
| SP05 | M | Crubixais de Cima | Rio São Pedro | Rio Curubixás | 3 | 22°11'38,1"S 42°04'26,1"O | 523 |
| SP06 | M | Crubixais de Cima | Rio São Pedro | Afluente do Rio Curubixás | 1 | 22°11'38,4"S 42°04'46,1"O | 576 |
| SP07 | M | Glicério | Rio São Pedro | Córrego Boa Sorte | 2 | 22°14'30,4"S 42°05'14,1"O | 285 |
| SP04 | M | Frade | Rio São Pedro | Afluente do Rio São Pedro | 2 | 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O | 470 |
| SP03 | M | Frade | Rio São Pedro | Rio São Pedro | 3 | 22°13'45,1"S 42°07'39,6"O | 426 |
| SP14 | M | Frade | Rio São Pedro | Tributário do Rio Macabu | 1 | 22°13'26,6"S 42°06'27,2"O | 392 |
| SP15 | M | Frade | Rio São Pedro | Rio Macabu | 2 | 22°13'51,1"S 42°06'03,9"O | 274 |
| SP02 | M | Frade | Rio São Pedro | Rio das Pedras | 4 | 22°14'28,0"S 42°06'05,7"O | 262 |
| SP08 | M | Duas Barras | Rio São Pedro | Córrego Duas Barras | 3 | 22°15'52,1"S 42°03'44,0"O | 217 |
| SP09 | M | Duas Barras | Rio São Pedro | Afluente do Córrego Boa Sorte | 2 | 22°15'21,9"S 42°03'45,4"O | 198 |
| SP13 | M | Duas Barras | Rio São Pedro | Rio Duas Barras | 3 | 22°14'41,2"S 42°03'30,2"O | 146 |
| SP11 | M | Trapiche | Rio São Pedro | Afluente do São Pedro | 2 | 22°13'45,7"S 42°02'38,6"O | 111 |
| SP10 | M | Trapiche | Rio São Pedro | Rio São Pedro | 5 | 22°14'03,5"S 42°01'06,2"O | 102 |
| SP12 | M | Duas Barras | Rio São Pedro | Afluente do Rio Duas Barras | 1 | 22°15'10,1"S 42°03'50,2"O | 88 |
| SP01 | M | Glicério | Rio São Pedro | Rio São Pedro, Pousada Avilã | 5 | 22°14'17,8"S 42°03'32,8"O | 63 |
| MB01 | CM | Conceição de Macabu | Rio São Pedro | Córrego das Aduelas | 5 | 22°11'10,4"S 41°49'09,9"O | 24 |
| MB02 | CM | Conceição de Macabu | Rio São Pedro | Afluente do Córrego Aduelas | 1 | 22°12'11,8"S 41°50'55,4"O | 15 |
| MB03 | CM | Conceição de Macabu | Rio São Pedro | Córrego das Aduelas | 3 | 22°12'27,9"S 41°50'24,2"O | 14 |
| MB05 | CM | Conceição de Macabu | Rio São Pedro | Rio São Pedro | 6 | 22°16'37,7"S 41°52'22,8"O | 8 |

3.4. Metodologia Molecular

3.4.1. Extração de DNA

Para realizar a associação molecular foram separados dois machos identificados para cada espécie e dois indivíduos representando cada morfotipo de fêmeas e ninfas, para que desse material pudesse ser realizada a extração do DNA. Dessa forma, o material foi separado em criotubos conservado em refrigerador a fim de preservar por mais tempo o DNA. Uma lista com informações sobre todos os espécimes-testemunhos utilizados no presente estudo encontra-se no ANEXO I.

Uma das pernas de cada exemplar e um pouco da musculatura associada foram retirados de cada espécime para a extração. A extração foi conduzida com os reagentes do *kit* de extração da Qiagen® – *Dneasy® Blood & Tissue kit*, seguindo o protocolo proposto pelo mesmo, e a fim de evitar a maceração do material, algumas modificações foram realizadas, como o aumento de tempo de incubação durante a lise tecidual para 48h. Cada produto final, uma solução de DNA genômico foi identificado com um código (ENT + número de referência), o mesmo associado ao exemplar do qual o material foi extraído, e foi armazenado sob refrigeração (-18 °C), a fim de preservar por mais tempo o material, permitindo o uso do mesmo durante o período de estudo. A perna utilizada para a extração, ao final do processo, foi acondicionada junto ao exemplar do qual a mesma foi retirada.

3.4.2. Amplificação e Sequenciamento

A amplificação do DNA obtido na extração foi realizada através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, *Polymerase Chain Reaction*). A PCR envolve a síntese enzimática *in vitro* de segmentos de DNA, onde a partir de uma enzima sintética *DNA* polimerase, é possível a realização de milhões de cópias do trecho do DNA estudado (Mullis *et al.*, 1986). Para tanto, a reação necessita da utilização de um par de iniciadores (*primers*), isto é, sequências pequenas complementares às fitas de DNA que delimitarão a sequência alvo do estudo.

Tabela 4. Lista de iniciadores usados no presente estudo e a referência bibliográfica de origem (D – iniciador direto; R – iniciador reverso).

| Iniciador | Sequência do iniciador (5'→3') | Referência |
|----------------------|---------------------------------------|---------------------------|
| LCO-1490 (D) | GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG | Folmer <i>et al.</i> 1994 |
| C1-J-1718 (D) | GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCC | Simon <i>et al.</i> 1994 |
| HCO-2198 (R) | TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA | Folmer <i>et al.</i> 1994 |

A solução de DNA extraído foi submetida a uma PCR, utilizando reações de 25µl, as quais eram compostos por: 1µl de cada *primer*, (10mM) 1-2µl DNA extraído, 5µl de tampão *green* da *Taq* (Promega), 0,5µl dNTPs (10mM, Invitrogen), 4 µl MgCl₂ (25mM, Promega), e 0,1µl *Taq polymerase* (5 U/ µl, Promega) diluídos em 11,5µl de H₂O *Milli-Q*®. A mistura de PCR foi então submetida a termocicladores automáticos (Verediti™ thermal Cyler, Applied Biosystems®), sob as seguintes condições: 1) desnaturação inicial a 94 °C por 3 min; 2) 35-50 ciclos de desnaturação a 94 °C por 1 min, anelamento a 50 °C ou 51 °C por 1 min e extensão a 72 °C por 2 min; 3) extensão final a 72 °C por 7 min.

Os produtos resultantes da PCR foram submetidos a uma eletroforese utilizando 3 µl da solução resultante em gel de agarose 1%, a fim de verificar a amplificação dos fragmentos de COI, bem como estimar o tamanho e a concentração da reação. Desta forma, o produto amplificado foi comparado aos fragmentos presentes em uma solução escada (DNA ladder 100 pb – Promega). A reação de eletroforese foi realizada durante 30 min (100 V) e os produtos amplificados foram visualizados em um transluminador com radiação ultravioleta, onde foi adicionado aos produtos amplificados 1µl de GelRed™ (diluído 1.000x) (Figura 8). Os produtos de PCR que obtiveram resposta positiva foram enviados para purificação e sequenciamento na empresa Macrogen Inc. com sede em Seul, Coréia do Sul.

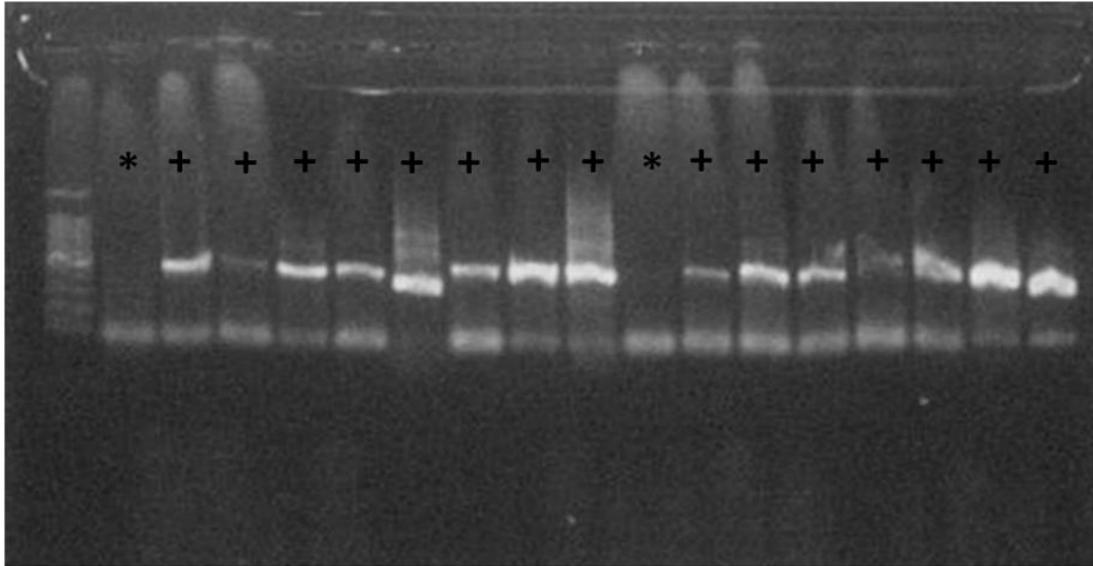


Figura 8. Eletroforese em gel de agarose sob iluminação UV, apresentando bandas de DNA coradas com GelRed™. A primeira fileira corresponde à solução escada e as seguintes aos produtos amplificados na PCR do COI. As amostras marcadas com asterisco (*) correspondem aos produtos de PCR em que houve falha de amplificação; as marcadas com um sinal positivo (+) correspondem aos produtos amplificados com sucesso.

3.4.3. Alinhamento e análises das sequências

Os eletroferogramas enviados pela MacroGen Inc. foram visualizados e um consenso das fitas complementares de cada amostra foi produzido e ajustado manualmente no programa Sequencher 4.14 (Gene Codes, USA). Foram exportados no formato FASTA e foram conferidas contra a base de dados do GenBank usando a ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (Altschul *et al.*, 1997) a fim de verificar se não houve contaminação durante o procedimento do PCR, amplificando desta forma, sequência de outro animal, além de verificar se eram sequências de Plecoptera.

As sequências foram alinhadas no Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) utilizando o programa MEGA 5.1 (Tamura *et al.*, 2011). Com base no alinhamento, foi elaborada uma matriz de distâncias entre as sequências calculadas no programa MEGA 5.1, com base no modelo de evolução Kimura-2-parâmetros (K2P).

Modelos evolutivos, como o K2P, são baseados nas taxas de mutação encontradas em diferentes genes, que podem ocorrer de forma espontânea ou através de agentes mutagênicos. Essas taxas de mutação parecem variar muito entre genes e genomas, sendo afetadas por muitos fatores, tais como a posição cromossômica, conteúdo de G + C, a proximidade das bases e eficiência dos sistemas de reparo das cadeias de DNA principais durante a replicação e transcrição (Lió & Goldman, 1998). Uma mutação ocorre quando há adição, subtração ou substituição de bases de nucleotídeos.

Existem dois tipos de substituições (Meyer, 2005): transições, quando uma purina (adenina e guanina) é substituída por outra purina ou uma pirimidina (citosina e timina) por outra pirimidina; e transversão, quando há a substituição de uma pirimidina por purina ou vice-versa (Netto & Menck, 2001) (Figura 9). Entre espécies próximas, a razão de transições e transversões apresenta-se alta ou infinita, dado o número baixo de transversões, e uma vez que as sequências começam a divergir uma das outras, o número de transversões vai aumentando em relação ao de transições (Russo *et al.*, 2001). Nesse contexto, o modelo K2P leva em consideração esse desvio na direção das transições, isto é, ele considera maior a probabilidade de uma purina ser substituída por outra purina, do que uma purina ser substituída por uma pirimidina.

A matriz de distâncias K2P foi submetida a uma análise de agrupamento pelo método do *neighbor joining* (NJ). Nessa análise, o algoritmo busca uma árvore com a menor soma total dos ramos, onde o cálculo do tamanho dos ramos é feito com base nas distâncias entre as sequências (Russo *et al.*, 2001).

Valores de *bootstrap* com base em 1.000 pseudoréplicas foram calculados para avaliar a sustentação de cada ramo da topologia gerada. Tal teste é realizado com base na reamostragem com reposição da matriz de dados e análise dessas matrizes pseudoreplicadas. Desta forma, ao final das 1.000 pseudoréplicas, cada uma das árvores-réplicas será comparada com a árvore gerada e o valor do *bootstrap* será a porcentagem de vezes que o mesmo ramo original foi recuperado nas árvores-réplicas (Russo *et al.*, 2001).

Uma matriz de distâncias intra- e interespecíficas foi gerada no programa Mega 5.1 para cada análise de NJ, a fim de verificar as distâncias entre as espécies e

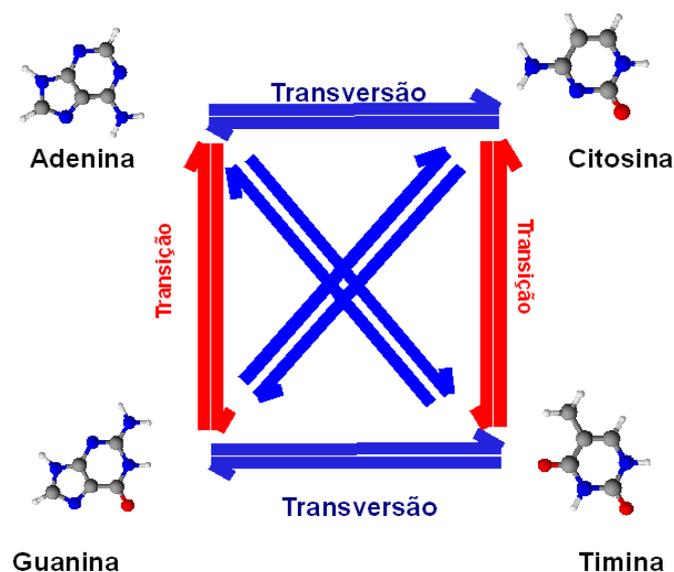


Figura 9 – Tipos de substituição de nucleotídeos – transversões e transições. Fonte: Vera, 2010.

espécimes estudados. Os limites das variações intra- e interespecíficas para cada gênero foram estabelecidos com base em machos identificados pela genitália.

3.5. Imagens e fotografias

3.5.1. Desenhos

Os desenhos foram realizados em uma câmara clara acoplada ao microscópio estereoscópio Leica MV75 e também a partir de fotografias capturadas por uma câmera Nikon Coolpix P500. Em ambos os casos, as imagens foram vetorizadas no programa Corel DRAW X3.

3.5.2. Fotografias

As fotografias dos exemplares foram obtidas a partir de um microscópio estereoscópio Leica MZ16 com uma câmera digital Leica DFC 420 acoplada. As imagens foram tratadas com o programa Auto-Montage® e o Programa IM50 Leica e

posteriormente, as mesmas ainda receberam tratamento no programa Adobe Photoshop CS6 (64bit).

3.5.2. Eletromicrografias

As eletromicrografias de varredura foram realizadas a fim de buscar novos caracteres morfológicos que auxiliassem na separação e descrição das ninfas e fêmeas. Desta forma, duas ninfas e uma fêmea de cada exemplar (quando possível) foram separadas para esse procedimento.

Em virtude das mesmas estarem preservadas em álcool etílico a 98%, o material foi re-hidratado em uma série alcoólica de 70%, 50%, 30% e 15%, por dez minutos. Posteriormente, o material foi lavado em tampão de cacodilato de sódio ($C_2H_7AsO_2Na$) pH 7.2 por 10 minutos e fixados em glutaraldeído ($C_5H_8O_2$) a 2,5% por 1 hora; o material foi então novamente lavado em tampão de cacodilato de sódio e pós-fixado em tetróxido de ósmio (OsO_4) a 1% por 1 hora. Após fixado, o material foi então lavado novamente em tampão, novamente desidratado em uma série alcoólica de concentração crescente e então submetido ao ponto crítico no sistema Balzers. O ponto crítico é uma etapa de secagem onde todo o etanol da amostra é retirado através de sucessivas injeções de CO_2 líquido até a remoção total do mesmo (Dedavid *et al.*, 2007). Por fim, o material foi arranjado em suportes metálicos e cobertos com uma camada de 20-30 mm de ouro-paládio (Au-Pd).

O material foi visualizado em um Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL 6390LV da Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

4. Resultados e Discussão



Nesta seção são apresentados os resultados obtidos no estudo dos plec6pteros da Bacia do Rio Maca6. A primeira parte dos resultados contempla a parte referente 6s an6lises moleculares, tais como associa66es e delimita66o de esp6cies. A segunda parte trata dos resultados do levantamento das esp6cies, tais como dados de distribu66o, morfologia e descri66o de t6xons novos bem como informa666es sobre a associa66o molecular de cada esp6cie.

Durante o levantamento de esp6cimes em campo e na an6lise da literatura, foram encontrados um total de 67 morfotipos, gerados com base na identifica66o e morfotipagem do material e seis registros obtidos a partir da an6lise da literatura. Com base no levantamento de material da Cole66o Entomol6gica Professor Jos6 Alfredo Pinheiro Dutra, uma nova esp6cie foi encontrada da BRM, da qual n6o houve recaptura durante as coletas. Novas esp6cies e novos registros de outras localidades tamb6m foram encontrados durante o levantamento do material da cole66o, entretanto, estes dados n6o s6o tratados nesta tese, apenas quando varia666es foram observadas ou quando associadas pelo m6todo molecular. Uma lista com informa666es sobre o material adicional n6o associado com exemplares da BRM 6 apresentada no ANEXO II.

A Tabela 5 apresenta o n6mero de morfotipos encontrados com base na morfologia de machos, f6meas e ninfas, e submetido 6 an6lise molecular. A partir das an6lises moleculares alguns morfotipos foram agrupados, havendo redu66o do n6mero inicial. F6meas e ninfas n6o associadas foram renomeadas e descritas no final de seu respectivo g6nero e coment6rios foram feitos sobre sua morfologia e desenvolvimento no trabalho taxon6mico e molecular.

Tabela 5 - Número de morfotipos encontrados com base na morfologia de machos, fêmeas e ninfas de Plecoptera na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil.

| Táxon | Número de morfotipos | | | Total |
|----------------------------------|----------------------|----|--------|-------|
| | ♂ | ♀ | Ninfas | |
| Gripopterygidae | | | | |
| <i>Gripopteryx</i> Pictet | 3 | 3 | 4 | 10 |
| <i>Guaranyperla</i> Froehlich | - | - | 1 | 1 |
| <i>Paragripopteryx</i> Enderlein | 3 | - | 1 | 4 |
| <i>Tupiperla</i> Froehlich | 4 | 1 | 1 | 6 |
| Perlidae | | | | |
| <i>Anacroneuria</i> Klapálek | 7 | 11 | 11 | 29 |
| <i>Kempnyia</i> Klapálek | 7 | 3 | 7 | 17 |
| <i>Macrogynoplax</i> Enderlein | - | - | 1 | 1 |

4.1. IDENTIFICAÇÃO DE NINFAS E FÊMEAS DE PLECOPTERA COM BASE EM SEQUÊNCIAS DE DNA

4.1.1. GRIPOPTERYGIDAE

No presente estudo, dada a baixa amostragem de espécimes da família Gripopterygidae, optou-se por analisá-los em uma única árvore, que incluiu mais exemplares de outras localidades do que nas análises feitas para *Anacroneuria* e *Kempnyia*. Desta forma, a análise de NJ das sequências de COI de 33 espécimes de Gripopterygidae resultou em 19 linhagens distintas bem suportadas pelo *bootstrap* (Figura 10). Infelizmente, apenas um clado bem suportado incluiu machos coespecíficos identificados através da terminália masculina foi obtido. A distância entre esses machos foi 1,9% para *Tupiperla tessellata* (Brauer) ($n = 2$). Devido à baixa amostragem de indivíduos, o valor de corte para a máxima divergência intraespecífica acabou sendo delimitado com base na divergência de 4,1% entre uma fêmea (ENT570) e um macho (ENT588) de *Gripopteryx reticulata* Brauer, uma vez que se trata de uma espécie muito bem delimitada e distinta pela morfologia das asas e das genitálias masculina e feminina (Froehlich, 1990; Lecci & Froehlich, 2011).

As distâncias par-a-par corrigidas pelo modelo K2P são dadas no ANEXO III. As divergências intraespecíficas dentro dos gêneros de Gripopterygidae variaram de 0,0

a 4,1% para *Gripopteryx* e 0,0 a 5,0% para *Tupiperla*, e as divergências interespecíficas variaram de 3,3% a 23,9%. As divergências intraespecíficas nas espécies de Gripopterygidae estudadas são apresentadas na Tabela 6. As ninfas e fêmeas coletadas na Bacia do Rio Macaé foram associadas a machos adultos das seguintes espécies: *Gripopteryx cf. cancellata* (Pictet), *G. coruja* Froehlich, *G. garbei* (Pictet), *G. reticulata* e *Tupiperla tessellata*.

Tabela 6 - Divergências intraespecíficas encontradas para espécies de Gripopterygidae da Bacia do Rio Macaé (*) e outras regiões.

| Táxons | Divergências | | | Número de Exemplares |
|-----------------------------|--------------|--------|----------------------|----------------------|
| | Mínima | Máxima | Média | |
| <i>Guaranyperla</i> | - | - | 0,5% (<i>n</i> = 2) | 2 |
| <i>Gripopteryx coruja</i> * | - | - | 0,2% (<i>n</i> = 2) | 2 |
| <i>G. garbei</i> * | 0% | 0,5% | 0,2% (<i>n</i> = 3) | 3 |
| <i>G. juetah</i> | -- | - | 0,5% (<i>n</i> = 2) | 2 |
| <i>G. maculosa</i> | - | - | 1,2% (<i>n</i> = 2) | 2 |
| <i>G. reticulata</i> * | 1,9% | 4,1% | 3,0% (<i>n</i> = 3) | 3 |
| <i>Gripopteryx sp.1</i> * | - | - | 1,2% (<i>n</i> = 2) | 2 |
| <i>Tupiperla modesta</i> | - | - | 0,2% (<i>n</i> = 2) | 2 |
| <i>T. tessellata</i> * | 0% | 1,9% | 1,0% (<i>n</i> = 4) | 4 |
| <i>T. umbya</i> | - | - | 0,0% (<i>n</i> = 2) | 2 |

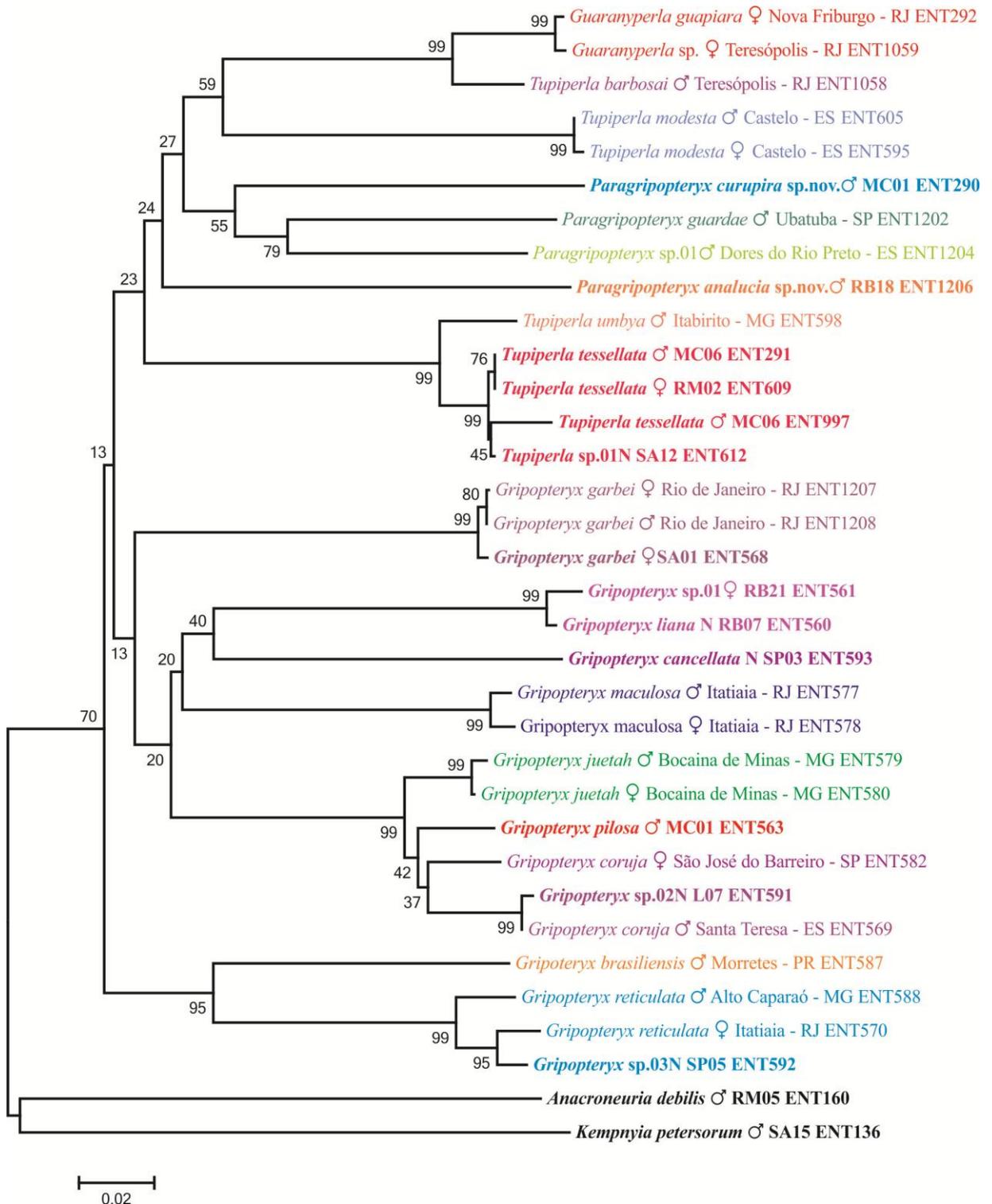


Figura 10. Árvore obtida através do *Neighbor-joining* de seqüências de COI (471bp) de Gripopterygidae pelo modelo K2P. Os espécimes de Gripopterygidae estão coloridos de acordo com a espécie e os que estão em negrito foram coletados na Bacia do Rio Macaé.

4.1.2. PERLIDAE

4.1.2.1. *Anacroneuria Klapálek*

A análise de NJ das sequências de COI de cinquenta e três espécimes de *Anacroneuria* resultaram em dezoito linhagens genéticas distintas monofiléticas e bem suportadas pelo *bootstrap* (Figura 11). Cinco dessas linhagens incluíram pelo menos machos coespecíficos identificados através da genitália masculina. As divergências genéticas entre os machos foram de no máximo 0% para *A. boraceiensis* Froehlich ($n = 2$), 4,6% para *A. debilis* (Pictet) ($n = 4$), 0,1% para *A. mantiqueirae* Froehlich ($n = 2$), e 0,7% para *Anacroneuria* sp. 01♂ ($n = 2$). Nesse sentido, considerando as divergências intraespecíficas encontradas para *Anacroneuria*, e assumindo o valor encontrado para machos identificados de *A. debilis* como potencialmente máximo para divergências intraespecíficas, linhagens monofiléticas que representassem espécies distintas foram delimitadas (representadas por diferentes cores na Figura 11).

As divergências genéticas corrigidas pelo modelo K2P entre os pares de indivíduos de *Anacroneuria* e os grupos externos são apresentadas no ANEXO III. Com base na delimitação das espécies acima, foram encontradas em *Anacroneuria* mínimas divergências intraespecíficas que variaram de 0,0 a 1,0% e máximas divergências intraespecíficas que variaram de 1,5 a 4,9%. As divergências intraespecíficas nas espécies de *Anacroneuria* estudadas são apresentadas na Tabela 7. Entre todas as espécies de *Anacroneuria* estudadas, as divergências interespecíficas variaram de 7,8% a 25,3% (média = 16,3%).

Dezoito linhagens foram encontradas, onde 12 ocorrem na Bacia do Rio Macaé. No entanto, dessas linhagens, três são representadas somente por ninfas, duas somente por fêmeas e, *A. flintorum* Froehlich e *A. itatiaiensis* Baldin, Bispo & Novaes estão representados somente por um macho cada. Assim, cinco linhagens incluíram ninfas e/ou fêmeas que puderam ser associadas a machos adultos e identificadas em nível específico. Dessa forma, dentre as espécies ocorrentes na Bacia do Rio Macaé, ninfas e fêmeas foram associadas a machos das seguintes espécies: *A. boraceiensis*, *A. debilis*, *A. ipiau* sp. nov., *A. mantiqueirae*, e *A. toriba* Froehlich.

Tabela 7 - Divergências intraespecíficas encontradas para espécies de *Anacroneuria* da Bacia do Rio Macaé (*) e outras regiões no Brasil representadas por mais de um espécime neste estudo.

| Táxons | Divergências | | Média (n) | Distribuição dos espécimes |
|---------------------------------|--------------|--------|--------------|---|
| | Mínima | Máxima | | |
| <i>A. boraceiensis</i> * | 1,0 | 2,4 | 1,7% (n = 4) | São José do Barreiro (SP), Carajás (PA), Nova Friburgo (RJ) |
| <i>A. debilis</i> * | 0,0 | 4,9 | 1,9 (n = 12) | Itatiaia (RJ), Macaé (RJ), Nova Friburgo (RJ) |
| <i>A. mantiqueirae</i> * | 0,0 | 1,5 | 0,6 (n = 6) | Nova Friburgo (RJ) |
| <i>A. ipiaú sp. nov.</i> * | 0,0 | 4,1 | 1,5% (n = 6) | Nova Friburgo (RJ), Macaé (RJ), Paraty (RJ) |
| <i>A. toriba</i> * | 0,0 | 1,7 | (n = 2) | Nova Friburgo (RJ) |
| <i>Anacroneuria</i> sp.12♀ | 0,0 | 0,2 | 0,1 (n = 2) | São José do Barreiro (SP) |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM01♀* | 0,0 | 0,0 | 0,0 (n = 4) | Nova Friburgo (RJ) |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM02N* | 0,0 | 0,0 | 0,0 (n = 2) | Nova Friburgo (RJ) |
| <i>Anacroneuria</i> sp. 01♂ | 0,0 | 1,5 | 0,6 (n = 6) | Ubajara (CE), Piracuruca (PI) |

4.1.1.2. *Kempnyia Klapálek*

A análise de NJ das sequências de COI de 29 espécimes de *Kempnyia* resultaram em nove linhagens genéticas distintas monofiléticas e bem suportadas pelo *bootstrap* (Figura 12). Três dessas linhagens incluíram pelo menos dois indivíduos machos coespecíficos identificados através da genitália masculina. As divergências entre dois machos foram de 4,6% para *Kempnyia petersorum* Froehlich ($n = 8$), 9,6% para *K. obtusa* Klapálek ($n = 5$), e 15,1% para *K. colossica* (Navás) ($n = 2$). Nesse sentido, considerando as divergências intraespecíficas encontradas para *Kempnyia* e assumindo o valor encontrado para machos identificados de *K. colossica* como potencialmente máximo para as divergências intraespecíficas, linhagens monofiléticas que representassem espécies distintas foram delimitadas (representadas por cores diferentes na Figura 12).

As divergências genéticas corrigidas pelo modelo K2P entre pares de indivíduos de *Kempnyia* e grupos externos são dadas no ANEXO V. Com base na delimitação das espécies acima, foram encontradas em *Kempnyia*, mínimas divergências intraespecíficas

de 0,0% a 10,7% e máximas divergências intraespecíficas de 4,6% a 15,1%. As divergências intraespecíficas nas espécies de *Kempnyia* estudadas são apresentadas na Tabela 8. Entre todas as espécies de *Kempnyia* estudadas, as divergências interespecíficas variaram de 7,5% a 25,0% (média = 19,1%).

Das nove linhagens encontradas, seis ocorrem na Bacia do Rio Macaé. Todas as linhagens incluíram ninfas e/ou fêmeas que puderam ser associadas a machos adultos e identificadas em nível específico. Dessa forma, dentre as espécies ocorrentes na Bacia do Rio Macaé, ninfas e fêmeas foram associadas a machos adultos de *Kempnyia gracilentata* Enderlein e *K. petersorum*, e ninfas foram associadas a machos de *K. alterosarum* Froehlich, *K. colossica*, *K. obtusa* e *K. varipes* Klapálek.

Tabela 8 - Divergências intraespecíficas encontradas para espécies de *Kempnyia* da Bacia do Rio Macaé (*) e outras regiões no Brasil representadas por mais de um espécime neste estudo.

| Táxons | Divergências | | Média (n) | Distribuição dos espécimes |
|--------------------------|--------------|--------|--------------|---|
| | Mínima | Máxima | | |
| <i>K. alterosarum</i> * | 0,0 | 6,4 | 6,4% (n = 2) | Itabirito (MG), Nova Friburgo (RJ) |
| <i>K. colossica</i> * | 10,7 | 15,1 | 13,0 (n = 3) | São José do Barreiro (SP), Nova Friburgo (RJ) |
| <i>K. gracilentata</i> * | 0,0 | 11,2 | 3,1 (n = 7) | Castelo (ES), Nova Friburgo (RJ) |
| <i>K. jatim</i> | 0,2 | 7,7 | 5,1 (n = 3) | São José do Barreiro (SP), Dores do Rio Preto (ES) |
| <i>K. obtusa</i> * | 0,4 | 9,6 | 6,4 (n = 6) | Alto Caparaó e Itabirito (MG), São José do Barreiro (SP), Petrópolis e Nova Friburgo (RJ) |
| <i>K. petersorum</i> * | 0,0 | 4,6 | 1,7 % | Morretes (PR), Nova Friburgo, Petrópolis e Macaé (RJ) |

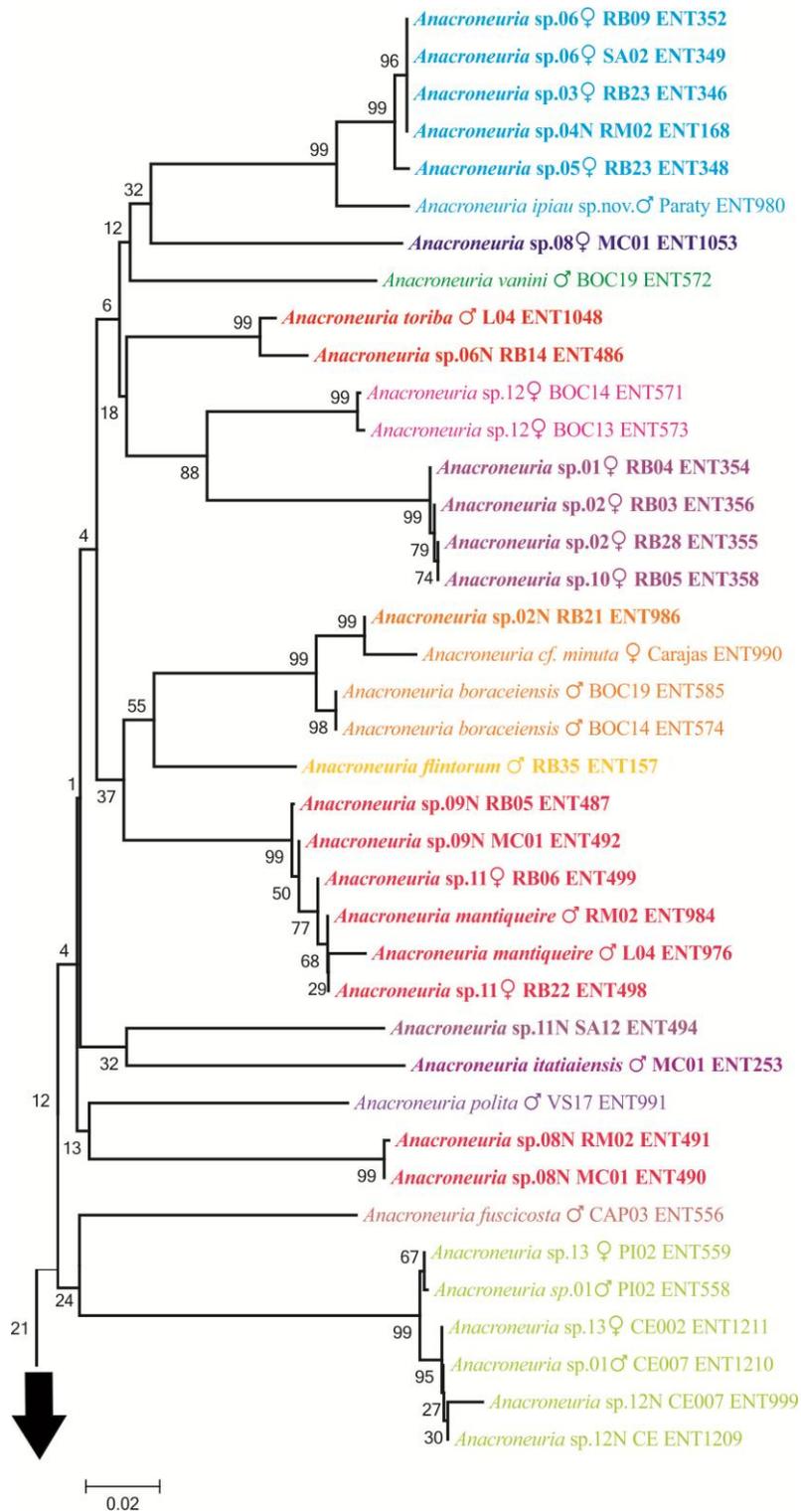


Figura 11. Árvore obtida através do *Neighbor-joining* de sequências de COI (471bp) de *Anacroneuria* e os plecópteros relacionados pelo modelo K2P. Os espécimes de *Anacroneuria* estão coloridos de acordo com a espécie e os que estão em negrito foram coletados na Bacia do Rio Macaé.

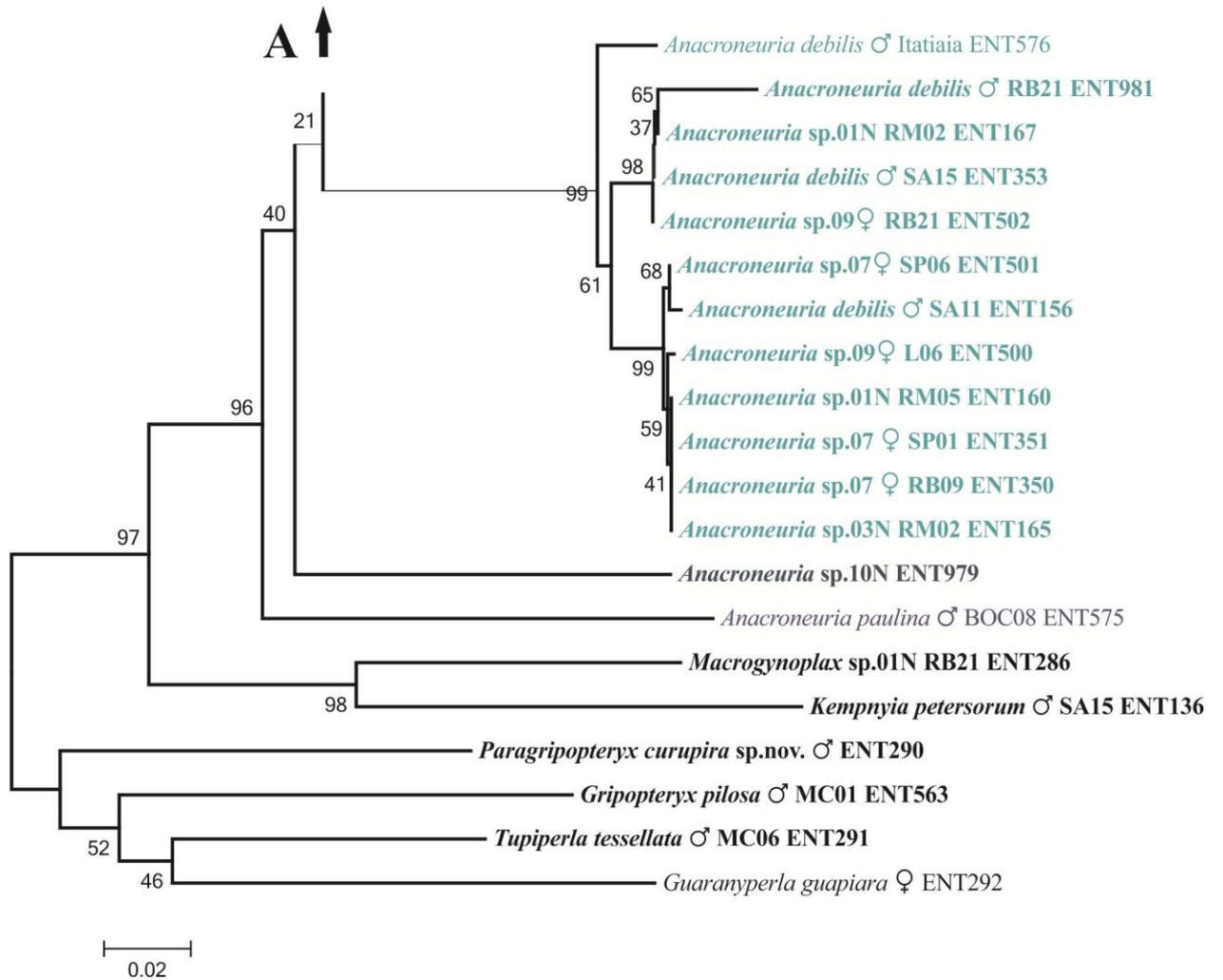


Figura 11. (Cont.). Árvore obtida através do *Neighbor-joining* de sequências de COI (471bp) de *Anacroneuria* e os plecópteros relacionados pelo modelo K2P. Os espécimes de *Anacroneuria* estão coloridos de acordo com a espécie e os que estão em **negrito** foram coletados na Bacia do Rio Macaé.

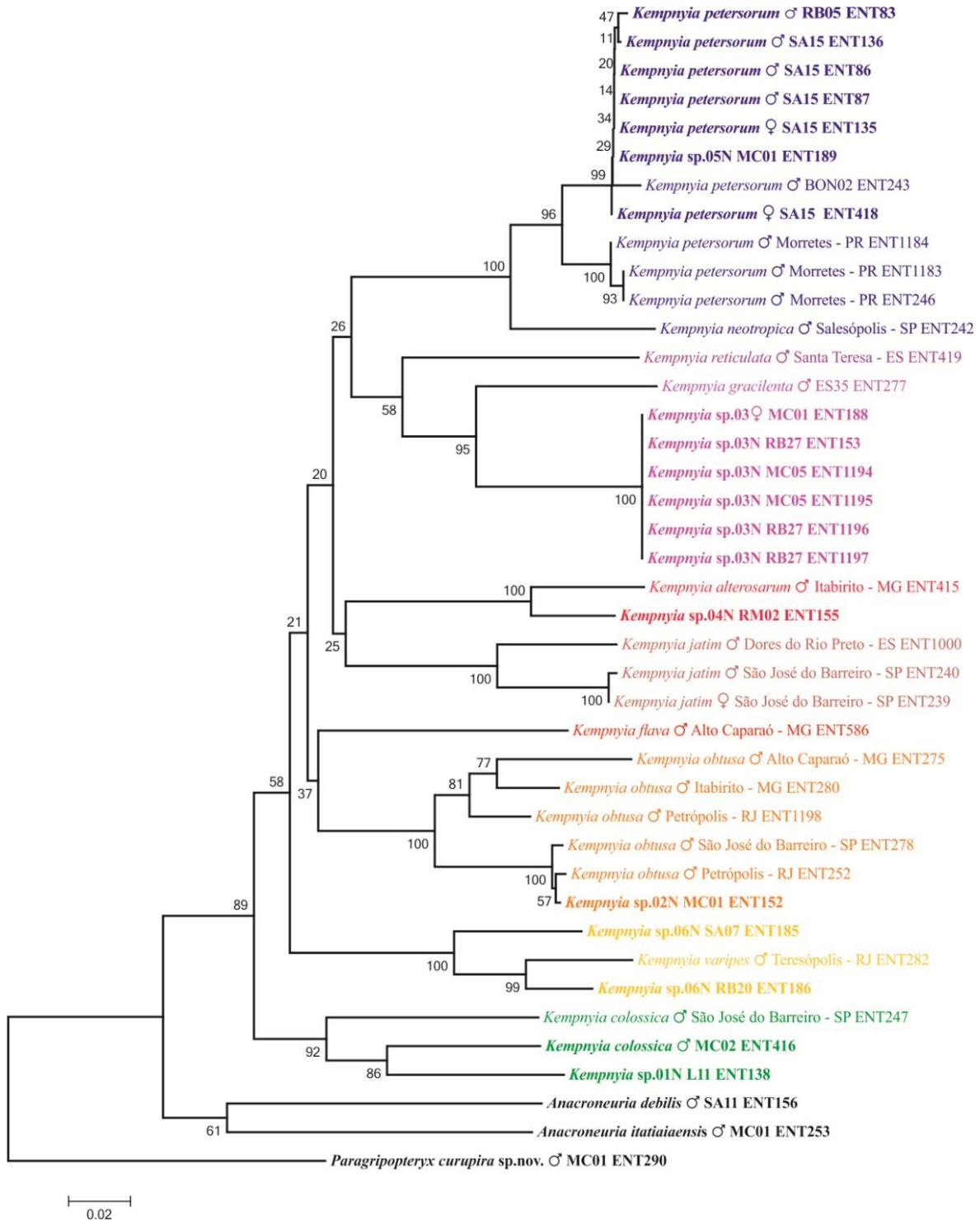


Figura 12. Árvore obtida através do *Neighbor-joining* de seqüências de COI (471bp) de *Kempnyia* e os plecópteros relacionados pelo modelo K2P. Os espécimes de *Kempnyia* estão coloridos de acordo com a espécie e os que estão em negrito foram coletados na Bacia do Rio Macaé.

4.1.3. DIVERGÊNCIAS INTRA- E INTERESPECÍFICAS DE COI

As divergências intraespecíficas e intragenéricas de COI estão entre as métricas mais comuns utilizadas nos estudos de *DNA barcoding* (Bergsten *et al.*, 2012). Ambas as métricas são usadas para calcular o intervalo do *barcode*, que reflete diretamente na acurácia do uso das sequências de COI na identificação de espécies (Hebert *et al.*, 2004). Estudos recentes da variação intraespecífica das sequências de *barcode* dentro e entre espécies proximamente relacionadas indicaram valores de divergências menores que 3% dentro das espécies e maiores que 8% na maioria dos animais estudados (Hebert *et al.*, 2003AB). No entanto, devido à alta heterogeneidade das taxas de substituição do mtDNA, não se deve assumir limites universais para essas divergências, principalmente para as divergências intraespecíficas, quando se está interessado em delimitar espécies (Galtier *et al.*, 2009). Dessa forma, o ideal seria investigar a sobreposição dos valores das divergências intra- e interespecíficas encontrados para cada grupo taxonômico para determinar se eles estariam sobrepostos ou não, no último caso, definindo o intervalo do “*barcode*”.

No presente estudo, indivíduos de *Kempnyia* e Gripopterygidae apresentaram sobreposição dos valores das divergências intra- e interespecíficas (Figura 13B e 14AB) enquanto indivíduos de *Anacroneuria* apresentaram um intervalo entre a máxima intraespecífica e mínima interespecífica entre os valores de 0,6 a 0,9% (Figura 13A). O resultado encontrado aqui sugere que não é possível delimitar ou quantificar as espécies de plecópteros do Sudeste Brasileiro utilizando somente os valores de divergências genéticas de COI de indivíduos coletados, sem a delimitação prévia das divergências intraespecíficas com base na identificação morfológica. A sobreposição desses valores de *barcode* em estudos empíricos de diversos grupos animais é comum (Aliabadian *et al.*, 2009, Virgilio *et al.*, 2010, Pauls *et al.*, 2010, Romero & Ramirez, 2011) e a não existência desse intervalo do “*barcode*” tem sido enfatizada em estudos recentes (Meyer & Paulay, 2005, Meier *et al.*, 2006, Wiemers & Fiedler, 2007, Bergsten *et al.*, 2012). Dessa forma, a existência desse intervalo em estudos prévios e regionais de *barcode* seria aparentemente um artefato resultante de uma baixa amostragem de indivíduos e limitada amostragem geográfica (DeWalt, 2011).

Sobreposições entre as divergências intra- e interespecíficas podem ocorrer devido a baixas divergências genéticas entre espécies proximalmente relacionadas (Figuras 13B, 13C) ou altas divergências intraespecíficas, ou ambas. No presente estudo foram encontradas baixas divergências genéticas entre espécies proximalmente relacionadas de *Kempnyia* (eg. *K. petersorum* x *K. neotropica*) e Gripopterygidae (*Gripopteryx* e *Tupiperla*) (Figuras 13B, 13C), além de altas divergências intraespecíficas em espécies de *Kempnyia* (Figura 14B).

Comparações interespecíficas variando entre 7 e 8% no gênero *Kempnyia* (Figura 13B) se referem àquelas entre *K. petersorum* e *K. neotropica* (Jacobson & Bianchi). Essas duas espécies, juntamente com *K. auberti* Froehlich, *K. ocellata* Froehlich, *K. sazimai* Froehlich, *K. tupinamba* Froehlich, *K. umbrina* Froehlich e *K. vanini* Froehlich, compartilham um par de regiões contendo espinhos no tubo membranoso do pênis (Froehlich, 2011B). Algumas dessas espécies são muito similares na morfologia da genitália, sendo distinguidas somente pelo padrão de coloração e tamanho (Froehlich, 1996). Considerando os possíveis polimorfismos de coloração, a baixa divergência interespecífica e a ausência de estudos genéticos mais detalhados com ênfase nesse grupo de espécies, é possível que essas duas linhagens identificadas aqui como distintas com base na morfologia representem na verdade uma mesma espécie.

Entre os gripopterigídeos, comparações interespecíficas entre 3 e 5% (Figura 12C) referem-se àquelas ocorridas nos gêneros *Gripopteryx*, entre *G. pilosa* e *G. juetah* (ENT563*ENT579), e nos gênero *Tupiperla*, ocorrendo entre *T. tessellata* e *T. umbya* (ENT291*ENT598). Entre os *Gripopteryx*, as espécies comparadas são diferenciadas pelos paraproctos dos machos, finos em *G. pilosa* e robustos em *G. juetah*, e pelas ninfas, que possuem protuberâncias no pronoto, como em *G. pilosa* e com espinhos longos como em *G. juetah*. Ambas as espécies possuem tamanhos similares (asas anteriores 13 a 17 mm em machos), paraproctos curvados para trás e ninfas com projeção no tergito X, o que de fato as mantém como espécies próximas. Em *Tupiperla*, entretanto, as espécies possuem diferenças evidentes no formato dos paraproctos, demonstrando que de acordo com a morfologia, são espécies distintas. Em ambos os casos, a inclusão de mais sequências de espécimes, seja da BRM ou de outras localidades, inclusive uma análise separada, poderá mostrar que as divergências

intraespecíficas dentro de *Tupiperla* podem ser menores que dentro de espécies de *Gripopteryx*.

No presente estudo, as divergências intraespecíficas para 46 espécies de Plecoptera variaram de 0 a 15% (ver Tabelas 6, 7 e 8). A média da maioria das divergências intraespecíficas de mais de 50% das espécies se manteve dentro dos 3%, com divergências maiores que esse valor, encontradas entre todas as sete espécies de *Kempnyia* (15,1% em *K. colossica*), *A. debilis* (4,6%), *Anacroneuria ipiau* **sp. nov.** (4,1%) e *G. reticulata* (4,1%). Os valores de divergência intraespecífica encontrados neste estudo para Plecoptera são comparativamente altos quando comparados com outros insetos (Zhou *et al.*, 2007, Hayashi & Sota, 2010, Park *et al.*, 2011, Renaud *et al.*, 2012). No entanto, divergências intraespecíficas altas entre 4,2% e 8,3% já foram reportadas por diversos autores para espécies de diferentes famílias de Plecoptera. Fochetti *et al.* (2011) registraram para os perlodídeos máxima divergência intraespecífica de 8,3% em *Besdolus bicolor* (Navás) e 7,7% em *Perlodes microcephalus* (Pictet). Para os cloroperlídeos, Weiss *et al.* (2012) encontraram máximas divergências intraespecíficas de 6,2% em *Siphonoperla torrentium* (Pictet) e 5,1% em *S. hajastanica* (Zhiltzova). Mynott *et al.* (2011) registraram uma divergência intraespecífica em gripopterigídeos de 5,8% em *Riekoperla alpina* McLellan e 4,2% em *R. karki* McLellan, indicando que estes valores altos podem ser relacionados com o isolamento geográfico de populações ocorrendo em grandes altitudes, que podem representar espécies crípticas.

Os plecópteros estudados aqui, principalmente as espécies de *Kempnyia*, também estão distribuídas em populações isoladas em áreas montanhosas no Sudeste do Brasil. Espécimes de *Kempnyia* são em geral coletados em rios de primeira e segunda ordens, sendo mais abundantes em áreas de altitude (eg. *K. alterosarum*, *K. colossica*, *K. gracilenta*, *K. reticulata*). Assumindo que essas espécies utilizam habitats específicos em áreas montanhosas, seguindo Mynott *et al.* (2011), os vales em baixas altitudes funcionariam como uma barreira para a dispersão desses insetos, isolando suas populações nessas áreas montanhosas, aumentando a variação intraespecífica.

Autores também têm associado o isolamento de populações às altas divergências intraespecíficas, dada a baixa motilidade dos plecópteros (Boumans & Baumann, 2012;

Mynott *et al.*, 2011). Assim, para aquelas espécies que não estão restritas às áreas montanhosas, maiores distâncias geográficas entre as localidades poderiam resultar em maiores divergências intraespecíficas entre essas populações (Bergsten *et al.*, 2012). De acordo com essa hipótese, as maiores divergências encontradas dentre os diferentes gêneros estudados, ocorreram entre indivíduos coletados em pontos geograficamente distantes. Na Figura 15 (A-D), os diagramas de caixas mostram a distribuição das divergências K2P intraespecíficas de indivíduos coletados na mesma localidade (I) e indivíduos de localidades distantes mais de 100 Km (II), onde podemos observar o efeito do distanciamento das populações sobre as divergências intraespecíficas. Entre as espécies de *Anacroneuria*, as maiores divergências encontradas intraespecíficas ocorreram entre indivíduos de *A. ipiau* **sp. nov.** separados por 250 km (4,1% entre ENT980*ENT168/346/349/352) e machos identificados de *A. debilis* separados por 220 km (4,4% entre ENT576*ENT981). Entre os Gripopterigídeos, as maiores divergências foram encontradas entre um macho e uma fêmea de *G. reticulata* separados por quase 400 km. Em contrapartida, valores baixos (se comparados aos demais espécimes) foram encontrados entre machos de *K. petersorum* (4,6%, ENT246*ENT243) separados cerca de 700km. O mesmo ocorreu entre uma fêmea de *A. cf. minuta* e um macho de *A. boraceiensis* (3,2%, ENT574*ENT990), separados por mais de 1.000 km.

Por outro lado, outro efeito da escala geográfica seria a diminuição das divergências interespecíficas, especialmente entre espécies próximas (Bergsten *et al.*, 2012). Entre espécies de *K. petersorum* e *K. neotropica*, baixas divergências foram encontradas, se levarmos em conta os valores encontrados para *Kempnyia*. Como já abordado, tais espécies são relacionadas e a inclusão de mais espécimes de *K. neotropica* poderá esclarecer se se trata de uma espécie distinta ou mesmo se há influência da escala geográfica sobre a análise. Essa tendência foi observada entre indivíduos de *Kempnyia* e *Anacroneuria*, mas não foi significativa entre os Gripopterygidae.

Os resultados encontrados ainda estão longe de serem os ideais para compreender e resolver os limites entre espécies de Plecoptera na Região Neotropical. Entretanto, trata-se do primeiro passo para iniciar o uso da metodologia molecular para solucionar ou tentar resolver questões ainda não possíveis com a metodologia tradicional. O uso dessa ferramenta para associação de estágios se mostrou efetiva e

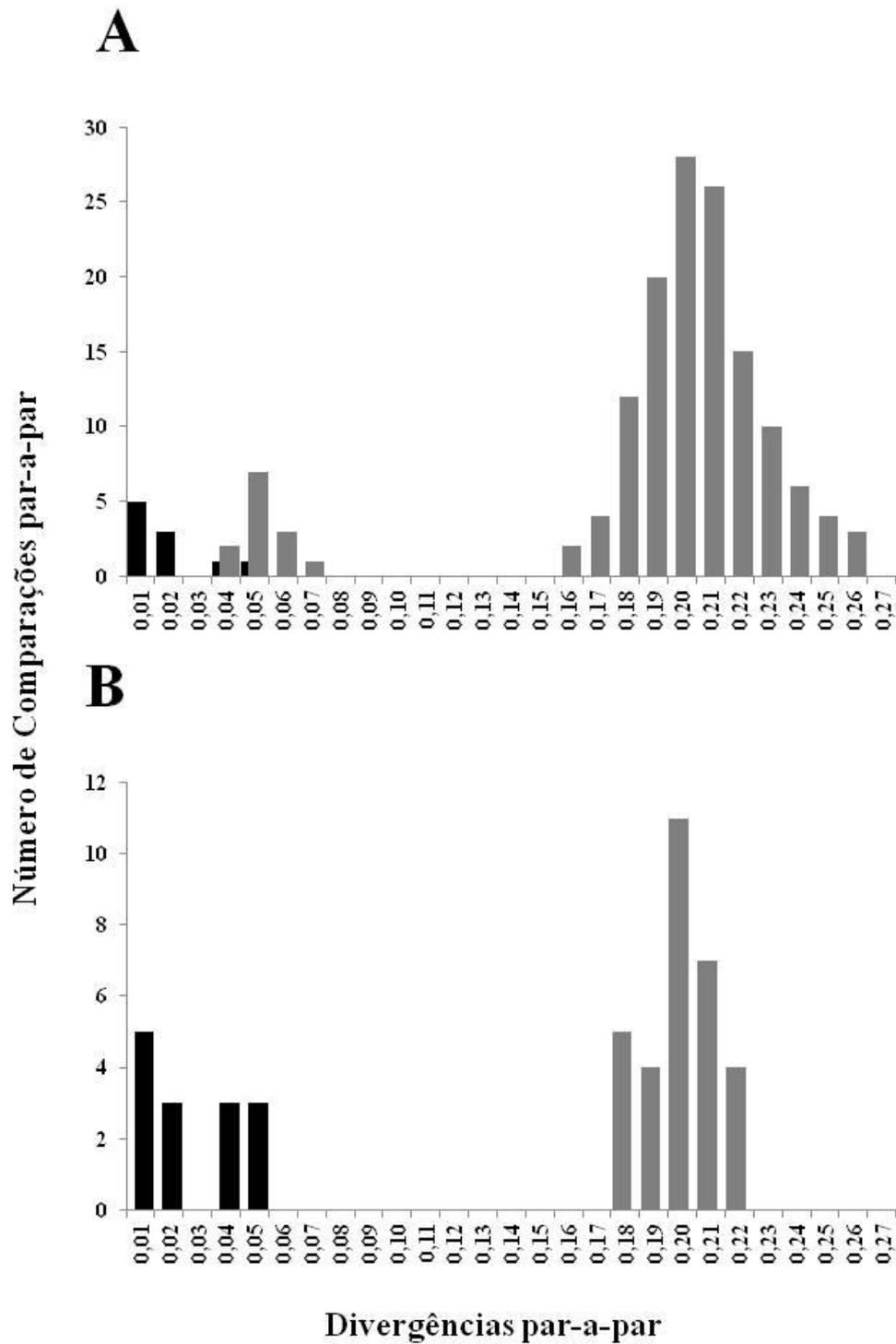


Figura 13. Número de comparações par-a-par das porcentagens das distâncias K2P intraespecíficas (preto) e interespecíficas (cinza) mostrando o *barcoding gap* para *Griopteryx* (A) e *Tupiperla* (B).

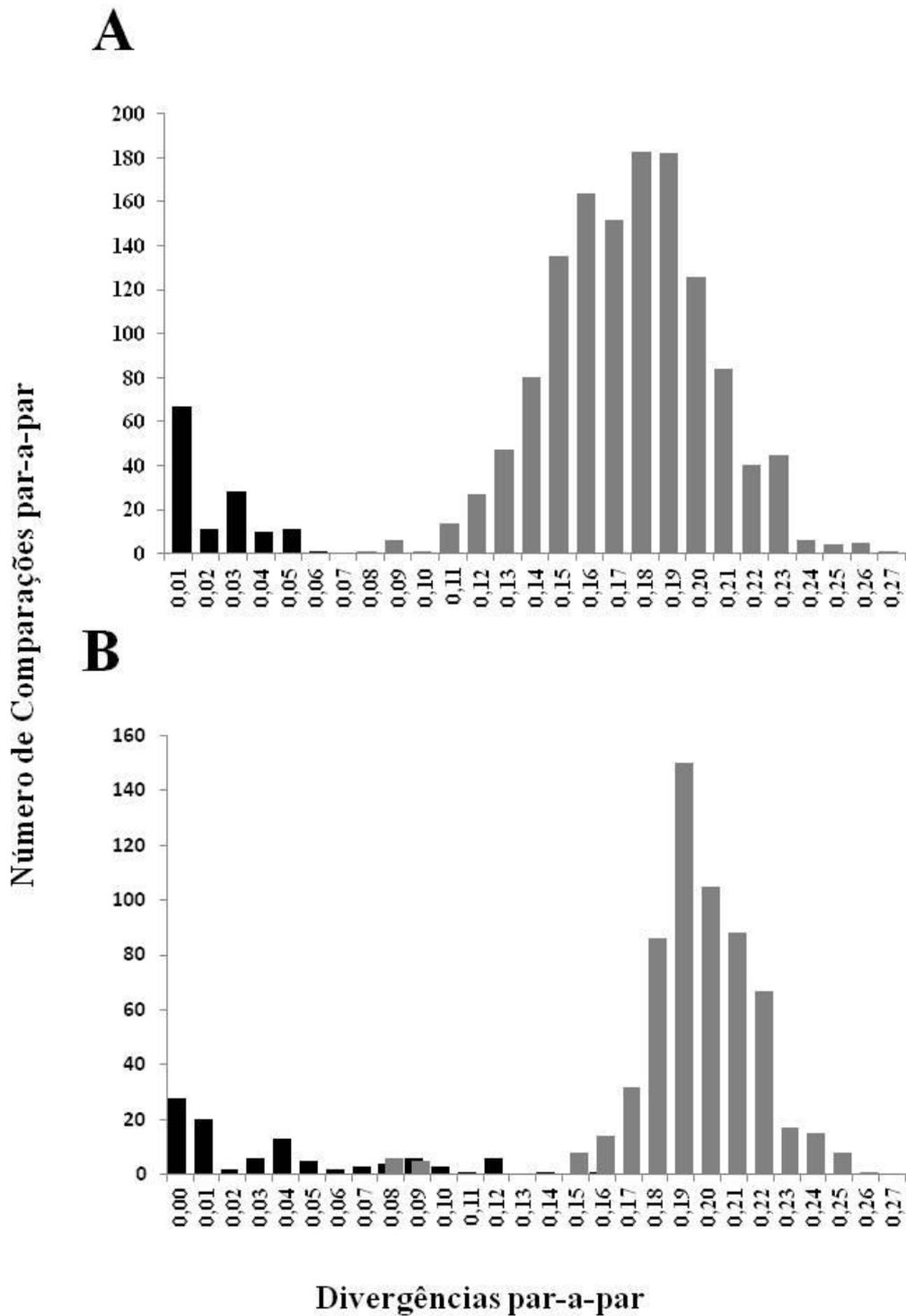


Figura 24 – Número de comparações par-a-par das porcentagens das distâncias K2P intraespecíficas (preto) e interespecíficas (cinza) mostrando o *barcoding gap* para *Anacroneuria* (A) e *Kempnyia* (B).

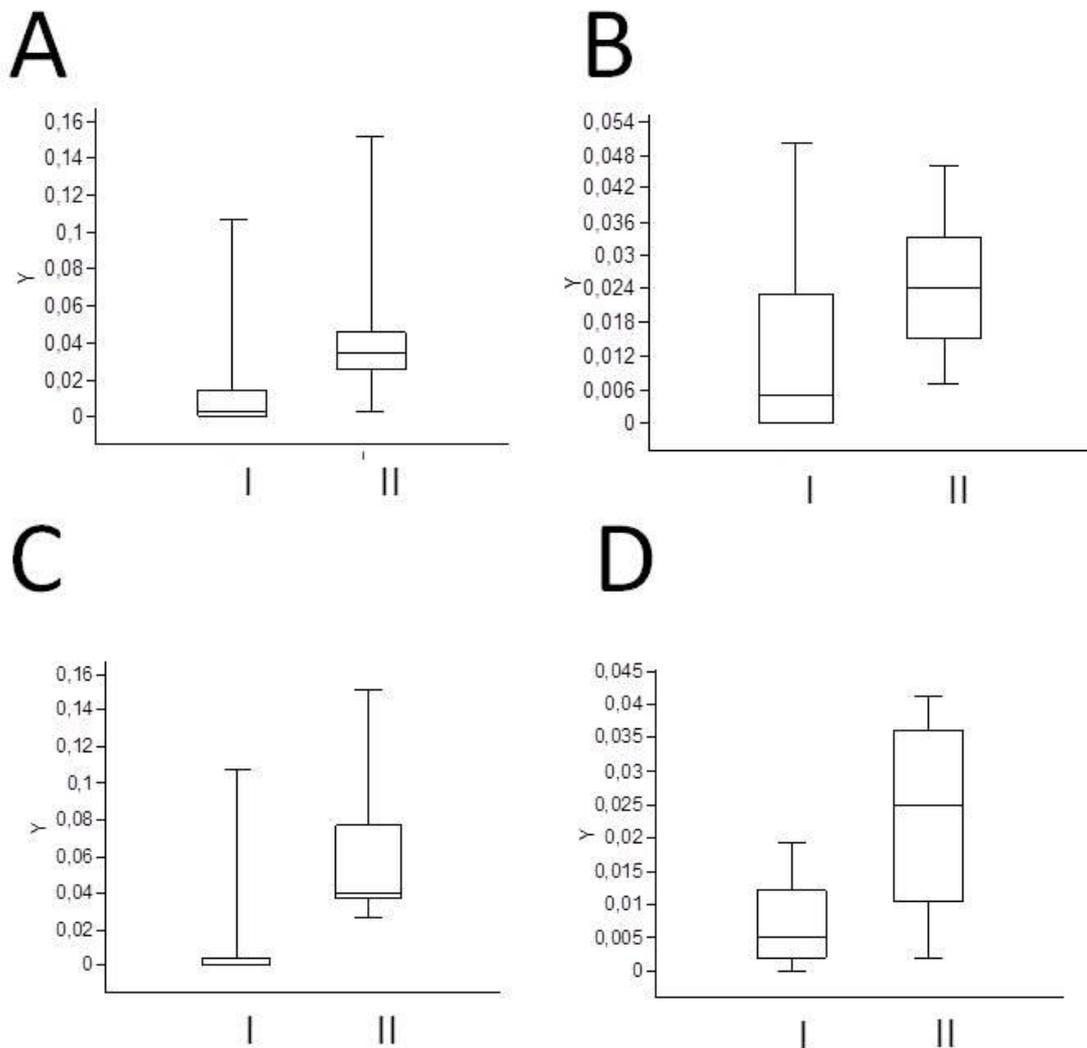


Figura 15. Diagrama de caixas mostrando a distribuição das divergências K2P intraespecíficas de indivíduos coletados na mesma localidade (I) e indivíduos de localidades distantes mais de 100 Km (II). Na figura A, a comparação é feita para todos os gêneros de Plecoptera estudados; em B, a comparação é feita para os Gripopterygidae, em C para *Kempnyia* e D para *Anacroneuria*.

poderá ser uma alternativa fácil e efetiva, quando a criação das ninfas não for possível, e uma ferramenta a mais no estudo das relações entre espécies de Plecoptera.

4.2. ESPÉCIES DE PLECOPTERA DA BACIA DO RIO MACAÉ

A pesquisa em biodiversidade promove informações básicas para qualquer estudo de conservação. Entre as quarenta e cinco espécies de Plecoptera registradas para o Rio de Janeiro, apenas oito foram descritas/registradas para a Bacia do Rio Macaé, sendo quatro descritas com base no material coletado por E. Garbe no início de 1900 (Froehlich 1988, 2010; Nessimian *et al.*, 2009) e recentemente, quatro outras espécies foram adicionadas a essa lista com base em material coletado na década de 1990 (Avelino-Capistrano *et al.*, 2013A; Baldin *et al.*, 2013). Entre essas últimas espécies descritas, uma foi descrita com base em material coletado em 1996 e depositado na DZRJ (Avelino-Capistrano *et al.*, 2013).

No presente estudo, 36 espécies foram encontradas distribuídas ao longo da Bacia do Rio Macaé (Tabela 9). Dez novos registros são feitos para o Estado do Rio de Janeiro com base nesse material, o número de espécies registradas para o estado é elevado para 61. Atualmente, as espécies de plecópteros do Rio de Janeiro representam 24% do número total de espécies encontradas no Brasil, o que é equivalente aos 27% em Trichoptera e 23% em Ephemeroptera (Salles *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2013). Considerando que a área ocupada pelo Rio de Janeiro representa menos de 1% do país, a proporção de espécies registradas no país pode ser reflexo da localização dos centros de pesquisa. Entretanto, os inventários históricos focaram apenas em poucas áreas no estado e pouca informação é conhecida sobre a fauna de insetos, especialmente, na região norte do Rio de Janeiro (Couri *et al.*, 2009). Para Plecoptera, a falta de informação é ainda maior, dada a falta de especialistas e a ausência de estudos de biodiversidade focados nesse grupo (Nessimian *et al.*, 2009).

Na Bacia do Rio Macaé, onde eram registradas apenas oito espécies, o número de plecópteros elevou-se para 36 espécies. Ainda assim, esse número pode ser maior, dada a quantidade de espécimes de ninfas e fêmeas que permanecem não associados a qualquer espécie.

Durante o estudo, houve um esforço para que esse material fosse associado incluindo machos identificados de outras localidades do Sudeste e Sul do Brasil na análise molecular, entretanto não houve sucesso. Desta forma, sete espécimes

continuam não associados, que podem representar novos táxons ou mesmo ninfas/fêmeas de espécies já conhecidas, demonstrando a necessidade de continuar realizando levantamentos na Região Norte Fluminense.

Entre as espécies de Plecoptera anteriormente registradas para a Bacia do Rio Macaé, apenas duas foram coletadas novamente – *Gripopteryx garbei* Navás e *Anacroneuria debilis* (Pictet). *Kempnyia taunayi* (Navás) e *K. serrana* (Navás) não foram coletadas durante o presente estudo. *Kempnyia taunayi* foi descrita por Navás com base em uma fêmea, que posteriormente foi sinonimizada por Jewett (1960) com *K. klugii* (Pictet). Froehlich (2010A) não tratou essa espécie como sinônimo, considerando-a como *species inquirenda*, provavelmente porque fêmeas de Plecoptera tem poucos caracteres diagnósticos e as diagnoses baseiam-se na genitália do macho. Por outro lado, *K. serrana* Navás tem sido encontrada no Rio de Janeiro, Espírito Santo e São Paulo (Froehlich, 2011B), e neste estudo não foi coletada, possivelmente por talvez não ser atraída por armadilhas luminosas, como no caso de *K. tenebrosa* (Froehlich, 2011B). *Kempnyia puri* Avelino-Capistrano, Nessimian & Souza, foi descrita durante o período de estudo com base em material depositado na Coleção Professor José Alfredo Pinheiro Dutra (DZRJ) enquanto buscava-se material adicional da BRM, porém novos exemplares não foram coletados na região. As demais espécies, *A. simulans* Froehlich, *A. subcostalis* Klapálek e *A. petersi* Froehlich foram coletadas na região por Ralph W. Holzenthal, Universidade de Minnesota – USA, em coletas realizadas nos anos 2000. No presente estudo, essas espécies também não foram colecionadas e o registro foi realizado com base no trabalho de Baldin *et al.* (2013). O uso de coleta passiva e ativa em trabalhos de levantamento, como o uso em paralelo de armadilhas de luz e Malaise, poderiam ser uma estratégia para aumentar a eficiência da coleta.

O presente trabalho contribuiu significativamente para a taxonomia das ninfas realizando a descrição de dez ninfas e contribuindo para estudos da morfologia de outras cinco espécies já descritas. Descrições de ninfas são muito comuns nas Regiões Neártica e Paleártica como supracitado (Claassen, 1931; Hynes, 1940; Zhiltzova *et al.*, 2012), e recentemente vêm crescendo na Região Neotropical (Dorvillé & Froehlich, 2001; Bispo & Froehlich, 2008; Avelino-Capistrano *et al.*, 2011A, B; Bispo *et al.*, 2012).

Tabela 9. Lista das espécies de Plecoptera encontradas na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil. Em negrito, primeiros registros para o Estado do Rio de Janeiro; o asterisco (*) indica novo registro para a Bacia do Rio Macaé; exemplares marcados com uma cruz (†) indicam dados fornecidos apenas da literatura.

| Táxons | Distribuição | Ocorrência na BRM |
|---|------------------------|--|
| Gripopterygidae | | |
| <i>Gripopteryx coruja</i> Froehlich | RJ* , SP | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Gripopteryx cf. cancellata</i> (Pictet, 1841) | RJ | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Gripopteryx flinti</i> Froehlich | RJ*, SP | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Gripopteryx garbei</i> Navás | BA, ES, MG, RJ, SP, SC | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Gripopteryx cf. liana</i> Froehlich | MG, RJ* | Macaé |
| <i>Gripopteryx pilosa</i> Froehlich | MG, RJ*,SP | Nova Friburgo |
| <i>Gripopteryx reticulata</i> Brauer | MG, RJ*,SP | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Guaranyperla</i> Froehlich | ES, MG, RJ*, SP | Nova Friburgo |
| <i>Paragripopteryx analuciaae</i> sp.nov. | RJ | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Paragripopteryx curupira</i> sp.nov. | RJ | Nova Friburgo |
| <i>Paragripopteryx klapaleki</i> Enderlein | RJ*, SP | Nova Friburgo |
| <i>Paragripopteryx</i> sp. BRM01N | RJ | |
| | MG, RJ*, SP | Casimiro de Abreu, Nova Friburgo |
| <i>Tupiperla gracilis</i> (Burmeister) | | Macaé |
| <i>Tupiperla reichardti</i> Froehlich | MG, RJ* , SP | Macaé |
| <i>Tupiperla saci</i> sp.nov. | RJ | Macaé |
| <i>Tupiperla tessellata</i> Brauer | MG, RJ*, SP | Nova Friburgo |
| Perlidae | | |
| <i>Anacroneuria boraceiensis</i> Froehlich | RJ* , SP | Nova Friburgo |
| <i>Anacroneuria debilis</i> Pictet | RO, ES, RJ, PR, SC | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Anacroneuria flintorum</i> Froehlich | RJ, SP, RS | Macaé |
| <i>Anacroneuria itatiaiensis</i> Baldin, Bispo & Novaes | RJ* | Nova Friburgo |
| | | Casimiro de Abreu, Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Anacroneuria ipiau</i> sp. nov. | RJ | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Anacroneuria mantiqueirae</i> Froehlich | RJ* , SP | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Anacroneuria petersi</i> Froehlich† | RJ, SP | Baldin <i>et al.</i> 2013 |
| <i>Anacroneuria simulans</i> Froehlich† | RJ, SP | Baldin <i>et al.</i> 2013 |
| <i>Anacroneuria subcostalis</i> Klapálek† | ES, RJ, SP | Baldin <i>et al.</i> 2013 |
| <i>Anacroneuria toriba</i> Froehlich | RJ , SP | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM01♀ | RJ | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM02♀ | RJ | Nova Friburgo |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM03♀ | RJ | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM02N | RJ | Nova Friburgo |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM03N | RJ | Nova Friburgo |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM04N | RJ | Nova Friburgo, Macaé |

Tabela 9 (Cont.). Lista das espécies de Plecoptera encontradas na Bacia do Rio Macaé, Rio de Janeiro, Brasil. Em negrito, primeiros registros para o Estado do RJ; o asterisco (*) indica novos registros para a Bacia do Rio Macaé; exemplares marcados com uma cruz (†) indicam dados fornecidos apenas da literatura.

| Táxons | Distribuição | Ocorrência na BRM |
|--|------------------------------------|----------------------|
| Perlidae (Cont.) | | |
| <i>Kempnyia alterosarum</i> Froehlich | MG, RJ* | Nova Friburgo |
| <i>Kempnyia colossica</i> (Navás) | MG, RJ* , SP, PR, SC | Nova Friburgo |
| <i>Kempnyia gracilentata</i> Enderlein | ES, RJ* , SP | Nova Friburgo |
| <i>Kempnyia jatim</i> Froehlich | RJ* , SP | Nova Friburgo |
| <i>Kempnyia obtusa</i> Klapálek | MG, RJ* , SP | Nova Friburgo |
| <i>Kempnyia petersorum</i> Froehlich | RJ* , SP | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Kempnyia puri</i> Avelino-Capistrano, Nessimian & Souza | RJ | Nova Friburgo |
| <i>Kempnyia reticulata</i> (Klapálek) | ES, RJ* | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Kempnyia serrana</i> (Navás)† | RJ | Froehlich 2010 |
| <i>Kempnyia taunayi</i> (Navás)† | RJ | Froehlich 2010 |
| <i>Kempnyia varipes</i> Klapálek | RJ* | Nova Friburgo, Macaé |
| <i>Macrogynoplax</i> sp BRM05N. Enderlein | AM, PA, MT, ES, RJ* , SP | Nova Friburgo |

Em geral, os caracteres diagnósticos confiáveis para separar ninfas no nível de espécie são poucos e os autores não concordam em quais os caracteres que devem ser usados. Desde Claassen (1931), muitos autores têm usado a coloração e a morfologia para descrever diferentes ninfas (Dorvillé & Froehlich, 2001; Bispo & Froehlich, 2008; Avelino-Capistrano *et al.*, 2011A, B; Bispo *et al.*, 2012). Durante este estudo, tentativas de encontrar novos caracteres entre as ninfas foram feitas, utilizando a microscopia eletrônica de varredura, mas outros caracteres adicionais, além dos utilizados na microscopia óptica foram encontrados e serão discutidos abaixo, como coloração.

Dos 106 pontos amostrados, plecópteros foram encontrados em 91, totalizando 1248 exemplares. Desses, 132 eram machos, 266 fêmeas e 850 eram ninfas (Tabela 10). A seguir, uma lista comentada do material examinado é apresentada com dados de distribuição.

Tabela 10. Lista da abundância das espécies de Plecoptera examinadas no presente estudo, separados pelos que foram coletados na Bacia do Rio Macaé (BRM) e o material adicional de outras localidades inclusos na análise molecular.

| Espécies | BRM | | | Subtotal BRM | Outras Localidades | | | Subtotal | Total Examinado |
|-----------------------------------|------------|------------|------------|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|--------------------|
| | N | ♀ | ♂ | | N | ♀ | ♂ | | |
| <i>Gripopteryx cancellata</i> | 70 | 0 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 70 |
| <i>Gripopteryx coruja</i> | 144 | 0 | 0 | 144 | 0 | 6 | 4 | 10 | 154 |
| <i>Gripopteryx flinti</i> | 0 | 2 | 7 | 9 | 0 | 0 | 1 | 1 | 10 |
| <i>Gripopteryx garbei</i> | 0 | 3 | 13 | 16 | 0 | 0 | 3 | 3 | 19 |
| <i>Gripopteryx cf. liana</i> | 13 | 5 | 0 | 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 |
| <i>Gripopteryx pilosa</i> | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| <i>Gripopteryx reticulata</i> | 162 | 1 | 0 | 163 | 0 | 1 | 3 | 4 | 167 |
| <i>Guaranyperla</i> | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 4 | 0 | 4 | 7 |
| <i>Paragripopteryx analuciaae</i> | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 1 | 1 | 4 |
| <i>Paragripopteryx curupira</i> | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Paragripopteryx klapaleki</i> | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Paragripopteryx</i> sp. BRM01N | 5 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| <i>Tupiperla gracilis</i> | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 1 | 1 | 2 | 5 |
| <i>Tupiperla reichardti</i> | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Tupiperla saci</i> | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Tupiperla tessellata</i> | 3 | 4 | 8 | 15 | 0 | 2 | 1 | 3 | 18 |
| <i>Anacroneuria boraceiensis</i> | 11 | 0 | 12 | 23 | 0 | 0 | 2 | 2 | 25 |
| <i>Anacroneuria debilis</i> | 190 | 54 | 36 | | 0 | 0 | 1 | 1 | 281 |
| <i>Anacroneuria flintorum</i> | 0 | 0 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| <i>Anacroneuria itatiaiaensis</i> | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Anacroneuria ipiau</i> | 13 | 105 | 0 | 118 | 0 | 2 | 3 | 5 | 123 |
| <i>Anacroneuria mantiqueirae</i> | 13 | 8 | 4 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 25 |
| <i>Anacroneuria toriba</i> | 6 | 0 | 10 | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM01♀ | 0 | 42 | 0 | 42 | 0 | 0 | 0 | 0 | 42 |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM02♀ | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM03♀ | 0 | 21 | 0 | 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM02N | 11 | 0 | 0 | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM03N | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| <i>Anacroneuria</i> sp. BRM04N | 29 | 0 | 0 | 29 | 0 | 0 | 0 | 0 | 29 |
| <i>Kempnyia alterosarum</i> | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 4 | 5 |
| <i>Kempnyia colossica</i> | 16 | 0 | 2 | 18 | 6 | 0 | 3 | 9 | 27 |
| <i>Kempnyia gracilentata</i> | 55 | 3 | 0 | 58 | 0 | 1 | 4 | 5 | 63 |
| <i>Kempnyia jatim</i> | 0 | 2 | 4 | 6 | 0 | 6 | 2 | 8 | 14 |
| <i>Kempnyia obtusa</i> | 34 | 0 | 4 | 38 | 0 | 0 | 4 | 4 | 42 |
| <i>Kempnyia petersorum</i> | 7 | 13 | 14 | 34 | 0 | 4 | 9 | 13 | 47 |
| <i>Kempnyia puri</i> | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| <i>Kempnyia reticulata</i> | 43 | 0 | 0 | 43 | 0 | 0 | 1 | 1 | 44 |
| <i>Kempnyia varipes</i> | 8 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 4 | 4 | 12 |
| <i>Macrogynoplax</i> BRM05N | 10 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| Total | 850 | 266 | 132 | 1248 | 6 | 27 | 53 | 86 | 1334 |

4.2. 1. Gripopterygidae

Gripopterygidae é uma família erigida por Enderlein (1909), encontrada na Austrália, Nova Zelândia e América do Sul (Stark *et al.*, 2009). Atualmente, está dividida em cinco subfamílias: Gripopteryginae, Leptoperlinae, Dinotoperlinae, Zelandoperlinae e Antactoperlinae (McLellan, 1977; Zwick, 2000). Na América do Sul essa família é mais diversa, sendo representada por 27 gêneros. No Brasil, esses estão distribuídos desde a Bahia, passando por parte da região central do Brasil e seguindo ao longo do Sudeste e da Região Sul, onde ocorrem também em países limítrofes ao Brasil. Desta forma, no Brasil são encontrados quatro gêneros: *Gripopteryx* Pictet, *Guaranyperla* Froehlich, *Paragripopteryx* Enderlein e *Tupiperla* Froehlich (Stark *et al.*, 2009; Froehlich, 2010, 2012). No presente estudo foram coletados 455 exemplares pertencentes a esta família, sendo distribuídos entre os quatro gêneros ocorrentes no Brasil. O gênero *Gripopteryx* foi o mais abundante e o com a maior riqueza, contrastando com *Guaranyperla*, do qual apenas ninfas foram coletadas. A seguir é apresentada uma lista comentada das espécies de Gripopterygidae ocorrentes na Bacia do Rio Macaé.

4.2.1.1. *Gripopteryx* Pictet

O gênero *Gripopteryx* Pictet foi estabelecido a partir do gênero *Capnia*, incluindo duas espécies: *Capnia cancellata* Pictet 1841 e *Semblis gracilis* Burmeister, 1839 (Stark *et al.*, 2009). O gênero conta com 16 espécies (Froehlich, 2012), e está distribuído desde a região central do Brasil, às terras do Sudeste e Sul, incluindo algumas áreas da Argentina, Paraguai e Uruguai (Stark *et al.*, 2009). Caracteriza-se por possuir adultos de tamanho pequeno a grande, os machos apresentam o tergo X simples, paraproctos longos e voltados para cima, bem como epiproctos, geralmente em forma de concha; fêmeas com placa subgenital simples; e ninfas portando espinhos dorsais torácicos (na maioria das espécies) e abdominais com tamanhos variados (Stark *et al.*, 2009).

No presente estudo, *Gripopteryx* foi representado por 421 exemplares, sendo 389 ninfas e 32 adultos. Quatro espécies foram identificadas com base em machos descritos: *G. flinti*, *G. garbei*, *G. pilosa* e *G. reticulata*, sendo três dessas novas ocorrências; duas espécies foram identificadas com base em ninfa. Cinco espécies de outras localidades foram incorporadas na análise molecular a fim de verificar se havia associação com fêmeas e ninfas ocorrentes na Bacia do Rio Macaé. Seis morfotipos de ninfas foram encontradas, sendo três associados por análise molecular (Figura 6): *Gripopteryx* sp. 01N (*G. cf. liana*) foi associada a *Gripopteryx* sp. 01♀; *Gripopteryx* sp. 02N foi associada a um macho de *G. coruja*; e por fim, *Gripopteryx* sp. 03N foi associada a um macho e uma fêmea de *G. reticulata*. Em relação à distribuição espacial, as espécies de *Gripopteryx* apresentaram uma distribuição ampla pela bacia, ocorrendo em sua maior parte em trechos localizados entre 300 e 1.100 m de altitude. Apenas *G. garbei* foi encontrada ocorrendo em trechos de baixada (0 – 100 m). A maior parte dos exemplares foi encontrada em rios de 1ª a 3ª ordem.

4.2.1.1.1. *Gripopteryx cancellata* (Pictet, 1841) (Figura 16)

Capnia (*Gripopteryx*) *cancellata* Pictet, 1841: 328-330.

Gripopteryx cancellata Klapálek, 1904: 2-13. Jewett, 1960: 171. Illies, 1963: 185. Illies, 1966: 29. Zwick, 1972: 1129. Froehlich, 1990: 236. Nessimian *et al.* 2009: 314. Froehlich, 2010: 132. Lecci & Froehlich, 2011: 3. Bispo & Lecci, 2011: 375. Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013: 187.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 4ª ordem, 22°24'46,5"S 42°31'16,2"O, 935 m, 12.ix.2008, 5N (#3277). Rio Macaé, Represa, 29.xi.2008, 7N (#3271). **Lumiar.** Rio Pedra Vermelha, Cachoeira do Indiana Jones, 22°19'02,1"S 42°17'28,5"O, 900 m, 14.xi.2008, 2N (2502), 2N (#2455). Afluente do Rio Santiago no Km 16,5 da estrada Lumiar -Mury, 22°21'05,6"S 42°22'31,6"O, 760 m, 05.iv.2009, 1N (#2450). Córrego do Poço Feio, 22°21'04,7"S 42°20'02,7"O, 594 m, 13.xi.2008, 1N (#2501). Afluente do Córrego Boa Vista, 22°23'57,9"S 42°19'14,6"O, 583 m, 15.xi.2008, 1N (#3509). Córrego da Pedra Vermelha, Cachoeira São José, 14.xi.2008, 1N (#2494); 15.xi.2008, 1N (#2459), 1N (#2462). **Rio Bonito de Lumiar.** Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 04.iv.2009, 2N (#2443*ENT593); 23.x.2010, 2N (#2661). Rio Bonito em 4ª ordem, 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O, 803 m, 04.iv.2009, 1N (#2448). Afluente de 2ª ordem do

Córrego das Paineiras, 22°23'23,7"S 42°20'04,8"O, 716 m, 06.iii.2009, 3N (#2427), 2N (#2442). Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 3ª ordem, 06.iii.2009, 2N (#2458). Afluente de 1ª ordem do Rio Bonito, 22°24'37,9"S 42°20'42,2"O, 676 m, 06.iii.2009, 13N (#2498). Córrego dos Patos, 08.iii.2009, 22°24'45,5"S 42°19'10,6"O, 670 m, 1N (#2497). Córrego Ramalhete, 22°24'38,2"S 42°20'38,6"O, 669 m, 06.iii.2009, 4N (#2507). Rio Bonito, 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O, 608 m, 06.iii.2009, 3N (#2430). **MACAÉ. Sana.** Rio Peito do Pombo, Cachoeira do Escorrega, 22°19'02,8"S 42°11'09,5"O, 376 m, 17.ii.2009, 2N (#2439). Córrego Ilha, 22°20'41,8"S 42°11'03,7"O, 318 m, 19.ii.2009, 3N (#2444). Afluente de 2ª ordem do Rio Sana, Rancho Peito do Pombo, 22°19'17,7"S 42°10'58,0"O, 313 m, 17.ii.2009, 1N (#2436), 2N (#2432), 8N (#2438). Córrego do Colégio, 22° 20' 23,4"S 42°12'13,5"O, 294 m, 19.ii.2009, 1N (3419). **Galdinópolis.** Afluente do Córrego Borás, 22° 23' 17,6"S 42° 21' 57,6"O, 838 m, 04.iv.2009, 1N (#2446).

MEDIDAS: **Ninfa:** Cabeça: 1,58 – 2,14 mm; Teca alar: 0,76 – 1,57 mm; Comprimento total: 4,28 – 9,19 ($n = 9$).

DESCRIÇÃO: **Ninfa.** Coloração geral marrom (Figura 16A). Cabeça marrom, com área occipital com manchas marrons; antena marrom, com cerdas distribuídas do escapo até o fim de cada artículo (Figura 16B). Pronoto com apenas dois pequenos espinhos presentes na borda posterior do pronoto, coberto de cerdas, e com duas protuberâncias observadas em vista lateral (Figura 16C); tecas alares marrons, em tom mais escuro que o restante do corpo, com cerdas distribuídas sobre as veias (Figura 16D); pernas com coloração marrom, com fileira de cerdas finas da face dorsal do fêmur e da tíbia; muitas cerdas cobrindo a face anterior do fêmur (Figura 16E-F). Abdome com espinhos presentes na borda posterior dos segmentos I – IX (Figura 16G); segmento X sem projeção (Figura 16H). Brânquia anal marrom.

COMENTÁRIOS: As ninfas de *Griopteryx cancellata* caracterizam-se pela ausência de espinhos no pronoto, mesonoto e da projeção do tergo X. No presente estudo, apenas ninfas foram coletadas em diversas localidades ao longo da BRM, sendo encontradas desde localidades elevadas (≈ 900 m) a trechos relativamente baixos (≈ 200 m). Não foram coletados adultos e machos identificados de outras localidades também

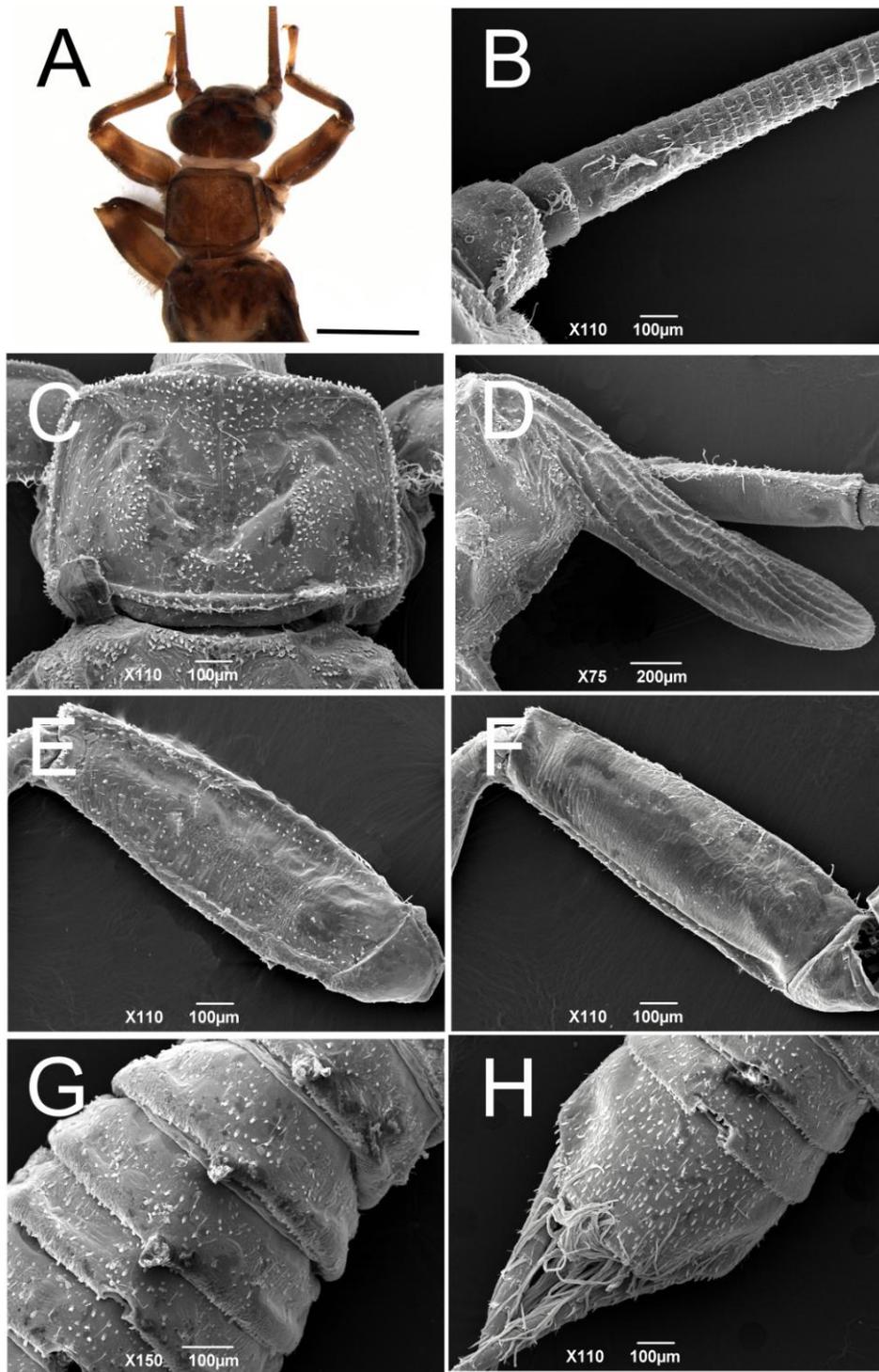


Figura 16. *Gripopteryx cancellata* (Pictet). Ninfã. A. Cabeça e pronoto, habitus. B. Detalhe do escapo da antena. C. Pronoto. D. Teca alar do Mesonoto. E. Teca alar do Mesonoto. E. Fêmur em vista anterior. F. Fêmur em vista posterior. G. Abdome em vista dorsal, com detalhe dos espinhos dorsais. H. Tergito X, brânquias anais e cercos.

não foram inclusos na análise molecular, sendo as ninfas identificadas com base na chave de Lecci & Froehlich (2011) e no trabalho de Froehlich (1990). Na análise molecular a única ninfa incluída não se associou a nenhum outro espécime adulto.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.1.1.2. *Griopteryx coruja* Froehlich, 1993 (Figura 17-18)

Griopteryx coruja Froehlich, 1993: 25. Avelino-Capistrano & Costa, 2009: 2. Froehlich, 2010: 132. Lecci & Froehlich, 2011: 10. Avelino-Capistrano & Nessimian *no prelo*.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio das Flores, 22°25'36,6"S 42°30'26,4"O, 1.062 m, 30.xi.2008, 4N (#3266). Rio Macaé, Represa, 22°25'51,9"S 42°32'18,9"O, 1.061 m, 29.xi.2008, 7N (#3270). Rio Macaé, 4ª ordem, 22°24'46,5"S 42°31'16,2"O, 935 m, 13.ix.2008, 1N (#3259). Rio Macaé, 22°24'46,0''S 42°31'16,2''O, 935 m, 2N (#2424). **Lumiar.** Galdinópolis, Afluente do Córrego Borás, 04.iv.2009, 22°23'17,6"S 42°21'57,6"O, 838 m, 1N (#2460). Córrego Poço Feio, 22°21'04,7"S 42°20'02,7"O, 594 m, 14.xi.2008, 1N (#2499). Córrego da Pedra Vermelha, Cachoeira São José, 22°23'57,9"S 42°19'14,6"O, 583 m, 15.xi.2008, 1N (#2462). Afluente do Rio Macaé, 22°21'46,7"S 42°18'36,4"O, 604 m, 16.xi.2008, 1N (#2461*ENT591). **Rio Bonito de Lumiar.** Córrego do Sertão, 22°24'54,7"S 42°25'22,3"O, 810 m, 04.iv.2009, 1N (#2447). Rio Bonito, 4ª ordem, 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O, 803 m, 04.iv.2009, 3N (#2449), 2N (#3420). Rio Bonito, 22°24'46,5"S 42°24'13,3"O, 786 m, 07.iii.2009, 7N (#2452), 2N (#2453), 2N (#2696), 3N (#3421). Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 06.iii.2009, 2N (#2421), 1N (#2457). Rio Bonito, 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O, 608 m, 06.iii.2009, 4N (#2431), 1N (#2509). Córrego dos Patos, 22°24'45,5"S 42°19'10,6"O, 670 m, 08.iii.2009, 1N (#2504). Rio São Bento, 22°20'23,4"S 42°12'13,5"O, 294 m, 19.ii.2009, 6N (#2513). **Cascata,** Rio Macaé, 22°18'51,3"S 42°17'46,1"O, 850 m, 08.iii.2009, 1N (#2493). **MACAÉ. Sana.** Rio Peito do Pombo, Cachoeira do Escorrega, 22°19'02,81"S 42°11'09,5"O, 376 m, 17.ii.2009, 6N (#2464), 1N (#2516). Rio Sana, 22°14'42,3"S 42°09'03,2"O, 567 m, 18.ii.2009, 12N (#2419), 6N (#2420). Rio Sana, 22°19'20,2''S 42°10'51,9''O, 306 m, 17.ii.2009, 1N (#2515). Córrego Alegre, Cachoeira das

Andorinhas, 22°15'38,8"S 42°10'08,2"O, 573 m, 19.ii.2009, 6N (#2514). Afluente de 2ª ordem do Rio Sana, 22°19'17,7"S 42°10'58,0"O, 313 m, 17.ii.2009, 6N (#2437). 55N (#2435). Córrego Ilha, 22°20'41,8"S 42°11'03,7"O, 318 m, 19.ii.2009, 2N (#2441). **Frade**. Rio São Pedro, 22°13'45,1"S 42°07'39,6"O, 426 m, 20.iii.2009, 2N (#2418).

MATERIAL ADICIONAL: BRASIL. ES. SANTA TERESA. Estação Biológica de Santa Lúcia, Córrego Bonito, Cachoeira Heloísa Torres, 02.iv.2011, 6♀2♂ (#2914*ENT569), Col. Jardim, GA, Nessimian, JL, Dumas, LL & LFL Silveira. Tributário do Rio Timbuí, 09-10.i.2003. 1♂ (#2904), Col. Equipe Entomológica. **SP. SÃO JOSÉ DO BARREIRO.** Rio Mambucaba. 12.xii.2011. 1♂1♀ (#3489*ENT582), Col. Dumas, LL, Jardim, GA, Souto, PM, Oliveira, ALH & JL Nessimian.

MEDIDAS: Ninfa: Cabeça: 1,29 – 1,57 mm; Teca alar: 1,99 – 2,96 mm; Comprimento total do corpo: 6,22 – 8,08 mm ($n = 8$). **Macho:** Cabeça: 1,43 – 1,88 mm; Asa anterior: 11,37 – 12,05 mm ($n = 3$). **Fêmea:** Cabeça: 1,85 mm; Asa anterior: 17,88 mm ($n = 1$).

DESCRIÇÕES COMPLEMENTARES: Ninfa. Coloração geral marrom-escuro (Figura 17). Cabeça coberta por cerdas sulcadas e rombas; cerdas filiformes cobrem o clípeo, sendo encontradas distribuídas esparsamente na fronte, no escapo e na área occipital (Figura 18A-B). Pronoto também coberto por cerdas sulcadas (Figura 18C), concentradas no ápice dos espinhos notais (Figura 18D). Mesonoto coberto de cerdas sulcadas; nas tecas alares, estas cerdas acompanham as veias das asas (Figura 18E). Pernas com fileira dorsal de cerdas plumosas; cerdas filiformes presentes na face anterior do fêmur (Figura 18F). Abdome e cercos coberto por cerdas sulcadas, intercaladas no tergito X com cerdas filiformes (Figura 18G-H).

COMENTÁRIOS: A espécie foi descrita por Froehlich (1993) com exemplares provenientes de Salesópolis (SP - Estação Biológica Boracéia) e por exemplares oriundos da Serra do Bocaina (RJ/SP), ambas localizadas na Serra do Mar. Recentemente, a espécie foi registrada nas montanhas centrais do Espírito Santo (Santa Teresa – Avelino-Capistrano & Nessimian, *no prelo*). No presente estudo, ninfas (Figuras 17-18) foram encontradas distribuídas desde as partes mais altas da bacia – Macaé de Cima e Rio Bonito de Lumiar – até as regiões mais baixas – Sana, sendo encontrados em sua maioria em rios de 2ª a 4ª ordem. Uma nova ocorrência é feita para espécie, ainda na Serra do Mar, aumentando a distribuição da mesma ao longo desta



Figura 17. *Gripopteryx coruja* Froehlich. NinfA. Cabeça e pronoto, habitus.

cadeia montanhosa. Os adultos caracterizam-se por exemplares de tamanho médio, coloração marrom (Figura 17), paraproctos dos machos simples e com ápices arredondados e ninfas com espinhos longos no pronoto e progressivos no abdome. Na análise molecular, houve associação de um macho de Santa Teresa (ES) e uma ninfa de Lumiar (ENT569*ENT591), onde as distâncias intraespecíficas foram de 0,2%. A ninfa associada corrobora com a descrita por Froehlich (1993) tanto no tamanho quanto na coloração, que em ninfas maduras é marrom-escuro.

DISTRIBUIÇÃO: Espírito Santo, Rio de Janeiro [**Novo Registro**], São Paulo.

4.2.1.1.3. *Gripopteryx flinti* Froehlich, 1993 (Figura 19A)

Gripopteryx flinti Froehlich, 1993: 37. Froehlich, 2010: 132. Lecci & Froehlich, 2011: 11. Bispo & Lecci, 2011: 376.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Lumiar. Córrego da Pedra Vermelha, Cachoeira São José, 22°18'51,3"S 42°17'46,1"O, 850 m, 24.v.2008, 1♂ (#1699). **Rio Bonito de Lumiar.** Córrego do Sertão, 22°24'54,7"S 42°25'22,3"O, 810 m, 03.iv.2009, 1♂2♀ (#1735). Toca da Onça, Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 25.v.2008, 1♂ (#46), 1♂ (#3108). Córrego dos Patos, 22°24'45,5"S 42°19'10,6"O, 670 m, 05.iii.2009, 1♂ (#1697). **MACAÉ. Sana.** Rio Sana, 22°18'06,8"S 42°09'23,4"O, 478 m, 18.ii.2009, 1♂ (#1687). **Frade.** Estrada Frade-Sana, Rio São Pedro, 22°13'45,1"S 42°07'39,6"O, 426 m, 20.iii.2009, 1♂ (#1691).

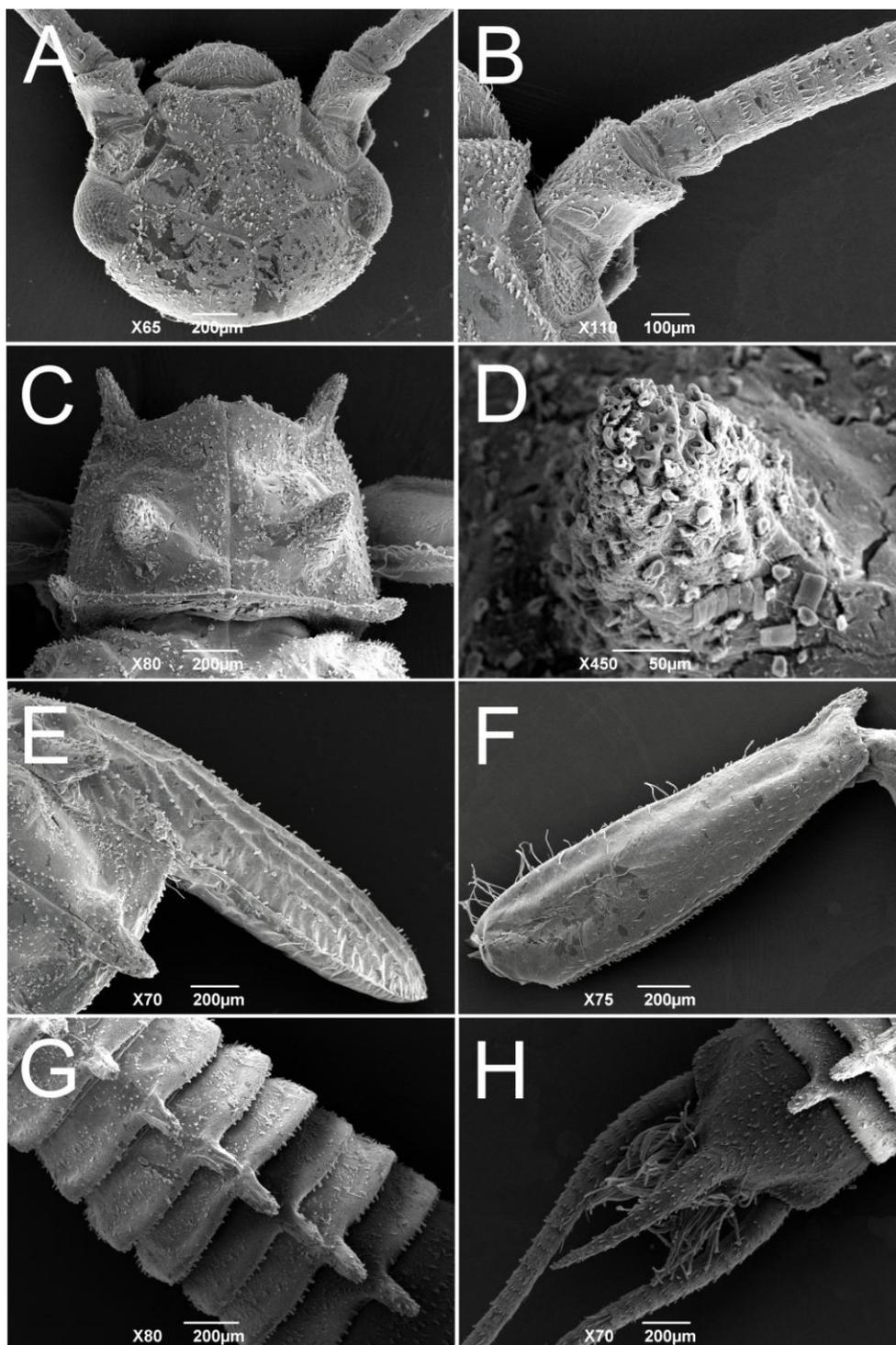


Figura 18. *Griptopteryx coruja* Froehlich. Ninf. A. Cabeça. B. Detalhe do escapo da antena. C. Pronoto e com projeções. D. Detalhe do ápice de uma das projeções do pronoto. E. Teca alar mesotorácica, com detalhes das cerdas que cobrem a estrutura. F. Fêmur em vista anterior. G. Abdome em vista dorsal. H. Projeção do tergito X, brânquias anais e cercos.

MATERIAL ADICIONAL: RJ. ITATIAIA. Penedo. Rio Palmital, 07.iii.2008, 1♂ (#1653). Col. LL Dumas.

MEDIDAS: Macho: Cabeça: 1,27 – 1,57 mm; Asa anterior: 10,54 – 12,60 mm ($n = 8$).

Fêmea: Cabeça: 1,50 – 1,67 mm; Asa anterior: 12,90 – 14,99 mm; ($n = 4$).

COMENTÁRIOS: A espécie foi descrita por Froehlich (1993) com material de Nova Friburgo (Parque Municipal), Itatiaia e Caraguatatuba. Froehlich (1993) comenta, na descrição, a coleta de material em áreas de altitude e baixada. No presente estudo, essa espécie foi encontrada em áreas de 300 a 900 m, e distribuiu-se nas regiões de Lumiar, Rio Bonito de Lumiar, Rio das Flores, Sana e Frade. Caracteriza-se por espécimes de coloração escura, tamanho pequeno a médio (10,00 – 13,00 mm) e pela peculiar projeção do tergo X e dos paraproctos (Froehlich, 1993). Lecci & Froehlich (2011) descreveram a fêmea dessa espécie, mas não com base em material emergido de criação, não sendo informado o método de associação. Não houve sucesso na amplificação do DNA desta espécie, sendo assim, a mesma não foi incluída na análise molecular. A ninfa continua desconhecida.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.1.1.4. *Gripoteryx garbei* (Pictet, 1841) (Figura 19B)

Gripoteryx garbei Navás, 1936: 731. Jewett, 1960: 170.

Jewettoperla garbei Illies, 1963: 185.

Paragripoteryx garbei Illies, 1966: 45. Froehlich, 1969: 19.

Gripoteryx garbei Froehlich, 1990: 240. Froehlich, 1993: 22. Nessimian *et al.*, 2009: 314. Froehlich, 2010: 132. Lecci & Froehlich, 2011: 8. Bispo & Lecci, 2011: 375. Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013: 187. Avelino-Capistrano & Nessimian no prelo.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Rio Bonito de Lumiar. Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 24.x.2010, 1♂ (#2676). Afluente de 2ª ordem do Córrego das Paineiras, 22°23'23,7"S 42°20'04,8"O, 716 m, 05.iii.2009, 1♂1♀ (#1734). Ponte no Rio Bonito, 22°23'27,3"S 42°20'03,6"O, 658 m, 06.iii.2009, 1♂ (#1685). **Lumiar.** Afluente do Rio Santiago, 22°21'05,6"S 42°22'31,6"O, 760 m, 04.iv.2009, 1♂1♀ (#1704). **Cascata.** Afluente de 2º ordem do Rio Macaé, 22°21'54,9"S 42°15'20,5"O, 319 m, 08.iii.2009, 1♂ (#1684). **MACAÉ.**

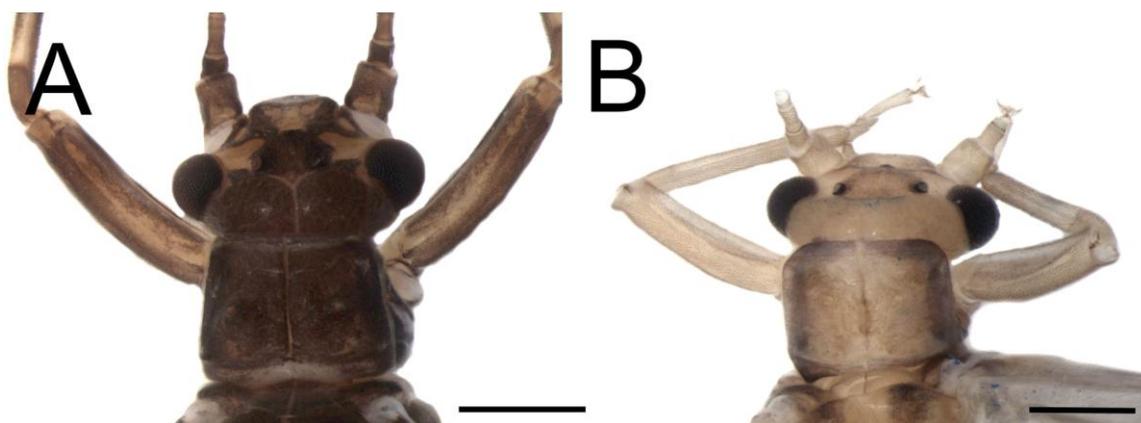


Figura 19. A. *Gripopteryx flinti* Froehlich. Macho. Cabeça e pronoto. B. *Gripopteryx reticulata* (Pictet). Macho. Cabeça e pronoto.

Sana. Rio Sana, 22°18'06,8"S 42°09'23,4"O, 478 m, 18.ii.2009, 1♂ (#1686). Tributário do Rio Boa Sorte, Córrego Ilha, 22°20'41,8"S 42°11'03,7"O, 318m, 19.ii.2009, 1♂ (#1724), 3♂ (#1725). Afluente de 2ª ordem do Rio Sana, 22°19'17,7"S 42°10'58,0"O, 313 m, 16.ii.2009, 1♂ (#1708), 1♀ (#1710*ENT568). **Dois Barras.** Afluente do Córrego Boa Sorte, 22° 15' 21,9"S 42° 03' 45,4"O, 198 m, 22.iii.2009, 1♂ (#1706). **Glicério.** Rio São Pedro, 22°14'17,8"S 42° 03' 32,8"O, 63 m, 19.iii.2009, 1♂ (#2936).

MATERIAL ADICIONAL: BR. RJ. RIO DE JANEIRO. Rio de Janeiro, Parque Nacional da Tijuca, 18.x.1992, 3♂1♀ (#3514*ENT1207/ENT1208), Col. G. Mejdalani.

MEDIDAS: Macho: Cabeça: 0,88 – 1,11 mm; Asa anterior: 6,54 – 8,64 mm ($n = 15$). **Fêmea:** Cabeça: 0,74 – 1,33 mm; Asa anterior: 5,69 – 10,26 mm ($n = 6$).

COMENTÁRIOS: *Gripopteryx garbei* é, dentro do gênero, a espécie com maior distribuição conhecida. A espécie, que foi descrita com material proveniente da Serra de Macaé (RJ), possui seu registro mais setentrional em Camacan (Bahia), possuindo ainda registros ao longo do Sudeste e Sul do Brasil (Lecci & Froehlich, 2011). Na Bacia do Rio Macaé, essa espécie foi encontrada ocorrendo em regiões altas da bacia – Rio Bonito de Lumiar – 800m, mas também no trecho baixo – Sana – 300 m. A espécie caracteriza-se pelo tamanho pequeno, coloração ocre e pelos paraprositos em gancho, curvados para trás. É a menor espécie do gênero e as medidas encontradas para a BRM estão dentro da média encontrada para outras localidades (Froehlich, 1990, 1993; Lecci & Froehlich, 2011). No presente estudo, uma fêmea da BRM (ENT568) foi associada

com um casal coletado no Parque Nacional da Tijuca (ENT1207 e ENT1208), onde as distâncias intraespecíficas entre os espécimes do RJ e da RBM foi de 0,5%.

DISTRIBUIÇÃO: Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Santa Catarina.

4.2.1.1.5. *Griopteryx liana* Froehlich, 1993 (Figura 20)

Griopteryx liana Froehlich, 1993: 31. Avelino-Capistrano & Costa, 2009: 2. Froehlich, 2010: 132. Lecci & Froehlich, 2011: 11.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Rio Bonito de Lumiar.

Rio Santo Antônio (3ª ordem), 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 03.iv.2009, 1♀ (#1720*ENT561). Afluente de 1ª ordem do Rio Bonito, 22°24'37,9"S 42°20'42,2"O, 676 m, 06.iii.2009, 6N (#2510*ENT560). **Lumiar.** Córrego da Pedra Vermelha, Cachoeira São José, 22°18'51,3"S 42°17'46,1"O, 850 m, 24.v.2008, 2N (#2508). Afluente de 2ª ordem do Rio Macaé, 22°21'46,7"S 42°18'36,4"O, 604 m, 16.xi.2008, 1N (#2461). **MACAÉ. Sana.** Córrego Ilha, 22°20'41,8"S 42°11'03,7"O, 318 m, 19.ii.2009, 3N (#2440). Afluente de 2ª ordem do Rio Sana, 22°19'17,7"S 42°10'58,0"O, 313 m, 17.ii.2009, 1N (#3417). 1N (#3418). **Duas Barras,** Afluente do Córrego Boa Sorte, 22°15'21,9"S 42°03'45,4"O, 168 m, 22.iii.2009, 4♀ (#3474).

MEDIDAS: Ninfa: Cabeça: 1,39 – 1,77 mm; Teca alar: 2,54 – 3,23 mm; Comprimento total do corpo: 7,00 – 10,40 mm ($n = 7$). **Fêmea** Cabeça: 0,83 – 1,80 mm; Asa anterior: 6,24 – 15,77 mm ($n = 5$).

DESCRIÇÕES COMPLEMENTARES: Ninfa. Coloração geral marrom, com pernas matizadas (Figura 20A). Cabeça, pronoto e mesonoto cobertos por cerdas sulcadas (Figura 20B-D). Pernas com fileira dorsal de cerdas plumosas e coberto por cerdas sulcadas na face anterior do fêmur e tíbia; face posterior da tíbia coberta de cerdas filiformes (Figura 20E-F). Abdome coberto por cerdas sulcadas (Figura 20G). Cercos com cerdas filiformes espalhadas ao longo da estrutura, e coroa de espinhos na margem posterior de cada cercômero (Figura 20H).

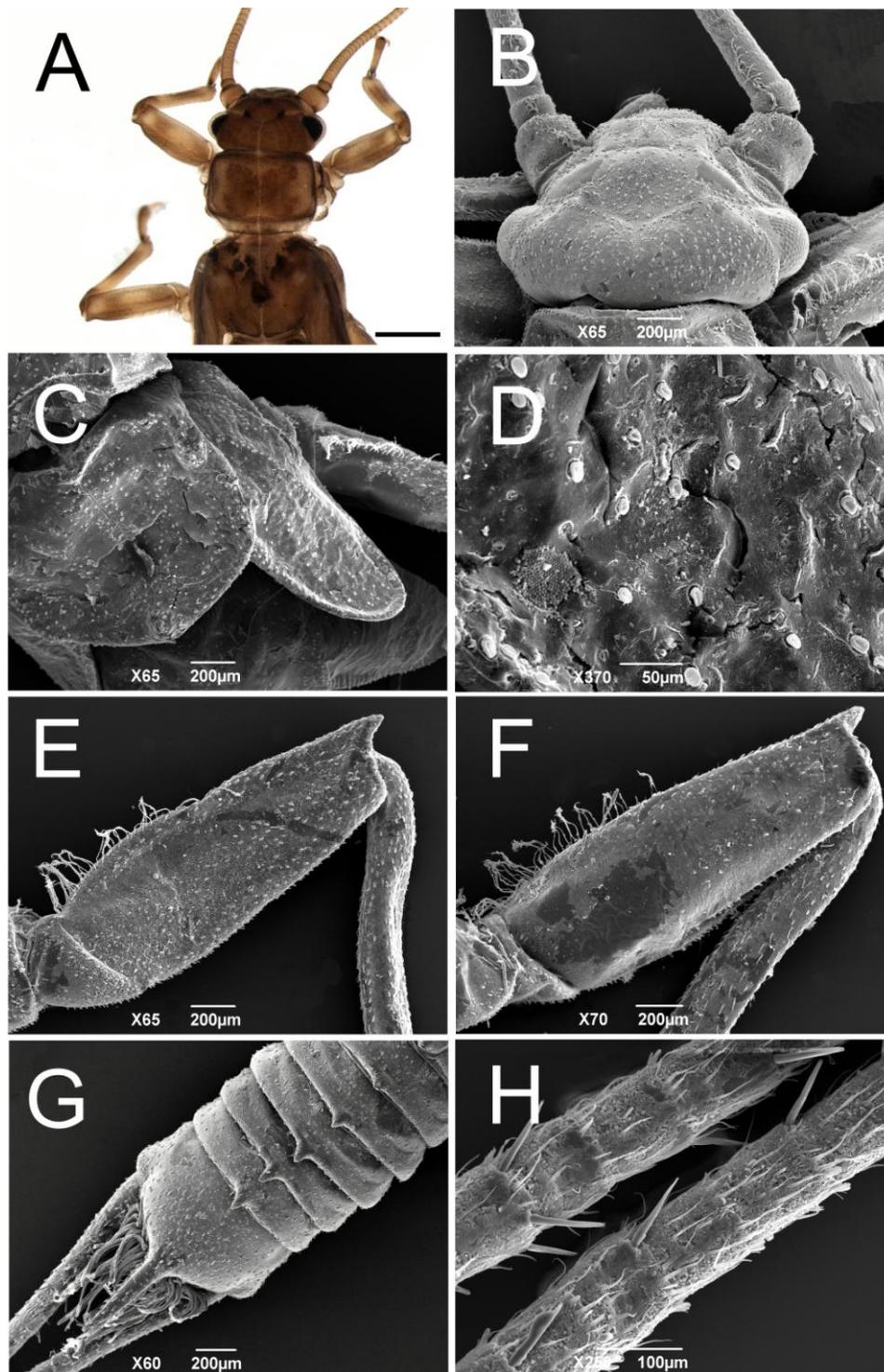


Figura 20. *Griopteryx liana* Froehlich. Nífa. A. Cabeça e pronoto, habitus. B. Cabeça. C. Mesonoto e teca alar. D. Detalhe das cerdas que cobrem o mesonoto. E. Fêmur em vista anterior. F. Fêmur em vista posterior. G. Abdome em vista dorsal. H. Cercos.

COMENTÁRIOS: *Griopteryx liana* foi descrita com material proveniente da Serra do Cipó (MG). Posteriormente, nenhum outro registro dessa espécie foi realizado para outras regiões. A espécie caracteriza-se pela coloração marrom clara, machos com paraprositos relativamente estreitos, simples e com ápice arredondado (ver Froehlich, 1993: Figura 17-18). No presente estudo uma fêmea foi coletada na parte alta da BRM, em Rio Bonito de Lumiar e quatro fêmeas foram coletadas na parte baixa, na localidade de Duas Barras, sendo esses também os primeiros registros desta espécie para o Rio de Janeiro. A fêmea ENT561 foi associada a uma ninfa também da parte alta da bacia, que foi identificada com a chave de ninfas presente em Lecci & Froehlich (2011), onde as características morfológicas da ninfa e o tamanho estão de acordo tanto com as feitas por esses autores como com as presentes na descrição original de Froehlich (1993). As divergências intraespecíficas foram de 1,2% (ENT560*ENT561).

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro [**Novo Registro**], Minas Gerais.

4.2.1.1.6. *Griopteryx pilosa* Froehlich, 1990 (Figura 21A)

Griopteryx pilosa Froehlich, 1990, p. 245. Avelino-Capistrano & Costa, 2009: 3. Nessimian *et al.* 2009: 315. Froehlich, 2010, p 132. Lecci & Froehlich 2011: 10. Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013: 187.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 22°25'30,6S 42°32'00,7"O, 1062 m, 15.x.2010, 1♂ (#3041*ENT563).

MATERIAL ADICIONAL: BR. MG. ITAMONTE. Riacho, 2004-2005, 1♂ (#1750), Col. Santos, APM.

MEDIDAS: RJ. ♂ Cabeça: 1,75 mm; Asa anterior: 13,68 mm; ($n = 1$).

COMENTÁRIOS: A espécie foi descrita com material proveniente da Serra da Mantiqueira (Itatiaia, Sapucaí-Mirim e Campos do Jordão). Apesar de essa espécie ser registrada para três estados, as localidades são muito próximas umas das outras, mantendo a distribuição restrita, até o momento, as regiões limítrofes destes estados. No presente estudo, apenas um exemplar macho foi coletado no município de Nova Friburgo, entretanto, esse é o primeiro registro dessa espécie para a Serra do Mar. Outra característica é a distribuição manter-se apenas em áreas altas destas serras. A espécie

descrita por Froehlich (1990) caracteriza-se pela coloração escura, machos com paraprosctos finos e ápice arredondado e ninfas com um pequeno par de elevações no pronoto (ver Froehlich, 1990: Figura 42). Tamanho e coloração estão de acordo com a descrição de Froehlich (1990) e Lecci & Froehlich (2011). Apenas uma sequência de um macho de Macaé de Cima (ENT563) foi obtida com sucesso e utilizada na análise molecular; dessa forma, não houve nenhuma associação com ninfas e fêmeas.

DISTRIBUIÇÃO: Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.1.1.6. *Gripopteryx reticulata* Brauer, 1866 (Figura 21B)

Gripopteryx reticulata Brauer, 1866: 51. Jewett, 1960: 171. Illies, 1963: 157. Illies, 1966: 30. Froehlich, 1990: 238. Froehlich, 2010: 133. Lecci & Froehlich, 2011: 4. Bispo & Lecci, 2011: 375. Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013: 187.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Lumiar. Afluente do Córrego Santa Margarida, 22°20'00,0"S 42°17'24,1"O, 1.005 m, 16.xi.2008, 1N (#2495), 8N (#2500). Córrego Santa Margarida, 22°20'00,0"S 42°17'24,1"O, 1.005 m, 14.xi.2008, 1N (#3513). Rio Pedra Vermelha, Cachoeira do Indiana Jones, 22°19'02,1"S 42°17'28,5"O, 900 m, 14.xi.2008, 1N (#2456). Afluente do Córrego Boa Vista, 22°23'57,9"S 42°19'14,6"O, 583 m, 15.xi.2008, 1N (#3508). **Rio Bonito de Lumiar.** Rio Santo Antônio (3ª ordem), 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 04.iv.2009, 1N (#2445). Afluente de 2ª ordem do Córrego das Paineiras, 22°23'23,7"S 42°20'04,8"O, 716 m, 06.iii.2009, 83 N (#2428), 17N (#2505), 1♀ (#1731), 21N (#3511). **Ramalhete,** Afluente de 1º ordem do Rio Bonito, 22°24'37,9"S 42°20'42,2"O, 676 m. 06.iii.2009, 1N (#2506). **MACAÉ. Sana.** Córrego Ilha, 22°20'41,8"S 42°11'03,7"O, 318 m, 22°11'38,4"S 42°04'46,1"O, 576 m, 21.iii.2009, 5N (#2463), 1N (#2512). Rio Crubixá. 22°11'38,1"S 42°04'26,1"O, 523 m, 21.iii.2009, 4N (#2429), 2N (#2433*ENT592), 6N (#2434), 5N (#2511). **Frade.** Rio São Pedro, 22°13'45,1"S 42°07'39,6"O, 426 m, 20.iii.2009, 4N (#2423).

MATERIAL ADICIONAL. MG. ITAMONTE. Rio Airuoca, 1♀ (#1656*ENT570), Col. Dumas, LL, Braga, RB, Nessimian, JL & MR Souza. **ALTO CAPARAÓ.** Vale

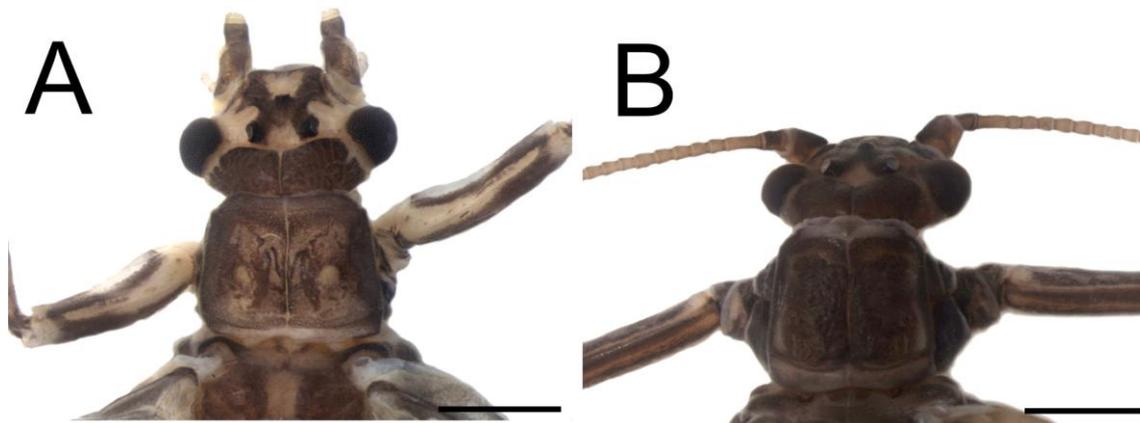


Figura 21. A. *Gripopteryx pilosa* Froehlich. Macho. Cabeça e pronoto. B. *Gripopteryx reticulata* Brauer. Macho. Cabeça e pronoto.

Verde, Parque Nacional do Caparaó, 07.x.2010, 3♂ (#2856*ENT588), Col. Ferreira-Jr, N, Nessimian, JL, Dumas, LL, Clarkson, B & IC Golçalves.

MEDIDAS: RJ. Ninfas: Cabeça: 1,70 – 1,91 mm; Teca alar: 2,72 – 3,77 mm; Comprimento total do corpo: 8,90 – 13,53 mm ($n = 4$). **Fêmea:** Cabeça: 1,65 – 1,90 mm; Asa anterior: 13,77 – 17,16 mm ($n = 2$). **MG. Macho:** Cabeça: 1,88 mm; Asa anterior: 18,60 mm ($n = 1$). **Fêmea:** Cabeça: 2,59 mm; Asa anterior: 23,96 mm ($n = 1$).

COMENTÁRIOS: *Gripopteryx reticulata* distribui-se em regiões da Serra da Mantiqueira (Campos do Jordão, Itatiaia), Serra do Mar (Salesópolis, Bocaina, Petrópolis, Nova Friburgo) e Serra do Espinhaço (Serras do Caraça e Cipó). No presente estudo, ninfas foram coletadas nas regiões mais altas da BRM (1.000 – 500 m), sendo encontrados em sua maioria em trechos de 1ª ordem. A espécie caracteriza-se por espécimes de tamanho grande (asa anterior $\approx 17,0$ mm ♂ / $\approx 22,0$ mm ♀), coloração cinza e tergo X dos machos triangular e com ganchos dos paraproctos curvados para trás. Através da análise molecular, houve a associação de uma ninfa de Macaé com uma fêmea de Itamonte (MG) e um macho de Alto Caparaó (MG), onde as divergências intraespecíficas variaram de 1,9% (ENT570*ENT592) a 4,1% (ENT570*ENT588). A ninfa associada está de acordo com a descrita por Froehlich (1990) e com a chave de Lecci & Froehlich (2011). Em relação ao tamanho, as ninfas maduras medidas neste trabalho foram maiores que as da descrição original, onde as ninfas mediam entre 5,20 a 6,40 mm de tamanho total; dado o tamanho dos adultos, possivelmente as ninfas

mensuradas na descrição original ainda não eram de ínstares avançados ou pertenciam à outra espécie próxima à *G. reticulata*.

DISTRIBUIÇÃO: Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.1.2. *Guaranyperla* Froehlich, 2001 (Figura 22)

Guaranyperla Froehlich, 2001: 377. Stark *et al.*, 2009: 87. Froehlich, 2010: 134. Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013: 186. Avelino-Capistrano & Nessimian, no prelo.

Guaranyperla Froehlich é um gênero de distribuição restrita ao Sudeste do Brasil e caracteriza-se por apresentar ninfas com notórias expansões pronotais laterais (Figura 20A-B) e adultos com pronoto relativamente largo e podendo possuir projeções laterais anteriores (Froehlich, 2001). Diversos autores vêm encontrando ninfas em todo o Sudeste brasileiro (Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013; Avelino-Capistrano & Nessimian, no prelo), entretanto, há maior dificuldade de identificar os adultos, uma vez que são muito parecidos com os exemplares de *Tupiperla*.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Rio Bonito de Lumiar. Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 23.x.2010, 1 exúvia (#2660). Afluente de 3ª ordem do Rio Bonito, 22°24'38,2"S 42°20'38,6"O, 669 m, 06.iii.2009, 2N (#2414).

MATERIAL ADICIONAL: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Rio Cascatinha, 23.x.2011, 1♀ (#3472*ENT292), Col. DM Takiya & APM Santos. **TERESÓPOLIS.** Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio Paquequer, Ponte, 15 – 18.x.2011, 3♀ (#3518*ENT1059), Col. DM Takiya.

MEDIDAS: Fêmea: Cabeça: 1,24 mm; Asa anterior: 10,61 mm ($n = 1$).

COMENTÁRIOS: *Guaranyperla* foi representado apenas por duas ninfas coletadas em Nova Friburgo (Rio Bonito de Lumiar), em um trecho de 3ª ordem do Rio Bonito, localizado a 900 m de altitude. Em outra localidade, uma exúvia foi encontrada, porém nenhum adulto ou ninfa. *Guaranyperla* é um gênero de poucas espécies, que possui muitos registros de ninfas, entretanto nenhum adulto. Na análise molecular, entretanto, uma fêmea emergida de *G. guapiara* Froehlich oriunda de Nova Friburgo (Cascatinha)

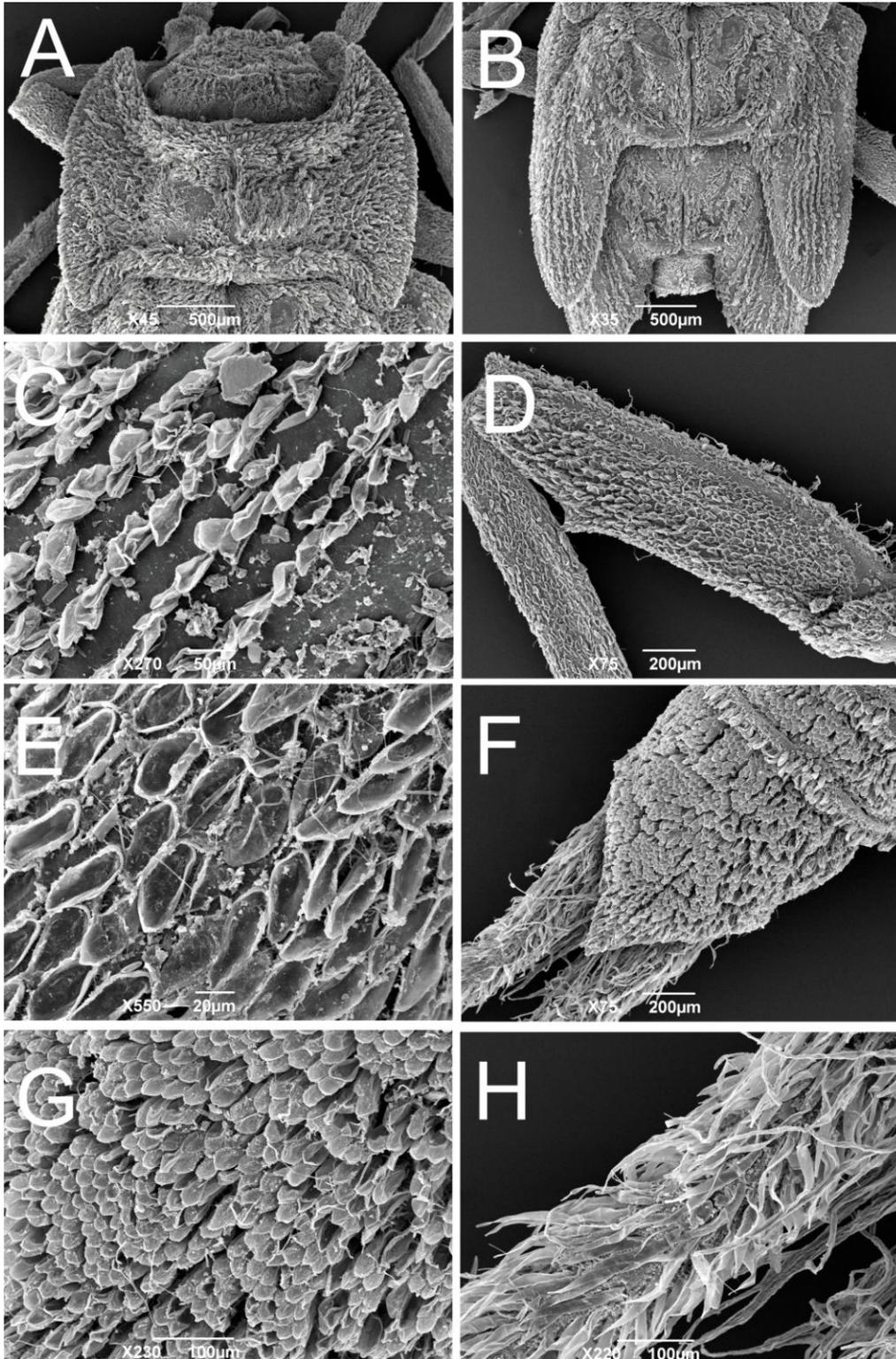


Figura 22. *Guaranyperla* Froehlich. Ninf. A. Cabeça e pronoto. B. Meso- e metanoto. C. Detalhe das cerdas vesiculares sobre as tecas alares. D. Fêmur em vista anterior. E. Detalhe das cerdas que cobrem as pernas. F. Tergo IX e X. G. detalhes das cerdas que cobrem o tergo X. H. Cerdas presentes na base dos cercos.

aparece dentro de um clado onde estão espécimes de *Tupiperla barbosai* e *T. modesta*. De fato, ambos os gêneros possuem características morfológicas semelhantes, como o espinho na parte ventral do fêmur e os paraproctos longos projetados no último segmento do abdome. Entretanto, as ninfas de *Guaranyperla* possuem projeções no pronoto e cerdas vesiculares cobrindo quase toda a parte dorsal (Figura 22A–H). Na análise molecular, as distâncias entre as fêmeas de *G. guapiara* (ENT292 e ENT1059) e machos de *T. barbosai* (ENT1058) foram baixas (4,9%), ao contrário das distâncias entre *G. guapiara* e *T. modesta* (ENT595 e ENT605) que foram bem elevadas (17,9%). Desta forma, dada a pouca amostragem e a utilização de apenas um gene em nossa análise, quaisquer conclusões carecem de maiores investigações. Uma análise filogenética do grupo, com a utilização de mais espécies de *Guaranyperla* e *Tupiperla* e de genes nucleares associados a caracteres morfológicos poderá esclarecer inclusive o posicionamento filogenético dos dois gêneros.

DISTRIBUIÇÃO: Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.1.3. *Paragripopteryx* Enderlein, 1909

O gênero foi criado por Enderlein a partir de um exemplar de *Gripopteryx cancellata* Klapálek, onde a mesma foi renomeada como *P. klapaleki*. Anos depois, Illies (1963) sinonimizou *P. klapaleki* com *Semblis gracilis* (agora *Tupiperla gracilis*). Froehlich (1969) revalidou *P. klapaleki* e transferiu *S. gracilis* para *Tupiperla*. Atualmente, o gênero conta com 14 espécies válidas (Froehlich, 2010; Bispo & Lecci, 2011) e distribui-se desde o Sudeste do Brasil ao Uruguai e Argentina (Misiones).

Paragripopteryx foi representado por dez exemplares, sendo cinco ninfas ainda não associadas e morfotipadas como *Paragripopteryx* sp. BRM01N e cinco machos distribuídos nas espécies *P. analuciaae* **sp. nov.**, *P. curupira* **sp. nov.** e *P. klapaleki* Enderlein. Esses são os primeiros registros do gênero na região. Os exemplares foram coletados em duas áreas distintas, uma localizada na região mais alta da bacia, em Nova Friburgo e outra na parte baixa, em Macaé (Sana), a 313 m de altitude. Devido aos poucos exemplares, não foi realizada uma análise separada do gênero, sendo apenas o registro tratado neste trabalho.

4.2.1.3.1. *Paragripopteryx analuciae* sp. nov. (Figura 23)

MATERIAL EXAMINADO: HOLÓTIPO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Rio Bonito de Lumiar. Afluente de 2ª ordem do Rio Bonito, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 03.iv.2009, 1♂ (#1717). **PARÁTIPOS: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Cascata.** Córrego da Cascata, 22°21'50,1"S 42°15'33,0"O, 413 m, 08.iii.2009, 1♂ (#1688*ENT1206). **MACAÉ. Sana.** Riacho Peito do Pombo, Afluente de 2ª ordem do Rio Sana, 22°19'17,7"S 42°10'58"O, 313 m. 16.ii.2009, 1♂ (#2731).

MATERIAL ADICIONAL: BR. RJ. RIO DE JANEIRO. Parque Nacional da Floresta da Tijuca, 18.x.1992, 1♂ (#1777), Col. G. Mejdalani.

MEDIDAS: Macho: Asa anterior: 5,71 – 6,24 mm (*média* = 5,9 mm; *n* = 4).

DESCRIÇÃO: HOLÓTIPO, Macho: Coloração geral marrom-claro. Tamanho pequeno. Asas marrons com poucas veias transversais. Antena quase tão longa quanto as asas. Três ocelos bem delimitados. Olhos pretos. Pernas marrons, com cerdas curtas e marrons. Pronoto mais escuro nas laterais. Segmentos abdominais I – VII com manchas irregulares escurecidas e VIII-X mais claros. Esternos I-X e paraproctos cobertos de cerdas; cerdas dos paraproctos marrons e longas. Esterno IX formando a placa subgenital. Projeção do tergo X longa, com ápice arredondado e com duas pequenas projeções pontiagudas. Paraproctos longos, com formato retangular, com extremidade final arredondada. Epiprocto projetado entre os paraproctos, falciforme e com ápice pontiagudo.

COMENTÁRIOS: *Paragripopteryx analuciae* sp. nov. pode ser caracterizada pela longa projeção do tergo X e pelo formato dos paraproctos, que são similares aos paraproctos de *Paragripopteryx delicata* Froehlich (Froehlich, 1994). Entretanto o tergo X de *P. analuciae* é mais longo que em *P. delicata*, e *P. analuciae* tem poucas veias transversais. A projeção do tergo X é muito parecida com o de *P. anga* Froehlich, entretanto, *P. analuciae* sp. nov. possui o ápice dos paraproctos retangular, enquanto em *P. anga*, essa estrutura é arredondada, e os paraproctos se curvam 45° da parte mediana ao ápice da estrutura. Houve sucesso na amplificação e sequenciamento do DNA de um espécime da BRM e esta pode ser incluída na análise molecular. Na

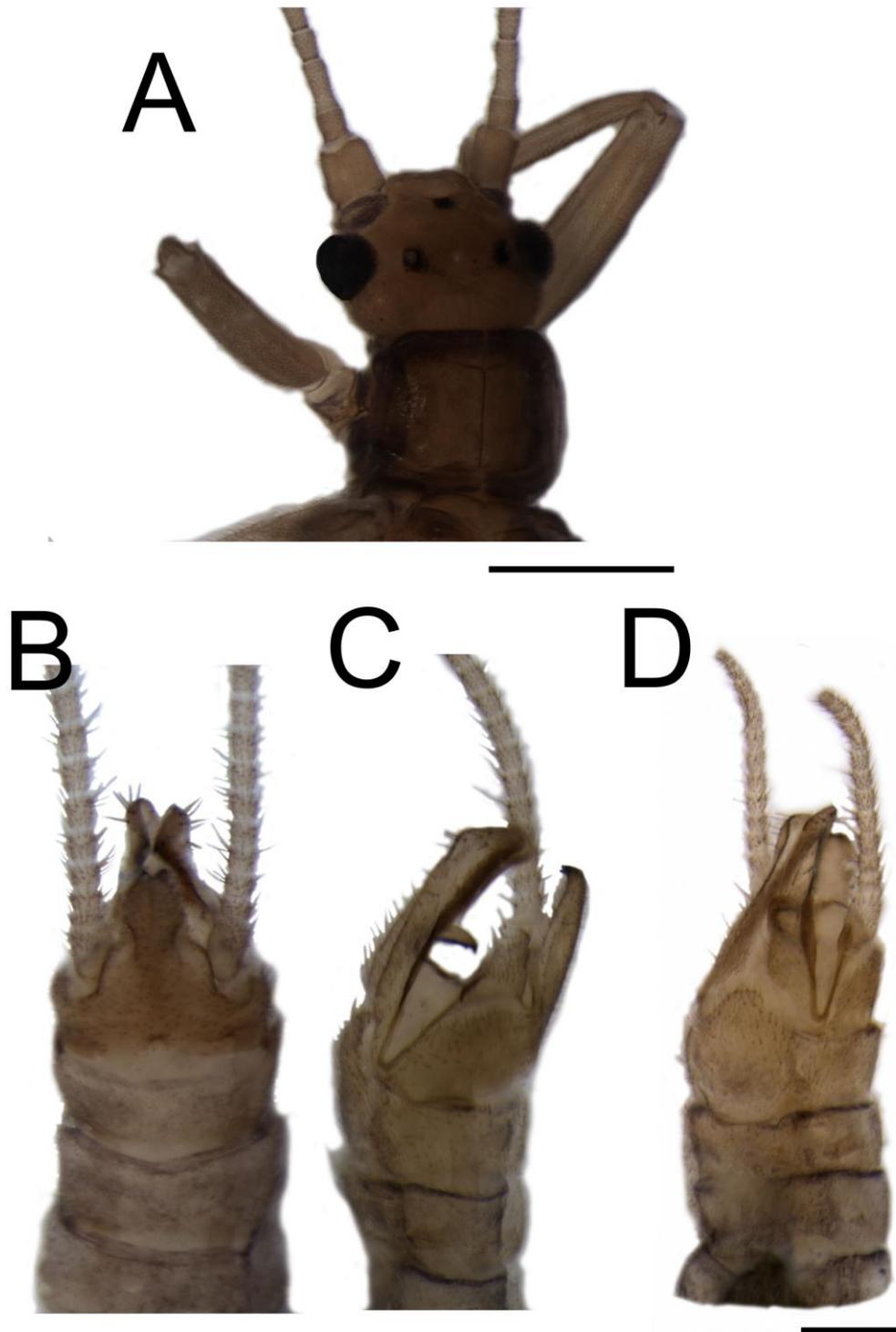


Figura 23. *Paragripopteryx analuciae* sp. nov. Holótipo. Macho. A. Cabeça e pronoto. B. Abdome em vista dorsal. C. Abdome em vista lateral; detalhe do

epiprocto e dos paraproctos. D. Abdome em vista látero-ventral; detalhe dos paraproctos e da placa subgenital.

presente análise, a espécie manteve-se bem separada das demais espécies de *Paragripopteryx*.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

ETIMOLOGIA: O nome dessa espécie é uma homenagem à entomóloga Dra. Ana Lúcia Henriques de Oliveira, amiga e colega de trabalho, colaboradora na coleta de novos exemplares de Plecoptera pelo Brasil.

4.2.1.3.2. *Paragripopteryx curupira* sp. nov. (Figura 24)

MATERIAL EXAMINADO: HOLÓTIPO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 3ª ordem, 22°25'30,6"S 42°32'00,7"O, 1.062 m, 15.x.2010, 1♂ (#3091*ENT290).

MEDIDAS: Macho: Asa anterior: 6,21 mm.

DESCRIÇÃO: HOLÓTIPO, Macho: Coloração geral marrom-claro. Tamanho pequeno. Asas marrons com poucas veias transversais. Antena quase tão longa quanto as asas. Três ocelos bem delimitados. Olhos pretos. Pernas marrons, com cerdas curtas e marrons. Pronoto mais escuro nas laterais. Esterno IX formando uma placa subgenital triangular. Projeção do Tergo X mediana, com ápice culminando em duas pequenas projeções pontiagudas. Paraproctos longos e robustos, com formato triangular em vista lateral. Epiprocto projetado entre os paraproctos, falciforme e com ápice pontiagudo.

COMENTÁRIOS: *Paragripopteryx curupira* sp. nov. pode ser caracterizada pela projeção mediana do tergo X e pelo formato dos paraproctos. É muito similar a *Paragripopteryx blanda* Froehlich (Froehlich, 1969), entretanto os paraproctos de *P. curupira* são muito mais robustos que o de *P. blanda*, além disso, *P. curupira* possui poucas veias transversais. Na presente análise, o macho incluído na análise molecular teve sua sequência recuperada, e manteve-se separada das demais espécies de *Paragripopteryx*.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

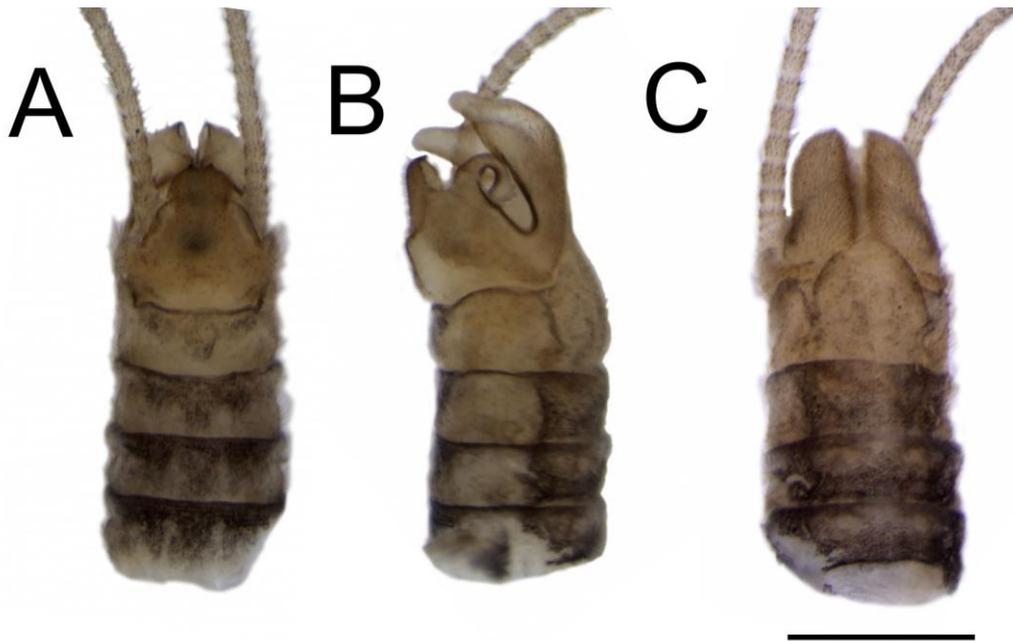


Figura 24. *Paragriopteryx curupira* sp. nov. Holótipo. Macho. A. Abdome em vista dorsal. B. Abdome em vista lateral; detalhe do epiprocto e dos paraproctos. C. Abdome em vista ventral; detalhe dos paraproctos e da placa subgenital.

ETIMOLOGIA: Curupira é uma figura do folclore brasileiro, caracterizada por um menino ou anão que possui os cabelos vermelhos e os pés virados para trás - como os paraproctos de *P. curupira*. Diz que é uma entidade protetora das matas, que fazia viajantes e caçadores se perderem nas florestas.

4.2.1.3.3. *Paragriopteryx klapaleki* Enderlein, 1969 (Figura 25)

Griopteryx cancellata Klapálek 1904.

Paragriopteryx klapaleki Enderlein 1909b: 416.

Griopteryx klapaleki Jewett, 1960b: 170. Illies 1963: 179. Sinônimo of *Paragriopteryx gracilis*

Paragriopteryx klapaleki Illies 1966: 46. Froehlich 1969: 19. Zwick 1973: 476. Froehlich 1994: 228.

Nessimian *et al.* 2009: 315. Froehlich 2010: 136. Avelino-Capistrano & Nessimian 2013: 190.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Rio Bonito de Lumiar.

Afluentes de 2ª ordem do Rio Bonito, 22°24'38,2"S 42°20'38,6"O. 669 m, v.2008, 1♂ (#3238).

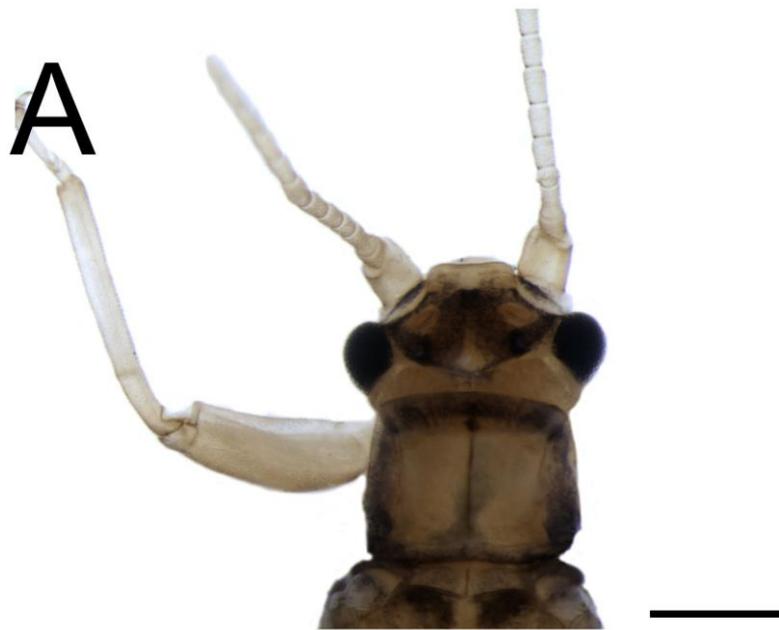


Figura 25. *Paragripopteryx klapaleki* Enderlein. Macho. A. Cabeça e pronoto.

MEDIDAS: Macho: Asa anterior: 6,39 mm ($n = 1$). **COMENTÁRIOS:** *Paragripopteryx klapaleki* foi descrita como *Gripopteryx cancellata* por Klapálek (1904) a partir de um exemplar macho oriundo de Petrópolis

(RJ). Enderlein (1909), ao examinar o material verificou que esse se tratava de um gênero novo, criando assim o gênero *Paragripopteryx*. Essa espécie ainda foi revisada por Froehlich (1969) e novos registros foram realizados para São Paulo por este autor e por Nessimian *et al.* (2009) para outras localidades do Rio de Janeiro (Floresta da Tijuca). No presente estudo, um macho foi coletado no distrito de Rio Bonito de Lumiar (Nova Friburgo) (Figura 25), ampliando assim a distribuição dessa espécie para a Serra do Mar. O tamanho dos espécimes se manteve dentro da média encontrada para outras localidades. Apesar dos esforços, não houve sucesso na extração de DNA e o material não foi incluso na análise molecular.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro. São Paulo.

4.2.1.3.4. *Paragripopteryx* sp. BRM01N (Figura 26)

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Rio Bonito de Lumiar. Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 23.x.2010, 1N (#2662). Córrego

Ramalhete, Afluente de 3ª ordem do Rio Bonito, 22°24'38,2"S 42°20'38,6"O, 669 m, 06.iii.2009, 2N (#2411). Rio Bonito, 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O, 608 m, 07.iii.2009, 1N (#2413). **Lumiar**. Córrego Santa Margarida, 22°20'00,1"S 42°17'24,1"O, 970 m, 14.xi.2008, 1N (#2412).

MEDIDAS: Ninfa: Cabeça: 0,63 mm; Teca: 1,51 mm; Tamanho total: 5,39 mm ($n = 1$).

MEDIDAS: Ninfa. Coloração geral marrom-claro (Figura 26). Cabeça marrom, com três ocelos pretos; olhos pretos; escapo da antena marrom-claro; antena marrom. Pronoto com bordas marrom e área interna marrom-claro; tecas alares marrom escura em ninfas de últimos instares; pernas marrom-claro, como fêmur do último para de pernas com bandas marrom paralelas as bordas. Abdome com coloração geral marrom clara, com manchas marrom-escuro; ultimo tergito com ápice arredondado. Brânquias transparentes. Cercos marrom, clareando em direção ao ápice.

COMENTÁRIOS: As ninfas de *Paragripopteryx* sp. BRM01N foram coletadas em áreas altas da BRM. Não houve sucesso na amplificação do DNA e o material não foi incorporado na análise molecular, permanecendo assim, desassociada. A ninfa compartilha características com a ninfa de *P. guardae* Froehlich, especialmente na



Figura 26. *Paragripopteryx* sp. BRM01N. Ninfa. A. Cabeça, pronoto e parte das tecas alares do mesonoto em vista dorsal.

coloração do pronoto. Froehlich (1994) ainda descreve no mesmo trabalho a ninfa de *P. delicata* Froehlich, que compartilha com a ninfa de *Paragripopteryx* sp. BRM01N apenas a coloração geral marrom. Froehlich (1994) ainda ressalta a variação na coloração entre os imaturos de *P. guardae*. espécimes de analisado. Dessa forma, dada a variação de cor relatada pelo autor, e o número de espécies a serem descritas, resultados mais consistentes são necessários para se estabelecer a associação.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

4.2.1.4. *Tupiperla* Froehlich, 1969

O gênero *Tupiperla* foi erigido por Froehlich (1969) para abrigar *Semblis gracilis* Burmeister. A espécie já havia sido transferida para os gêneros *Capnia* (Pictet, 1841) e *Paragripopteryx* (Illies, 1963). Após vários anos de identificações equivocadas, Froehlich demonstrou que *S. gracilis* não pertencia a nenhum desses gêneros, criando então *Tupiperla*. O gênero caracteriza-se por insetos de tamanho pequeno, de coloração geralmente escura, presença de um espinho disto-ventral no fêmur, ausência de epiprocto, tergo X longo e paraproctos longos e diferenciados. Atualmente são encontradas 16 espécies e a distribuição é dada desde as terras altas da região central e leste do Brasil até região noroeste da Argentina, Paraguai e Uruguai (Froehlich, 2010; Bispo & Lecci, 2011; Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013).

No presente estudo, *Tupiperla* foi representado por 21 exemplares, sendo 12 machos, seis fêmeas e três ninfas. Entre os adultos, foram encontradas quatro espécies: *T. gracilis* (Burmeister), *T. reichardti* Froehlich, *T. saci* **sp. nov.** e *T. tessellata* (Brauer). Apenas três ninfas foram coletadas, sendo uma associada através da análise molecular a *T. tessellata*. As divergências intraespecíficas variaram de 0 a 5%, enquanto as divergências interespecíficas variaram entre 17,9 e 21,7%. Em relação à distribuição espacial, *T. tessellata* foi a espécie com maior distribuição na bacia, enquanto *T. reichardti*, foi encontrado apenas na faixa altitudinal dos 500 – 600 m.

4.2.1.4.1. *Tupiperla gracilis* (Burmeister, 1839) (Figura 27)

Sembris gracilis Burmeister. 1839: 876.

Capnia (Gripopteryx) gracilis Pictet, 1841: 330.

Capnia gracilis Walker, 1852:175. Hagen, 1861: 303.

Gripopteryx gracilis Klapálek. 1904:10. Claassen. 1940: 31.

Tupiperla gracilis Froehlich. 1969: 29. Froehlich. 1998: 20. Froehlich. 2010: 138. Bispo & Lecci, 2011: 379. Avelino-Capistrano & Nessiman, 2013: 188.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Lumiar. Afluente do Rio Bonito, 25.v.2008, 1♂ (#3269). **Rio Bonito de Lumiar.** Rio Bonito, 22°23'27,3"S 42°20'03,6" O, 658 m, 06.iii.2009, 1♂ (#1681). **CASIMIRO DE ABREU. Figueira Branca.** Ribeirão da Luz, 22°25'48,2"S 42°12'11,9"O, 77 m, 25.iv.2009, 1♀ (#1680).

MATERIAL ADICIONAL: BR. SP. SÃO JOSÉ DO BARREIRO. Parque Nacional da Serra do Bocaina. Lajeado, Cachoeira Paredão, 22°43'33,3"S 44°37'17,6"O, 1540 m, 17.xii.2010, 1♂1♀ (#2828). Col. Souza, MR, Oliveira, ALH, Dumas, LL & JL Nessimian.

MEDIDAS: Macho: Cabeça: 0,90 mm; Asa anterior: 7,11 mm; ($n = 1$).

COMENTÁRIOS: A espécie foi descrita apenas com registro de 'Brasil', sem mais informações precisas e, segundo Froehlich (1998), o material provavelmente tem do origem no Rio de Janeiro. A espécie caracteriza-se por possuir o ápice do paraprocto alargado. São registradas ocorrências dessa espécie na Serra do Mar (Paranapiacaba, Salesópolis), Serra da Mantiqueira (Itatiaia, Campos do Jordão) e Serra do Espinhaço (Itabirito e Serra do Cipó). Na BRM foram coletados exemplares tanto no trecho médio, quanto em áreas de baixada, em rios de 2ª a 4ª ordem. O tamanho dos exemplares está de acordo com o material examinado por Froehlich (1998), exceto pelo padrão de coloração, onde os exemplares da BRM são mais claros (Figura 27). Não houve sucesso na extração do DNA das espécies analisadas, desta forma a espécie não foi incluída na análise molecular.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro. Minas Gerais. São Paulo.



Figura 27. *Tupiperla gracilis* (Burmeister, 1839). Macho. A. Cabeça e pronoto.

4.2.1.4.2. *Tupiperla reichardti* Froehlich, 1998

Tupiperla reichardti Froehlich. 1998: 27. Froehlich 2010: 138. Avelino-Capistrano & Nessiman, 2013: 188.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. MACAÉ. Sana. Afluente do Córrego Alegre, 22°15'26,6"S 42°09'52,6"O, 569 m, 18.ii.2009, 1♂1♀ (#1705).

MEDIDAS: Macho: Cabeça: 0,96 mm; Asa anterior: 8,63 mm ($n = 1$). **Fêmea:** Cabeça: 1,14 mm; Asa anterior: 8,68 mm ($n = 1$).

COMENTÁRIOS: *Tupiperla reichardti* está distribuída na Serra do Mar (Guapimirim), Serra da Mantiqueira (Campos do Jordão e Poços de Caldas) e Serra do Japi (Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013). Na BRM essa espécie foi coletada apenas no distrito de Sana (Macaé), em um trecho alto e de 2ª ordem. Caracterizada por uma longa projeção do tergo X e paraprotos complexos, com uma projeção lateral muito característica, na BRM este padrão se repetiu, e está de acordo com a descrição de Froehlich (1998). Não houve sucesso na amplificação do DNA e a espécie não foi incluída na análise molecular.

DISTRIBUIÇÃO: Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.1.4.3. *Tupiperla saci* sp. nov. (Figura 28)

MATERIAL EXAMINADO: HOLÓTIPO. BR. RJ. MACAÉ. Sana. Rio do Peito do Pombo, 22°19'11,7"S 42°10'57,3"O, 310 m, 17.ii.2009, 1♂ (#1715).

MEDIDAS: Macho: Cabeça: 0,86 mm; Asa anterior: 6,03 mm ($n = 1$).

DESCRIÇÃO: HOLÓTIPO, Macho: Coloração geral marrom-escuro (Figura 28A). Cabeça marrom. Olhos pretos; três ocelos pretos, em relevo. Pronoto marrom-escuro, rugoso, com manchas pretas. Asas marrons, com poucas veias transversas. Pernas marrom-escuras; espinho do fêmur ausente nos dois primeiros pares de pernas; no último par, um pequeno espinho está presente no terço posterior da perna. Abdome membranoso, claro tanto em vista dorsal quanto ventral; manchas marrons na parte posterior de cada segmento; último tergito marrom-escuro, com projeção de tamanho médio, que não ultrapassa o terceiro artícuo dos cercos, culminando em duas estruturas pontiagudas (Figura 28B-C); esternito IX com placa arredondada (Figura 28D); paraproctos marrom-escuro, torcidos, coberto por muitas cerdas, mais finos na base e tornando-se mais largo na parte posterior da estrutura (Figura 28C); ápice dos paraproctos arredondada.

COMENTÁRIOS: *Tupiperla saci* sp. nov. caracteriza-se pela forma característica dos paraproctos, torcidos com ápice arredondado. Os machos de *Tupiperla saci* sp. nov. assemelham-se aos de *T. sulina* Froehlich, entretanto, o ápice dos paraproctos de *T. sulina* são mais quadrados em vista lateral, enquanto que os de *T. saci* sp. nov. são arredondados; além disso, há diferenças também na expansão do Tergito X entre estas duas espécies, onde em *T. sulina* há um recorte na base da projeção (Froehlich, 1998: Figura 36), o que não ocorre em *T. saci* sp. nov. (Figura 28B), e no esternito IX, que é arredondado em *T. saci* sp. nov. (Figura 28D) e losangular em *T. sulina* (Froehlich, 1998: Figura 37). Na BRM esta espécie foi encontrada somente em uma localidade, em no distrito de Sana, Macaé. Não houve sucesso na extração de DNA do material e dessa forma não foi possível incluir esta espécie na análise molecular.

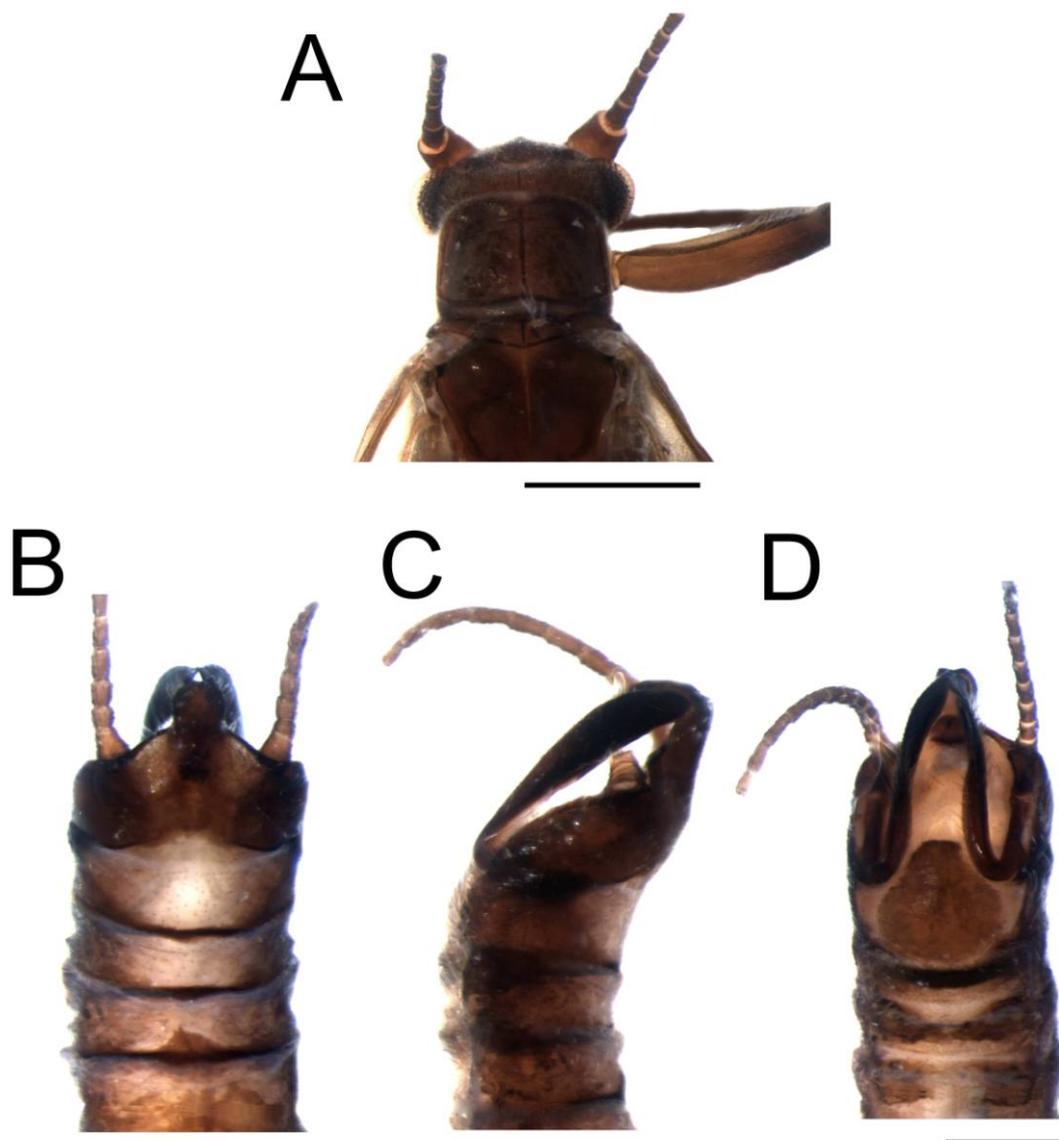


Figura 28. *Tupiperla saci* sp. nov. Holótipo. Macho. A. Cabeça e pronoto. B. Abdome em vista dorsal; detalhe da projeção do Tergo X. C. Abdome em vista lateral. D. Abdome em vista ventral; detalhe da placa subgenital e dos paraproctos.

ETIMOLOGIA: *Saci*, no folclore brasileiro, gênio protetor das ervas e o das matas.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

4.2.1.4.4. *Tupiperla tessellata* (Brauer, 1866) (Figuras 29-31)

Gripopteryx tessellata Brauer 1866: 51. *tessellata* Klapálek 1904: 9. Jewett 1960: 172.

Tupiperla gracilis Illies 1963: 179.

Paragripopteryx gracilis Illies 1966: 48. Froehlich 1998: 21.

Tupiperla tessellata Froehlich 2008: 126. Bispo & Lecci, 2011: 380. Avelino-Capistrano & Nessiman. 2013: 188. Avelino-Capistrano & Nessimian, *no prelo*.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio das Flores, 2ª Ordem, 06.iii.1996, 2♂ (#1064). Tributário de 2ª ordem do Macaé, 22°25'39,6"S 42°31'56,4"O, 1.023 m, 13.ix.2009, 1♂ (#1678*ENT997), 1♂ (#1679*ENT291). Rio Macaé, 22°24'46,0''S 42°31'16,2''O, 935 m, 01.xii.2008, 3♀ (#3131*ENT609). **Lumiar.** Afluente do Rio Santa Margarida, 22°20'10,5"S 42°17'34,2"O, 970 m, 18.xi.2008. 2♂ (#1693). Córrego da Boa Vista, 22°19'01,5"S 42°17'23,3"O, 910 m, 14.ix.2008, 1♀ (#1683). **Rio Bonito de Lumiar.** Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 03.iv.2009, 1♀ (#1718). Rio Bonito, 22°24'31,5"S 42°20'09,6"O, 658 m, 06.iii.2009, 1N (#2416). **Lumiar.** Rio Pedra Vermelha, Cachoeira do Indiana Jones, 22°19'02,1"S 42°17'28,5"O, 900 m, 15.xi.2008, 1N (#2417). **Macaé. Sana.** Córrego Alegre, 22°15'38,8"S 42°10'08,2"O, 573 m, 19.ii.2009, 1N (#2415*ENT612). Córrego Ilha, 22°20'41,8"S 42°11'03,7"O, 318 m, 19.ii.2009, 2♂2♀ (#1721).

MATERIAL ADICIONAL: BR. RJ. RIO DE JANEIRO. Parque Nacional da Tijuca, 18.x.1992, 1♂ (#3475), Col. G. Mejdalani. **ITATIAIA.** Parque Nacional do Itatiaia, Rio Campo Belo, Piscina do Maromba, 16.iv.2007, 2♀ (#3176), Col. Dumas, LL.

MEDIDAS: Ninfa: Cabeça: 1,04 mm; Teca alar: 1,76 mm; Comprimento total do corpo: 5,4 mm ($n = 1$). **Macho:** Cabeça: 0,90 – 1,12 mm ($n = 9$). **Fêmea:** Cabeça: 0,90 – 1,27 mm; Asa anterior: 8,77 – 11,05 mm ($n = 9$).

DESCRIÇÃO: Ninfa: Coloração geral uniforme, marrom-clara. Olhos pretos. Três ocelos pretos, dispostos acima da sutura epicranial. Antenas marrom-claras, com comprimento maior que o corpo. Cabeça e pronoto coberta por cerdas filiformes escuras (Figura 29A); escapo e antena também cobertos por cerdas filiformes, onde na antena estas formam uma coroa na margem posterior (Figura 29B). Meso- e Metanoto também

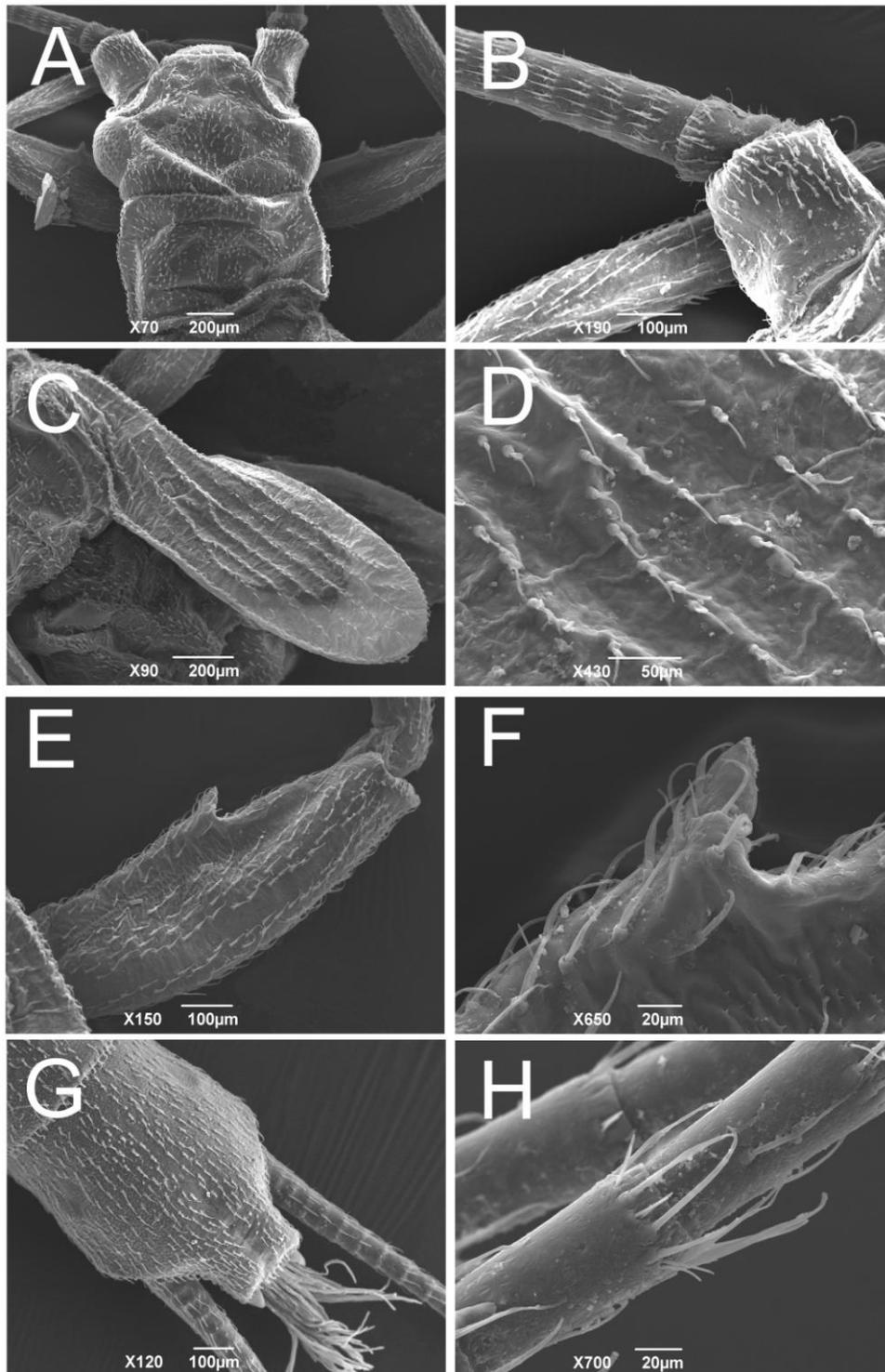


Figura 29. *Tupiperla tessellata* (Brauer, 1866). Ninfã. **A.** Cabeça e pronoto. **B.** Escapo e antena. **C.** Teca alar do metanoto. **D.** Detalhe das cerdas da teca alar. **E.** Fêmur perna anterior. **F.** Detalhe do espinho do fêmur da perna anterior. **G.** Último segmento abdominal (Tergito X) em vista dorsal. **H.** Detalhe das cerdas do cerco.

revestido de cerdas filiformes, sendo que nas tecas alares, estas se distribuem ao longo das veias das asas (Figura 29C-D). Pernas com coloração amarela, cobertas de cerdas (Figura 29E). Espinho do fêmur proeminente e disposto no terço posterior da estrutura (Figura 29F). Abdome marrom, em vista dorsal e ventral, coberto de cerdas filiformes escuras, dispostos dorsolateralmente; ápice do Tergito X quadrado (Figura 29G). Esternito X em forma de V, ultrapassando o Tergito X em vista dorsal; brânquias partem do meio desta estrutura. Todo o abdome coberto por cerdas filiformes e projeções (Figura 30A-B). Cercos de coloração marrom-claros, tornando-se mais claros e finos na porção posterior; um conjunto de cerdas filiformes de vários tamanhos compõe a coroa na margem posterior dos cercômeros (Figura 29H). Brânquias anais em forma de tufo, com coloração marrom-escura.

COMENTÁRIOS: *Tupiperla tessellata* foi descrita originalmente no gênero *Gripopteryx*, mas foi posteriormente transferida para o *Tupiperla* por Froehlich (2008). É a espécie dentro deste gênero com maior distribuição, ocorrendo nas Serra da Mantiqueira (Itatiaia), Serra do Mar (Nova Friburgo, Petrópolis, Teresópolis, Paranapiacaba), Serra do Caraça e Serra do Cipó. Na BRM esta espécie teve ampla distribuição, ocorrendo tanto em áreas altas (1.000 – 800 m) como no trecho de médio da bacia (300 m). A espécie é distinguida das demais pelo diminuto tamanho, coloração marrom escura, paraproctos simples e em forma de ‘cauda de andorinha’ (Froehlich, 1998), e por uma longa projeção do Tergo X; as fêmeas tem padrão de coloração semelhante aos machos, entretanto, o abdome é membranoso possuindo apenas a placa subgenital esclerosada e escura. O tamanho dos espécimes adultos da BRM corroboram com os apresentados por Froehlich (1998) para o material do Rio de Janeiro examinado pelo autor. O tamanho da ninfa foi similar ao da ninfa *T. gracilis* (Burmeister), descrita por Froehlich (1969). Na análise molecular, uma ninfa do Sana as divergências (Macaé, ENT612) associou-se aos machos e fêmeas estudados, e sua descrição é realizada pela primeira vez. As divergências intraespecíficas variaram de 0% (ENT291*ENT609) a 1,9% (ENT609*ENT997).

DISTRIBUIÇÃO: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo.

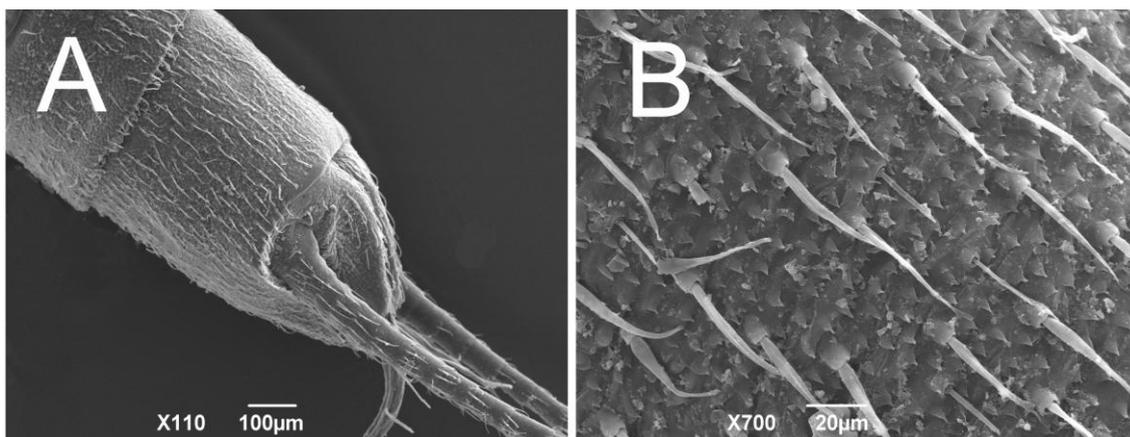


Figura 30. *Tupiperla tessellata* (Brauer, 1866). Nífa. A. Abdome em vista lateroventral. B. Detalhe das cerdas e da textura do tegumento da região lateral da nífa.



Figura 31. *Tupiperla tessellata* (Brauer, 1866). Macho. A. Cabeça e pronoto.

4.2.2. Perlidae

A família Perlidae foi proposta por Latreille (1802) tendo *Perla* como gênero tipo (Stark *et al.*, 2009). Duas subfamílias são conhecidas, Perlinae e Anacroneuriinae, sendo apenas esta última encontrada nos trópicos. A família inclui 51 gêneros e cerca de 800 espécies (Stark *et al.*, 2009). No Brasil, perlídeos são encontrados por todo o

território, sendo alguns gêneros de distribuição restrita. Existem mais de 100 espécies descritas no Brasil, sendo que este número pode ser ainda maior dada a grande diversidade da família bem como a ausência de coletas em muitas regiões do país. Quatro gêneros são registrados até o momento: *Anacroneuria* Klapálek, *Enderleina* Jewett, *Kempnyia* Klapálek e *Macrogynoplax* Enderlein (Froehlich, 2012). No presente estudo foram coletados 786 exemplares pertencentes a essa família, sendo distribuídos entre os três gêneros ocorrentes no Sudeste brasileiro. O gênero *Anacroneuria* foi o mais abundante e o com a maior riqueza, contrastando com *Macrogynoplax*, o qual apenas ninfas foram coletadas. A seguir é apresentada uma lista comentada das espécies de Perlidae ocorrentes na Bacia do Rio Macaé.

4.2.2.1. *Anacroneuria* Klapálek, 1909

Anacroneuria é um gênero megadiverso, endêmico das Américas, tendo sua distribuição ocorrendo desde o Arizona e Texas (EUA) até a região norte da Argentina (Froehlich, 2010; Stark *et al.*, 2009). Até a publicação do livro “*South America Stoneflies (Plecoptera)*” de Stark *et al.* (2009), cerca de 300 espécies já eram conhecidas e outras 28 estavam como *nomina dubia*, pois tratam de descrições antigas, sem resolução até o momento. No Brasil, são registradas 71 espécies (Froehlich, 2012), as quais estão distribuídas por 14 dos 23 estados brasileiros (Froehlich, 2010).

No presente estudo, foram coletados 576 indivíduos em 72 dos 106 pontos coletados. Deste total, 276 foi composto por ninfas e, 300 foram adultos, sendo 69 machos e 231 fêmeas. Com base no estudo da genitália masculina desses espécimes, cinco espécies conhecidas foram encontradas: *A. boraceiensis* Froehlich, *A. debilis* (Pictet), *A. flintorum* Froehlich, *A. itatiaiaensis* Baldin, Bispo & Novaes, *A. mantiqueirae* Froehlich e *A. toriba* Froehlich. Uma espécie nova foi encontrada, *A. ipiau* sp.nov. e é descrita a seguir. Entre as fêmeas, onze morfotipos foram encontrados, baseados na coloração e na morfologia da placa subgenital, as quais apenas dois grupos de fêmeas permaneceram como não identificadas. Entre as ninfas, 11 morfotipos foram encontrados, delineados com base na coloração e na distribuição de cerdas nas pernas e nos cercos e três morfotipos não foram associados à nenhum adulto. Em relação à distribuição espacial, a maioria das espécies de *Anacroneuria* teve distribuição uniforme

por toda a bacia. Entretanto, algumas espécies foram encontradas apenas nos trechos mais elevados, como *A. itatiaiaensis*, *Anacroneuria* sp. BRM01♀, *Anacroneuria* sp. BRM02N e *Anacroneuria* sp. BRM03N; apenas *A. flintorum* foi encontrada apenas na parte baixa da bacia. Divergências interespecíficas variaram de 7,8% (ENT157*ENT492) a 25,3% (ENT575*ENT999).

4.2.2.1.1. *Anacroneuria boraceiensis* Froehlich, 2004 (Figuras 32-33)

Anacroneuria boraceiensis Froehlich, 2004: 54. Bispo & Froehlich, 2004B: 103. Froehlich, 2010: 149.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 22°23'29,7"S 42°29'06"O, 944 m, 01.xii.2008, 1N (#3128), 2♂ (#3252). Margem do Rio Macaé, 15.x.2010, 3♂ (#3413). Macaé, 22°24'46,5"S 42°31'16,2"O, 935 m, 2N (#2477). **Rio Bonito de Lumiar.** Rio Macaé, 22°24'46,0"S 42°31'16,2"O, 935 m. 12.ix.2009, 1N (#2467), 2N (#3273). Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 04.iv.2009, 2N (#2533*ENT986), 1♂ (#1867*ENT983). Rio Bonito, 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O, 803 m, 04.iv.2009, 1N (#2528). Rio Bonito, 22°24'46,5"S 42°24'13,3"O, 786 m, 22.x.2010, 1N (#2620). Afluente do Rio Bonito, 22°24'37,9"S 42°20'42,2"O, 676 m, 06.iii.2009, 1N (#2475). Rio Bonito, 22°24'38,5"S, 42°20'40,7"O, 656 m, 06.iii.2009, 1♂ (#1916). **Lumiar.** Afluente de 3ª ordem do Rio Bonito, Córrego do Sertão, 22°24'54,7"S 42°25'22,3"O, 810 m, 12.ix.2010, 1♂ (#2668). **Sana.** Rio São Bento, 22°20'23,4"S 42°12'13,5"O, 294 m, 4♂ (#1851).

MATERIAL ADICIONAL: BR. SP. SÃO JOSÉ DO BARREIRO. Parque Nacional da Serra do Bocaina, Estrada para o Pico Tira-Chapéu, Rio Mambucaba, 22°43'38,00"S 44°37'56,40"O, 1.529 m, 12.xii.2011, 1♂ (#3316*ENT585). Col. LL Dumas, GA Jardim, PM Souto, ALH Oliveira & JL Nessimian. Rio Mambucaba, 22°43'45,80"S 44°37'17,60"O, 1.466 m, 02.v.2010, 1♂ (#3316*ENT574). Col. APM Santos, LL Dumas, B Clarkson, JL Nessimian & MR Souza,

MEDIDAS: RJ. Ninfas: Cabeça: 1,57 – 2,14 mm ($n = 7$); Teca alar: 1,3 – 2,17 mm ($n = 7$).

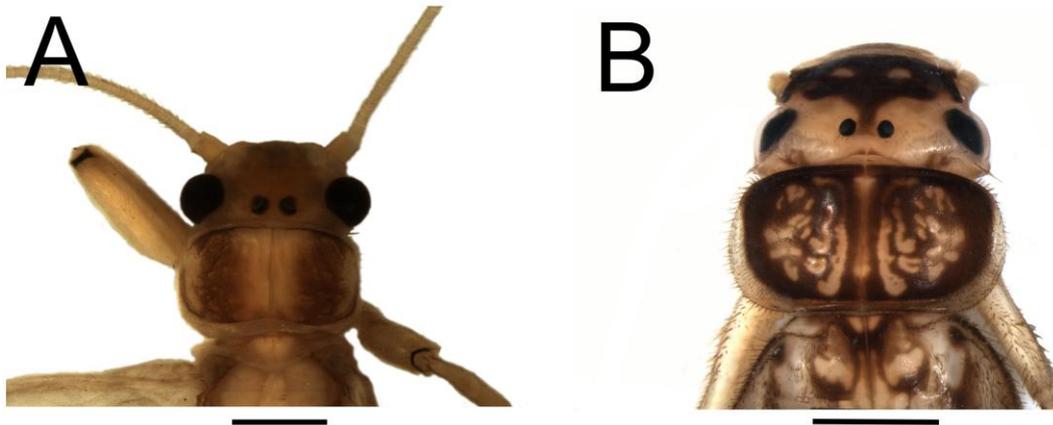


Figura 32. *Anacroneuria boraceiensis* Froehlich. Macho. A. Cabeça e pronoto. Ninfa: B. Cabeça e pronoto.

DESCRIÇÃO: Ninfa. Coloração geral estramínea (Figura 32B). Cabeça coberta de cerdas filiformes (Figura 33A-B), com mancha marrom por quase toda a frente, descendo uma faixa marrom por entre os ocelos até a sutura coronal (Figura 32B); linha M formada por uma depressão do tegumento (Figura 33A); clipeo e labro claros; olhos e ocelos pretos, totalmente pigmentados. Antena com coloração estramínea, coberta por muitas cerdas filiformes e com coroa de espinhos na margem posterior de cada flagelo (Figura 33C). Pronoto marrom, coberto por muitas cerdas, com manchas claras formando uma ornamentação característica; borda do pronoto clara e repleta de espinhos (Figura 33D). Meso- e metanoto com manchas marrons-claras, formando uma ornamentação característica; cerdas marrom cobrem o pronoto, mesonoto e metanoto (Figura 33D-E). Perna de coloração estramínea, coberta por espinhos na parte dorso-anterior (Figura 33F) e com apenas cerdas filiformes na face posterior (Figura 33G); cerdas plumosas transparentes cobrem a parte dorsal do fêmur e da tíbia (Figura 33F-G). Abdome marrom-claro, coberto por muitas cerdas, com espinhos na borda de cada segmento (Figura 33H). Cercos de coloração estramínea, com espinhos espinhos e cerdas espalhados ao longo da estrutura (Figura 33H).

COMENTÁRIOS: A espécie foi descrita com material proveniente da Estação Biológica Boracéia (Salesópolis) (Froehlich, 2004), e posteriormente seu registro foi realizado para Parque Estadual Intervales (Iporanga), ambos localizados em partes diferentes da Serra do Mar. Caracteriza-se por um padrão de coloração distinto na cabeça e por uma quilha em formato de seta na parte dorsal da armadura peniana. No

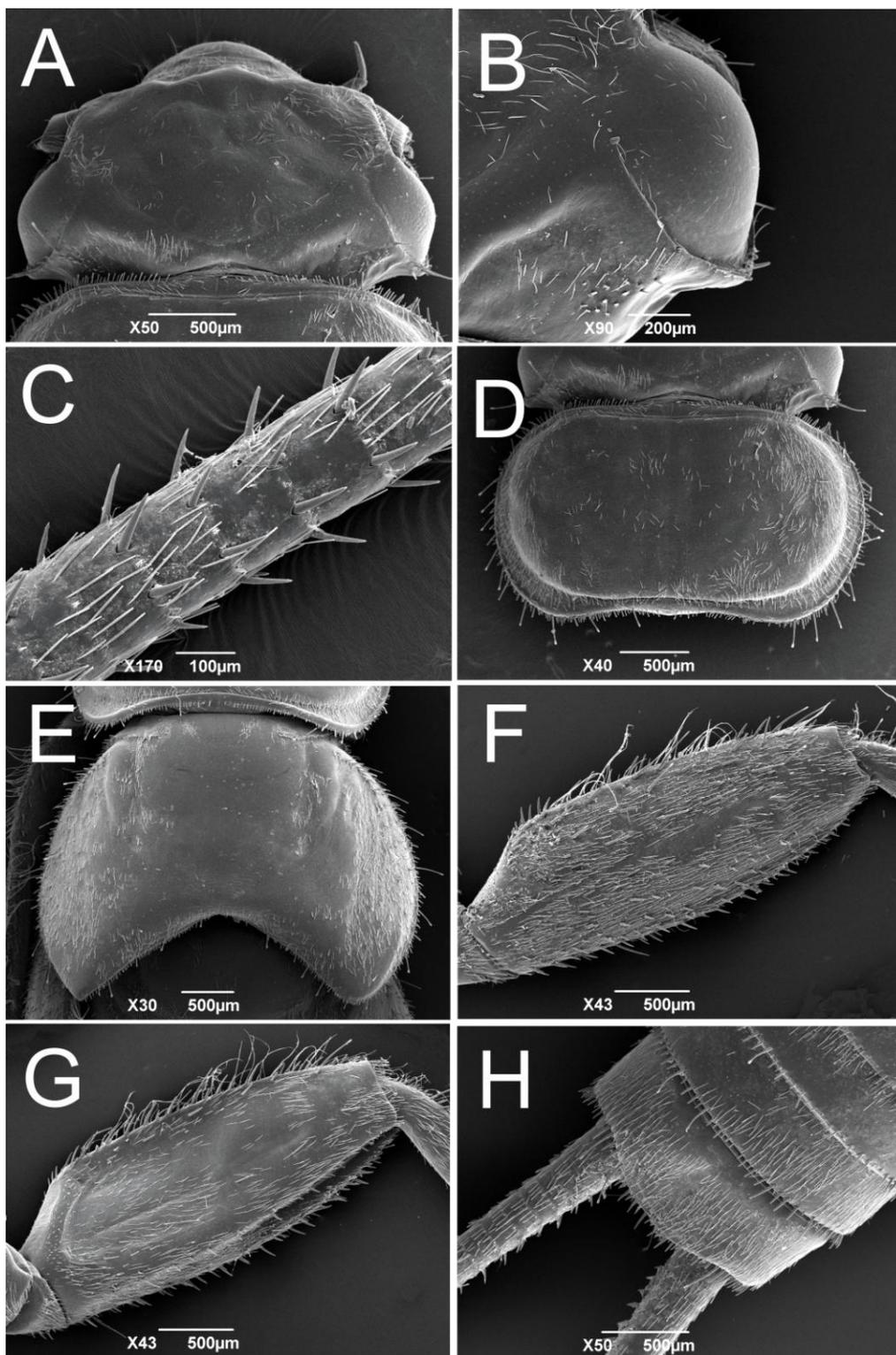


Figura 33. *Anacroneuria boraceiensis* Froehlich. Ninfa: A. Cabeça. B. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Antena; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Mesonoto. F. Fêmur anterior, vista anterior; G. Fêmur em vista posterior; H. Abdome, em vista dorsal.

presente trabalho, a distribuição dessa espécie é acrescida de mais uma localidade na Serra do Mar. Entre os pontos amostrados, *A. boraceiensis* foi encontrada em localidades com altitude variando entre 1.000 – 600 m, onde as ninfas foram encontradas predominantemente em rios de 3 – 4ª ordens. Na análise molecular houve a associação da ninfa *Anacroneuria* sp.02N com machos de *A. boraceiensis* oriundo da Serra do Bocaina (São Paulo / Rio de Janeiro). Uma fêmea da coletada em Carajás (PA) identificada como *A. cf. minuta* (ENT990) foi inclusa na análise e se agrupou junto aos espécimes de *A. boraceiensis*. Ambas as espécies não possuem semelhanças morfológicas consistentes, o que pode apontar para um erro de identificação do espécime ou mesmo uma semelhança genética entre as duas espécies. A inclusão do macho de *A. minuta* poderá esclarecer o posicionamento desta fêmea. As distâncias intraespecíficas divergiram entre 0% (ENT574*ENT585) a 3,2% (ENT574/585*ENT990).

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro [**Novo Registro**], São Paulo.

4.2.2.1.2. *Anacroneuria debilis* (Pictet, 1841) (Figuras 34-35)

Perla (*Perla*) Pictet, 1841: 255. Enderlein 1909: 173. Banks 1913: 85. Illies 1966:501.

Anacroneuria brevicollis Klapálek 1922: 95. Zwick 1973A: 486.

Anacroneuria debilis Zwick 1972: 1155. Zwick 1973A: 486. Zwick 1973: 270. Froehlich 2002: 76. De Ribeiro & Froehlich, 2007: 55. Nessimian *et al.* 2009: 315. Froehlich, 2010: 56. Avelino-Capistrano *et al.* 2010A: 60. Baldin *et al.* 2013: 392. Stark, 2013: 98. Avelino-Capistrano & Nessimian, no prelo.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 22°25'28,6"S 42°31'55,0"O, 1.063 m, 01.xii.2008, 1N (#2652). Rio Macaé, 22°25'30,6"S 42°32'00,7"O, 1.062 m, 15.x.2010, 1N (#2601). Afluente de 1ª Ordem do Rio Macaé, 22°25'39,6"S 42°31'56,4"O, 1.023 m, 13.xi.2009, 2♀ (#2670). Afluente do Rio Macaé, 22°24'08"S 42°30'49"O, 956m, 01.xii.2008, 1♀ (#3249). Rio Macaé, 22°23'29,7"S 42°29'06,0O, 944 m, 01.xii.2008, 1N (#3127). Rio Macaé, 22°24'46,5"S 42°31'16,2"O, 935 m, 12.ix.2008, 8N (#3276), 14N (#3274). 13.ix.2008, 13.ix.2008, 11N (#3151), 1N (#3157). 6N (#3258). 14.ix.2008, 2♂ (#3264), 01.xii.2008, 2♂ (#3144). Pousada Toca da Onça, 22°24'51,3"S 42°19'10,5"O, 684 m, 05.iii.2009, 1♀ (#1930). **Rio Bonito de Lumiar.** Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863

m, 04.iv.2009, 1N (#2540), 1N (#2541), 23.x.2010, 2N (#2616), 1N (#2617), 24.x.2010, 2N (#2623), 1N (#2640), 3♂ (#2675), 2N (#2639). Afluente de 3ª ordem do Rio Bonito. 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 25.x.2010. 1♀ (#3053). 1♀ (#3054). Afluente do Rio Bonito, 22°24'16,7"S 42°26'23,5"O, 844 m. 1N (#2610*). Córrego Sertão, 22°24'54,7"S 42°25'22,3"O, 810 m, 04.iv.2009, 1♀ (#1834), 2N (#2530). Rio Bonito, 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O, 803 m, 30.x.2009, 1N (#2481). Afluente do Rio Bonito, 22°24'27,7"S 42°25'05,1"O, 792 m, 26.x.2009, 1♀ (#1810). Rio Bonito, 22°24'46,5"S 42°24'13,3"O, 786 m, 07.iii.2009, 1N (#2541), 1♀ (#1837). Afluente do Córrego das Paineiras. 22°23'23,7"S 42°20'04,8"O, 716 m, 06.iii.2009, 2N (#2542). Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 24.v.2008, 1N (#3110), 1N (#3111), 2N (#3114). Rio Bonito, 22°23'27,3"S 42°20'03,6"O, 658 m, 06.iii.2009, 1♀ (#1814). Afluente do Rio Bonito, 22°23'27,3"S 42°20'03,6"O, 658 m, 06. iii.2009, 2♀ (#1806*ENT350). Rio Bonito, 22°24'38,5"S 42°20'40,7"O, 656 m, 06.iii.2009, 2♀ (#1828), 24.x.2010, 12N (#2644), 2N (#2645). Rio Bonito, 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O, 608 m, 05.iii.2009, 1♀ (#1831), 1♀ (#1842). Afluente do Rio Bonito , 22°24'37,9"S 42°20'42,2"O, 608 m, 06.iii.2009, 1N (#2476). **Lumiar**. Córrego Boa Vista, 22°19'01,5"S 42°17'23,3"O, 910 m, 14.xi.2008, 1N (#2479). Rio Pedra Vermelha, Cachoeira do Indiana Jones, 22°19'02,1"S 42°17'28,5"O, 900 m, 15.xi.2008, 1N (#2478), 2N (#2539), 1♀ (#3482). Tributário do Córrego Santa Margarida, 22°20'23,7"S 42°17'50,2"O, 859 m, 16.xi.2008, 1N (#2537). Rio Bonito. 22°24'46,5"S 42°24'13,3"O, 786 m, 07.iii.2009, 1N (#2484), 1N (#2483), 1N (#2524), 22.x.2010, 4N (#2619). Afluente do Rio Santiago, 22°21'05,6"S 42°22'31,6"O, 760 m, 05.iv.2009, 2N (#2527), 1N (#2531), 1♀ (#1812). Afluente do Córrego das Paineiras, 22°23'23,7"S 42°20'04,8"O, 716 m, 06.iii.2009, 2N (#2488). Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 24.v.2008, 1N (#3112), 1N (#3115), 1N (#3244). Córrego dos Patos, 22°24'45,5"S 42° 19'10,6"O, 670 m, 08.iii,2009, 3N (#2525), 1♀ (#1808). Córrego Ramallete, 22°24'38,2"S 42°20'38,6"O, 669 m, 06.iii,2009, 1N (#2550). Rio Bonito. 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O. 608m. 05.iii.2009. 7♂ (#1866). 1♂ (#1869). 06.iii.2009. 8N (#2545). 07.iii.2009. 1N (#2473). 1N (#2471). 2N (#2546). Afluente do Rio Macaé. 22°21'46,7"S 42°18'36,4"O, 604 m, 16.xi.2008, 1N (#2538). Rio Macaé. 22°21'47,3"S 42°18'37,6"O, 600 m, 14.xi.2008, 1♂ (#2930), 15.xi.2008, 1♀ (#1929*ENT500), 1♀(#3122). Córrego do Poço Feio, 22°21'04,7"S 42°20'02,7"O, 594

m, 13.xi.2008, 5N (#2535), 2♀ (#3243), 13.xii.2008, 3N (#2469), 8N (#2532), 1N (#2470*ENT159/ENT160). Rio Macaé, 22°23'37,1"S 42°18'20,6"O, 515 m, 08.iii.2009, 3♂ (#2931). **Cascata**. Rio Macaé, 22°18'51,3"S 42°17'46,1"O, 850 m, 08.iii.2009, 1N (#2519), 1N (#2521). Afluente do Rio Macaé, 22°23'15,0"S 42°16'16,3"O, 600 m, 08.iii.2009, 1♀ (#1932). **CASIMIRO DE ABREU**. Rio Tenal, 22°24'50,5"S 42°13'11,1"O, 170 m, 05.iv.2009, 1♀ (#3054). **MACAÉ. Sana**. Riacho de 1° ordem, 22°15'26,8"S 42°10'37,7"O, 718 m, 19.ix.2010, 1N (#2592), 5N (#2879). Afluente do Córrego Alegre, 22°15'53,5"S 42°10'38,8"O, 645 m, 18.ix.2010, 1N (#2612). Córrego Alegre, Cachoeira das Andorinhas, 22°15'38,8"S 42°10'08,2"O, 573 m, 19.ii.2009, 1N (#2523), 1N (#2603), 18.ix.2010, 1N (#2604), 3N (#3044). Rio Sana, 22°14'42,3"S 42°09'03,2"O, 567 m, 18.ii.2009, 1N (#2554), 1N (#2517), 1♂ (#2929). Rio Sana, 22°16'06,8"S 42°09'23,4"O, 478 m, 18.ii.2009, 1♂ (#2930), 1♀ (#1908), 1N (#2491*ENT167). Rio São Bento, 22°16'06,8"S 42°09'18"O, 459 m, 18.ii.2009, 3♂ (#1642*ENT353), 3♂ (#1862), 1♂ (#1634), 2♂ (#2671), 1♀ (#1847). Rio Sana, 22° 19' 53,0"S 42° 10' 16,7"O, 398 m, 17.ii.2009, 1♀ (#1900). Afluente do Córrego Boa Sorte, 22°20'41,8"S 42°11'03,7"O, 381 m, 12.ix.2010, 5N (#2647), 19.ii.2009, 1N (#2490), 4N (#2648). Rio Boa Sorte, 22°20'34,7"S 42°11'02,6"O, 373 m, 19.ii.2009, 1♀ (#1906). Afluente do Rio Sana, 22°19'17,7"S 42°15'27,8"O, 370 m, 17.ii.2009, 5N (#2492*ENT165/ENT166), 1N (#2522). Rio Peito do Pombo, 22°19'11,7"S 42°10'57,3"O, 310 m, 17.ii.2009, 3♂ (#1861). Rio São Bento, 22°20'23,4"S 42°12'13,5"O, 294 m, 19.ii.2009, 1N (#2485), 2N (#2518), 2N (2486), 17.ix.2010, 1N (#2591), 2N (#2599), 1N (#2606), 4N (#3003). 18.ix.2010. 1♀ (#2669). **Glicério**. Córrego Boa Sorte, 22°14'30,4"S 42°05'14,1"O, 285 m, 21.iii.2009, 3♀ (#1910), 22.iii.2009, 2N (#2489*ENT167/ENT168), 3N (#2626), 22.xi.2009, 1♂ (#1905), 11.ix.2010, 2N (#2525). Rio São Pedro, 22°14'17,8"S 42°03'32,8"O, 63 m, 19.iii.2009, 3♂ (#2934), 1♂ (#2935), 5♀ (#1857), 09.ix.2010, 3♀ (#2664), 10.ix.2010, 3N (#2615). **Frade**. Afluente de 2° Ordem do Rio São Pedro, 22° 13' 47,6"S 42° 08' 04,7"O, 470 m, 20.iii.2009, 2♀ (#1856). Rio São Pedro, 22°13'45,1"S 42°07'39,6"O, 426 m, 20.iii.2009, 1♀ (#1902). Rio das Pedras, 22°14'28,0"S 42°06'5,7"O, 262 m, 20.iii.2009, 1♂ (#1905). **Crubixás de Cima**. Afluente do Rio Crubixá, 22°11'38,4"S 42°04'46,1"O, 576 m, 21.iii.2009, 5N (#2562), 8♀ (#1893*ENT501). Rio Crubixá, 22°11'38,1"S 42°04'26,1"O, 523 m, 21.iii.2009, 1N (#2561), 6N (#2559), 12N (#2560), 1♀ (#1892).

Córrego do Ouro. Afluente de 1ª ordem do Rio Córrego do Ouro, 22°17'14,2"S 42°00'14,7"O, 24 m, 1♀(#1894). **Duas Barras.** Afluente do Córrego Boa Sorte, 22°15'21,9"S 42°03'45,4"O, 198 m, 22.iii.2009, 1♀ (#1901).

MATERIAL ADICIONAL: BR. RJ. ITATIAIA. Maromba. Rio Manjolo, Cachoeira do Véu da Noiva, 22°19'41,0"S 44°36'01,2"O, 1.285 m, 26.i.2012, 1♂ (#3465), Col. ALH Oliveira, BHL Sampaio & SP Gomes.

MEDIDAS: Macho: Cabeça: 1,72 – 2,68 mm; Asa anterior: 10,15 – 16,41 mm ($n = 41$). **Fêmea:** Cabeça: 1,77 – 2,93 mm; Asa anterior: 10,81 – 20,57 mm. **Ninfa:** Cabeça: 0,89 – 4,41 mm ($média = 2,21$ mm); Teca alar: 0,46 – 4,24 mm ($media = 1,80$) ($n = 310$).

DESCRIÇÕES COMPLEMENTARES: Ninfa. Coloração geral marrom a marrom-escuro (Figura 33A-B). Cabeça contendo poucos cerdas filiformes (Figura 34A); escalpo e flagelos da antena portando cerdas filiformes (Figura 34B). Cerdas filiformes cobrindo as áreas laterais do pronoto; borda do pronoto com muitos espinhos (Figura 34C). Mesonoto com muitos espinhos e cerdas filiformes (Figura 34D); fêmur em vista anterior repleto de espinhos e cerdas distribuídos aleatoriamente (Figura 34E); em vista posterior, apenas cerdas filiformes são encontradas (Figura 34F). Abdome com espinhos na margem posterior de cada segmento; cerdas filiformes distribuem-se aleatoriamente nos tergitos (Figura 34G). Cercos com coroa de espinhos na margem posterior de cada cercômero (Figura 34H).

COMENTÁRIOS: *Anacroneturia debilis* é uma espécie de distribuição ampla ocorrendo do Espírito Santo até o Rio Grande do Sul, sendo encontrada também na região fronteira do Brasil com Argentina e Paraguai (Froehlich, 2010). A espécie diferencia-se das demais pelas características da armadura peniana, que possui uma quilha transversal em vista dorsal e proeminente em vista lateral (Baldin *et al.* 2013). Diferenças na forma da placa subgenital da fêmea foi observada por Froehlich (2002), que comenta a grande variação de diferença dessa placa entre as fêmeas dessa espécie fornecendo duas figuras (Froehlich, 2002 – Figura 2 e 3), entretanto o autor não fornece informações de onde são os exemplares desenhados. Baldin *et al.* (2013) examinou machos de *A. debilis* coletados pelo Dr. Ralph W. Holzenthal entre os anos de 2002-2003

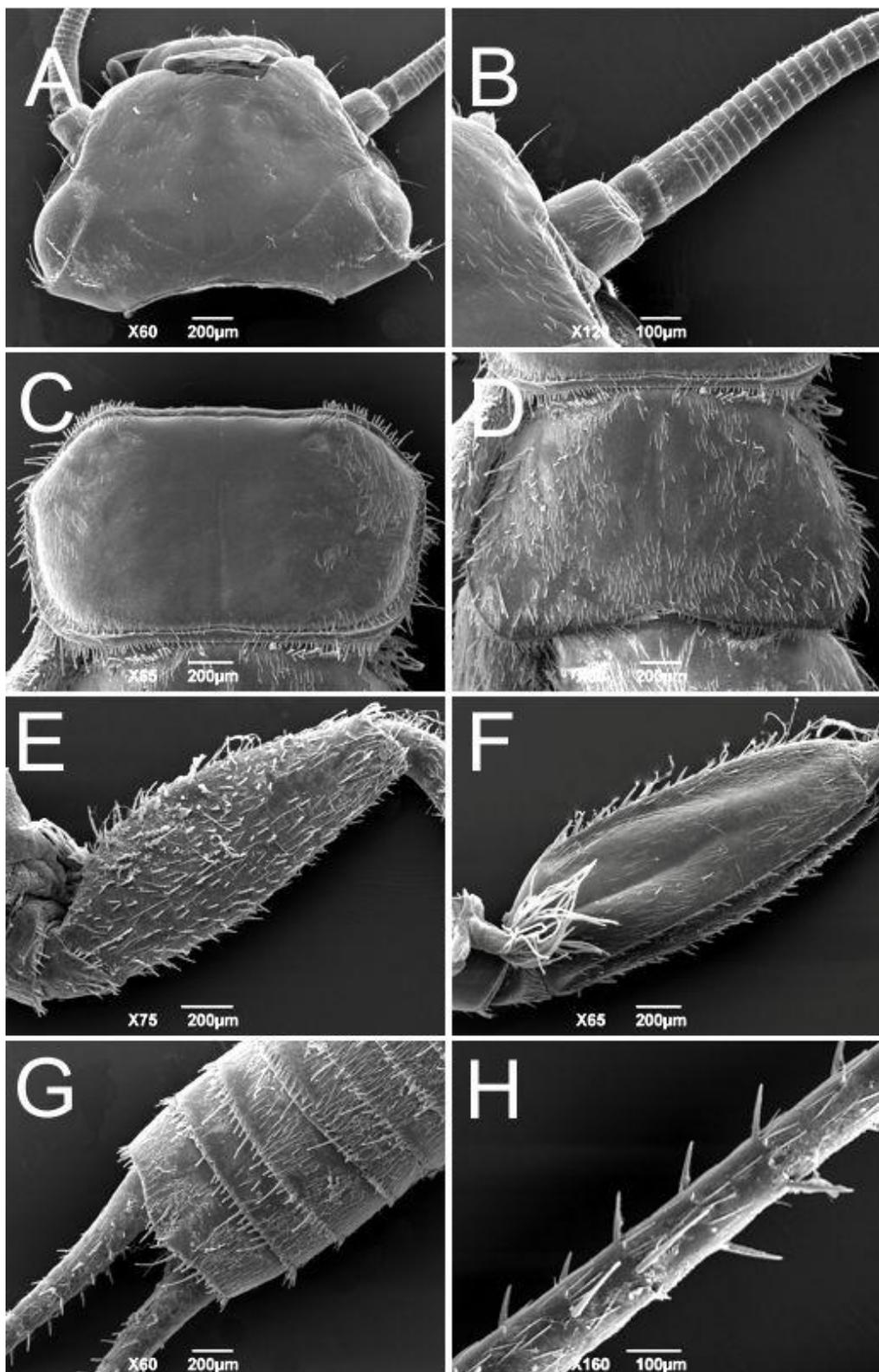


Figura 34. *Anacroneuria debilis* (Pictet). Ninfa: A. Cabeça. B. Cabeça, escapo da antena; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Fêmur em vista posterior; G. Abdome, em vista dorsal; H. Cerco.

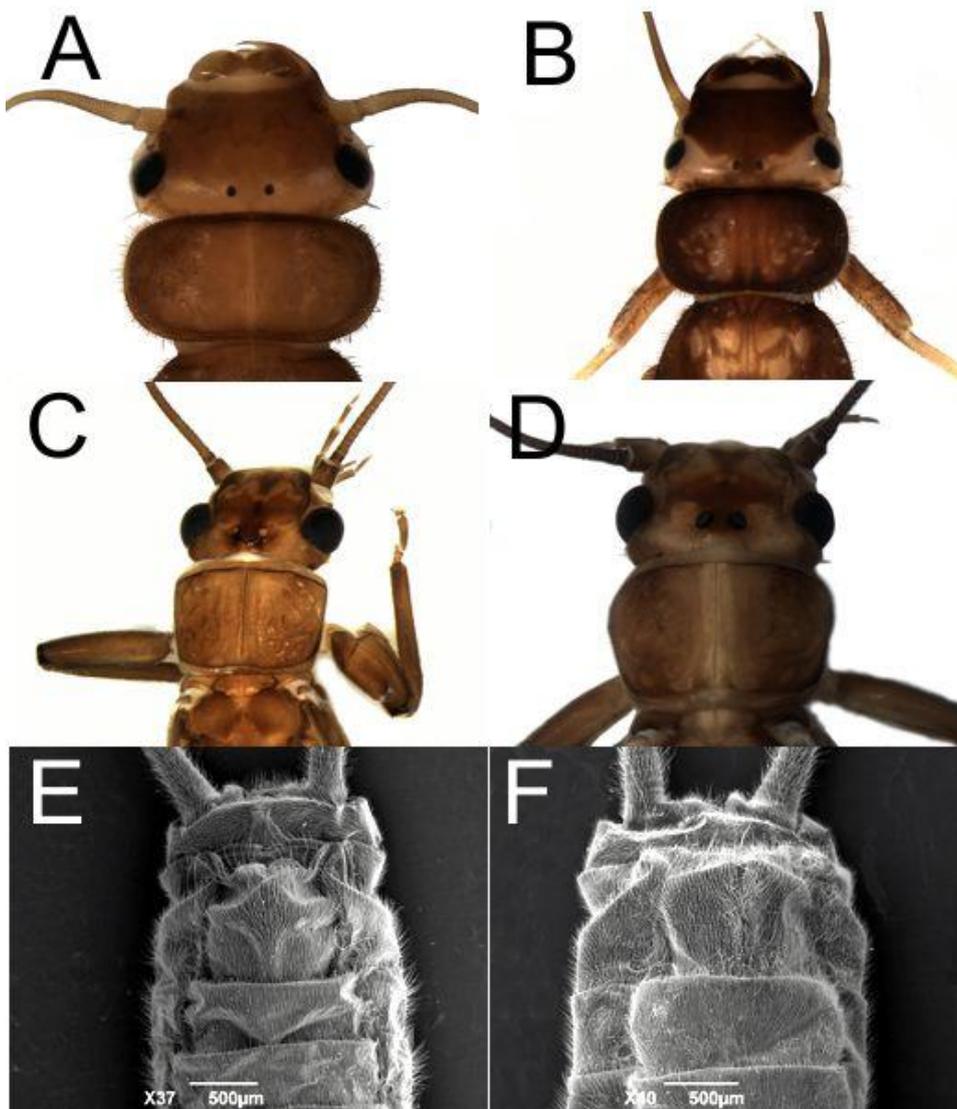


Figura 35. *Anacroneuria debilis* (Pictet). Ninfas: A. *Anacroneuria* sp.01N, Cabeça e pronoto. B. *Anacroneuria* sp.03N, Cabeça e pronoto. Machos: C. Cabeça e pronoto. Fêmeas: D. *Anacroneuria* sp.07♀, Cabeça e pronoto. E. *Anacroneuria* sp.07♀, Placa subgenital da fêmea. F. *Anacroneuria* sp.09♀, Placa subgenital da fêmea.

na região da BRM, redescrivendo o macho dessa espécie. O material analisado no presente estudo difere do apresentado pelos autores, seja no formato da cabeça – triangular em Baldin *et al.* (2013, Figura 1), quadrado no material analisado (Figura 35C), quanto no formato do pronoto – trapezoidal em Baldin *et al.* (2013, Figura 1), retangular no material analisado (Figura 35C), e no padrão da ornamentação e coloração da cabeça e do pronoto. Os exemplares coletados na BRM se dividem em dois grupos, claramente separados e suportados na análise molecular. O primeiro grupo, formado por

ninfas com exemplares menores inclui os exemplares ENT165 a ENT501 (Figura 35A-B); o outro grupo, formado pelas ninfas maiores, inclui o exemplar ENT167 e esses, de acordo com a descrição feita para a ninfa de *A. debilis* realizada por Avelino-Capistrano *et al.* (2011). Diferenças também foram encontradas entre as fêmeas, que formaram dois morfotipos classificados de acordo com a placa subgenital (Figura 35D-F). O exemplar ENT576, oriundo de Itatiaia, apareceu fora do grupamento, e a distância intraespecífica para o resto do grupo foi 4,6%. Apesar das altas divergências, o macho possui genitália de acordo com a descrição realizada para a espécie, possuindo apenas variação na coloração.

DISTRIBUIÇÃO: BRASIL: Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul; ARGENTINA: Misiones, Entre Rios; PARAGUAI: Paraguari.

4.2.2.1.3. *Anacroneuria flintorum* Froehlich, 2002 (Figura 36A)

Anacroneuria flintorum Froehlich 2002: 93. Bispo & Froehlich 2004B: 99. De Ribeiro & Froehlich 2007: 55. Nessimian *et al.* 2009: 316. Baldin *et al.* 2013: 394.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. MACAÉ. Cachoeiros de Macaé. Rio Macaé, 22°28'49,5"S 42°18'06,0"O, 68 m, 05.iv.2009, 1♂ (#1635*ENT414), 4♂ (#1636*ENT157). Macaé de Cima, Rio Macaé, 22°24'46,0"S 42°31'16,2"O, 935 m, 12.ix.2009, 1♂ (#3469*ENT1049).

MEDIDAS: ♂ asa anterior: 9,84 – 10,60 mm; cabeça: 1,70 – 2,04 mm (n = 5).

COMENTÁRIOS: *Anacroneuria flintorum* foi descrita por Froehlich (2002) para um macho coletado no Parque Municipal de Nova Friburgo (provavelmente o Parque Municipal Juarez Frotté, no bairro Cascatinha), sendo a fêmea desconhecida até a sua descrição por Bispo & Froehlich (2004). Posteriormente, essa espécie foi registrada para Serra da Mantiqueira (Campos do Jordão – Froehlich, 2010; Itatiaia – Baldin *et al.* 2013) e Serra do Mar (Iporanga – Bispo & Froehlich, 2004). Na BRM, exemplares de *A. flintorum* foram coletados apenas na parte baixa da bacia, em um trecho de 6ª ordem do Rio Macaé. Os espécimes coletados estão de acordo com o descrito por Froehlich (2002) tanto na ornamentação da cabeça quanto no tamanho; entretanto, estes destoam

do descrito por Bispo & Froehlich (2004), seja na coloração e como no formato da cabeça e pronoto (ver Bispo & Froehlich, 2004: Figura 6) (Figura 36A). Froehlich (2010) comenta diferenças entre os exemplares de *A. flintorum* coletados no Parque Estadual Intervales (Serra de Paranapiacaba, SP) e os oriundos do Parque Estadual de Campos do Jordão (Serra da Mantiqueira, SP), que variaram tanto no formato da armadura peniana quanto na coloração, diferindo também do tipo descrito pelo mesmo autor em seu trabalho pretérito. Froehlich (2010) ainda ressalta que tais diferenças podem ser variações populacionais. No presente estudo apenas um exemplar teve amplificação positiva do DNA, entretanto este exemplar não se associou a nenhuma ninfa e nenhuma fêmea, sendo a distância entre indivíduos desse espécie com indivíduos pertencentes à outra espécie de *Anacroneuria* mais baixa 9%, com um macho de *A. boraceiensis* (ENT585) e a mais alta de 19,5%, com um macho de *A. paulina* (Navás) (ENT575), ambas as espécies da Serra do Bocaina (SP).

Distribuição: Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul.

4.2.2.1.4. *Anacroneuria itatiaiensis* Baldin, Bispo & Novaes, 2013 (Figura 36B)

Anacroneuria itatiaiensis Baldin, Bispo & Novaes, 2013: 394.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 22°25'18,1"S 42°31'45,5"O, 1.034 m, 15.x.2010, 1♂ (#3062*ENT253).

MEDIDAS: Macho: Cabeça: 1,93 mm; Asa anterior: 11,73 mm ($n = 1$).

COMENTÁRIOS: A espécie foi descrita com material proveniente do Parque Nacional do Itatiaia (Rio Campo Belo, 1.100 m) e no presente estudo, a distribuição é ampliada para a Serra do Mar. Apenas um exemplar também foi coletado (Figura 36B), em Macaé de Cima, o que pode demonstrar a preferência dessa espécie por altitudes elevadas, além da dificuldade de obtenção de espécimes. Nenhuma ninfa ou fêmea foi associada à espécie na análise molecular. A menor distância intraespecífica encontrada foi de 13,9% entre o espécime analisado e *A. flintorum* (ENT157) e a maior foi 21,3%, com a fêmea não associada *Anacroneuria* sp. BRM02♀ (ENT1053) de Macaé de Cima.

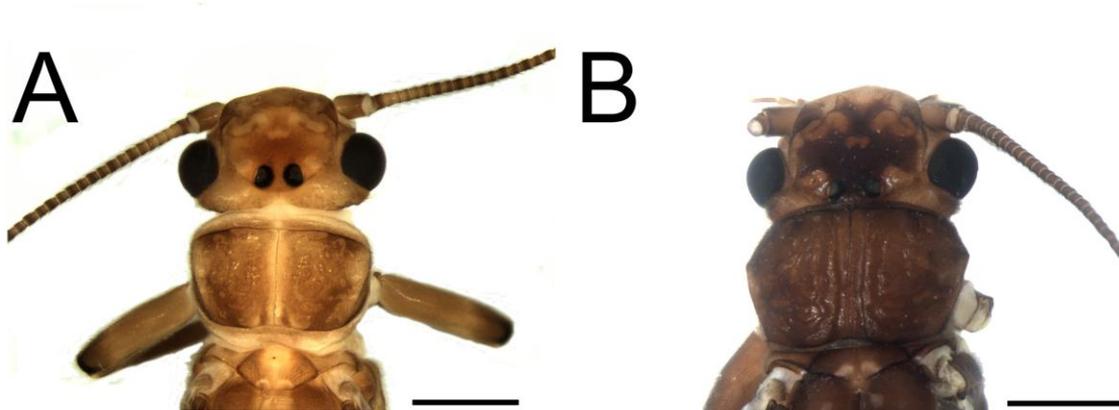


Figura 36. *Anacroneuria flintorum* Froehlich. Macho. A. Cabeça e pronoto. *Anacroneuria itatiaiensis* Baldin, Bispo & Novaes. B. Cabeça e pronoto.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

4.2.2.1.5. *Anacroneuria ipiau* sp.nov. (Figura 37-38)

MATERIAL EXAMINADO: PARÁTIPOS. BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 22°25'28,6"S 42°31'55,0"O, 1.063 m, 16.x.2010, 5N (#2614). Rio Macaé, 22°25'30,6"S 42°32'00,7"O, 1.062 m, 15.x.2010, 1♀ (#3056). Rio Macaé, 01.xii.2008, 22°24'46"S 42°31'16,2"O, 935 m, 1♀ (#3143). Rio Macaé, 30.xi.2008, 1♀ (#1865). **Lumiar.** Córrego Santa Margarida, 22°20'00,0"S 42°17'24,1"O, 1.005 m, 16.xi.2008, 1N (#2468). Sítio Dois Irmãos, Córrego Boa Vista, 22°19'01,5"S 42°17'23,3"O, 910 m, 14.xi.2008, 1N (#2480*ENT169). Rio Pedra Vermelha, Cachoeira do Indiana Jones, 22°19'02,1"S 42°17'28,5"O, 900 m, 15.xi.2008, 1N (#2536). Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 05.iii.2009, 2♀ (#1936). Córrego dos Patos. 05.iii.2009. 9♀ (#1924). 22°24'45,5"S 42° 19' 10,6"O. 670m. Córrego dos Patos, 22°24' 08,6"S 42° 19' 14,2"O, 644 m, 06.iii.2009, 3♀ (#1923). Afluente do Rio Macaé, 22°21'33,5"S 42°18'44,9"O, 618 m, 15.xi.2008, 1♀ (#1928). Rio Bonito, 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O, 608m, 05.iii.2009, 1♀ (#1827), 1♀ (#1927), 1♀ (#1816). Rio Bonito, 22°23'57,9"S 42°19'14,6"O, 583 m, 25.v.2008, 1♀ (#3121). Rio Macaé, 22° 23'37,1"S 42°18'20,6"O, 515 m, 05.iii.2009, 1♀ (#1912). **Rio**

Bonito de Lumiar. Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 03.iv.2009, 2♀ (#1839), 1♀ (#1840); 23.x.2010, 1♀ (#2663); 24.x.2010, 10♀ (#2677); 23.x.2010, 2N (#2816). Córrego Sertão, 22°24'54,7"S 42°25'22,3"O, 810 m, 03.iv.2009, 3♀ (#1915), 2♀ (#1835). Rio Bonito, 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O, 803 m, 30.x.2009, 1♀ (#1859); 23.x.2010, 1♀ (#2882). Afluente do Rio Bonito, 22°24'27,7"S 42°25'05,1"O, 792 m, 29.x.2009, 1♀ (#3646). Rio Bonito, Km 3,5 da Estrada Galdinópolis-Lumiar, 22°24'46,5"S 42°24'13,3"O, 786 m, 08.ii.2009. 2♀ (#1844). Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 25.v.2008, 1♀ (#3479), 05.iii.2009, 2♀ (#1934). Afluente de 1ª ordem do Rio Bonito, 22°24'37,9"S 42°20'42,2"O, 676 m, 05.iii.2009, 1♀ (#1922). Ramalhete, Afluente do Rio Bonito, 22°24'38,2"S 42°20'38,6"O. 669 m. 06.iii.2009, 1N (#2548). Rio Bonito, 22°23'27,3"S 42°20'03,6"O, 658 m, 06.iii.2009, 5♀ (#1813). Rio Bonito, 22°24'38,5"S 42°20'40,7"O, 656 m, 06.iii.2009, 2♀ (#1829), 1♀ (#1918). Rio Bonito. 06.iii.2009. 3♀ (#2215). 22°24'05,6"S 42°19'17"O. 608m. **Cascata.** Rio Macaé, Cachoeira da Fumaça, 22°21'56,1"S 42°15'13,1"O, 368 m, 08.iii.2009, 1♀ (#1943). **MACAÉ.** Afluente do Rio Macaé, 07.v.2006, 1N (#2487). **Sana.** Córrego Alegre. Cachoeira das Andorinhas, 22°15'38,8"S 42°10'08,2"O, 573 m, 18.ix.2010, 1N (#2605). Tributário do Córrego Alegre, 22°15'26,6"S 42°09'52,6"O, 569 m, 18.ii.2009, 1♀ (#1909). Arraial do Sana, Afluente de 2º Ordem do Rio Sana, 22°19'17,7"S 42° 10' 58,0"O, 313 m, 16.iii.2009, 1♀ (#1903). Rio Sana, 22°14'42,3"S 42°09'03,2"O, 567 m, 18.ii.2009, 1♀ (#1852). Rio da Glória, 22°19'53,0"S 42°10'16,7"O, 398 m, 17.ii.2009, 1♀ (#1858). Rio Boa Sorte, 22°20'34,7"S 42°11'02,6"O 373 m, 19.ii.2009, 1♀ (#1904). Afluente do Rio Boa Sorte, 22°20'41,8"S 42°11'03,7"O, 318 m, 19.ii.2009, 1♀ (#1639). Rio Sana, 22°19'20,2"S 42°10'51,9"O, 306 m, 16.ii.2009, 3♀ (#1860). Córrego do Colégio, 22°20'23,4"S 42°12'13,5"O, 294 m, 19.ii.2009, 8♀ (#1849), 1♀ (#1898). **Frade.** Afluente do Rio São Pedro, 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O, 470 m, 20.iii.2009, 2♀ (#1854). **CASEMIRO DE ABREU.** Rio Tenal, 22°24'50,5"S 42°13'11,1"O, 170 m, 05.iv.2009, 23♀ (#1942); 3♀ (#1941). Ribeirão da Luz, 22°25'48,2"S 42°12'11,9"O, 77 m, 05.iv.2009, 1♀ (#1938).

MATERIAL EXAMINADO: HOLÓTIPO: BR. RJ. PARATY. Sertão do Taquari, Afluente do Rio Taquari, 23°02'30,40"S 11°41'45,20"O, 01.i.2013, 3♂2♀ (#3415*ENT980).

MEDIDAS: RJ. Nova Friburgo / Macaé. Ninfa: Cabeça: 1,20 – 4,36 mm; Teca alar: 0,63 – 4,38 mm ($n = 55$). **Fêmea:** Cabeça: 1,59 – 2,19 mm; Asa anterior: 9,92 – 13,13 mm ($n = 105$). **Paraty. Macho:** Cabeça: 1,41 – 1,59 mm; Asa anterior: 8,07 – 8,79 mm ($n = 2$). **Fêmea:** Cabeça: 2,00 – 2,16 mm; Asa anterior: 10,45 – 11,63 mm ($n = 3$).

DESCRIÇÃO: Holótipo. Macho. Coloração geral estramínea a marrom (Figura 37A-B). Cabeça com coloração marrom formando uma ornamentação característica (Figura 37A-B). Olhos pretos. Dois grandes ocelos, parcialmente pigmentados. Coloração da antena e peças bucais estramíneo, cobertos de cerdas marrom-escuro. Pronoto marrom, com uma banda estramínea atravessando longitudinalmente a área central. Pernas estramíneas, cobertas de cerdas marrom-escuro, portando apenas um anel marrom na parte posterior da coxa. Asas acinzentadas. Região ventral estramínea. Tergo X com adagal curto. Cerco estramíneos, com cerdas marrom avermelhas. Armadura peniana com base larga e ápice delgada, com ganchos fortemente curvados para a margem oposta (Figura 37C-E).

Fêmea. Coloração geral estramínea (Paraty) a marrom-claro (Macaé). Padrão de ornamentação da cabeça e do pronoto iguais ao macho, sendo mais claros nas fêmeas de Paraty e mais escuros nas da BRM. Antenas marrons (BRM). Asas das fêmeas da BRM marrons, com algumas veias mais escuras; células das veias subcostais esbranquiçadas. Parte posterior da coxa e tarsos marrons (BRM).

DESCRIÇÃO: Ninfa. Coloração geral marrom com partes claras em estramíneo. Cabeça com ornamentação característica. Linha M evidente. Labro marrom; clipeo estramíneo. Antena marrom. Olhos e ocelos pretos e totalmente pigmentados. Pronoto oval, marrom com ornamentação estramínea. Meso e metanoto com coloração marrom e com ornamentação estramínea; projeções alares estramíneas. Pernas marrom-claro, com fileira plumosa de cerdas. Último esternito abdominal marrom; tergitos abdominais marrom-escuro anteriormente, clareando em direção a parte posterior; ultimo tergito abdominal marrom, com uma mancha central clara. Cercos marrons, com fileira de cerdas cobrindo 1/3 dessa estrutura, da parte anterior para a posterior.

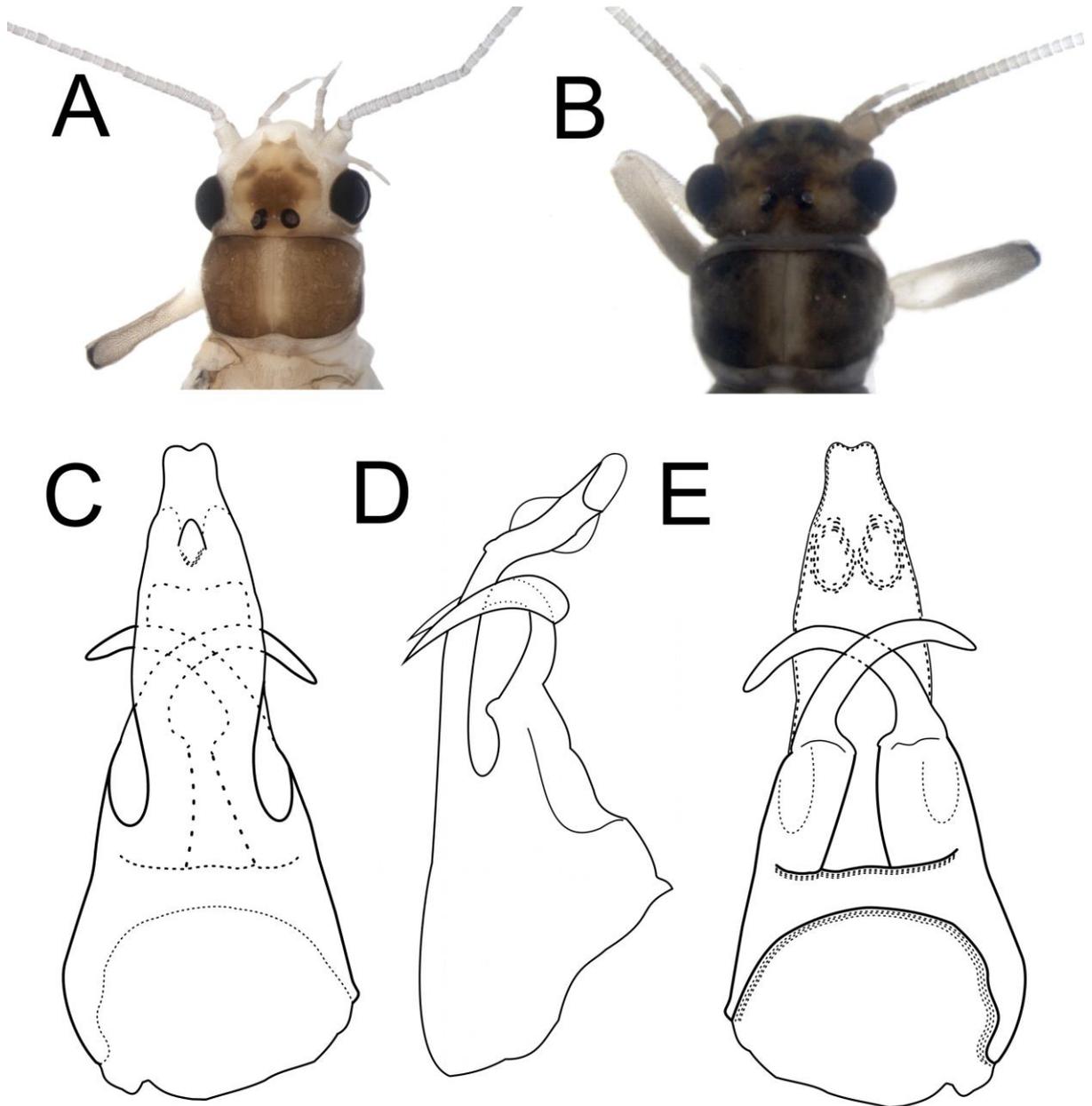


Figura 37. *Anacroneuria ipiau* sp. nov. Machos: A. Cabeça e pronoto do espécime coletado em 2013; B. Cabeça e pronoto do espécime coletado em 2014; C. Armadura peniana do macho, em vista dorsal; D. Armadura peniana do macho, em vista lateral; E. Armadura peniana do macho, em vista ventral.

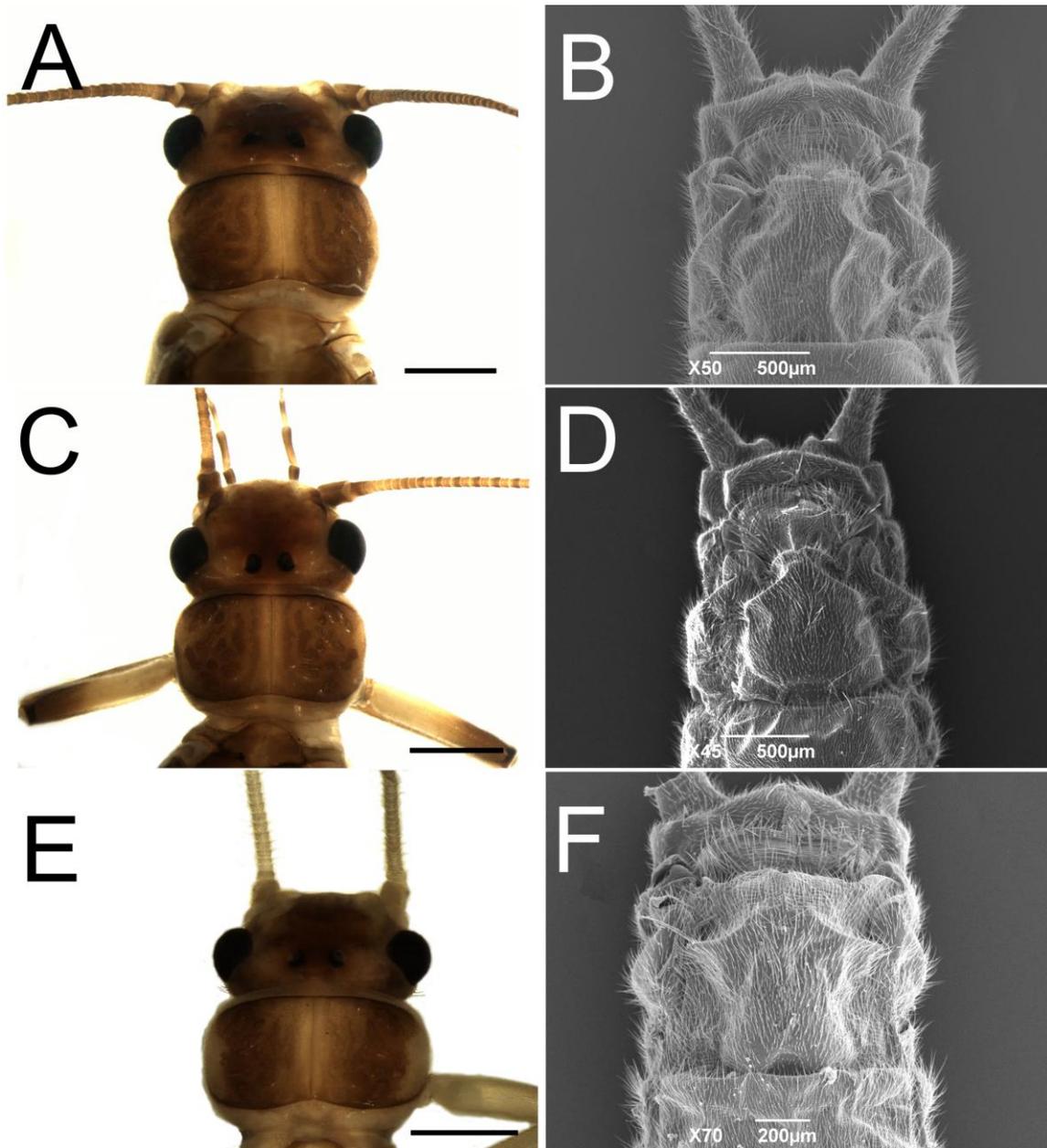


Figura 38. *Anacroneuria ipiau* sp. nov. Fêmeas: *Anacroneuria* sp. 03♀. A. Cabeça e pronoto. B. Abdome em vista ventral, placa subgenital. *Anacroneuria* sp. 05♀. Cabeça e pronoto. C. Abdome em vista ventral, placa subgenital. *Anacroneuria* 06♀. E. Cabeça e pronoto. F. Placa subgenital da fêmea.

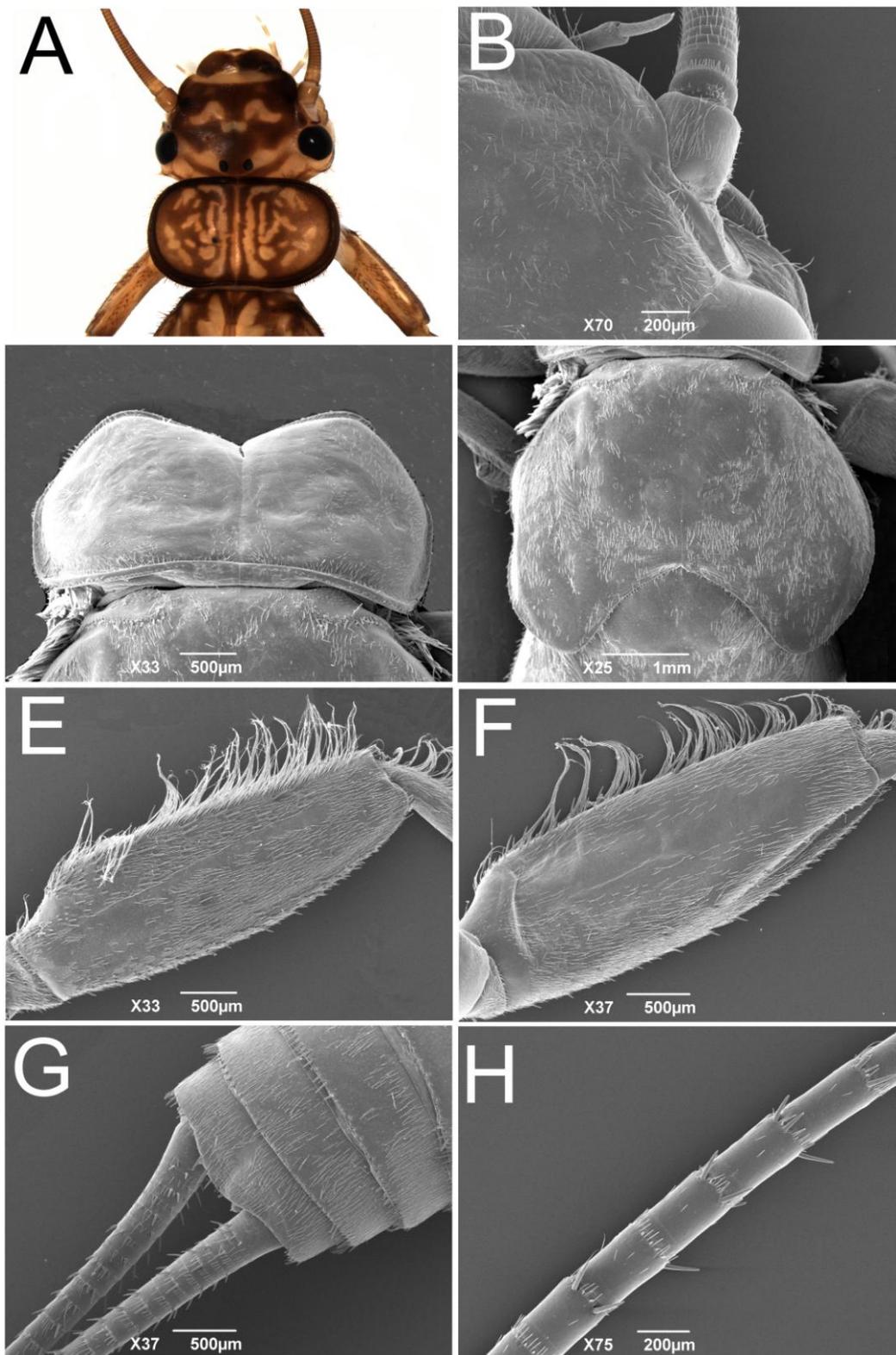


Figura 39. *Anacroneuria ipiau* sp. nov. Ninfã: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Antena, escapo; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur, vista anterior; F. Fêmur, em vista posterior; G. Abdome, em vista dorsal; H. Cerco.

COMENTÁRIOS. *Anacroneuria ipiau* **sp. nov.** é uma espécie amplamente distribuída na parte fluminense da Serra do Mar. Diferencia-se das demais espécies pela morfologia da armadura peniana, mais robusta e com ganchos fortemente projetados para trás. Apesar de ser um pouco semelhante à *A. flintorum*, *A. ipiau* **sp. nov.** é mais robusta e possui a projeção mediana em arredondada no ápice desta estrutura. A associação molecular foi realizada com base em um exemplar macho encontrado em Paraty (Serra do Mar, Sul Fluminense), onde as distâncias intraespecíficas variaram de 0 a 4,1% (média = 1,5%) (ver Tabela X). Apesar de altas, as distâncias foram consideradas como válidas com base no valor mínimo de corte estabelecido na metodologia (com base em *A. debilis*).

DISTRIBUIÇÃO. Rio de Janeiro.

ETIMOLOGIA. O nome da espécie, Ipiaú, do Tupi ‘a que tem a pele manchada’, refere-se ao padrão de ornamentação da ninfa.

4.2.2.1.6. *Anacroneuria mantiqueirae* Froehlich, 2010 (Figura 40-41)

Anacroneuria mantiqueirae Froehlich 2010B: 59.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Lumiar. Macaé de Cima. Rio Macaé, 22°25'30,6"S 42°32'00,7"O, 1.062 m, 13.ix.2009, 1N (#2710*ENT492). Rio Macaé, 22°25'18,1"S 42°31'45,5"O, 1.034 m, 15.x.2010, 1♀ (#2964). Afluente de 2° ordem do Rio Macaé, 22°24'08"S 42°30'49"O, 956 m, 01.xii.2008, 1N (#3485). Rio Macaé, 4° ordem, 22°23'29,7"S 42°29'06,0"O, 944 m, 12.ix.2008, 2N (#3275), 1N (#3278); 01.xii.2008, 1N (#3129); 13.ix.2009, 2N (#2557). Rio Macaé, 22°24'46,0"S 42°31'16,2"O, 935 m, 01.xii.2008, 1♂ (#3145*ENT984), 3♀ (#3148), 1♀ (#3254); 13.ix.2008, 1N (#3257). **Cascata.** Rio Macaé, 22°18'51,3"S 42°17'46,1"O, 850 m, 08.iii.2009, 1N (#2520). **Rio Bonito de Lumiar.** Córrego do Sertão, 22°24'54,7"S 42°25'22,3"O, 810 m, 12.ix.2010, 1♀ (#1913*ENT498). Córrego dos Patos, 22° 24' 45,5"S 42° 19' 10,6"O, 670 m, 05.iii.2009, 2♂ (#1925*ENT1043). Córrego Ramalhete, 22°24'38,2"S 42°20'38,6"O, 669 m, 06.iii.2009, 1N (#2551). Rio

Bonito, 22°23'27,3"S 42°20'03,6"O, 658 m, 06.iii.2009. 1♂ (#3412*ENT976). Rio Bonito, 22°24'38,5"S 42°20'40,7"O, 656 m, 06.iii.2009. 2♀ (#1919*ENT499). Rio Bonito, 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O, 608 m, 06.iii.2009. 1N (#2547). Rio Bonito. 07.iii.2009. 2N (#2472*ENT487). **MACAÉ. Sana.** Rio Sana, 22°14'42,3"S 42°09'03,2"O, 567 m, 18.ii.2009, 1N (#2552). **Cachoeiros de Macaé.** Rio Macaé, 22°28'49,5"S 42°18'06,0"O, 68 m, 13.ix.2009, 1N (#2715).

MEDIDAS: RJ. Macho: Cabeça: 1,86 mm; Asa anterior: 10,66 mm (n = 1). ♀ asa anterior: 12,42 – 15,08 mm; cabeça: 2,09 – 2,42 mm (n = 7). Ninfas: teca alar: 1,40 – 2,93 mm; cabeça: 0,87 – 3,03 mm (n = 20).

DESCRIÇÃO: Ninfa. Coloração geral, marrom (Figura 40A). Cabeça marrom, exceto pelas áreas claras do clipeo, região occipital; duas manchas claras também estão presentes ao lado de cada ocelo; linha M não evidente, mas duas manchas claras presentes na região (Figura 40A); cerdas cobrem a área lateral da fronte e o clipeo (Figura 41A). Olhos e ocelos totalmente pretos. Antena com artículos de I a VI claros, sendo os demais marrons; escapo e pedicelo marrons; cerdas cobrem o escapo e a margem posterior de cada flagelo (Figura 41B). Pronoto oval, marrom, com manchas claras na área central; muitas cerdas filiformes cobrem todo o pronoto (Figura 41C); espinhos cobrem toda a borda do pronoto (Figura 41C). Meso- e metanoto coberto por muitas cerdas, com espinhos dispostos lateralmente (Figura 41D); coloração marrom, com manchas claras; muitas cerdas cobrem o mesonoto. Penas marrom-claro; fêmur claro, com espinhos marrons cobrindo a face dorsoanterior (Figura 41E); tíbia e tarso marrom; cerdas plumosas transparentes cobrem a parte dorsal do fêmur e tíbia (Figura 41E-F). Abdome marrom-escuro; cada tergito coberto com cerdas e espinhos na base de cada segmento (Figura 41G); ápice do tergito X arredondado. Cercos marrom-claro, sem cerdas finas na região anterior, com espinhos marrom na margem posterior de cada cercômero (Figura 41H).

COMENTÁRIOS: *Anacroneuria mantiqueirae* foi descrita com base em material oriundo da Serra da Mantiqueira (Campos do Jordão) para exemplares de tamanho médio a grande (20,0 – 23,0 mm, asa anterior), coloração ocre a marrom e armadura peniana portando lobos lateralizados, ganchos curtos e um par de protuberâncias na base dos ganchos (Froehlich, 2010: Figuras 11-13). Na BRM estes insetos foram encontrados

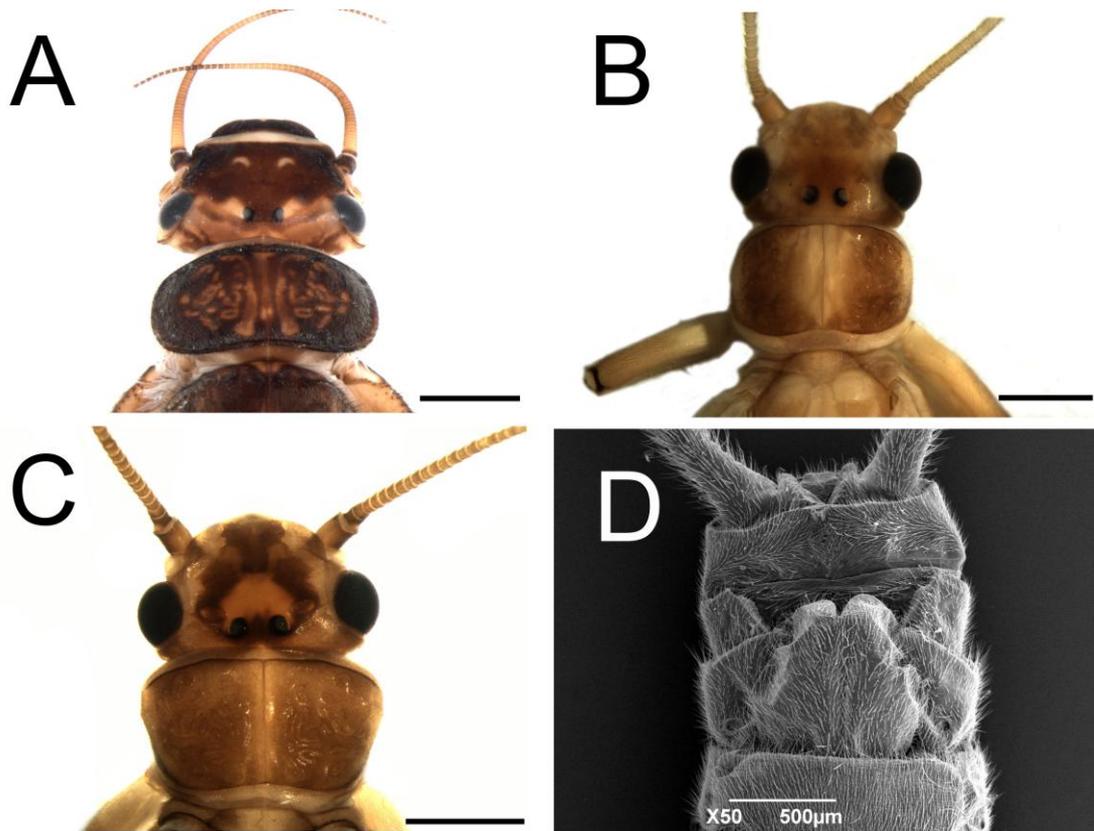


Figura 40. *Anacroneuria mantiqueirae* Froehlich. Ninfa. A. *Anacroneuria* sp. 09N, Cabeça e pronoto. Macho. B. Cabeça e pronoto. Fêmea. C. *Anacroneuria* sp. 11♀, Cabeça e pronoto. D. *Anacroneuria* sp. 11♀, abdome em vista ventral, placa subgenital.

ao longo de toda a bacia, desde as áreas mais elevadas (>1.000 m) às áreas mais baixas (<100 m). Os exemplares machos encontrados na BRM estão em acordo com o descrito por Froehlich (2010), especialmente em relação à armadura peniana, entretanto o dos exemplares presentes na BRM são menores que os descritos por este autor. Entre as fêmeas, as diferenças incluem variação na morfologia da placa subgenital, que apesar de possuir quatro lóbulos, como descrito pelo autor (Froehlich, 2010: Figuras 9), o formato dos lóbulos é diferente (Figura 40B-D). A ninfa foi associada através da análise molecular e é descrita pela primeira vez. É caracterizada por exemplares marrom-escuros, robustos, com grande número de cerdas espalhadas na face látero-dorsal do meso- e metanoto. Na análise molecular, as divergências intraespecíficas variaram de

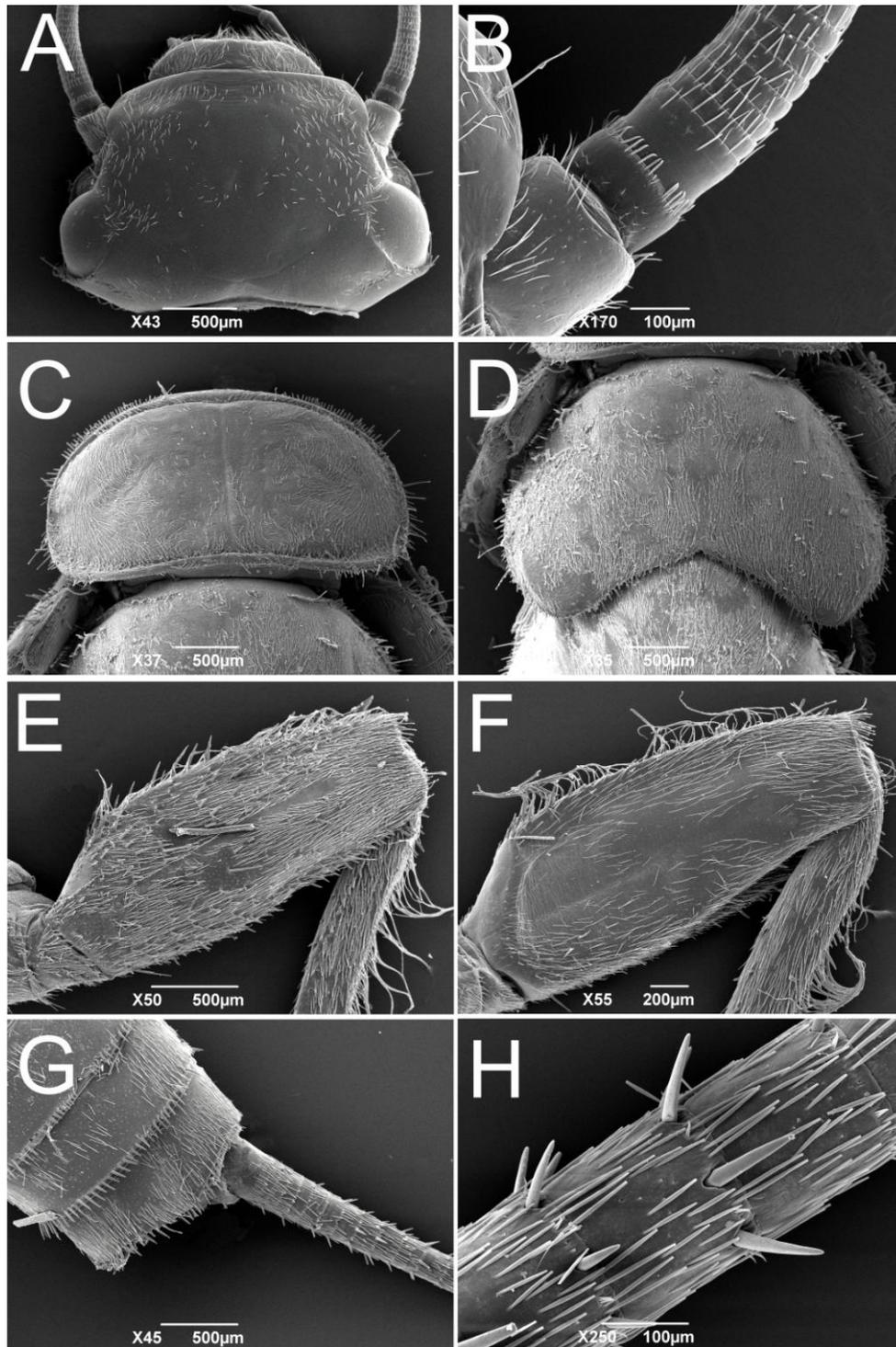


Figura 41. *Anacroneuria mantiqueirae* Froehlich. Ninfa. A. Cabeça. B. Antena, detalhe das cerdas do escapo; C. Pronoto; D. Mesonoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Fêmur em vista posterior; G. Abdome, em vista dorsal; H. Cercos, detalhe das cerdas.

0% (ENT498*ENT984) a 1,5% (ENT487*ENT976). Esse é o primeiro registro da espécie para o Rio de Janeiro e para a Serra do Mar.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro [**Novo registro**]. São Paulo.

4.2.2.1.7. *Anacroneuria petersi* Froehlich, 2002†

Anacroneuria petersi Froehlich, 2002: 97. Froehlich, 2004: 58. Bispo & Froehlich, 2004A: 102. Froehlich, 2010A: 166. Baldin *et al.* 2013: 394.

COMENTÁRIOS: No presente estudo, não foram coletados ou examinados exemplares de *A. petersi*, sendo seu registro realizado com base na literatura. A espécie foi descrita por Froehlich (2002) com base em material de São Paulo (Paranapiacaba) e do Paraná (Marumbi); posteriormente, mais material proveniente de São Paulo (Iporanga e Salesópolis) foram colecionados e registrados por Froehlich (2004) e Bispo & Froehlich (2004). Somente em Baldin *et al.* (2013), material proveniente da BRM coletado por Dr. Ralph W. Holzenthal (University of Minnesota) durante os anos de 2001/2002 foi examinado e foi registrado pela primeira vez essa espécie ocorrendo na BRM (Macaé de Cima), bem como no Estado do Rio de Janeiro.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná.

4.2.2.1.8. *Anacroneuria simulans* Froehlich, 2010†

Anacroneuria simulans Froehlich, 2010B: 59. Baldin *et al.* 2013: 394.

COMENTÁRIOS: Nenhum exemplar dessa espécie foi coletado na BRM durante o período de estudo, sendo seu registro baseado também no trabalho de Baldin *et al.* (2013). Os autores registraram a coleta de apenas um macho para a região de “Junção dos Rios Macaé e Bonito”, o que corresponde a área “Lumiar, Rio Macaé, 6ª ordem” (RB13 - 22°23'37,1"S 42°18'20,6"O, 515 m). Os autores ainda destacam a semelhança entre *A. simulans* e *A. subcostalis*, mas destacam a diferença entre as duas espécies: a coloração escurecida e o ápice peniano mais largo presente em *A. simulans*.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.2.1.9. *Anacroneuria subcostalis* Klapálek, 1921†

Anacroneuria subcostalis Klapálek, 1921: 326. Jewett, 1960: 174. Illies, 1966: 322. Froehlich, 2002: 86. Froehlich, 2004: 59. Bispo & Froehlich, 2004A: 99. Nessimian *et al.* 2009: 316. Froehlich, 2010A: 171. Baldin *et al.* 2013: 392.

COMENTÁRIOS: A espécie foi descrita por Klapálek (1921) com material oriundo do Espírito Santo e se mantém válida até então. Jewett (1960) fez o primeiro registro para o Rio de Janeiro com material proveniente de Bom Retiro; entretanto, esse autor faz um registro duvidoso para duas fêmeas nos Estado do Amazonas, segundo Froehlich (2004). Um registro para Nova Friburgo é realizado por Froehlich (2002) com material oriundo do Parque Municipal (provavelmente o Parque Municipal Juarez Frotté, no bairro Cascatinha). Froehlich (2004) e Bispo & Froehlich (2004) realizam ambos novos registros no Estado de São Paulo (Serra de Paranapiacaba e Salesópolis). Baldin *et al.* (2013) examinaram material proveniente de Macaé de Cima (Rio Macaé) e “Junção dos Rios Macaé e Bonito”, realizando registros dessa espécie na BRM.

DISTRIBUIÇÃO: Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.2.1.10. *Anacroneuria toriba* Froehlich, 2002 (Figuras 42-43)

Anacroneuria boraceiensis Froehlich 2004: 54 - 56. Froehlich 2010A: 149. Froehlich 2010B: 66-67.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé. 22°25'30,6”S 42°32'00,7”O. 1.062 m. 1N (#2635). Rio Macaé, 4ª ordem, 22°24'46,5”S 42°31'16,2”O, 935 m, 13.ix.2008, 4N (#3256). **Rio Bonito de Lumiar.** Rio Bonito. 22°13'47,6”S 42° 08' 04,7”O. 803 m. 30.x.2009. 1 exúvia (#2482). **CASIMIRO DE ABREU.** Rio Tenal. 22°24'50,5”S 42°13'11,1”O. 170 m. 05.iv.2009. 2♂ (#1646). **MACAÉ. Sana.** Rio São Bento. 22°20'23,4”S 42°12'13,5”O 294 m. 19.ii.2009. 4♂ (#1851). (#1640*ENT1047). Afluente do Rio da Glória, 22°19'58”S 42°10'20,4”O, 419 m, 1♂ (#1637), 1♂ (#1868). Córrego Ilha, 22°20'41,8”S 42°11'03,7”O, 318 m, 19.ii.2009. 1♂ (#1641). **Glicério.** Córrego Boa Sorte. 22° 14'

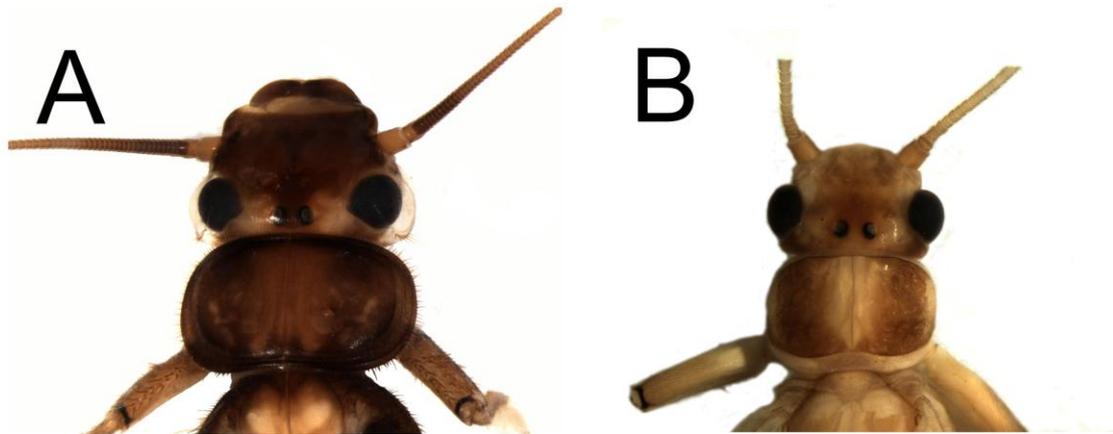


Figura 42. *Anacroneuria toriba* Froehlich. Ninfas. **A.** *Anacroneuria* sp. 06N, Cabeça e pronoto. **Macho.** **B.** Cabeça e pronoto.

30,4"S 42° 05' 14,1"O. 285 m. 2010. 1N (#1778). **Frade.** Afluente de 2ª ordem do Rio São Pedro, 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O, 470 m, 20.iii.2009, 1♂ (#2672).

MEDIDAS: Macho: Cabeça: 1,53 – 1,96 mm; Asa anterior: 8,39 – 11,15 mm ($n = 7$). **Fêmea:** Cabeça: 2,11 mm; Asa anterior: 14,24 mm. **Ninfas:** Cabeça: 2,15 – 3,41 mm; Teca alar: 2,19 – 2,92 mm ($n = 4$).

DESCRIÇÃO: Ninfas. Coloração geral marrom-escuro (Figura 42A). Cabeça com coloração geral marrom, exceto pela faixa clara no labro e na região occipital. Região occipital e esclerito ocular com cerdas e espinhos basalmente dispostos (Figura 43B). Olhos grandes, pretos e lateralmente dispostos. Dois ocelos pretos, parcialmente pigmentados; os ocelos estão localizados juntos, próximo ao meio da sutura coronal. Antena marrom; escapo e pedicelo estramíneos, contrastando com o resto da antena; cerdas filiformes presentes no escapo e dispõem-se aleatoriamente sobre a antena (Figura 43A). Pronoto trapezoidal, marrom, com superfície rugosa, densamente coberto por cerdas marrom-escuro (Figura 43C); borda do pronoto coberta por espinhos (Figura 43C). Meso- e metanoto cobertos por cerdas filiformes, com espinhos dispostos lateralmente (Figura 43D); coloração clara na parte central, com brotos alares marrom-escuros. Pernas cobertas por muitos espinhos, especialmente no fêmur (Figura 43E-F); uma fileira de cerdas finas e plumosas cobre a parte dorsal das pernas, desde o fêmur até o final da tíbia; fileira de espinhos presente nas duas bordas da tíbia (Figura 43F).

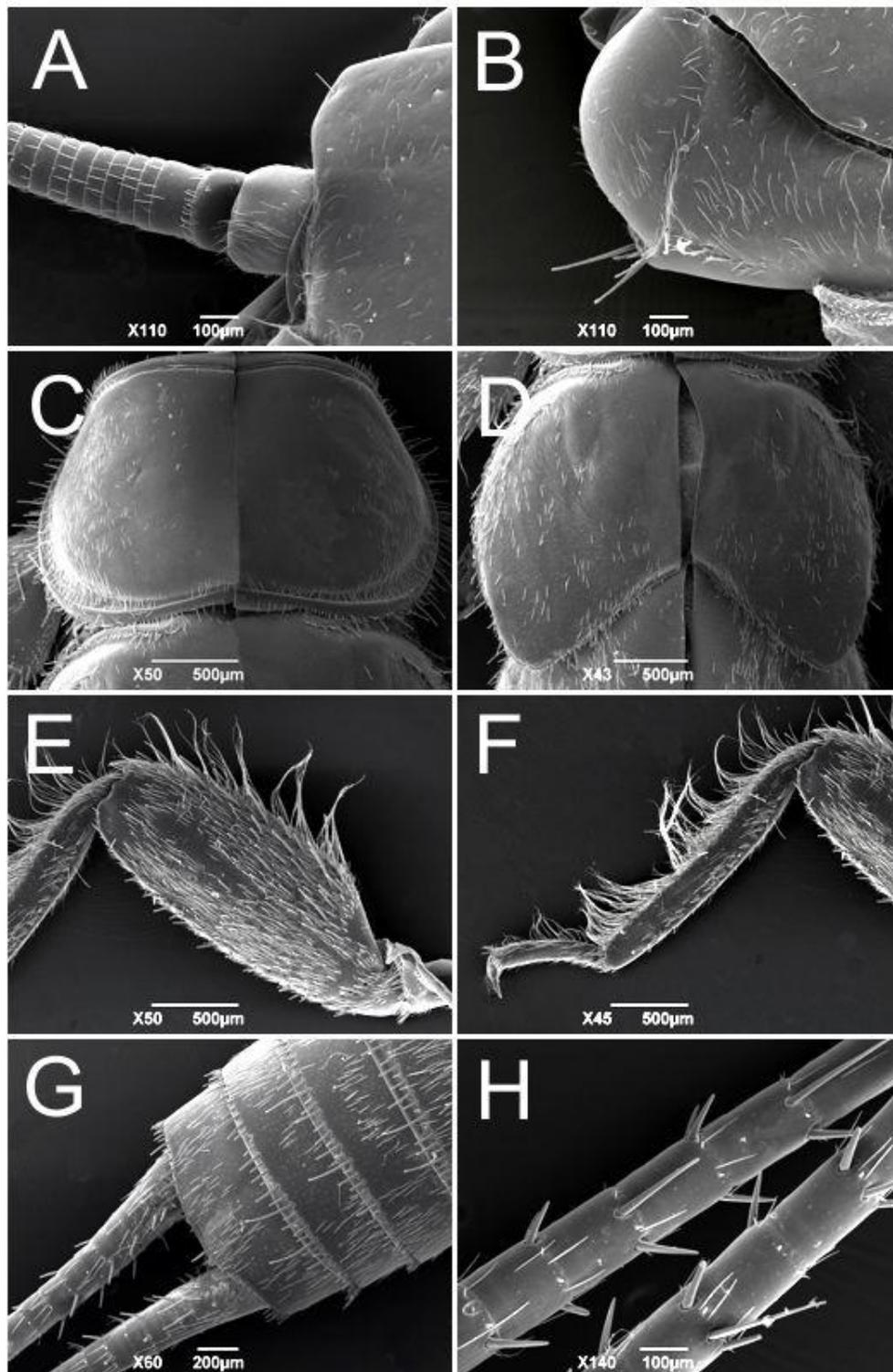


Figura 43. *Anacroneuria toriba* Froehlich. Ninfã. A. Cabeça. B. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Antena; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Mesonoto. F. Fêmur anterior, vista anterior; G. Fêmur em vista posterior; H. Abdome, em vista dorsal.

Abdome marrom, com cerdas finas marrons cobrindo cada tergito e espinhos cobrindo a margem posterior de cada tergito (Figura 43G); ápice do tergito X em arredondada. Cercos marrons, sem cerdas finas na base e com espinhos presentes em cada cercômero (Figura 43H).

COMENTÁRIOS: *Anacroneuria toriba* foi descrita por Froehlich (2002) com material proveniente da Serra da Mantiqueira (Campos do Jordão, SP), com base em um único macho. Posteriormente, nenhum outro exemplar macho foi coletado. A espécie caracteriza-se por adultos de tamanho pequeno à médio (10,6 mm) (Figura42B), com armadura peniana portando uma característica quilha dorsal em forma de V (Froehlich, 2010B). Na BRM foram encontrados machos dentro das características descritas pelo autor da espécie, tanto na morfologia da genitália como na coloração e tamanho. Através da análise molecular, uma ninfa foi associada e descrita; a divergência entre esses exemplares foi de 1,7% (ENT486*ENT1048).

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro [Novo Registro], São Paulo.

4.2.2.1.11. *Anacroneuria* sp. BRM01♀ (*Anacroneuria* sp.01♀ + *Anacroneuria* sp.02♀ + *Anacroneuria* sp.10♀) (Figura 44)

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Córrego Verdun, 22°25'27,5"S 42°32'08,4"O, 1.008 m, 29.xi.2008, 1♀ (#3272). Afluente de 2° ordem do Rio Macaé, 22°24'08,0"S 42°30'49,0"O, 956 m, 01.xii.2008, 1♀ (#3248). **Rio Bonito de Lumiar.** Córrego Sertão, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 03.iv.2009, 1♀ (#1832), 1♀ (#1914). Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 03.iv.2009, 5♀ (#1838), 1♀ (#1841). Afluente de 1ª ordem do Rio Santo Antônio, 25.x.2010, 1♀ (#1792). Rio Bonito, 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O, 803 m, 20.x.2010, 1♀ (#1843), 3♀ (#2881). Rio Bonito, 22°24'38,5"S 42°20'40,7"O, 656 m, 06.iii.2009, 2♀ (#1917). Ponte sobre o Rio Bonito, 22°23'27,3"S 42°20'03,6"O, 658 m, 06.iii.2009, 2♀ (#1811), 2♀ (#1864). **Lumiar.** Rio Santiago, 22°21'06,4"S 42°22'51"O, 806 m, 04.iv.2009, 1♀ (#1809), 2♀ (#1911). Afluente do Rio Santiago, 22°21'05,6"S 42°22'31,6"O, 760 m, 04.iv.2009, 2♀ (#1805*ENT354). Afluente de 2° ordem do Córrego das Paineiras, 22°23'23,7"S 42°20'04,8"O, 716 m, 05.iii.2009, 1♀

(#1817). Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 05.iii.2009, 1♀ (#1933). Rio Bonito, 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O, 608 m, 07.iii.2009, 1♀ (#1807), 1♀ (#1815). Rio Macaé, 22°23'37,1"S 42°18'20,6"O, 515 m, 08.iii.2009, 1♀ (#1931). **CASEMIRO DE ABREU**. Rio Bonito, 22°24'46,5"S 42°24'13,3"O, 786 m, 08.iii.2009, 4♀ (#1836). **MACAÉ. Sana**. Afluente do Córrego Alegre, 22°15'26,6"S 42°09'52,6"O, 569 m, 18.ii.2009, 1♀ (#1909). Córrego Alegre, 22°15'25,3"S 42°09'36,1"O, 18.ii.2009, 1♀ (#1726). Alto da Cabeceira do Rio Sana. Fazenda Agroecológica, 22°16'15,9"S 42°09'20,9"O, 459 m, 18.ii.2009, 1♀ (#1847). Rio Sana, 22°16'06,8"S 42°09'23,4"O, 478 m, 18.ii.2009, 1♀ (#1907). Rio da Glória, 17.ii.2009, 1♀ (#1853). Córrego Montanha, 22°19'11,7"S 42°10'57,3"O, 310 m, 17.ii.2009, 2♀ (#1850). **Frade**. Afluente de 2° ordem do Rio São Pedro, 22°13'47,6"S 42°08'04,7"O, 470 m, 20.iii.2009, 1♀ (#1855).

MEDIDAS: Fêmea: Cabeça: 1,81 – 2,64 mm; Asa anterior: 11,63 – 14,99 mm.

DESCRIÇÃO: Fêmea. Coloração geral estramínea à marrom-claro. Cabeça com coloração variando de estramínea (Figuras 44A e C) a marrom-claro (Figura 44E), possuindo, no segundo caso, uma mancha marrom mais escura na parte central da fronte; olhos pretos; ocelos pretos, não totalmente pigmentados; linha M não evidente; antenas com escapo e pedicelo marrom, e flagelômeros variando de estramíneo a marrom. Pronoto rugoso com variação de coloração, podendo ocorrer com coloração geral estramínea e com duas bandas paralelas nas bordas (Figuras 44A, C e E); asas membranosas, com Sc e r marrom e as demais veias marrom-claras; Pernas com variação de estramíneo a marrom, podendo haver anel marrom-escuro na base da tíbia e em alguns morfotipos, o terço basal ser marrom. Abdome com variação de estramíneo a marrom-claro; placa subgenital com quatro lóbulos, com variações de tamanho dos mesmos, como apresentado nas Figuras 44B, D e F.

COMENTÁRIOS: O clado formado pela espécie *Anacroneuria* sp. BRM02♀ foi formado por três morfotipos de fêmeas, que possuíam polimorfismo de coloração e da placa subgenital. Não houve associação destas fêmeas a machos tanto da BRM quanto de demais localidades inclusas na análise. As divergências intraespecíficas entre as fêmeas foi 0%, indicando que as variações polimórficas podem ser regidas por genes nucleares, não refletidos nos genes mitocondriais. A inclusão de mais machos na análise

ou mesmo a realização de novas coletas a fim de obter machos compatíveis poderá levar a associação destas fêmeas.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

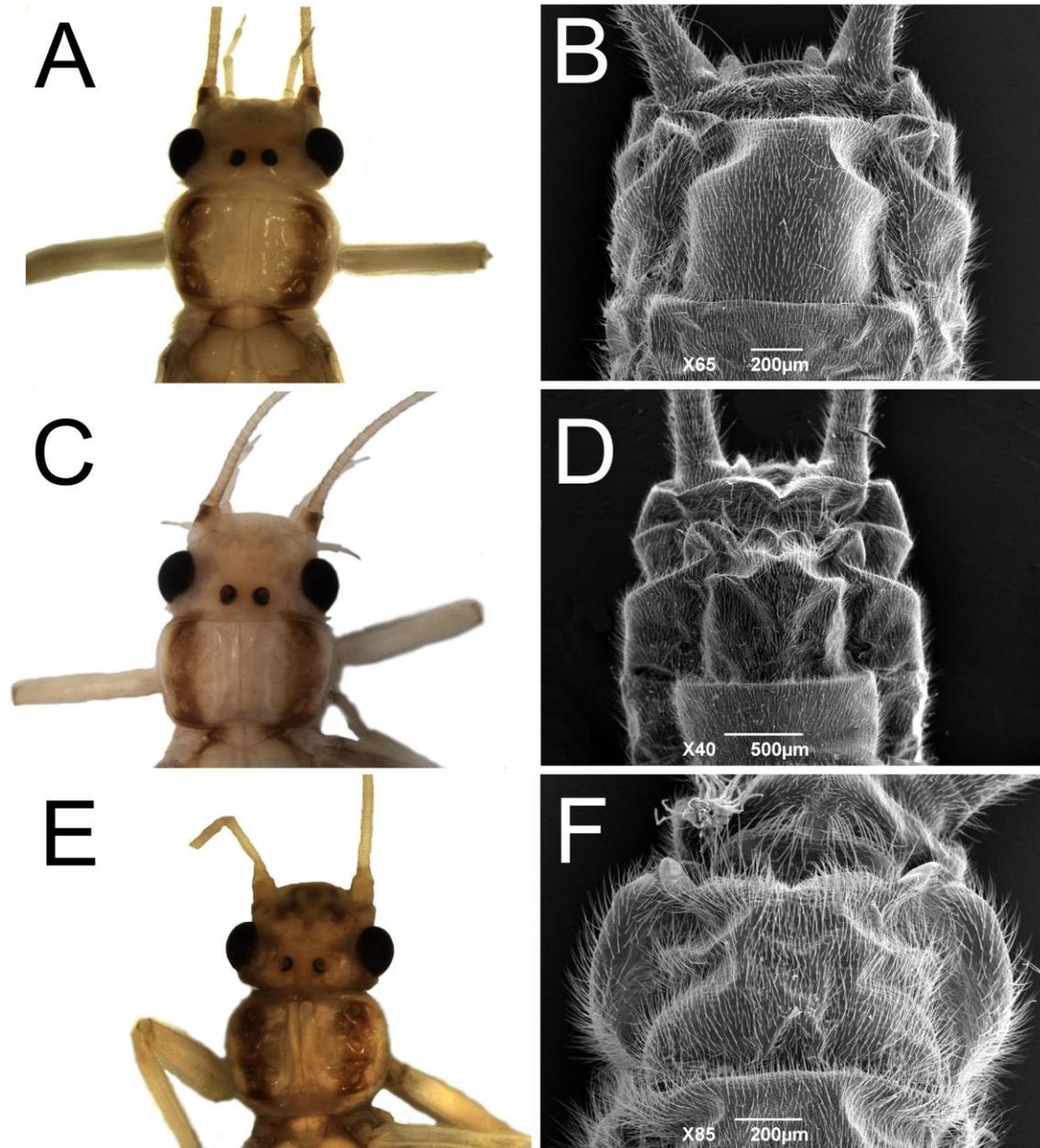


Figura 44. *Anacroneuria* sp. BRM01♀. Fêmea. *Anacroneuria* sp.01♀, A. Cabeça e pronoto. B. Abdome, placa subgenital. *Anacroneuria* sp.02♀, C. Cabeça e pronoto. D. Abdome, placa subgenital. *Anacroneuria* sp. 10♀, E. Cabeça e pronoto. D. Abdome em vista ventral, placa subgenital.

4.2.2.1.12. *Anacroneuria* sp. BRM02♀ (*Anacroneuria* sp.08♀)
(Figura 45)

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 22°25'27,5"S 42°32'08,4"O, 1008 m, 1♀ (#3519*ENT1053).

MEDIDAS: Fêmea: Cabeça: 2,14 mm; Asa anterior: 14,99 mm ($n = 1$).

DESCRIÇÃO: Fêmea. Coloração geral estramínea a marrom-clara. Cabeça com coloração variando de estramíneo, com área central da fronte marrom-clara (Figura 45A); olhos pretos; ocelos pretos; linha M pouco evidente, formada por uma área mais clara; antenas com escapo e pedicelo marrom-claros. Pronoto claro, rugoso, com duas bandas paralelas nas bordas (Figura 45A); asas membranosas, amareladas, com veias marrom-clara; Pernas estramíneo, com anel marrom-escuro na base da tibia. Abdome com variação de estramíneo à marrom-clara; placa subgenital com quatro lóbulos, com variações de tamanho dos mesmos, como apresentado na Figura 45B.

COMENTÁRIOS: A fêmea *Anacroneuria* sp. BRM02♀ foi coletada junto à machos de *A. mantiqueirae*. O espécime é muito similar aos machos de *A. boraceiensis*, *A.*

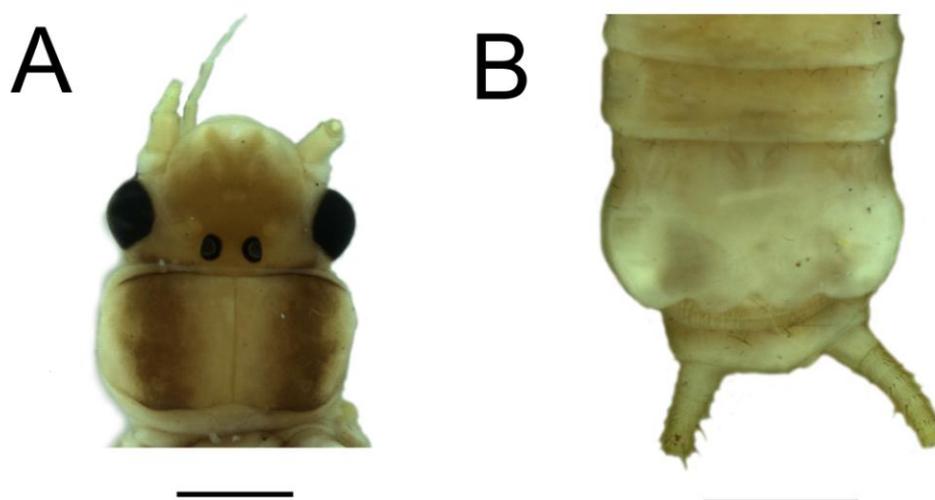


Figura 45. *Anacroneuria* sp. BRM02♀. Fêmea. *Anacroneuria* sp.08♀, A. Cabeça e pronoto. B. Abdome, placa subgenital.

mantiqueirae e *A. toriba* e durante o processo de identificação, acreditou-se pertencer a essa espécie. Entretanto, durante a análise molecular, essa fêmea apareceu dissociada das demais espécies da análise. O exemplar compartilha características de coloração com o machos de *A. mantiqueirae*, seja pela mancha marrom destacada na cabeça (ver. Figura 40B e 45A), bem como as bandas paralelas no pronoto. Entretanto, diverge da coloração das fêmeas dessa espécie, sendo muito similar na coloração ao morfotipo da espécie *Anacroneuria* sp. BRM01♀.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

4.2.2.1.13. *Anacroneuria* sp. BRM03N♀ (*Anacroneuria* sp.04♀) (Figura 46)

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Afluente de 2ª ordem do Rio Macaé, 29.xi.2008, 22°25'33,6"S 42°31'56,4"O, 1023 m, 1♀ (#3480). Afluente do Rio Macaé, 22°23'27,9"S 42°29'41,2"O, 956 m, 01.xii.2009, 2♀ (#3260). Rio Macaé, 22°23'29,7"S 42°29'06,0"O, 944 m, 30.xi.2008, 1♀ (#3261). Rio Macaé em 4ª ordem, 22°24'46,5"S 42°31'16,2"O, 935 m, 13.ix.2008, 1♀ (#3253); 14.ix.2008, 1♀ (#3263); 01.xii.2008, 3♀ (#3141). **Rio Bonito de Lumiar.** Córrego das Paineiras, 3º ordem, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 05.iii.2009, 2♀ (#1935). Rio Bonito, 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O, 608 m, 05.iii.2009, 1♀ (#1833). **MACAÉ. Sana.** Rio Peito do Pombo, 22°19'11,7"S 42°10'57,3"O, 310 m, 17.ii.2009, 1♀ (#1899). Córrego Ilha, 22°20'41,8"S 42°11'03,7"O, 318 m, 19.ii.2009, 4♀(#1638), 1♀ (#1830). Rio São Bento, 22°20'23,4"S 42°12'13,5"O, 294 m, 19.ii.2009, 1♀ (#1897). **Glicério.** Córrego Boa Sorte, 22°14'30,4"S 42°05'14,1"O, 285 m, 12.ix.2010, 1♀ (#3050). **Córrego do Ouro.** Córrego do Ouro, 22°17'14,2"S 42°00'14,7"O, 24 m, 16.iv.2009, 1♀ (1895).

MEDIDAS: Fêmea: Cabeça: 2,49 – 3,31 mm; Asa anterior: 14,36 – 22,36 mm ($n = 16$).

DESCRIÇÃO: Fêmea. Coloração geral estramínea à marrom-claro. Cabeça com coloração variando de estramínea, com área central da fronte marrom (Figura 46A), com área central marrom; duas áreas claras em forma de bigode estão presentes na parte

anterior da frente; olhos pretos; ocelos pretos, não totalmente pigmentados; linha M pouco evidente; antenas com escapo e pedicelo marrom. Pronoto rugoso, claro com duas bandas paralelas, separadas por uma banca clara na área central do pronoto (Figura 46A); asas membranosas, amareladas, com veias marrom-claro; Pernas marrom, com anel -scuro na base da tibia; base do fêmur estramíneo, tornando-se marrom a partir do terço apical. Abdome estramíneo; placa subgenital com quatro lóbulos, com variações de tamanho dos mesmos, como apresentado nas Figura 46B.

COMENTÁRIOS: A espécie *Anacroneuria* sp. BRM03♀ caracterizada pela coloração característica da cabeça (Figura 46A), distribuiu-se ao longo da BRM. Apesar dos esforços, não houve sucesso na amplificação do DNA e portanto esse espécime não foi incluso na análise molecular. Morfologicamente, o padrão de coloração da cabeça se parece muito ao encontrado em machos de *A. boraceiensis* e *A. itatiaiaensis*, sendo a fêmea mais clara e bem maior do que os machos de ambas as espécies. Em ambos os casos, os machos não foram associados à fêmeas da BRM. A inclusão de sequências de *Anacroneuria* sp. BRM03♀ na análise poderá esclarecer se esta fêmea pertence a alguma dessas espécies ou se se trata de outra linhagem encontrada na BRM.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

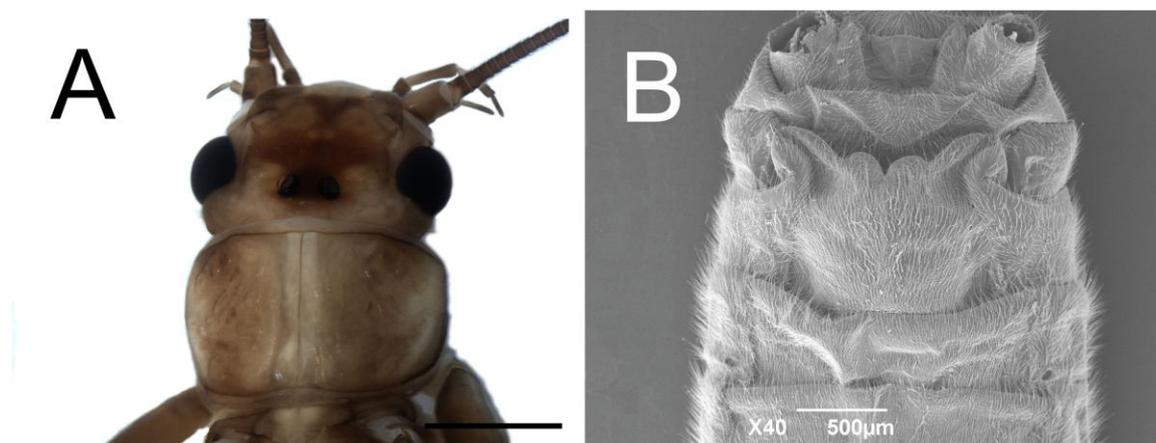


Figura 46. *Anacroneuria* sp. BRM03♀. Fêmea. A. Cabeça e pronoto. B. Abdome, placa subgenital.

4.2.2.1.13. *Anacroneuria* sp. BRM02N (*Anacroneuria* sp. 08N)

(Figura 47)

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Córrego Verdun, 22°25'27,5"S 42°32'08,4"O, 1.008 m, 29.xi.2008, 3N (#3032). Rio Macaé, 22°24'46,0"S 42°31'16,2"O, 935 m, 13.ix.2009, 2N (#2556*ENT491), 1N (#2711*ENT490). Rio Macaé, Represa, 22°25'51,9"S 42°32'18,9"O, 1.061 m. 30.xi.2008, 2N (#2875), 2N (#2877). **Rio Bonito de Lumiar.** Afluente de 2ª ordem do Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 18.x.2010, 1N (#2651).

MEDIDAS: Ninfa: Cabeça: 1,52 – 2,26 mm; Teca alar: 2,26 – 2,48 mm ($n = 9$).

DESCRIÇÃO: Ninfa. Coloração geral marrom-escuro (Figura 47A). Cabeça com uma grande faixa marrom-escuro na parte anterior da fronte e, na parte posterior e na região occipital estramínea; Escapo antenal com base marrom e parte superior, pedicelo e flagelos antenais estramíneo, coberto por cerdas filiformes (Figura 47B); olhos e ocelos pretos e totalmente pigmentados. Pronoto trapezoidal, mesonoto e metanoto marrom, com muitos espinhos cobrindo a borda do pronoto e espalhados pelo meso- e metanoto (Figura 47C-D); fêmur coberto por muitos espinhos longos na parte anterior (Figura 47E); tíbia com espinhos paralelos nas bordas anteriores da estrutura; cerdas plumosas presentes apenas tíbia. Abdome marrom, com muitas cerdas filiformes cobrindo cada segmento; uma fileira de longos espinhos está presente na margem posterior de cada segmento (Figura 47F). Cercos marrom-claro, cobertos por muitos espinhos (Figura 47F).

COMENTÁRIOS: A ninfa *Anacroneuria* sp. BRM03N caracteriza-se pela coloração marrom-escuro presente em todo o corpo, exceto pela faixa clara da região occipital e pela grande quantidade de espinhos no pronoto e no fêmur. A ninfa compartilha características da coloração ninfas de *A. blanca* Stark (ver Stark 1995: Figura 9), entretanto, diferencia-se da mesma pela grande quantidade de espinhos presentes na face anterior do fêmur (Figura 47E; Stark 1995: Figura 10). Na BRM ninfas foram encontradas apenas em trechos elevados da bacia, ocorrendo entre as altitudes de 600 a 1.000 m. Durante o estudo, as ninfas não se associaram a nenhum macho ou fêmea durante a análise molecular e as divergências intraespecíficas foram 0%.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

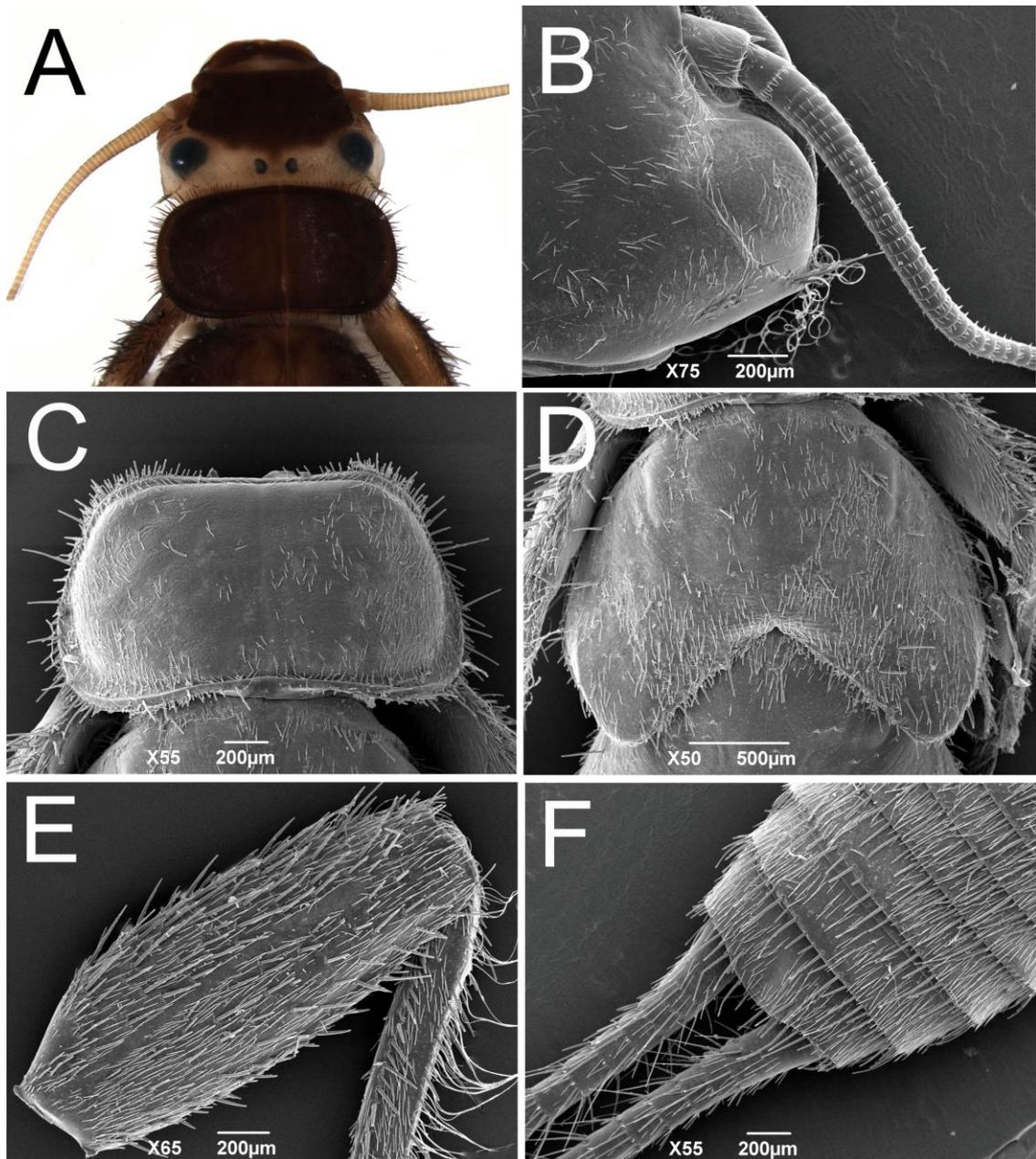


Figura 47. *Anacroneuria* sp. BRM02N. Nífa. A. Cabeça e pronoto. B. Cabeça, olho e escapo da antena. C. Pronoto. D. Metanoto. E. Fêmur em vista anterior. F. Abdome em vista dorsal.

**4.2.2.1.14. *Anacroneuria* sp. BRM03N (*Anacroneuria* sp.10
Ninfa) (Figura 48)**

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 4ª ordem, 22°24'46,0"S 42°31'16,2"O, 935 m, 13.xi.2008, 3N (#3153*ENT979).

MEDIDAS: Ninfa: Cabeça: 1,75 – 1,79 mm; Teca alar: 1,88 – 2,11 mm ($n = 2$).

DESCRIÇÃO: Ninfa. Coloração geral estramínea. Cabeça estramínea com mancha marrom na frente, como na Figura 48; clipeo marrom; olhos e ocelos pretos; escapo, pedicelo e antena estramínea; linha M não evidente. Pronoto estramíneo, com borda marrom escura e área central clara. Meso- e metanoto estramíneo, apenas com as bordas laterais e uma mancha sobre a teca alar marrom; ambas as estruturas cobertas de cerdas marrom-escura. Pernas estramíneas com uma mancha marrom escura na extremidade dorsal anterior e ventral posterior do fêmur; tibia com mancha marrom-escura apenas na face ventral anterior; fêmur e tibia com fileira de cerdas plumosas na parte ventral. Abdome marrom-claro, coberto por cerdas escuras. Cercos estramíneos, com cerdas marrom-claras em cada artícuo.

COMENTÁRIOS: A ninfa de *Anacroneuria* sp. BRM04N diferencia-se das demais descritas pela coloração estramínea, possuindo apenas algumas manchas marrom que



Figura 48. *Anacroneuria* sp. BRM03N. Ninfa. A. Cabeça e pronoto.

formam ornamentações características. Na BRM estas foram encontradas apenas em no trecho alto da bacia, no distrito de Macaé de Cima. Durante a análise molecular, não houve associação destas à adultos.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

**4.2.2.1.15. *Anacroneuria* sp. BRM04N (*Anacroneuria* sp.11
Ninfa) (Figura 49)**

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Rio Bonito de Lumiar. Córrego dos Patos, 22°24'45,5"S 42°19'10,6"O, 670 m, 07.iii.2009, 1N (#2543); 08.iii.2009, 2N (#2544). Córrego Ramalhete, 22°24'38,2"S 42°20'38,6"O, 669 m, 06.iii.2009, 17N (#2549*ENT494). **MACAÉ. Sana.** Córrego Alegre, Cachoeira das Andorinhas, 22°15'38,8"S 42°10'08,2"O, 573 m, 19.ix.2010, 4N (#3045). Rio Sana, 22°14'42,3"S 42°09'03,2"O, 567 m, 18.ii.2009, 2N (#2553). **Frade.** Rio São Pedro, 22°13'45,1"S 42°07'39,6"O, 426 m, 20.iii.2009. 1N (#2558). **Crubixás de Cima.** Afluente do Rio Crubixá, 22°11'38,4"S 42°04'46,1"O, 576 m, 21.iii.2009, 2N (#2563).

MEDIDAS: Ninfa: Cabeça: 2,11 mm; Asa anterior: 14,24 mm.

DESCRIÇÃO: Ninfa. Coloração geral marrom. Cabeça trapezoidal, com coloração marrom, sem manchas; olhos e ocelos pretos; antena marrom mais claro. Pronoto, retangular, com coloração uniforme marrom; Meso- e metanoto seguem o mesmo padrão de coloração; pernas de coloração uniforme, marrom, com muitos espinhos longos cobrindo a parte anterior do fêmur; espinhos da tíbia menores do que do fêmur; cerdas plumosas presentes no fêmur e tíbia, sendo mais numerosas nas tíbias. Abdome de coloração uniforme marrom, com cerdas marrom-escuro cobrindo os segmentos e fileira de espinhos na base de cada segmento. Cercos marrons, com espinhos presentes em cada segmento, sendo estes maiores na base dos cercos; cerdas finas ausentes.

COMENTÁRIOS: Na BRM essa espécie foi colecionada em trechos médios da bacia, ocorrendo entre 500 a 700 m. A ninfa *Anacroneuria* sp. BRM05N caracteriza-se pela coloração uniforme marrom, sendo muito parecida com as ninfas de *A. debilis*, sendo essas últimas, um pouco mais escuras que as de *Anacroneuria* sp.

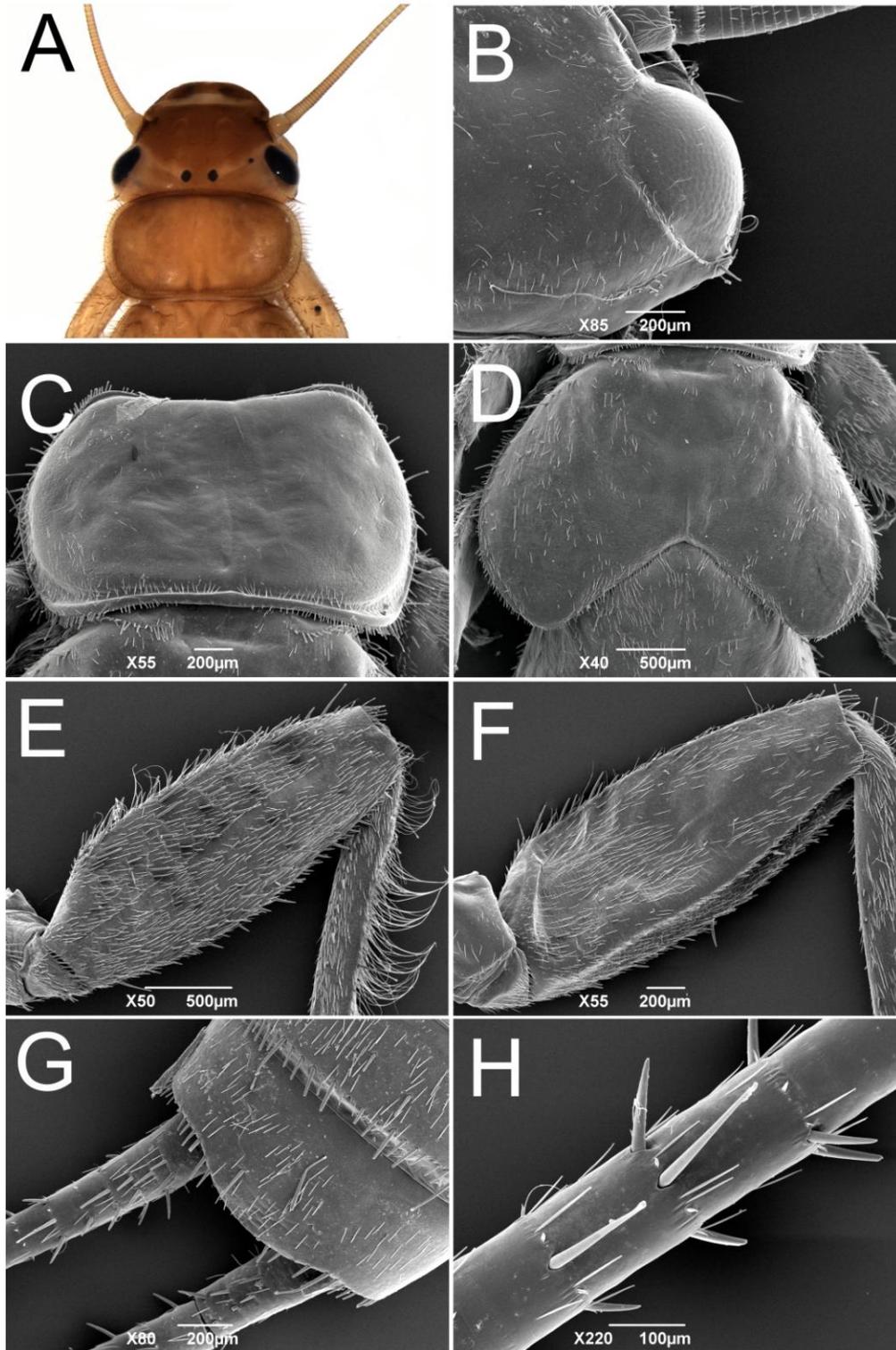


Figura 49. *Anacroneuria* sp. BRM03N. Ninf. *Anacroneuria* sp.11N. A. Cabeça e pronoto. B. Cabeça, olho e escapo da antena. C. Pronoto. D. Metanoto. E. Fêmur em vista anterior. F. Fêmur em vista posterior. G. Abdome em vista dorsal. H. Cerco.

BRM05N. Apesar da grande semelhança morfológica entre os dois morfotipos, esses se mantiveram bem separados na análise molecular, sendo as divergências entre os dois espécimes de 20,3% (ENT494*ENT160); em geral, as divergências interespecíficas variaram de 12,8% (ENT494*ENNT492) a 23,3% (ENT494*ENT981). A inclusão de mais exemplares dos dois morfotipos poderá elucidar se realmente tratam-se de espécies diferentes ou se houve algum artefato na análise molecular.

4.2.2.2. *Kempnyia* Klapálek, 1914

Kempnyia foi erigido por Klapálek (1914) para insetos com tamanho de médio a grande, cabeça com sutura epicranial projetada entre ou além dos ocelos pareados, esterno IX projetado, formando uma estrutura às vezes retangular ou triangular (Stark *et al.* 2009). São encontrados apenas no Brasil, distribuindo-se desde as terras altas da Região Centro-Oeste às regiões montanhosas do Sudeste. Recentemente, um registro foi feito para a Venezuela, com base em uma ninfa (Derka *et al.* 2010); entretanto, este registro carece de maiores investigações, dada a idade muito juvenil do exemplar. Até o presente momento um total de 36 espécies são registradas para o gênero (Avelino-Capistrano *et al.* 2013).

No presente estudo, 207 espécimes foram encontrados, sendo que desses 164 eram ninfas, 18 eram fêmeas e 25 eram machos. Um total de onze registros são feitos, sendo que dois desses com base em dados da literatura. Uma espécie nova é descrita para a BRM e nove novos registros são feitos.

4.2.2.2.1. *Kempnyia alterosarum* Froehlich, 1998 (Figura 50)

Kempnyia alterosarum Froehlich, 1988: 159. Froehlich, 2011: 179. Lecci, 2013: 25.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 22°24'46''S 42°31'16,2''O, 1.061 m, 12.ix.2009, 1N (#1605).

MATERIAL ADICIONAL: BR. MG. ITAMONTE. Rio Airuoca, 22°20'56,9"S 44°41'37,9"O, 1.845 m, 01.xi.2007, 1♂ (#2207), Col. LL Dumas. **ITABIRITO.** Vale dos Tropeiros, Cachoeira da Carranca, 10.x.2010, 3♂ (#2704*ENT415), Col. N Ferreira-Jr, DM Takiya, JL Nessimian, APM Santos & RB Braga.

MEDIDAS. RJ. Ninfa: Cabeça: 3,36 mm; Teca alar: 3,37 mm ($n = 1$). **MG. Itamonte. Macho:** Cabeça: 2,1 mm; Asa anterior: 12,23 mm ($n = 2$). **Itabirito. Macho:** Cabeça: 2,62 mm; Asa anterior: 15,26 mm ($n = 1$).

DESCRIÇÃO: Ninfa. Coloração geral estramínea. Cabeça – labro e parte anterior da fronte com faixa marrom-avermelhada; área posterior da fronte, clípeo e parietália marrom-claro (Figura 50A). Linha M marrom-claro, mas pouco delimitada. Sutura epicranial não ultrapassando os ocelos pareados. Três ocelos pretos, parcialmente coloridos. Olhos pretos (Figura 50A). Espinhos cobrindo 1/3 do esclerito ocular. Antena marrom-clara (Figura 50B). Pronoto retangular, marrom com uma área amarela formando um padrão em vista dorsal; em vista ventral, esses espinhos são esparsos e em menor número. Borda do pronoto marrom-claro, com margem externa marrom; área posterior da borda mais grossa que a lateral. Mesonoto e metanoto estramíneo com áreas claras, e com muitos espinhos lateralmente dispostos (Figura 50C). Muitas cerdas no pronoto, mesonoto e metanono. Todas as brânquias torácicas presentes. Pernas de coloração estramínea, com uma fileira de cerdas plumosas sobre o fêmur, tíbia e reduzindo no tarso (Figuras 50D-E). Numerosos espinhos castanhos cobrem o fêmur em uma fileira de espinhos castanhos está presente longitudinalmente na tíbia (Figuras 50D-E). Abdome marrom, em vista dorsal, escurecendo em direção ao final da estrutura; parte posterior de cada segmento mais escura; uma fileira de espinhos está disposta na parte posterior de cada tergo (Figura 50F); tergo X marrom (Figura 50G). Região ventral amarela, exceto os últimos cinco segmentos do abdome, que se tornam marrom a marrom-escuro em direção a parte posterior. Brânquias anais presentes. Cercos marrons, portando longas cerdas; espinhos marrons estão presentes em cada articulo dos cercos. Um moderado número de longas e finas cerdas cobrem a base dos cercos (Figura 50G); em cada articulo, um anel de dez espinhos está presente.

COMENTÁRIOS. Froehlich (1988) descreveu essa espécie com base em muitos machos e fêmeas da Serra do Cipó (Minas Gerais). Até o presente momento, não havia outros registros para esta espécie no Sudeste do Brasil, e este é o primeiro registro desta espécie para o Rio de Janeiro. A espécie é caracterizada por exemplares de tamanho médio, onde os machos possuem a armadura peniana com ganchos curtos e o ápice do pênis projetado entre os dois ganchos; as fêmeas possuem a placa subgenital

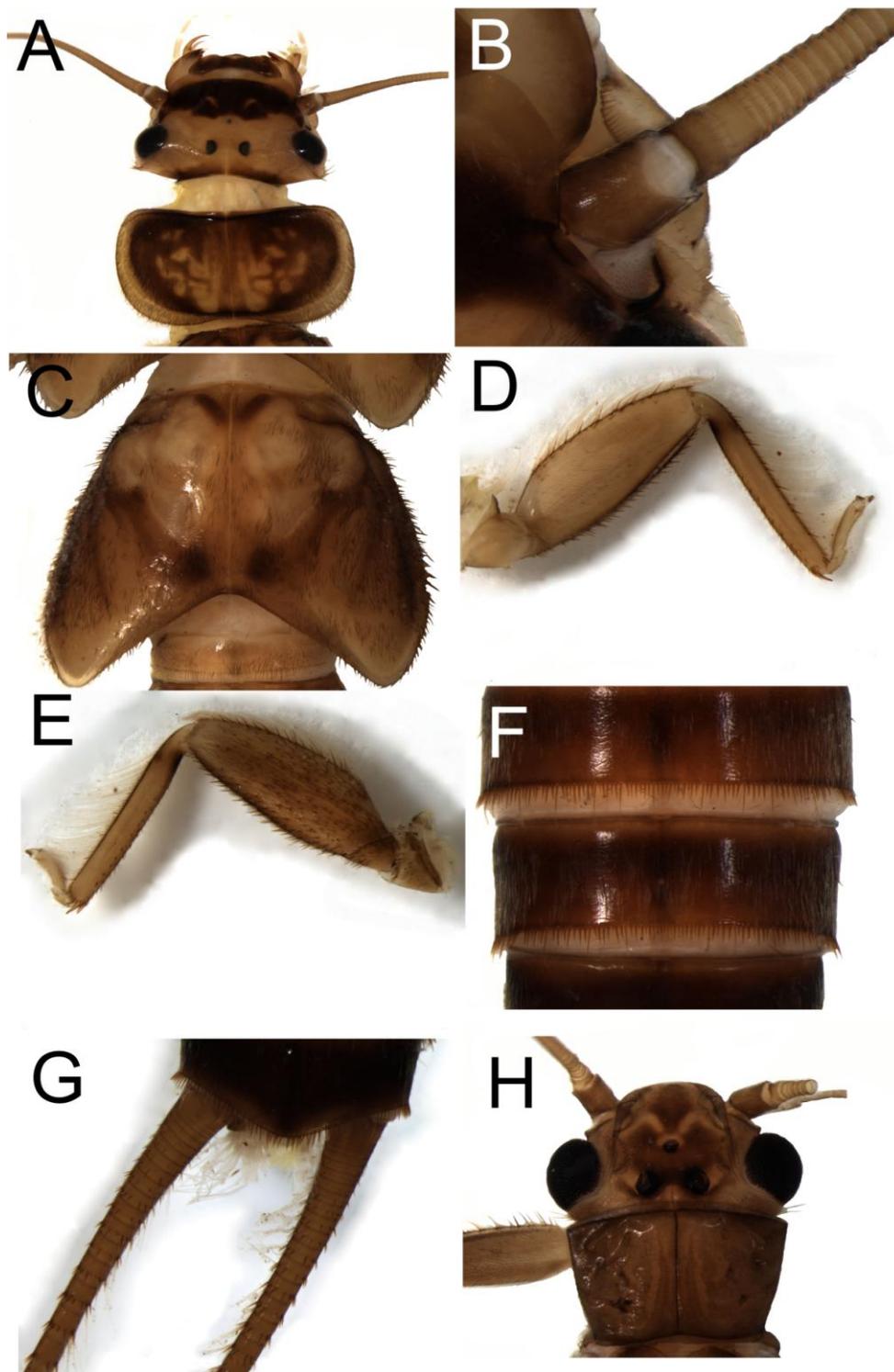


Figura 50. *Kempnyia alterosarum* Froehlich. Ninfã: A. Cabeça e pronoto; B. Flagelo da antena, vista dorsal; C. Metanoto; D. Perna anterior, vista anterior; E. Perna anterior, vista posterior; F. Tergito VI-VIII; G. Tergito X e cercos. Macho adulto: H. Cabeça e pronoto.

subparalela, diferente das demais do gênero (ver Froehlich 1988: Figuras 39 – 45). Durante o trabalho de campo, adultos não foram coletados, e apenas uma ninfa de Nova Friburgo foi associada através da análise molecular com espécimes de Itabirito (MG) e Itamonte (MG) (Figura 50H). Os machos de Itabirito são menores que os de Itamonte, mas ambos estão dentro dos tamanhos apresentados por Froehlich (1988). A ninfa é maior que os adultos de Minas Gerais e difere das outras ninfas de *Kempnyia* pelo padrão de coloração, o anel marrom na parte anterior da tíbia e pela pouca quantidade de cerdas longas na base do cerco (Figura 50G). Na análise molecular, a distância entre os dois exemplares foi de 6,4% (ENT155*ENT415).

DISTRIBUIÇÃO. Rio de Janeiro [Novo Registro], Minas Gerais.

4.2.2.2. *Kempnyia colossica* (Navás, 1934) (Figura 51)

Laeissa colossica Navás, 1934: 31. Illies, 1966: 343-344.

Kempnyia colossica Froehlich, 1988: 154-158. Bispo & Froehlich, 2004: 110. Stark *et al.*, 2009: 125. Froehlich, 2010A: 180. Froehlich, 2011: 21. Bispo *et al.*, 2013. Lecci, 2013: 27.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, Represa, 22°25'51,9"S 42°32'18,9"O, 1.061 m, 29.xi.2008, 1♂ (#3117*ENT416); 30.xi.2008, 3N (#2874), 2N (#2876). Rio das Flores, 06.iii.1996, 1♂ (#2203). Tributário de 1ª ordem do Rio Macaé, 22°25'57,6"S 42°32'24,3"O, 1.103 m, 16.x.2010, 3N (#2631). Rio Macaé, 4ª ordem, 22°24'46,0"S 42°31'16,2"O, 935 m, 13.ix.2008, 3N (#3155). **Lumiar.** Córrego Santa Margarida, 16.xi.2008, 1N (#1597*ENT138). Córrego Verdun, 1.008 m, 29.xi.2008, 1♂ (#3107). Afluente do Córrego Santa Margarida, 22°20'00,0"S 42°17'24,1"O, 1.005 m, 16.xi.2008, 1N (#1597), 2N (#1598). Rio Macaé, 22°21'47,3"S 42°18'37,6"O, 600 m, 13.ix.2009, 1N (#1823).

MATERIAL ADICIONAL. BR. SP. SÃO JOSÉ DO BARREIRO. Parque Nacional da Serra do Bocaina, Cachoeira do Príncipe, 22°42'48,9"S 44°37'26,3"O, 1.557 m 17.xii.2010, 3♂ (#3057*ENT247). Col. JL Nessimian, MR Souza, R Carvalho & ALH Oliveira. **MG. Itamonte.** Primeiro rio na trilha para o Rio Aiuruoca, 01.x.1999, 5N (#1555), Col. AL Carvalho. Rio Aiuruoca, 02.x.1999, 1N (#1558), Col. AL Carvalho.

MEDIDAS. RJ. Macho: Cabeça: 3,98 – 4,41 mm; Asa anterior: 24,8 – 29,6 mm ($n = 3$). **Ninfa.** Cabeça: 3,57 mm; Teca alar: 2,82 mm ($n = 1$). **SP. Macho:** Cabeça: 3,33 – 3,79 mm; Asa anterior: 24,76 – 26,17 mm ($n = 3$). **MG: Ninfa.** Cabeça: 6,5 mm; Teca alar: 8.0 mm; Comprimento Total: 38,0 mm ($n = 2$).

DESCRIÇÕES ADICIONAIS. Ninfa. Coloração geral amarelo-avermelhada dorsalmente e amarelo-esbranquiçada ventralmente (Figura 51A). Olhos pretos com um contorno branco. Três ocelos pretos. Uma área clara em forma de vírgula presente entre os ocelos. Pronoto oval, com muitas cerdas; a superfície é rugosa formando um padrão de ornamentação; borda fina, com partes mais escuras que outras. Mesonoto e metanoto mais escuros na margem anterior do que na posterior. Fêmur e tibia com uma franja marrom de cerdas; Fêmur com uma fina faixa longitudinal amarela. Abdome marrom-avermelhado com uma linha longitudinal marrom clara.

COMENTÁRIOS: Os primeiros registros de *K. colossica* foram realizados para o Estado de Santa Catarina (Presidente Getúlio, antiga Nova Bremem, localidade próxima à Blumenau – Navás, 1934; Corupá – Jewett, 1960). Posteriormente, a espécie foi revisada por Froehlich (1988), que adicionou material de Ilhota (SC), Marumbi (PR), Salesópolis e Cubatão (SP). Bispo *et al.* (2013) realizaram a descrição da ninfa, que foi suportada por análise molecular, com material da BRM. A ninfa descrita por estes autores é similar aos exemplares analisados de Nova Friburgo (Figura 51A). No presente estudo, machos adultos e ninfas foram coletados apenas na parte alta da bacia, sendo os adultos encontrados apenas em trechos de 3ª ordem (Figura 51B). Na análise molecular indivíduos dessa espécie, esses possuíram as maiores divergências intraespecíficas entre todos os plecópteros estudados, com variação ocorrendo entre 10,7% (ENT138*ENT416) a 15,1% (ENT247*ENT416). Apesar da alta variação, estas ocorreram entre machos identificados com base na genitália. Froehlich (1988) analisando material de *K. colossica* obtido de São Paulo e Santa Catarina observou variações na coloração e no formato da genitália (ver Froehlich 1988: Figuras 9-18), entretanto, este autor considerou o material como pertencente a mesma espécie. No presente estudo, não houve uma variação entre os exemplares do Rio de Janeiro, sendo estes similares aos descritos para Santa Catarina. Assim, um trabalho envolvendo um número maior de exemplares de diversas localidades poderá elucidar se

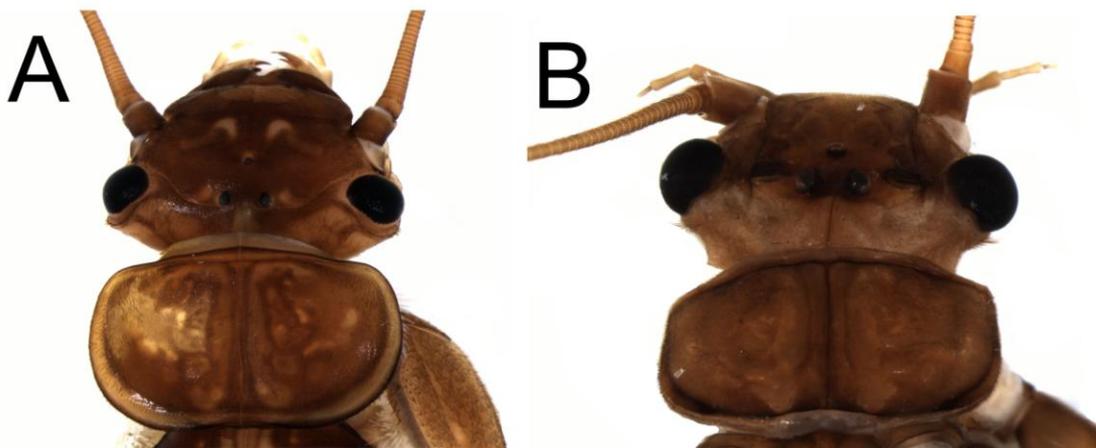


Figura 51. *Kempnyia colossica* (Navás). Ninfã: A. Cabeça e pronoto. Macho: B. Cabeça e pronoto.

tais variações – moleculares e morfológicas – são indicativo de que os táxons considerados como *K. colossica* correspondem a uma espécie polimórfica ou duas espécies diferentes.

DISTRIBUIÇÃO. Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina.

4.2.2.2.3. *Kempnyia gracilentã* (Enderlein, 1909) (Figura 52)

Acroneuria gracilentã Enderlein, 1909: 397. Klapálek, 1916: 47. Claassen, 1940: 182.

Eutactophlebia gracilentã Jewett, 1960: 175. Zwick, 1973: 490.

Kempnyia gracilentã Froehlich, 1979:70-71. Zwick, 1983:179. Nessimian *et al.*, 2009: 316. Froehlich, 2010:181. Avelino-Capistrano *et al.* 2011A: 143-144. Lecci, 2013: 32.

MATERIAL EXAMINADO: NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Tributário de 2ª ordem do Rio Macaé, 22°25'57,6"S 42°32'24,3"O, 1.103 m, 16.x.2010, 3N (#2632), 5N (#2592). Tributário de 1ª ordem do Rio Macaé, 22°25'53,3"S 42°32'06,3"O, 1.060 m, 14.ix.2008, 3N (#1821); 16.x.2010, 5N (#2627*ENT1194/1195), 2N (#2642), 7N (#3327). Rio Macaé, 3ª ordem, 22°25'30,6"S 42°32'00,0"O, 1.056 m, 15.x.2010, 2N (#2636), 1N (#3404). Tributário de 2ª ordem do Rio Macaé, 22°25'33,6"S 42°31'56,4"O, 1.023 m, 13.ix.2009, 1N (#1820). Margem do Rio Macaé, 15.x.2010, 2♀ (#2589). Casa da Ana, Próximo ao Rio Macaé em 3ª ordem, 13.ix.2009, 1♀ (#2200*ENT188). **Lumiar.** Tributário de 1ª ordem do Rio Santa Margarida, 22°20'10,5"S 42°17'34,2"O, 970 m, 16.xi.2008, 1N (#1822). Rio Santo Antônio,

22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 23.x.2010, 1N (#2611). Tributário de 1ª ordem do Rio Santa Margarida, 22°20'35,5"S 42°18'00,0"O, 844 m, 17.xi.2008, 1N (#1825). Tributário de 1º ordem do Rio Bonito, 22°24'37,9"S 42°20'42,2"O, 676 m, 06.iii.2009, 1N (#1604). Rio Ramallete, 3ª ordem, 22°24'38,2"S 42°20'09,6"O, 669 m, 24.x.2010, 7N (#2646). Afluente do Rio Santiago, Km 16,5 da estrada Lumiar-Mury, 22°21'05,6"S 42°22'31,6"O, 760 m, 05.iv.2009, 16N (#1601*ENT1196/1197), 1N (#1602*ENT153).

MATERIAL ADICIONAL: BR. ES. CASTELO. Parque Estadual do Forno Grande, Tributário do Rio Caxixe, 20°31'07,0"S 41°05'10,9"O, 1.135 m, 29.iii.2011, 1♂ (#2923*ENT277), Col. LL Dumas, JL Nessimian, GA Jardim & LFL Silveira. Afluente do Rio Caxixe, 20°31'06,5"S 41°05'11,8"O, 1.133 m, 29.iii.2011, 2♂ (#2921). **SANTA TERESA.** Estação Biológica de Santa Lúcia, Córrego Bonito, 03.viii.2008, 14N. MN-UFRJ. Córrego Sagui, 05.vii.2008, 1♂1♀ (MNRJ#665).

MEDIDAS: RJ. Fêmea: Cabeça: 3,27 mm; Asa anterior: 21,50 mm. **Ninfa:** Cabeça: 1,73 – 4,12 mm; Teca alar: 1,11 – 4,01 mm ($n = 38$). **ES. Castelo. Macho:** Cabeça: 2,32 – 2,43 mm; Asa anterior: 14,17 – 15,68 mm ($n = 3$). **Santa Teresa. Macho:** Cabeça: 2,46 mm; Asa anterior: 14,68 mm ($n = 1$); **Fêmea:** Cabeça: 3,25 mm; Asa anterior: 19,6 mm ($n = 1$).

DESCRIÇÕES ADICIONAIS: Ninfa. Espinhos cobrindo metade do esclerito ocular (Figura 52A). Antena portando cerdas marrom-claras; cada flagelômero portando tufo de cerdas curtas digitiformes (Figura 52B). Pronoto retangular (Figura 52C). Fêmur coberto de muitos espinhos e cerdas (Figuras. 52D-E). Brânquias torácicas presentes. Numerosas cerdas finas e longas cobrem a base dos cercos; longos espinhos marrons presentes em cada artículo do cerco (Figuras 52G-H). Brânquias anais presentes (Figura 52G).

COMENTÁRIOS: *Kempnyia gracilenta* foi descrita por Enderlein (1909) com base em adultos oriundos do Estado do Espírito Santo (Froehlich, 2010). Posteriormente, a espécie foi encontrada na Região Serrana do Rio de Janeiro (Jewett, 1960), Minas

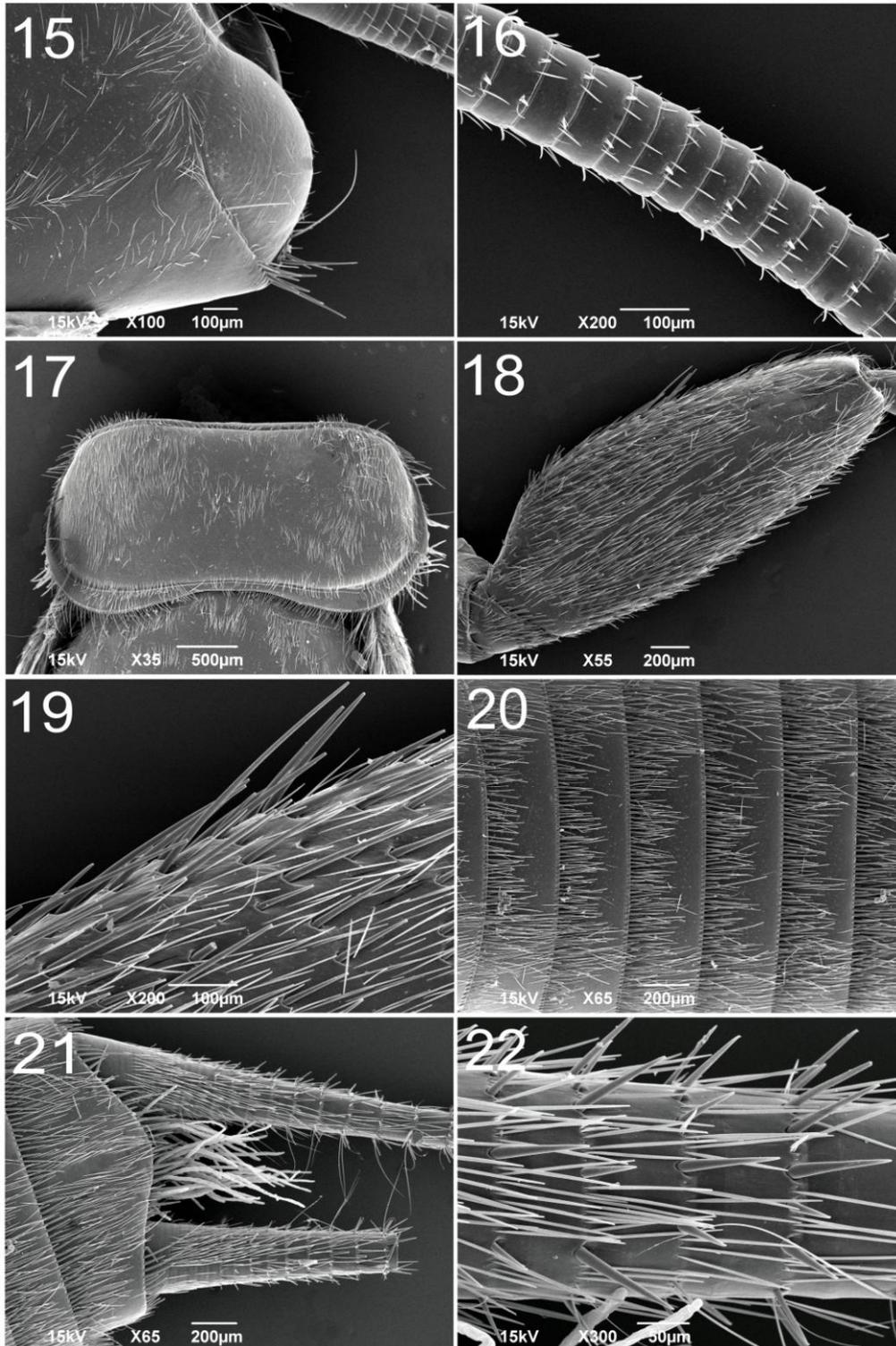


Figura 52. *Kempnyia gracilenta* (Enderlein). Ninfa: A. Cabeça, detalhes das cerdas do esclerito ocular; B. Flagelo da Antena; C. Pronoto; D. Fêmur anterior, vista anterior; E. Detalhe do fêmur em vista anterior; F. Abdome, em vista dorsal; G. Tergito X, cercos, e brânquias anais; H. Detalhe da base do cerco.

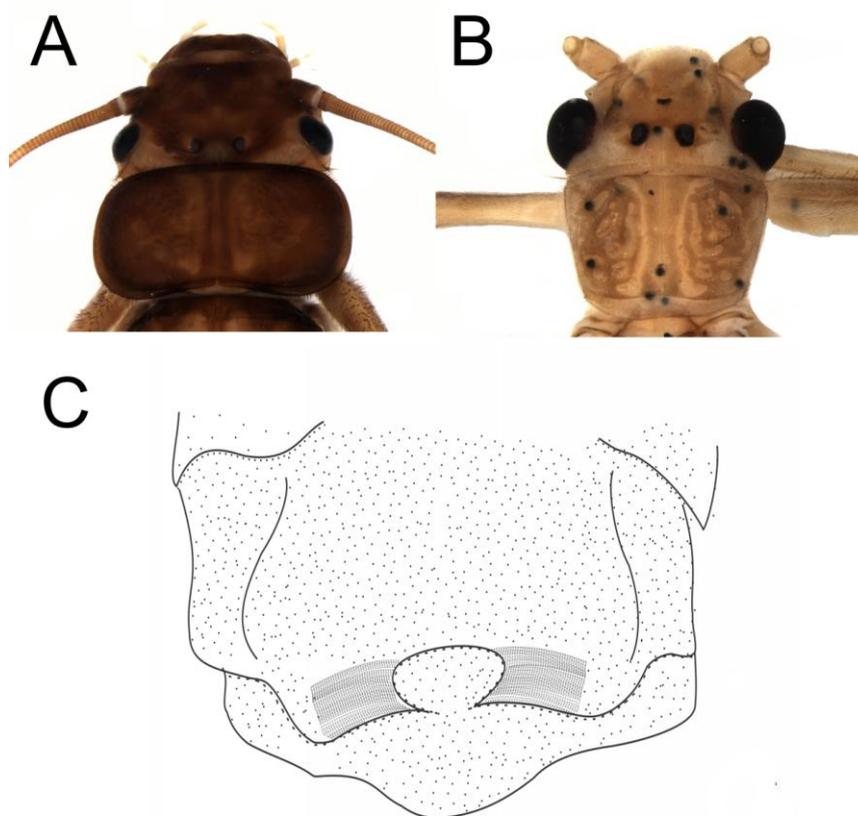


Figura 53. *Kempnyia gracilentata* (Enderlein). Ninfa: A. Cabeça e pronoto. Macho: B. Cabeça e pronoto. Fêmea: C. Placa subgenital.

Gerais (Serra do Caraça – Froehlich, 1984) e São Paulo (Froehlich, 1984). Na BRM as ninfas foram encontradas entre os trechos mais altos a médios da bacia (1.000 – 600 m), ocorrendo em trechos de 1^a a 3^a ordem. A espécie é caracterizada por possuírem tamanho médio, com genitália masculina curta e alargada, com ganchos finos alongados e curvados dorsalmente; fêmeas possuem placa subgenital curta, com um profundo entalhe apical em forma de ‘Ω’ (Lecci, 2013). A ninfa dessa espécie foi descrita com material do Espírito Santo por Avelino-Capistrano *et al.* (2011) e tal associação foi corroborada por análise molecular no presente trabalho, entre adultos do ES e ninfas da BRM (Figura 53A). Caracteres adicionais da ninfa foram fornecidos com base na microscopia eletrônica de varredura. A placa subgenital de *K. gracilentata* foi desenhada em Froehlich (1984), mas posteriormente este autor atribuiu a estas figuras (Froehlich, 1984: Figuras 1-3) com pertencentes a *K. tamoya* (Froehlich (2011A)). Esse material não foi, de fato, examinado nesse trabalho. Entretanto, fêmeas emergidas de *K. gracilentata*

obtidas por Avelino-Capistrano *et al.* (2011) (MNRJ#665) e um exemplar fêmea coletado na Bacia do Rio Macaé (#2200*ENT188) (Figura 53B-C) estão de acordo com a figura de Froehlich (1984) e é representada na Figura 43C. Na análise molecular, as divergências variaram entre 0% (entre indivíduos da BRM) e 11,2% (ENT277*exemplares da BRM). Apesar de altas as divergências entre o macho do ES e o material da BRM, a ninfa e as fêmeas da BRM e o material emergido de Avelino-Capistrano *et al.* (2011A) estão de acordo com as descrições originais, confirmando a associação molecular.

DISTRIBUIÇÃO: Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.2.2.4. *Kempnyia jatim* Froehlich, 1988 (Figura 54)

Kempnyia jatim Froehlich, 1988: 168-170. Nessimian *et al.*, 2009: 316. Froehlich, 2010A: 181. Froehlich, 2011: 22. Lecci, 2013: 33.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Tributário de 2ª ordem do Rio Macaé, 22°25'57,6"S 42°32'24,3"O, 1.103 m, 29.xi.2008, 1♂1♀ (#1826). Rio das Flores, 22°25'36,6"S 42°30'26,4"O, 1062 m, 30.xi.2008, 1♂1♀ (#3240). Rio Macaé, Represa, 22°25'51,9"S 42°32'18,9"O, 1061 m, 29.xi.2008, 1♂ (#3120). Tributário de 2ª ordem do Rio Macaé, 29.xi.2008, 22°25'52,5"S 42°32'14,3"O, 1.055 m. 1♂ (#3246).

MATERIAL ADICIONAL: BR. SP. SÃO JOSÉ DO BARREIRO. Parque Nacional da Serra do Bocaina, Cachoeira do Príncipe, 22°42'48,9"S 44°37'26,3"O, 1.557 m. 20.xii.2010, 1♂6♀ (#2942*ENT239/ENT240). Col. MR Souza, ALH Oliveira, LL Dumas, JL Nessimian & R Carvalho. **ES. DORES DO RIO PRETO.** Parque Nacional do Caparaó, Pedra Menina, Afluente do Rio Preto, 20°29'26,20"S 41°49'17,10"O 07.i.2013, 1♂ (#3437*ENT1000), Col. ALH Oliveira.

MEDIDAS: RJ. Macho: Cabeça: 2,0 – 2,1 mm; Asa anterior: 13,0 – 13,5 mm ($n = 4$); **Fêmea:** Cabeça: 2,5 mm; Asa anterior: 17,0 mm ($n = 1$). **SP. Macho:** Cabeça: 2,5 mm; Asa anterior: 15,0 mm ($n = 2$); **Fêmea:** Cabeça: 3,5 mm; Asa anterior: 20,0 mm.

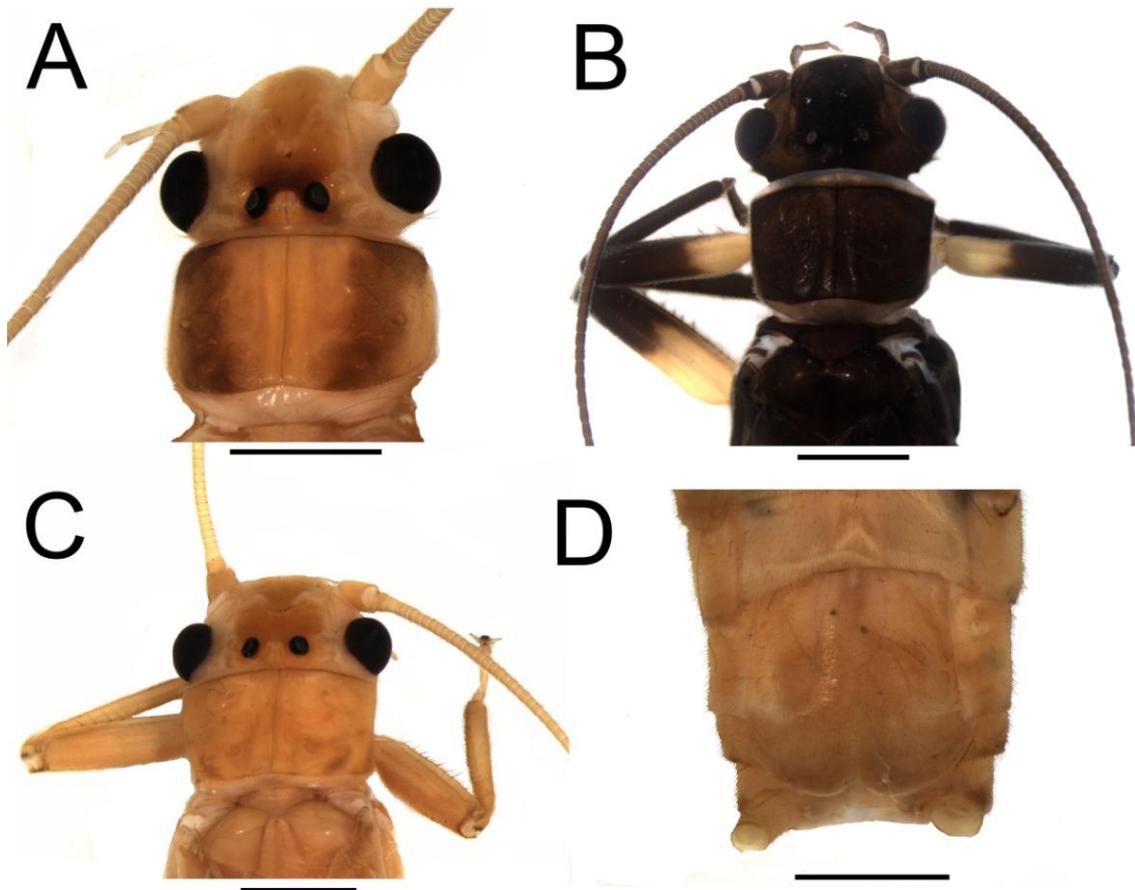


Figura 54. *Kempnyia jatim* Froehlich. Adultos da Bacia do Rio Macaé. Macho: A. Cabeça e pronoto. Fêmea: B. Cabeça e pronoto. C. Placa subgenital. Adulto de Dores do Rio Preto. Macho: D. Cabeça e pronoto.

COMENTÁRIOS: *Kempnyia jatim* é uma espécie de tamanho pequeno a médio, caracterizada pelo peculiar formato da genitália masculina, que possui anel basal oval e longo e ganchos grandes com ápice espiralado e direcionados dorsalmente (ver Froehlich 1988: Figura 84-87) (Lecci, 2013). Na BRM foram coletados apenas adultos nas regiões mais altas, ocorrendo em trechos de 1ª e 2ª ordem (Figura 54 A e C). O material foi descrito originalmente para São Paulo (Campos do Jordão e Paranapiacaba) e Rio de Janeiro (Serra dos Órgãos) por Froehlich (1988), e segundo este mesmo autor, diferenças morfológicas como coloração e alongamento dos ganchos da armadura peniana são observadas entre indivíduos destes estados. Lecci (2013) realiza ainda registros para o interior de Minas Gerais (Ouro Preto) e sul da Bahia (Camacan). No

presente estudo, um macho de Dores do Rio Preto (Serra do Caparaó) foi identificado e registrado pela primeira vez para o Estado do Espírito Santo. Tal material não foi incluso no trabalho de Avelino-Capistrano & Nessimian (no prelo) por se tratar de um espécime de coloração totalmente diferente do descrito por Froehlich (1988) e por isso aguardava o resultado da análise molecular (Figura 54B). Os espécimes da BRM e de São José do Barreiro analisadas estão de acordo com a descrição de Froehlich (1988), em particular pela presença do ocelo médio e a presença da Linha M não evidente (Figuras 54A, C e D). Entretanto, a genitália do macho do Rio de Janeiro é levemente diferente no tamanho do comprimento dos ganchos dos exemplares de São José do Barreiro, como descrito por Froehlich, e os paraproctos com um pequeno denticulo no ápice. Na análise molecular, não houve sucesso na obtenção de sequências de espécimes da BRM, apenas de material de SP e ES. As divergências intraespecífica variaram entre 0,2% (ENT239*ENT240) a 7,7% (ENT240*ENT1000). Nenhuma ninfa foi associada com o material analisado.

DISTRIBUIÇÃO: Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.2.2.5. *Kempnyia obtusa* Klapálek, 1916 (Figura. 55)

Kempnyia obtusa Klapálek. 1916: 13: 51. Jewett. 1960: 177. Illies. 1966: 340. Zwick, 1972:1171. Zwick, 1973A: 277. Froehlich, 1988: 153. Nessimian *et al.*, 2009: 316. Froehlich, 2010A: 181. Froehlich, 2011A:22. Lecci, 2013: 37.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio Macaé, 3ª ordem, 22°25'51,9"S 42°32'18,9"O, 1.061 m, 29.xi.2008, 1N (#1599), 1N (#1600*ENT152), 1♂ (#3119); 30.xi.2008, 7N (#2873); 13.ix.2009, 3N (#2707); 15.x.2010, 1 exúvia (#3047). Rio Macaé, Represa, 22°25'51,9"S 42°32'18,9"O, 1.061 m, 30.xi.2008, 1N (#3036). Córrego Verdum, 3ª ordem, 22°25'27,5"S 42°32'08,4"O, 1.008 m, 29.xi.2008, 5N (#3034). Rio Macaé, 3ª ordem, 22°24'46,0"S 42°31'16,2"O, 935 m, 13.ix.2008, 2N (#3156), 2N (#3255); 01.xii.2008, 1♂ (#3134), 1♂ (#3140); 15.x.2010, 9N (#2600). Rio Macaé, 4ª ordem, 22°24'46,0"S 42°31'16,2"O, 935 m, 01.xii.2008, 1♂ (#3134). **Rio Bonito de Lumiar.** Córrego das Paineiras, 3ª ordem,

22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 694 m, 05.iii.2009, 2N (#1579). **Lumiar.** Córrego Boa Vista, 22°19'01,5"S 42°17'23,3"O, 910 m, 18.x.2010, 1N (#2608).

MATERIAL ADICIONAL. BR. MG. ALTO CAPARAÓ. Vale Verde, Parque Nacional do Caparaó, Rio Caparaó, 20°25'11,6"S 41°50'44,8"O, 1.306 m, 05.x.2010, 1♂ (#3060*ENT275), Col. GA Jardim, ALH Oliveira, LL Dumas & JL Nessimian. **ITABIRITO.** Vale dos Tropeiros, Cachoeira da Carranca, 20°12'28,30"S 43°38'26"O, 1.046 m, 09.x.2010, 1♂ (#2869*ENT280), Col. JL Nessimian & B Clarkson. **RJ. PETRÓPOLIS. Corrêas, Bonfim.** Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio Bonfim, Poço das Duchas, 22°27'55,40"S 43°05'14,90"O, 1.108 m, 05.xi.2010, 1♂ (#2865*ENT252/ENT1198), Col. LL Dumas & APF Pires. **SP. SÃO JOSÉ DO BARREIRO.** Córrego da Floresta, Cachoeira do Paredão, 22°43'33,3"S 44°37'17,6"O, 1.540 m, 09.x.2010, 1♂ (#2826*ENT278), Col. JL Nessimian & B Clarkson.

MEDIDAS. RJ. BRM. Ninfa. Cabeça: 1,25 – 5,14 mm; Teca Alar: 0,73 – 5,23 mm ($n = 31$); **Macho:** Cabeça: 2,63 – 3,06 mm; Asa anterior: 16,7-19,0 mm ($n = 3$). **RJ. Petrópolis. Macho:** Cabeça: 2,7 – 2,9 mm ($n = 4$); Asa anterior: 16,3 – 18,8 mm ($n = 4$). **SP. Macho:** Cabeça: 2,82 – 3,24 mm ($n = 4$); Asa anterior: 18,6 – 20,5 mm ($n = 4$); **Fêmea:** Cabeça: 2,2 – 2,8 mm; Asa anterior: 18,8 – 19,4 mm; **MG. Itabirito. Macho:** Cabeça: 2,4 – 3,0 mm ($n = 7$); Asa anterior: 13,6 – 17,1 mm ($n = 7$); **Fêmea:** Cabeça: 2,2 – 2,8 mm; Asa anterior: 18,8-19,4 mm; **Alto Caparaó. Macho:** Cabeça: 2,36 – 3,0 mm ($n = 2$); Asa anterior: 14,5 – 20,6 mm ($n = 2$).

DESCRIÇÃO: Ninfa. Coloração geral estramínea, com cerdas escuras (Figura 55A). Cabeça com área marrom escura, com manchas em arco, começando na margem lateral do clipeo até a área entre os ocelos (Figura 56A). Labro marrom. Clipeo com margem anterior marrom. Linha M pouco evidente, com superfície glabra. Sutura epicranial não ultrapassando os ocelos pareados. Três ocelos totalmente pigmentados. Olhos pretos. Espinhos cobrindo 1/3 da base do esclerito ocular (Figura 56B). Antena estramíneo, com cerdas marrons no escapo e em cada flagelomero. Pronoto com formato oval (Figura 56C); margem anterior marrom; margens lateral e posterior marrom-claro; sulco da margem do disco pronotal marrom; duas linhas longitudinais pálidas paralelas a sutura mediana, formam um padrão característico. Mesonoto e metanoto cobertos por numerosas cerdas (Figura 56D); coloração geral marrom-claro com áreas pálidas

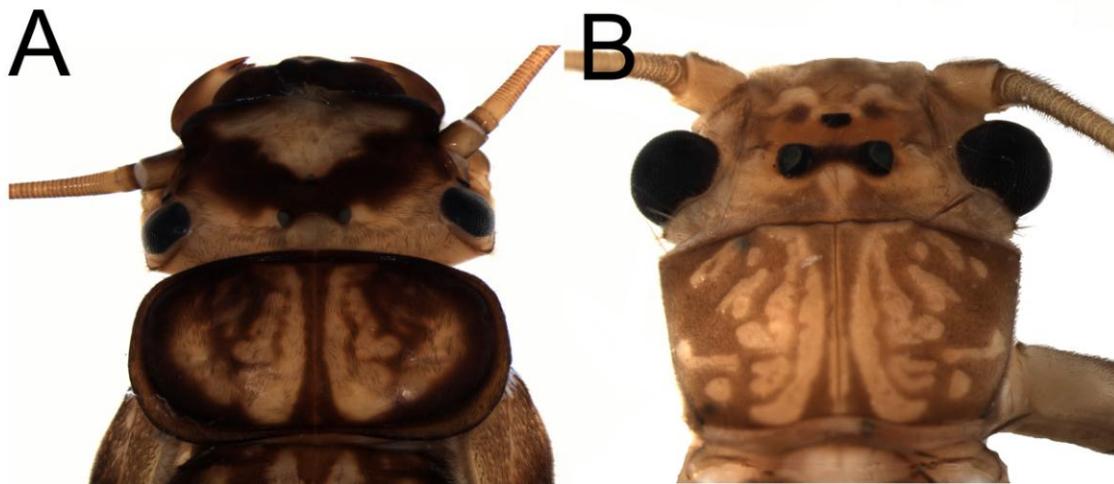


Figura 55. *Kempnyia obtusa* Klapálek. Ninfã: A. Cabeça e pronoto. Macho: B. Cabeça e pronoto.

formando um padrão característico. Brânquias torácicas presentes. Pernas amarelas com uma faixa marrom; uma fileira de cerdas plumosas e prateadas presente no fêmur e na tibia (Figura 56E-F); margens anterior e posterior do fêmur. Abdome marrom-claro; margem posterior de cada segmento escura; uma fileira de espinhos na margem posterior de cada tergo (Figura 56G); tergo X marrom; na face ventral, todos os segmentos são marrom pálido, exceto o segmento X. Brânquias abdominais presentes. Base do cerco com poucas cerdas longas (Figura 56H), reduzindo em número e tamanho em direção ao ápice; espinhos marrons são presentes em cada artículo.

COMENTÁRIOS: *Kempnyia obtusa* foi descrita por Klapálek com base em espécimes machos de Teresópolis (Rio de Janeiro). Os espécimes do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo aqui estudados, estão de acordo com a descrição original, exceto pelo material da Itamonte e Itabirito, que são menores. Froehlich (1988) ampliou a distribuição desta espécie, revisando material da Serra de Macaé e Itatiaia (RJ), Campos do Jordão (SP) e Serra do Cipó (MG). Nesse mesmo trabalho, Froehlich (1998) ainda registrou pela primeira vez a fêmea da Serra do Macaé e Parque Nacional do Itatiaia, mas o imaturo desta espécie ainda permaneceu desconhecido. A ninfa caracteriza-se pela área pãlida na cabeça, formando um padrão característico e pela faixa marrom-escuro no fêmur, ausência das brânquias anais e pelas cerdas longas na base dos cercos. Lecci (2013) apresenta a descrição de uma ninfa em seu trabalho, que se parece com a descrita no presente trabalho. Entretanto, o autor não informa a forma de associação

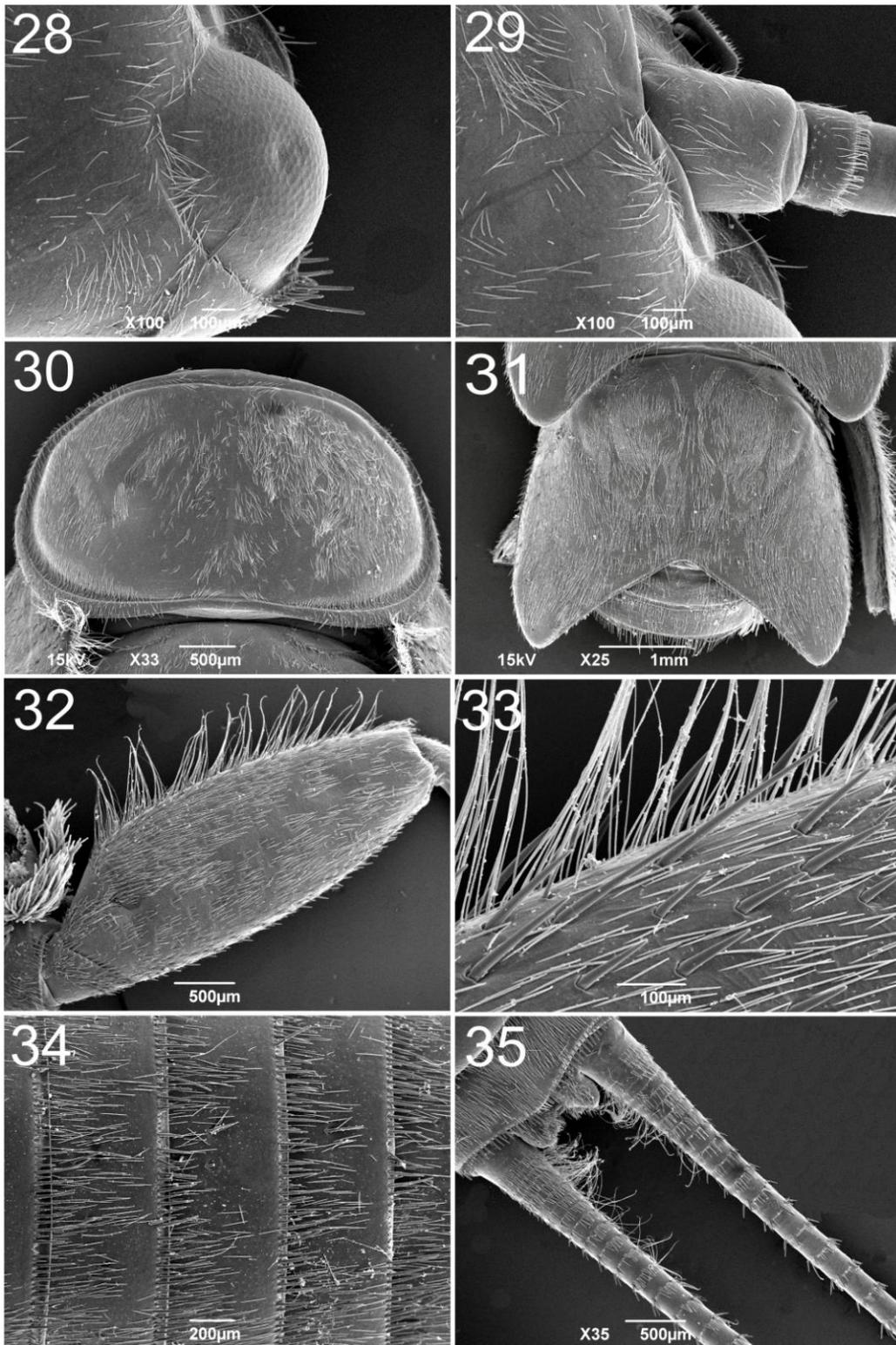


Figura 56. *Kempnyia obtusa* Klapálek. Nífa: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Base da antena, em vista dorsal; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Detalhe do fêmur anterior; G. Abdome, em vista dorsal; H. Tergito X e cerco.

realizada. Na BRM adultos foram coletados apenas na parte alta do Rio Macaé (≈ 1.000 m) (Figura 55B), enquanto as ninfas, foram encontradas também em áreas altas, contudo com uma distribuição por outras regiões (Rio Bonito de Lumiar e Lumiar). Na análise molecular, machos e ninfas foram associados e a variação intraespecífica variou entre 0,4% (ENT152*ENT252/ENT252*ENT278) a 9,1% (ENT275*ENT280). Apesar das altas divergências, essas ocorreram entre machos identificados.

DISTRIBUIÇÃO: Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo.

4.2.2.2.6. *Kempnyia petersorum* Froehlich, 1996 (Figuras 57–58)

Kempnyia petersorum Froehlich, 1996: 119-120. Froehlich, 2010A: 182. Froehlich 2011B: 134-135.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Rio das Flores, 2º ordem, 22°25'36,6"S 42°30'26,4"O, 1.062 m, 30.xi.2008, 1♀(#3241). Rio Macaé, 3ª ordem, 22°25'30,6"S 42°32'00,7"O, 1.062 m, 15.x.2010, 1N (#2598*ENT189). Margem do Rio Macaé, 15.x.2010, 22°25'18,1"S 42°31'45,5"O, 1.034 m, 1♀(#2939). Rio das Flores, 22°25'07,1"S 42°29'54,7"O, 977 m, 30.xi.2008, 3♀(#3268). Rio Macaé, 22°24'46"S 42°31'16,2"O, 935 m, 13.ix.2008, 1N (#3158); 01.xii.2008, 1♂ (#3139), 1♀(#1648), 1N (#3158). **Rio Bonito de Lumiar.** Ponte sobre o Rio Bonito, 22°23'27,3"S 42°20'03,6"O, 658 m, 06.iii.2009, 1♀(#1630). Rio Bonito, 22°24'05,6"S 42°19'17,8"O, 608 m, 06.iii.2009, 1♂1♀(#1595). **MACAÉ. Sana.** Rio São Bento, 4ª ordem, 22°20'23,4"S 42°12'13,5"O, 294 m, 19.ii.2009. 6♂3♀ (#1592*ENT136), 1♂1♀ (#1593), 1♂1♀ (#1594), 1♂ (#1632), 1♂(#1633*ENT87), 1♀(#1647*ENT135), 1♀(#1648), 1♀ (#2199), 2♂ (#2588); 15-17.x.2010, 1N (#2564), 2N (#2565), 1N (#2566).

MATERIAL ADICIONAL. BR. MG. ITABIRITO. Vale dos Tropeiros, Cachoeira das Carrancas, 20°12'26"S 43°38'24,80"O, 1.046 m, 10.x.2010, 1♂ (#3063*ENT244). Col. RB Braga, JL Nessimian & LL Dumas. **RJ. PETRÓPOLIS.** Corrêas, Bonfim, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio Bonfim, Poço das Duchas, 22°27'55,40"S 43°05'14,90"O, 1.108 m, 2♂2♀ (#2866*ENT243), Col. LL Dumas & APF Pires. **SP. IPORANGA.** Rio Roncador, 09.x.2011, 1♂ (#3095). Col. LL Dumas. **PR. MORRETES. Serra da Graciosa,** Rio Mãe Catira, 25°21'45,7"S 48°52'28,8"O, 265

m, 24.i.2011, 3♂ (#2973*ENT246), Col. RB Braga, JL Nessimian, LL Dumas, DM Takiya & APM Santos. **Porto de Cima**, Rio Nhundiaquara, 25°25'23,30"S 48°52'51,10"O, 37 m, 24.i.2011, 2♂2♀ (#3087*ENT283), Col. RB Braga, JL Nessimian, LL Dumas, DM Takiya & APM Santos.

MEDIDAS: RJ. Ninfa: Cabeça: 2,42 – 3,99 mm; Teca alar: 1,73 – 3,65 mm ($n = 6$); ♂ Cabeça: 1,78 – 2,05 mm; Asa anterior: 8,2 – 12,32 mm ($n = 13$); ♀ Cabeça: 2,60 – 3,11 mm; Asa anterior: 14,13 – 19,39 mm ($n = 11$). **SP.** ♂ Cabeça: 2,48 mm; Asa anterior: 14,61 mm ($n = 1$). **MG.** ♂ Cabeça: 2,21 mm; Asa anterior: 13,42 mm ($n = 1$). **PR.** ♂ Cabeça: 1,81 – 1,95 mm; Asa anterior: 9,88 – 10,10 mm ($n = 5$); ♀ Cabeça: 2,35 – 2,39 mm; Asa anterior: 13,25 - 13,74 mm ($n = 2$).

DESCRIÇÃO: Macho. Coloração geral marrom (Figura 57A). Olhos pretos. Três ocelos, não totalmente pigmentados. Antena marrom-clara; escapo da antena marrom. Linha M presente, mais clara que o resto da cabeça. Sutura epicranial não ultrapassa os ocelos pareados; no interior desta estrutura, há uma área clara em forma de coração. Pronoto retangular e marrom; superfície rugosa. Asas marrom, com veias marrom. Pernas matizadas; no primeiro par de pernas, a coxa, o trocanter e a base da tíbia são amarelados, e o resto da estrutura marrom; nas demais pernas este padrão se repete, mas a área marrom da tíbia começa no meio da perna (na segunda perna) e no final (terceira perna). Abdome marrom-claro em vista dorsal e ventral. Cercos marrons, com muitos espinhos na base da estrutura, reduzindo a quantidade em direção ao ápice da estrutura; muitas cerdas cobrem todo o cerco. Tergito X com área coberta por poucos e esparsos espinhos em forma de cravilha; paraproctos digiformes. Prato subgenital arredondado; martelo subtriangular (Figura 57B). Armadura peniana como na ilustração de Froehlich (1996).

DESCRIÇÃO: Fêmea. Cor marrom. Padrão de coloração similar ao macho (Figura 57C). Prato subgenital arredondado e marrom. Massa de ovos com coloração violeta (Figura 57D).

DESCRIÇÃO: Ninfa. Coloração geral marrom. Cabeça com área marrom acima do ocelo anterior à frente; clépeo marrom (Figura 57E). Linha M não evidente. A sutura epicranial não excede os ocelos pareados. Três ocelos pretos, não totalmente pigmentados. Olhos pretos. Espinhos presentes apenas na base dos olhos compostos

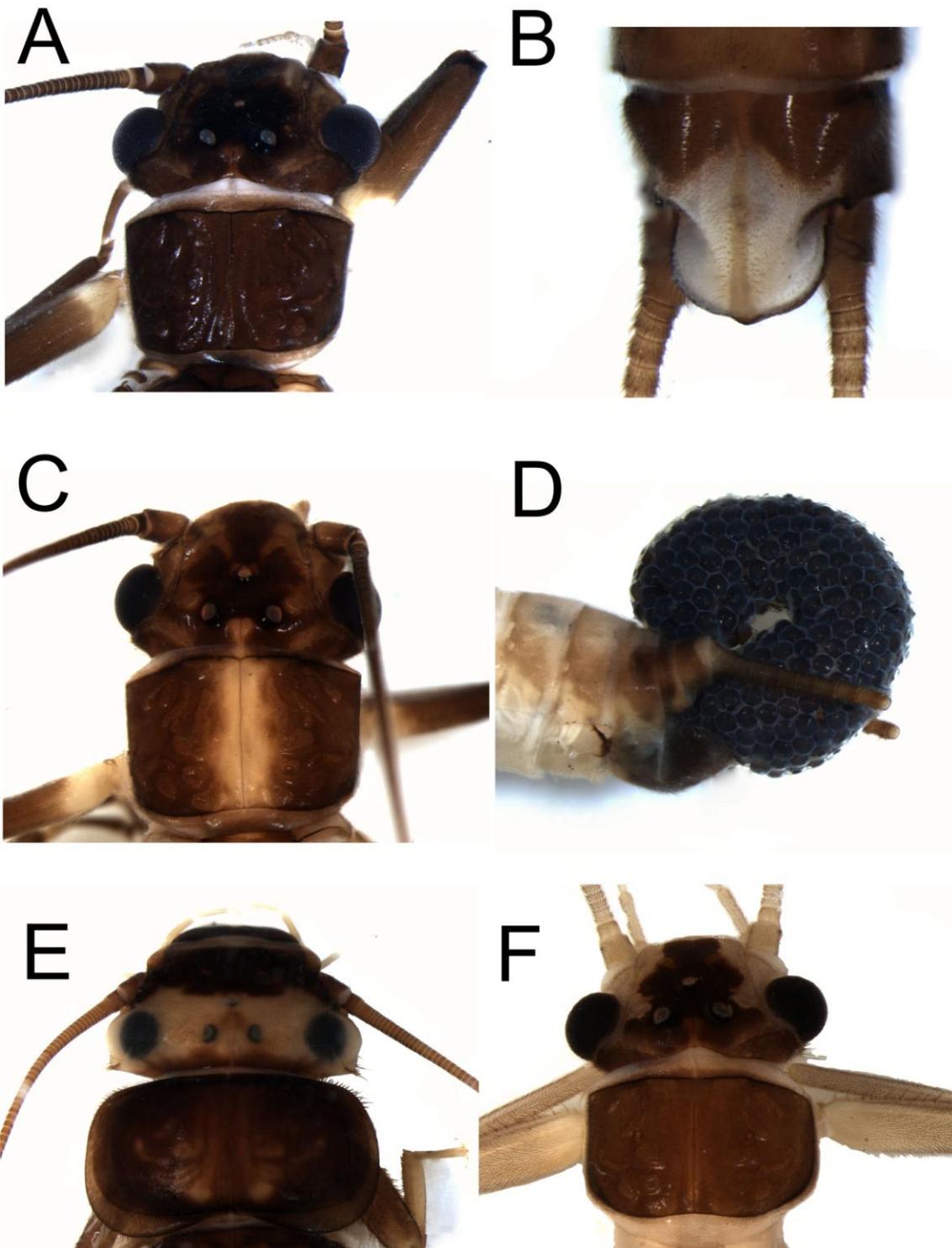


Figura 57. *Kempnyia petersorum* Froehlich. Macho adulto, Espécime marrom: A. cabeça e pronoto; B. Prato subgenital e martelo. Fêmea adulta, Espécime marrom: C. cabeça e pronoto; D. Prato subgenital e massa de ovos. Ninfa: E. Cabeça e pronoto; Macho adulto, Espécime marrom-claro: F. cabeça e pronoto.

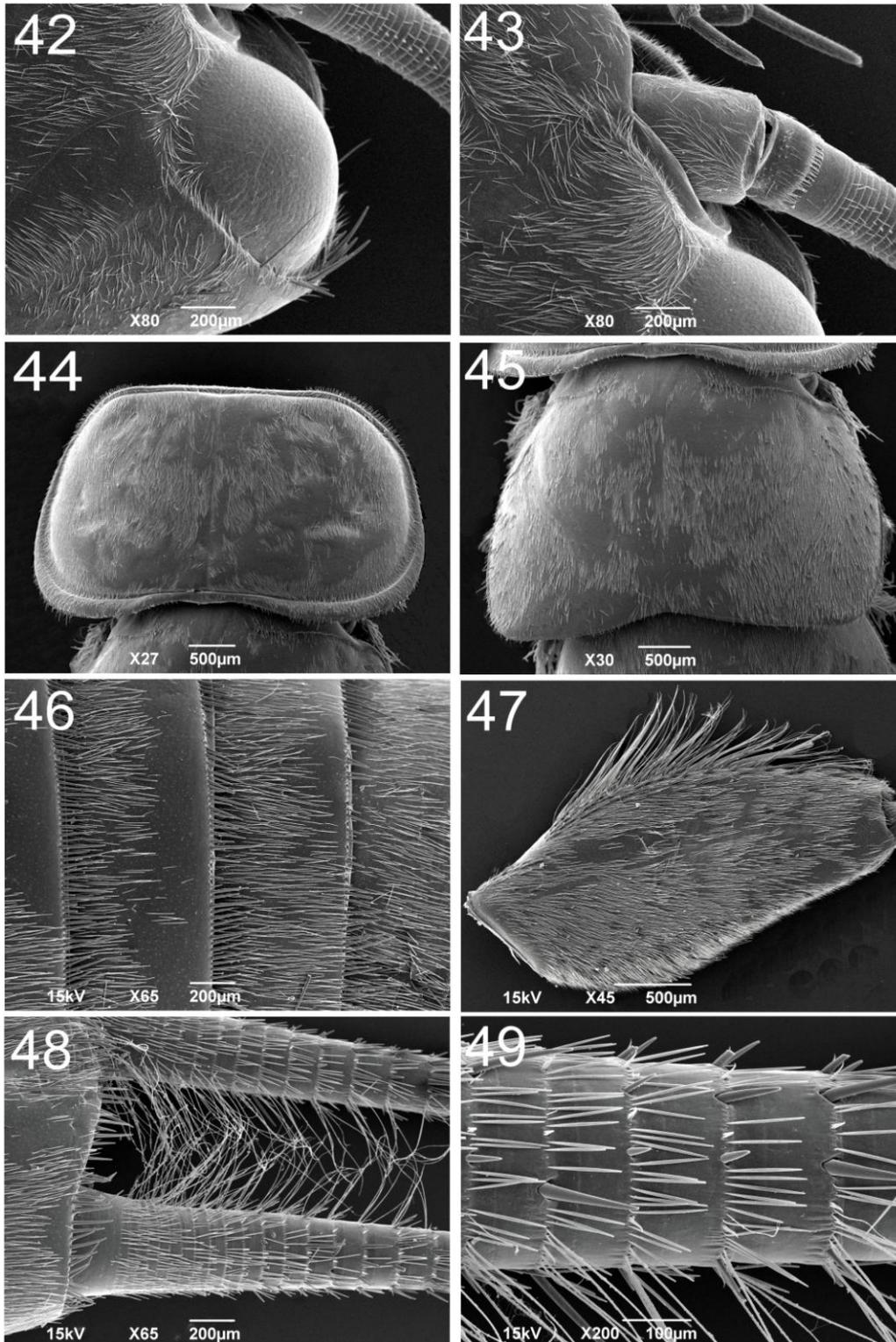


Figura 58. *Kempnyia petersorum* Froehlich. Ninfã: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Base da antena base, em vista dorsal; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Abdome, em vista dorsal; F. Fêmur anterior, vista anterior; G. Tergito X e cerco; H. Detalhe da base do cerco.

(Figura 58A). Escapo da antena marrom; antena amarela, com setas apenas no escapo (Figura 58B). Pronoto marrom subtrapedoizal (Figuras 57E e 58C), com uma área pálida formando um padrão ornamental característico; borda pronotal fina lateralmente e grossa posteriormente. Mesonoto e metanoto marrom-claro com áreas mais claras, e com espinhos lateralmente dispostos (Figura 58D). Pernas amareladas, com uma esparsa fileira de espinhos no fêmur e na tíbia (Figura 58F). Abdome marrom, tornando-se marrom no segmento X; uma fileira de espinhos está disposta na margem posterior de cada tergito (Figura 58E); tergito X marrom-escuro. Cercos com poucas cerdas apenas na base (Figura 58G); espinhos marrons presentes em cada artículo (Figura 58H).

COMENTÁRIOS: Froehlich (1996) descreveu *Kempnyia petersorum* com material oriundo de São Paulo (Ribeirão Grande). A espécie é caracterizada pela coloração pálida, possuindo apenas uma mancha em forma de cálice na cabeça, pronto escurecido e a armadura peniana alongada, com ganchos ligeiramente torcidos além um par de almofadas de espinhos na membrana da armadura (ver. Froehlich 1996: Figura 9–15). No presente trabalho, machos, fêmeas e ninfas da BRM foram associados através do método molecular. A espécie apresentou polimorfismo de coloração, ocorrendo indivíduos claros como na descrição original e escuros (Figura 57A-F), ambos ocorrendo em simpatria. Apesar da coloração diferenciada, o tamanho dos espécimes e a genitália eram os mesmo da descrição original. Além disso, na análise molecular estes indivíduos permaneceram juntos, mesmo tendo coloração diferente, possuindo baixas divergências (eg. 0,4% - ENT83*ENT87). A ninfa descrita difere das demais ninfas do gênero pelo padrão de coloração marrom da cabeça, similar às ninfas de *K. neotropica* descrita por Bispo & Froehlich (2008). Entretanto, estas ninfas podem ser distinguidas pela ausência de brânquias anais em *K. petersorum*. Em relação as divergências intraespecíficas, estas variaram de 0% (entre indivíduos da BRM) a 4,6% (ENT243*ENT1183). O máximo valor encontrado entre as divergências intraespecíficas de *K. petersorum* foi baixo, assim como as divergências dessa espécie com machos de *K. neotropica* (7,5%, ENT242*ENT1184, e 8,9%, ENT242*ENT1183), se consideramos as demais espécies de *Kempnyia* estudadas neste trabalho. Como já discutido anteriormente, não houve grande sucesso na obtenção de sequências de *K. petersorum* ‘claro’ da BRM, o que contribuiria para elucidar se se trata de um

polimorfismo ou mesmo duas espécies. Se considerarmos às baixas divergências entre machos de *K. petersorum* e *K. neotropica*, ambas poderiam se consideradas como uma única espécie. A proximidade entre estas duas espécies, como já discutido, vai além da estrutura molecular, abrangendo também a morfologia da genitália masculina. Entretanto, apenas com o uso de outros marcadores moleculares e mais sequências, seria necessário para inferir mudanças taxonômicas.

DISTRIBUIÇÃO: Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná.

4.2.2.2.7. *Kempnyia puri* Avelino-Capistrano, Souza & Nessimian, 2013 (Figura 59)

MATERIAL EXAMINADO: HOLÓTIPO. BR. RJ. Nova Friburgo, Rio das Flores, 22°25'36,6"S 42°30'26,4"O, 1.062 m, 16.vii.1995, 1♂ (DZRJ#1591).

MATERIAL ADICIONAL: PARÁTIPO. BR. RJ. Teresópolis. Rio Varginha, Hotel Sayonara, 22°26'46,30"S 42°53'22,20"O, 947 m, 17.viii.1997, 1♂ (DZRJ #237). Col. LFM Dorvillé.

MEDIDAS: Macho: Cabeça: 3,08 – 3,17 mm; Asa anterior: 19,2 – 20,9 mm ($n = 2$).

DESCRIÇÃO: Macho. Coloração geral marrom-claro (no álcool). Região ventral clara. Linha M presente e claramente marcada (Figura 59A). Três ocelos parcialmente pretos. Olhos pretos. Antena amarela e com cerdas. Linha epicranial não ultrapassando os ocelos. Área entre os ocelos pareados com uma faixa marrom transversa. Pronoto trapezoidal com superfície rugosa. Asas pálidas; veias das asas anteriores marrons, exceto pela Sc, R₂[RP] e Cu [CuA] que são mais escuras; área entre a R₁ [RA] e Cu₂ [CuP] com numerosas veias transversas (Figura 59B). Pernas amarelas, com o ápice do fêmur, a base e o ápice dos tarsos marrom-claro. Abdome marrom-claro. Esterno IX oval, delineado de marrom; martelo subtriangular (Figura 59G). Tergito X com área de cerdas em forma de cravilha. Paraproctos dorsalmente direcionados com ápice pontiagudo. Armadura peniana marrom. Ganchos moderadamente desenvolvidos, com ápice voltado para a face ventral da estrutura, oposta ao gonoporo (Figura 59C-E); crenulações em sua superfície (Figura 59F). Anel do pênis grande, ocupando 2/3 da

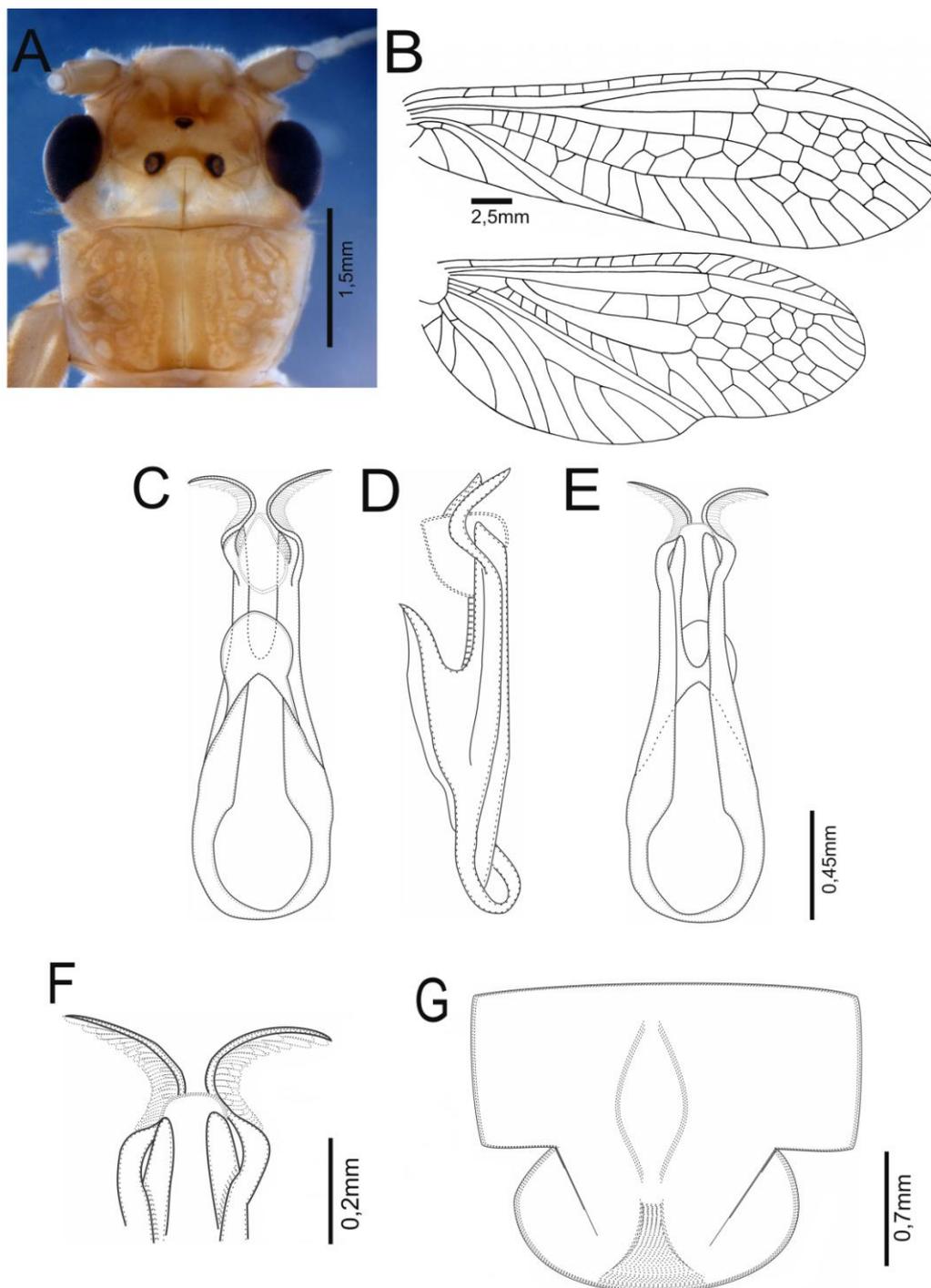


Figura 59. *Kempnyia puri* Avelino-Capistrano, Souza & Nessimian, Macho: A. cabeça e pronoto; B. asa anterior e posterior; C. armadura peniana, vista dorsal; D. armadura peniana, vista lateral; E. armadura peniana, vista ventral; F. armadura peniana, detalhe das crenulações das pontas dos ganchos; G, esterno IX, martelo. Fonte: Avelino-Capistrano *et al.* 2013.

estrutura, possuindo uma grande e redonda projeção média em vista dorsal (Figura 59C-E).

COMENTÁRIOS. *Kempnyia puri* compartilha com o macho de *K. reticulata* (Klapálek, 1916) as numerosas veias transversas entre a R_s e Cu_1 na margem distal de cada asa (Figura 59B) e a forma da projeção mediana do anel do pênis (Figura 59C-D) (ver Joost 1980: Figura 1-4 como *K. calabriæ*). A nova espécie pode ser distinguida de *K. reticulata* pela forma dos ganchos da armadura peniana – moderadamente retorcida em *K. reticulata* (ver Joost, 1980: Figs. 3–4; Zwick, 1983: Figs. 1–2) e curvada em *K. puri* **sp. nov.** (Figura 59C-F), e a forma da placa subgenital, oval na espécie nova (Figura 59G) e quadrada em *K. reticulata* (ver Joost 1980: Figura 2; Zwick, 1983: Figura 4). Os dois machos foram coletados usando armadilhas luminosas em rios dos municípios de Teresópolis e Nova Friburgo (RJ) por Luís Fernando Marques Dorvillé, e estavam depositados na coleção do DZRJ, e foram encontradas durante o levantamento de material para esse trabalho. Durante as coletas, entretanto, nenhum outro exemplar foi capturado e a não houve sucesso na tentativa de extração de DNA do material, o que provavelmente pode ter sido causado pela degradação do DNA nestes anos de depósito em álcool 80%.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

ETIMOLOGIA: O nome se refere aos índios Puri que viviam nas regiões montanhosas do Estado do Rio de Janeiro.

4.2.2.2.8. *Kempnyia reticulata* (Klapálek, 1916) (Figuras 60-61)

Eutactophlebia reticulata Klapálek, 1916: 46. Claassen, 1940: 182.

Kempnyia calabrie Joost, 1980: 73.

Kempnyia reticulata Zwick, 1983:177-180. Froehlich, 2010A: 182. Avelino-Capistrano, 2011A: 144-146.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima.

Tributário de 1ª ordem do Rio Macaé, 22°25'53.3"S 42°32'06.3"O, 1.060 m, 15.x.2010, 1N (#3051). **Rio Bonito de Lumiar.** Córrego das Paineiras, 22°23'27,2"S 42°20'03,6"O, 1.061 m, 24.v.2008, 1N (#3116). Tributário de 1ª ordem do Rio Macaé, 22°25'53,3"S 42°32'06,3"O, 1.060 m, 16.x.2010, 2N (#2628). Rio Santo Antônio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 23.x.2010, 1N (#2659); 1N (#2611); 24.x.2010,

1N (#2622), 5N (#2638). Rio Bonito, 22°24'38,5"S 42°20'40,7"O, 656 m, 30.x.2009, 1N (#1824). **Lumiar.** Afluente de 1ª ordem do Rio Santa Margarida, 22°20'35,5"S 42°18'00,0"O, 970 m, 16.xi.2008, 1N (#1596), 1N (#1822). Afluente de 3ª ordem do Rio Bonito, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 24.x.2010, 1N (#2622), 5N (#2638). Tributário de 2ª ordem do Córrego das Paineiras, 22°23'23,7"S 42°20'04,8"O, 716 m, 06.iii.2009, 2N (#1793). Tributário de 1º ordem do Rio Bonito, 22°24'37,9"S 42°20'42,2"O, 676 m, 06.iii.2009. 16N (#1603). 1N (#1604). **MACAÉ. Sana.** Riacho de 1ª ordem, 22°15'26,8"S 42°10'37,7"O, 718 m, 19.ix.2010, 3N (#2594).

MATERIAL ADICIONAL. BR. ES. SANTA TERESA. Estação Biológica de Santa Lucia, Córrego Tapinuã (Captação), 19°58'16,5"S 40°31'80,1"O, 744 m, 01.vii.2009, 1♂ (MNRJ #666), Col. F Avelino-Capistrano.

MEDIDAS. RJ. Ninfa: Cabeça: 2,14-5,02 mm; Teça alar: 1,37-4,41 mm (n=26).

DESCRIÇÕES ADICIONAIS: Ninfa. Cabeça coberta por muitas cerdas (Figura 60A). Escapo da antena coberto por cerdas (Figura 60B). Pronoto retangular, coberto por cerdas; borda pronotal marrom-claro por toda sua extensão; margem posterior convexa (Figura 60C). Mesonoto com espinhos na margem lateral e coberto por cerdas (Figura 60D). Fêmur portando muitos espinhos próximo da área marginal da face dorsal; toda a estrutura coberta por espinhos, exceto na estreita faixa longitudinal (Figura 60E). Abdome coberto por muitas cerdas (Figura 60F-G). Brânquias anais presentes. Cercos cobertos por muitas cerdas e espinhos estão presentes em cada segmento; cerdas longas e finas ausentes (Figura 60H).

COMENTÁRIOS: *Kempnyia reticulata* é a espécie tipo do gênero *Eutactophlebia*. Zwick (1983) ao estudar o formato da genitália masculina verificou que o mesmo era sinônimo de *Kempnyia*, transferindo então as espécies de *Eutactophlebia* para *Kempnyia*. A espécie caracteriza-se por insetos grandes (18 – 20 mm), machos com placa subgenital fortemente esclerosada, armadura peniana com ganchos longos e finos, retorcidos e curvados ventralmente (ver Zwick 1983: Figura 1-4). Avelino-Capistrano *et al.* (2011) descreveram a fêmea e a ninfa desta espécie com base no material de Santa Teresa (ES), e associou as ninfas através da criação. Nesse trabalho, as ninfas foram

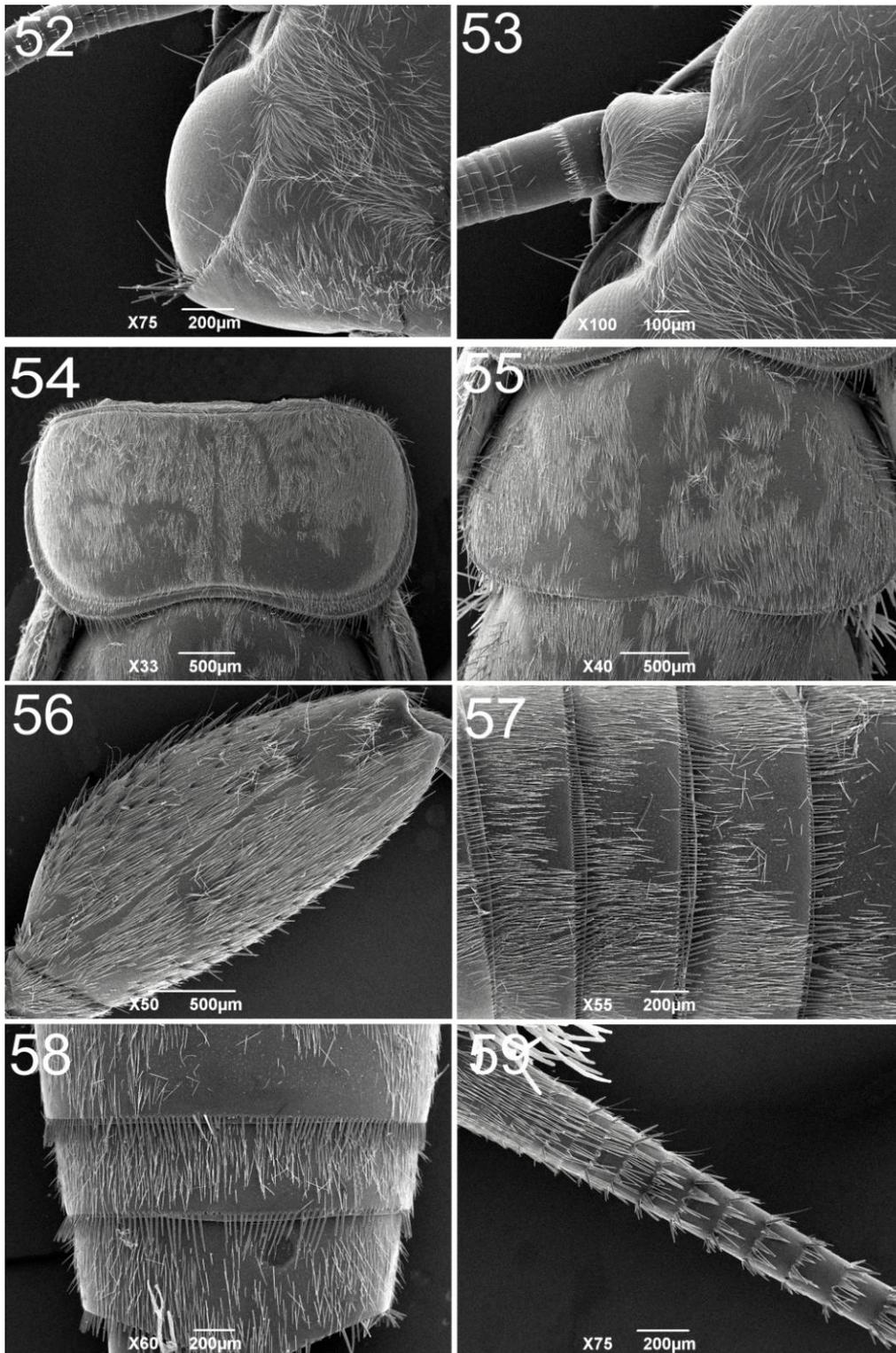


Figura 60. *Kempnyia reticulata* (Klapálek). Ninfã: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Base da antena base, em vista dorsal; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; E. Abdome, em vista dorsal; G. Tergito X, vista dorsal; H. Detalhe da base do cerco.

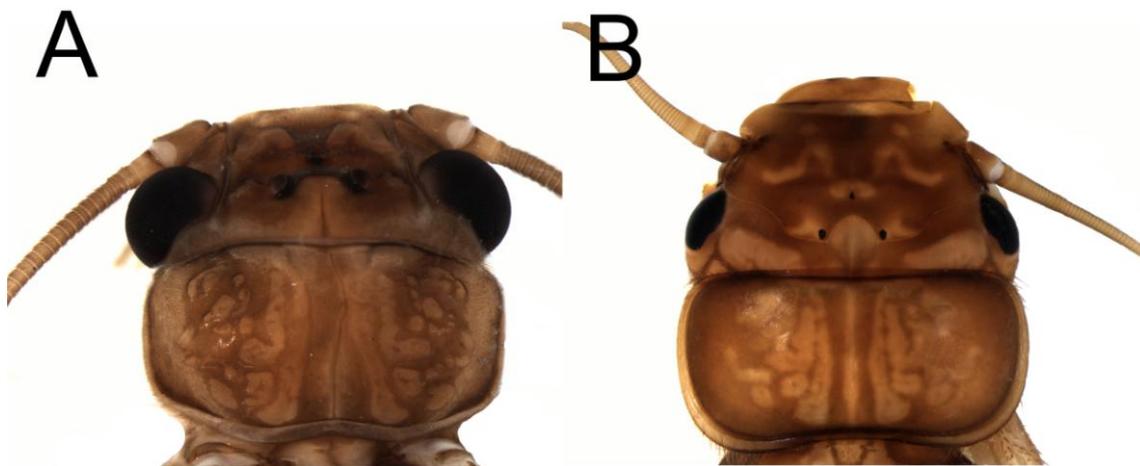


Figura 61. *Kempnyia reticulata* (Klapálek). Macho adulto: A. Cabeça e pronoto. Ninfã: B. Cabeça e pronoto.

identificadas com base nessa descrição (Figura 61B), mas adultos não foram coletados. As ninfãs *K. reticulata* diferem das outras deste gênero pelo padrão de coloração e ausência de longas e finas cerdas na base dos cercos. Na análise molecular, não houve sucesso na obtenção de sequências de ninfãs; apenas de um macho da série estudada por Avelino-Capistrano *et al.* (2011) foi obtido sucesso em uma sequência (ENT419) (Figura 61A). O presente trabalho faz o primeiro registro da espécie para o Rio de Janeiro.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro [Novo Registro]. Espírito Santo.

4.2.2.2.9. *Kempnyia serrana* (Navás, 1936)†

Diperla serrana Navás, 1936: 729. Aubert, 1956: 439. Illies, 1966: 476. *Species inquirenda*

Eutactophlebia gracilentata Zwick 1973: 20.

Eutactophlebia serrana Froehlich 1979: 70.

Kempnyia serrana Zwick 1983: 179. Froehlich 1984: 139. Stark, 2001: 415. Stark *et al.* 2009: 124. Froehlich, 2010: 182. Froehlich, 2011B: 03.

COMENTÁRIOS: Durante o período de estudo, não foram coletados exemplares de *K. serrana* na BRM, apesar da espécie ter sido descrita com material oriundo da “Serra de Macaé” (Froehlich, 2010). Outro registro é feito para o ES (Santa Leopoldina) (Froehlich, 1984), dada a identificação errônea realizada por Zwick (1983), onde o autor colocava o exemplar coletado como *K. gracilentata*.

DISTRIBUIÇÃO: Espírito Santo, Rio de Janeiro.

4.2.2.2.10. *Kempnyia taunayi* (Navás, 1936)†

Perla taunayi Navás, 1936: 726. Aubert, 1956: 440. Jewett, 1960: 177 Sinônimo de *K. klugii*.
Kempnyia klugii Illies, 1966: 340. Sinônimo de *K. klugii*.
Kempnyia taunayi Stark, 2001: 415. Espécie Própria. Stark *et al.* 2009: 124. Froehlich, 2010A: 182.

COMENTÁRIOS: *Kempnyia taunayi* foi descrita por Navás (1936) a partir de uma fêmea coletada na “Serra de Macaé”. Após ter sido sinonimizada por alguns autores à *K. klugii* (Pictet) (Jewett, 1960; Illies, 1966), Stark (2001) a considerou uma espécie própria. Entretanto, Froehlich (2010) em seu catálogo, considerou esta como *Species inquirenda*.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

4.2.2.2.11. *Kempnyia varipes* Klapálek, 1916 (Figuras 62-64)

Kempnyia varipes Klapálek, 1916: 52, 71. Jewett, 1960: 178. Zwick, 1972: 1173-1174. Zwick, 1973: 277. Nessimian *et al.*, 2009: 317. Froehlich, 2011A: 183. Avelino-Capistrano & Nessimian *no prelo*.

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Tributário de 1ª ordem do Rio Macaé, 22°25'53,3"S 42°32'06,3"O, 1.060 m, 16.x.2010, 1N (#2641), 2N (#3403). Rio Macaé. 4ª ordem, 22°23'34,2"S 42°29'43,1"O, 942 m, 01.xi.2008, 1N (#3242). Tributário de 2ª ordem do Rio Macaé, 22°25'57,6"S 42°32'24,3"O, 1.103 m, 16.x.2010, 2N (#2630). **Rio Bonito de Lumiar.** Tributário de 1ª ordem do Rio Santiago, 22°24'16,7"S 42°26'23,5"O, 844 m, 23.x.2010, 1N (#2613*ENT186). **MACAÉ. Glicério.** Córrego Boa Sorte, 22°14'30,4"S 42°05'14,1"O, 285 m, 11.ix.2010, 1N (#2624*ENT185).

MATERIAL ADICIONAL. RJ. TERESÓPOLIS. Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio Beija-Flor, 22°26'50,0"S 43°00'20,5"O, 1.195 m, 20-23.i.2010, 1♂ (#1589*ENT282). Col. APF Pires & LL Dumas. Rio Paquequer, 28.i.1995, 3♂ (#233), Col. JL Nessimian, AL Carvalho & LFM Dorvillé.

MEDIDAS: RJ. Ninfa: Cabeça: 2,87 – 4,22 mm; Teca alar: 2,65 – 3,31 mm ($n = 7$); ♂ Cabeça: 2,49 – 2,98 mm; Asa anterior: 15,44 – 17,53 mm ($n = 4$).

DESCRIÇÃO: Macho. Coloração geral marrom, em vista dorsal, com áreas mais claras ao longo do corpo (Figura 62A). Região ventral pálida. Cabeça coberta por muitas cerdas. Linha M presente. Três ocelos pretos, não totalmente pigmentados. Olhos pretos. Antena amarela e coberta por cerdas. Sutura epicranial não ultrapassa os ocelos pareados. Pronoto trapezoidal, marrom lateralmente e região do disco mais clara. Asas marrom clara; veias marrom clara, exceto pela R, r, Cu and A. Pernas amarelas, exceto pela área marrom-escuro na base do fêmur, e na parte anterior e posterior do tarso. Muitas cerdas cobrem o abdome e os cercos. Cercos marrom. Armadura peniana marrom-escuro; Ganchos com curva compacta (em forma de vírgula) (Figura 63A-C); projeção mediana do anel com ápice pontiagudo (Figura 63B-C). Prato subgenital retangular e delineado de marrom; martelo com formato de diamante (Figura 63D). Tergito X com área com cerdas em forma de cravilha (Figura 63E). Paraproctos dorsalmente direcionados e com ápice pontiagudo (Figura 63F).

DESCRIÇÃO: Ninfã. Coloração geral marrom clara (Figura 62B). Labro marrom-claro; clipeo com área anterolateral marrom clara; fronte com mancha mais clara; três áreas mais claras ocorrem ao redor dos ocelos. Linha M não evidente. Uma área clara presente abaixo da sutura epicranial. Sutura epicranial não ultrapassa os ocelos pareados. Olhos totalmente pretos. Espinhos presentes na base dos olhos compostos (Figura 64A). Antena amarela, com poucas cerdas no escapo (Figura 64B). Pronoto oval, marrom-claro e com uma faixa pálida mediana; borda do pronoto mais grosso e largo posteriormente e com alguns espinhos na parte anterior e posterior (Figura 64C). Mesonoto (Figura 64D) e metanoto marrom-claro, com áreas claras, e muitos espinhos lateralmente arranjados. Pernas amarelas; em vista dorsal, fêmur coberto de cerdas e espinhos lateralmente distribuídos; franja longitudinal de cerdas no fêmur e tíbia (Figura 64E). Abdome marrom-claro; uma fileira de espinhos presentes na margem posterior de cada tergito (Figura 64F). Brânquias abdominais presentes (Figura 64G). Cercos moderadamente cobertos por longas cerdas na base e reduzindo em número e tamanho

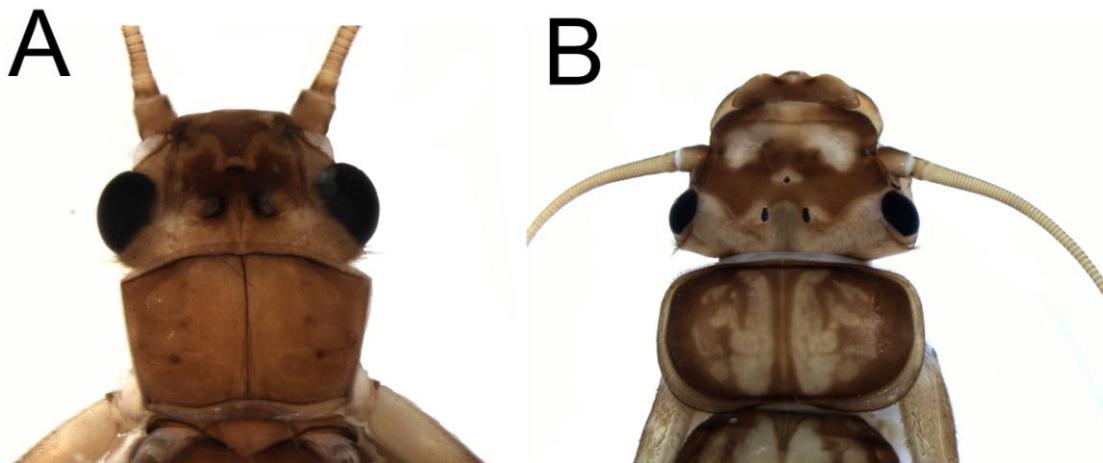


Figura 62. *Kempnyia varipes* Klapálek. Macho adulto: A. Cabeça e pronoto. Ninfã: B. cabeça e pronoto.

em direção ao ápice da estrutura; no final dos cercos, um tufo de finas cerdas está presente; segmentos portando fileira de espinhos marrom (Figura 64H).

COMENTÁRIOS: A espécie foi descrita com material do Rio de Janeiro, entretanto a localidade exata não foi informada. Zwick (1973) realizou a descrição do estado do material-tipo, porém apenas no presente trabalho a descrição do machos é realizada com material de Petrópolis (RJ), graças a ilustrações do tipo fornecidas por Froehlich (dados não publicados) que permitiram a identificação correta da espécie. A espécie possui ganchos em forma de vírgula similares a *K. alterosorum*, *K. vanini* e *K. tupinamba*, mas a projeção mediana do anel peniano e a ausência da almofada com espinhos no tubo membranoso do pênis separa *K. varipes* das demais espécies. Esta projeção pode ser encontrada em *K. reticulata* e *K. tijucana*, mas estas espécies possuem ganchos diferentes. A descrição da ninfa também foi feita através da associação feita pelo método molecular, utilizando material da BRM. A ninfa é caracterizada pela sutura epicranial que excede os ocelos pareados e as áreas em marrom-claro intercaladas com marrom pálido, formando um padrão característico na cabeça e no pronoto. Na análise molecular, as divergências entre adultos e ninfãs foram altas, variando entre 5,6% (ENT186*ENT282) a 9,6% (ENT185*ENT282). Apesar de altas, as divergências estão dentro do limite máximo estabelecido no trabalho, através dos machos de *K. colossica*.

DISTRIBUIÇÃO: Rio de Janeiro.

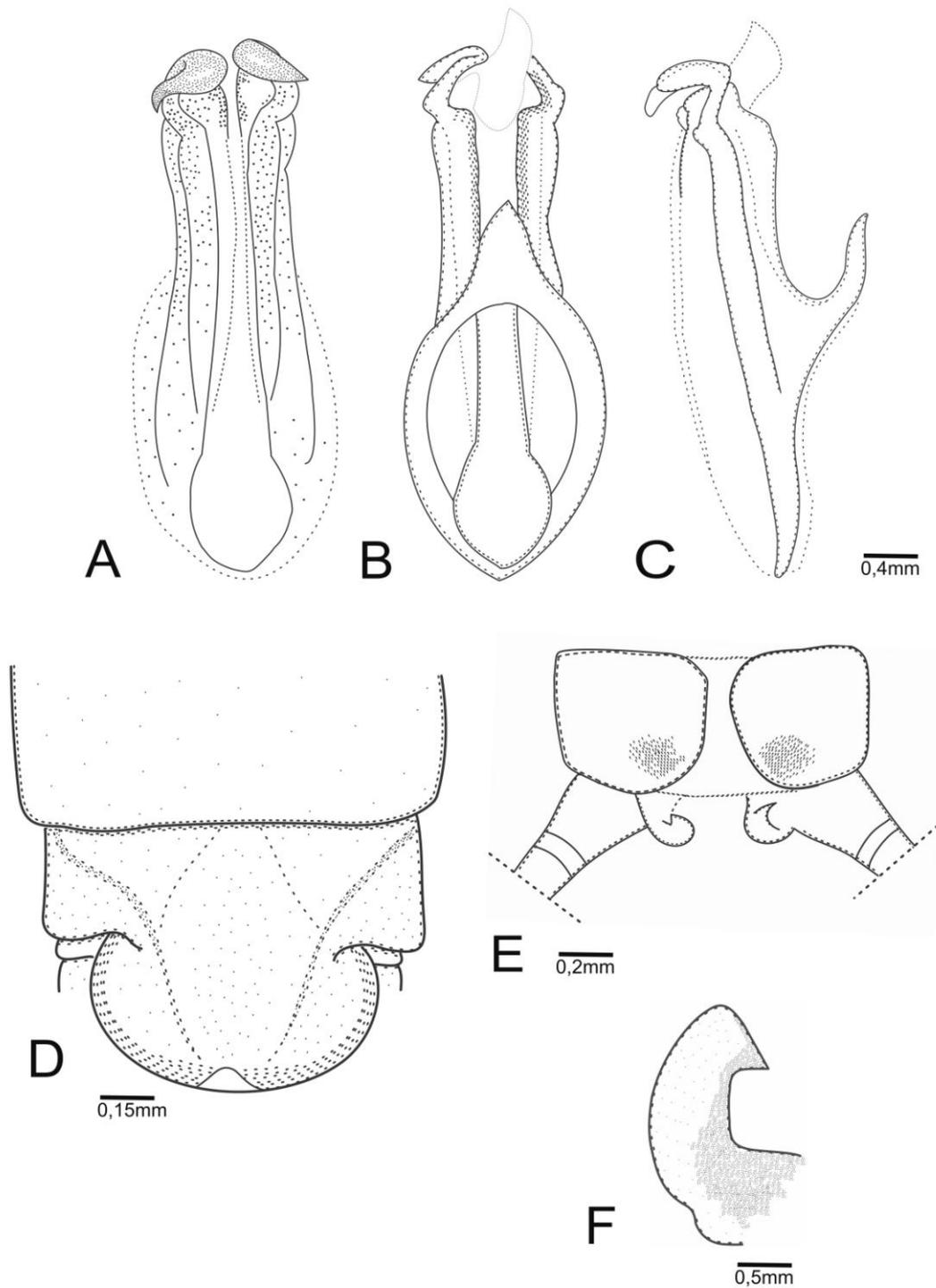


Figura 63. *Kempnyia varipes* Klapálek. Macho adulto: A-C. Armadura peniana, em vista dorsal, ventral e lateral; D. Prato subgenital e martelo; E. Tergito X; F. Paraprocto direito, em vista lateral.

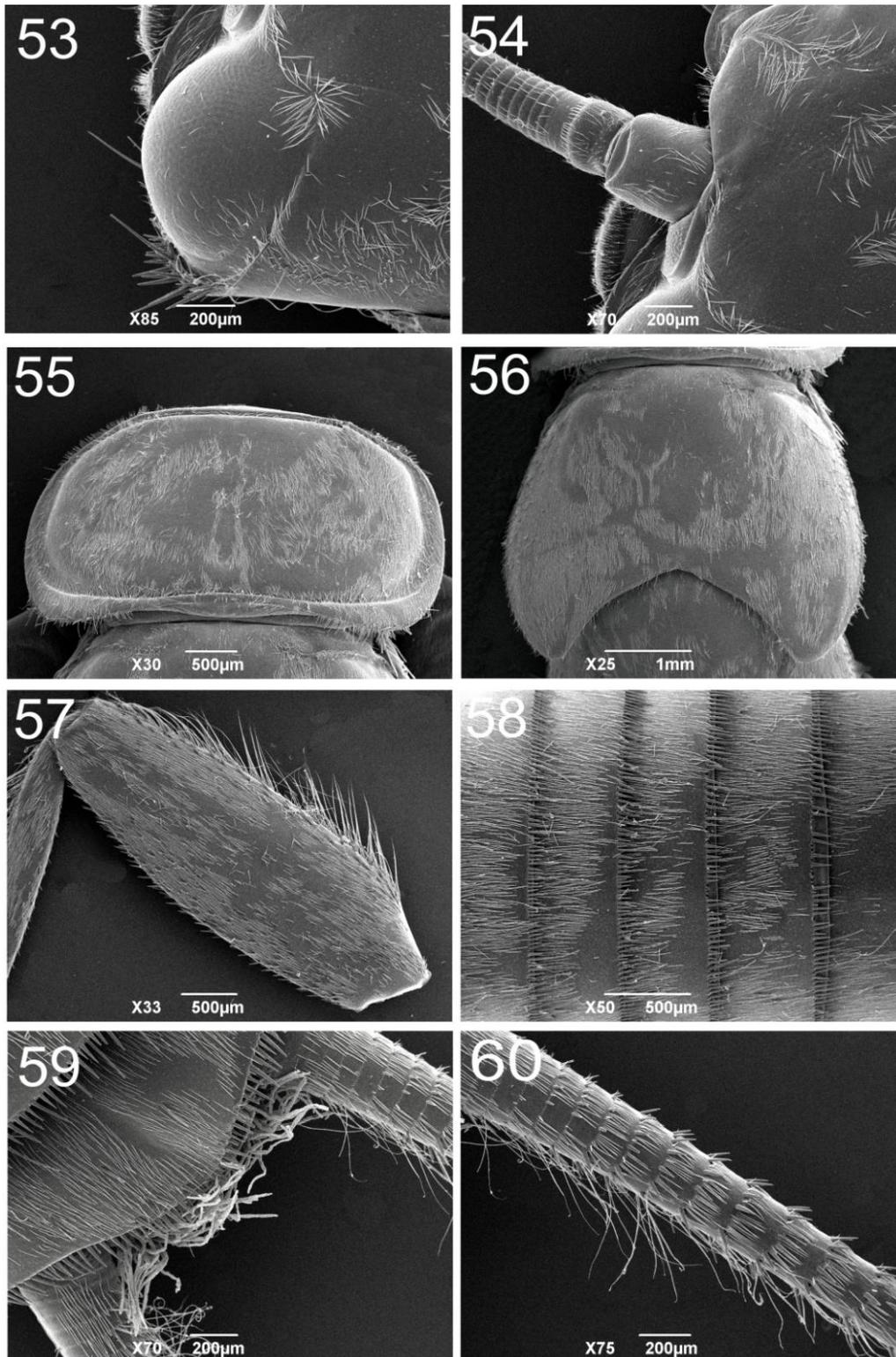


Figura 64. *Kempnyia varipes* Klapálek. Ninf: A. Cabeça, detalhe das cerdas do esclerito ocular; B. Base da antena base, em vista dorsal; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Abdome, em vista dorsal; G. Tergito X, cerco e brânquias anais; H. Detalhe da base do cerco.

4.2.2.3. *Macrogynoplax* Enderlein, 1909

Macrogynoplax Enderlein 1909:391. Klapálek 1916: 53, 72. Illies 1966: 344. Froehlich 1984B: 44. Stark & Zwick 1989: 248. Stark, 1996: 318-325. Ribeiro-Ferreira & Froehlich, 1999: 133-140. Dorvillé & Froehlich 1999: 281. Stark 2001b: 416. Bobot & Hamada, 2002: 299-301. Bispo *et al.*, 2005: Ribeiro & Rafael 2007: 18. Zúñiga & Stark, 2007: 102. Stark *et al.*, 2009: 127. Avelino-Capistrano & Nessimian *no prelo*.

Macrogynoplax é um gênero com uma distribuição curiosa: possui boa parte de suas espécies reportadas para a Região Norte da América do Sul – Brasil, Guiana, Peru, Suriname e Venezuela - e uma espécie registrada no Sudeste do Brasil (São Paulo, *M. veneranda* Froehlich). Ainda assim, muitos trabalhos de ecologia ou mesmo levantamentos de Plecoptera registram apenas a ocorrência de ninfas, porém não coletam adultos. Ao todo são conhecidas 14 espécies, sendo sete espécies registradas para o Brasil (Froehlich, 2012).

4.2.2.3.1. *Macrogynoplax* sp. BRM05N

MATERIAL EXAMINADO: BR. RJ. NOVA FRIBURGO. Macaé de Cima. Afluente de 1ª ordem do Rio Macaé, 22°25'53,3"S 42°32'06,3"O, 1.060 m, 16.x.2010, 2N (#2629). Afluente de 2ª ordem do Rio Macaé, 22°25'57,6"S 42°32'24,3"O, 1.103 m, 16.x.2010, 2N (#2593). **Rio Bonito de Lumiar.** Rio Santo Antonio, 22°24'15,3"S 42°26'46,2"O, 863 m, 24.x.2010, 2N (#2621), 2N (#2637). Afluente de 2ª ordem do Rio Bonito, 24.x.2010, 2N (#2637).

COMENTÁRIOS: Na BRM, apenas ninfas foram coletadas em trechos de 2ª e 3ª ordens, na parte alta da bacia. Apesar dos esforços na obtenção de adultos, nenhum foi coletado. Na análise molecular, uma sequência de ninfa foi obtida (ENT286), a qual aparece junto à uma sequência de *Kempnyia* na árvore de *Anacroneuria* (Figura 11). As divergências entre este indivíduo e os outros plecópteros variaram de 17,7% (ENT286*ENT136) a 29,6% (ENT286*ENT136), onde as menores divergências foram com indivíduos do gênero *Kempnyia* e as maiores com indivíduos da Família Gripopterygidae.

DISTRIBUIÇÃO: Norte da América do Sul e Sudeste do Brasil.

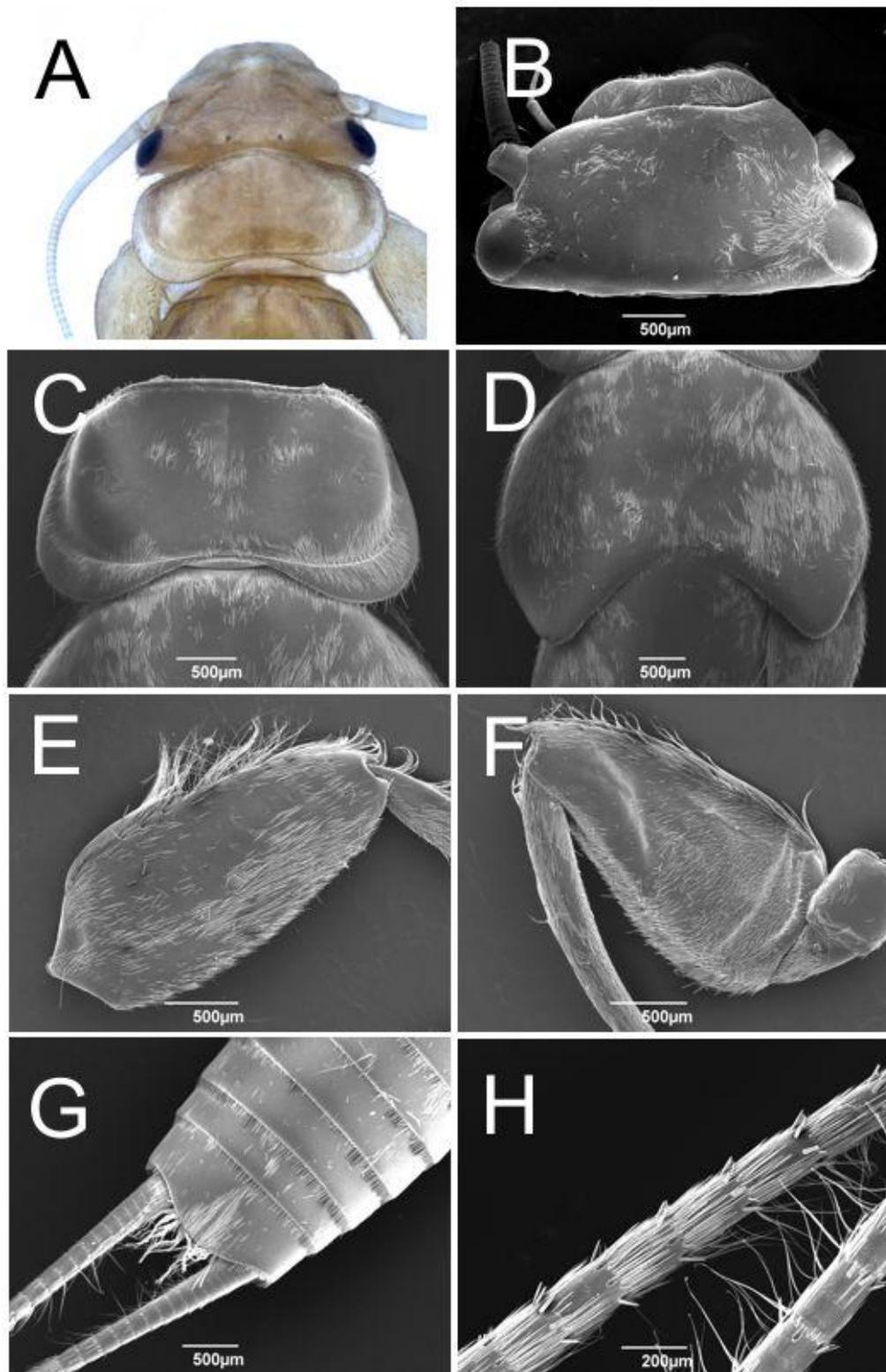


Figura 65. *Macrognoplix* Enderlein. Ninfa: A. Cabeça e pronoto; B. Cabeça; C. Pronoto; D. Metanoto; E. Fêmur anterior, vista anterior; F. Abdome, em vista dorsal; G. Abdome, cerco e brânquias anais; H. Detalhe da base do cerco.

4.2.3. POLIMORFISMO EM PLECOPTERA

As variações polimórficas intraespecíficas dentro de Plecoptera são um tema pouco debatido e se resumem a trabalhos pontuais. As principais variações polimórficas encontradas entre os Plecoptera incluem o tamanho das asas, a forma da placa genital feminina, a escleroze dos tergitos e o tamanho do corpo (Luzón-Ortega *et al.* 1999; Tierno-de-Figueiroa & Fochetti, 2001; Zwick, 2011), sendo que esse último depende das condições ecológicas em que ocorrem o ciclo de vida (Luzón-Ortega *et al.* 1999). As cores são muito utilizadas na separação de espécies próximas, como no caso de *Kempnyia alberti*, *K. petersorum* e *K. neotropica* (ver Froehlich, 1996), ou mesmo como características adicionais das descrições. Entre os plecópteros neotropicais a coloração pode variar desde variações de marrom (claro à marrom-escuro), como na maioria dos perlídeos, à cores mais vivas, como o verde encontrado em ninfas de *Macrogynoplax* (Avelino & Nessimian, no prelo) e vermelho encontrado em adultos de *Enderleina* (Dorvillé, 1997).

No presente estudo, variações polimórficas foram encontradas tanto entre espécies de perlídeos como de gripopterígídeos. Entre as principais variações observadas estão, o tamanho corporal, expressado pelo tamanho da capsula cefálica e o tamanho das asas, variações na forma da placa subgenital das fêmeas e na coloração.

A variação interespecífica do tamanho da capsula cefálica e das asas não foi significativa entre as espécies de *Anacroneuria*, como podemos observar na Figura 66, onde há projeção da variação de tamanho entre fêmeas de cada espécie, havendo sim, variações intraespecíficas.

Diferenças populacionais intraespecíficas vem sendo registradas para muitas espécies de Plecoptera no Brasil. Froehlich (1988) encontrou diferenças de tamanho entre populações de *K. colossica* oriundas de Santa Catarina (Ilhota) e São Paulo (Salesópolis e Cubatão). Em outro estudo realizado por esse mesmo autor (Froehlich 1998), diferenças foram encontradas entre populações de *T. gracilis* provenientes São Paulo (Campos do Jordão e Salesópolis), Minas Gerais (Serra do Cipó) e Rio de Janeiro (Teresópolis e Nova Friburgo). No presente estudo, diferenças intraespecíficas de tamanho do corpo foram observadas apenas entre fêmeas, em especial de *Anacroneuria* (ver Figura 61 para três espécies desse gênero).

Diferenças significativas foram encontradas apenas entre machos e fêmeas da mesma espécie. De acordo com Teder (2013), o dimorfismo de tamanho entre machos e fêmeas é um reflexo da evolução para a reprodução, sendo comum entre invertebrados, e é primariamente influenciado pelo tempo de vida do imaturo. No Brasil, o dimorfismo de tamanho entre machos e fêmeas são comuns, e têm sido relatadas por vários autores (e.g., Bispo & Froehlich, 2004, 2007; Bispo *et al.*, 2005; Froehlich, 1988). Tal diferença pode ser reflexo do acúmulo maior de energia pelas fêmeas utilizado no desenvolvimento e postura de ovos (Tomanova & Todesco, 2007). Apesar da relação positiva do tamanho das fêmeas com a fecundidade (Honek, 1993; Taylor *et al.*, 1998, Peckarsky & Cowan, 1991), não há relatos de na literatura sobre vantagens de machos maiores sobre os menores (Taylor *et al.*, 1998). Desta forma, as variações no tamanho do corpo entre as populações podem ser reflexo mais de fatores ambientais, como alimentação, densidade populacional, disponibilidade *per capita* de alimento (Haro *et al.*, 1994) e competição ainda no estagio ninfal (Peckarsky & Cowan, 1991).

Em relação às variações na placa subgenital de fêmeas, estas foram mais evidentes entre os *Anacroneuria*. Durante o processo de morfotipagem, foram gerados muitos morfotipos de fêmeas (ao todo, 11), uma vez que se utilizava a placa como característica principal. Entretanto, durante a análise molecular, muitas dessas fêmeas foram agrupadas formando um único clado, o que dentro do proposto pela análise molecular se trata da mesma espécie (Ex. fêmeas de *A. debilis* e de *A. ipiau* **sp. nov.**). Desta forma, dentro de uma mesma população poderá haver mais de um morfótipo de fêmea, especialmente dentro de *Anacroneuria*. Lillehammer (1988) ao revisar espécies de Plecoptera da Península Escandinava encontrou grande variedade de forma da placa subgenital de fêmeas, especialmente dentro do gênero *Isoperla* Banks. Grubbs & Szczytko (2010) também estudado espécies de *Isoperla* destacam a grande confusão causada pela descrição de espécies com holótipos fêmeas, dada a grande variação da placa subgenital. Na Região Neotropical, muitas espécies de *Anacroneuria* descritas com base em fêmeas, principalmente por Navás, encontram-se sob o *status* de *nomen dubium* (e.g., *A. collaris*, *A. fulvipenis*, *A. lacunosa*, etc.; ver Froehlich, 2010), em virtude da grande variedade da placa subgenital versus a perda ou má condição de muitos tipos.

Nesse sentido, da mesma forma que erros de descrição foram cometidos no passado, quando ainda não havia padronização de caracteres confiáveis para descrição de espécies de Plecoptera, erros podem estar sendo cometidos por muitos autores quando esses realizam associação arbitrária de espécimes machos e fêmeas. Muitas das vezes, fêmeas e machos da mesma espécie podem não estar voando juntos, e mesmo não ser coletados na mesma armadilha. Um exemplo que temos nesse trabalho foi da fêmea *Anacroneuria* sp. BRM02♀ (ENT1053) (Figura 45A), coletada em Macaé de Cima junto à machos de *A. mantiqueirae*. O espécime é muito similar na coloração com os machos de *A. mantiqueirae* (Figura 37B), sendo apenas um pouco maior. Entretanto, durante a análise molecular, a fêmea apareceu distante dos machos coletados, demonstrando não ser da mesma espécie. Desta forma, uma metodologia de associação se faz necessária para não apenas realizar a associação correta, bem como para que haja a descrição das polimorfias dessa estrutura encontradas entre/dentro das populações.

Em relação à variação da coloração, essas foram observadas entre machos e fêmeas, demonstrando um dimorfismo sexual entre alguns perlídeos, numa forma mais drástica, entre indivíduos de *Kempnyia petersorum*. O dimorfismo sexual de cor foi observado entre machos e fêmeas de diversas espécies de perlídeos na presente análise, como por exemplo, em *Anacroneuria debilis*, *Anacroneuria* sp.01♂ + *Anacroneuria* sp.13♀, *Kempnyia jatim*, *K. petersorum*, entre outras. Em todos os casos, machos foram mais escuros ou possuíam manchas em tons mais escuros que as fêmeas, que por sua vez eram mais claras ou possuíam manchas com tons mais claros.

Diferenças entre machos e fêmeas vem sendo observados por muitos autores, não apenas na coloração quanto no tamanho, como já tratado anteriormente. Entretanto, poucos autores discutem diferenças entre coloração de machos e fêmeas. Apesar de não haver de fato uma variação muito brusca entre a coloração, essa ainda pode ser uma característica a mais na descrição ou mesmo recuperação de informações taxonômicas, quando associada a mais de uma ferramenta. Muitas espécies descritas com base em fêmeas, se associadas a ferramentas moleculares ou outros tipos de delimitação, poderiam ser redefinidas ou mesmo validadas caso houvesse complementação das informações nas descrições.

Outra variação intraespecífica da coloração foi encontrada entre indivíduos de *Kempnyia petersorum* e *K. jatim*. Em *K. petersorum* exemplares simpátricos compartilhando o mesmo haplótipo foram encontrados com cores no padrão da descrição original, claro como mancha escura na cabeça e no pronoto (Figura 57F), ou exemplares completamente marrom-escuros (Figura 57A–D). Entre machos de *K. jatim* também houve diferenças na coloração de machos, entretanto sem simpatria, com machos claros como os da descrição provenientes do Rio de Janeiro e São Paulo (Figura 49A-C), e machos de coloração escura proveniente do Espírito Santo (Figura 49D). Apesar das variações na coloração, em ambas as espécies, não houve diferenças entre as genitálias dos machos de localidades diferentes.

De acordo com Gray & McKinnon (2006), polimorfismo de cor dentro ou entre populações podem ter origens distintas, podendo ser influenciado pela pressão seletiva do ambiente ou mesmo pela seleção sexual. Em ambos os casos, o fluxo gênico e a deriva genética podem influenciar no estabelecimento ou no desaparecimento da variação dentro/entre populações (Gray & McKinnon, 2006). Um exemplo da influência da predação e do polimorfismo de cor pode ser observado entre borboletas do gênero *Heliconius* Kluk (Lepidoptera, Nymphalidae) (Kronforst *et al.*, 2006). A espécie *Heliconius cydno allithea* Hewitson realizam mimetismo Mülleriano, copiando o padrão das asas de duas espécies simpátricas, uma de coloração azul – *H. sapho* (Drury) – e outra de coloração amarela – *H. eleuchia* Hewitson. Tais mudanças, induziram ao início de um isolamento sexual, onde atualmente, machos amarelos só copulam com fêmeas amarelas, e contraste com os machos azuis que não fazem distinção de cor (Kronforst *et al.*, 2006).

No presente estudo, não foi testada a influência dos fatores ambientais ou a influência direta dos genes sobre as espécies que apresentaram polimorfismo de cor, tamanho e diferenças na placa genital feminina. O que podemos inferir é que tais variações podem ser reflexo tanto de um isolamento reprodutivo, como também um processo de especiação em andamento. Tierno-de-Figueiroa *et al.* (2011) trabalhando com espécies morfologicamente semelhantes, encontrou variações comportamentais e moleculares entre espécies de *Isoperla curtata* Navás, levando a separação de populações isoladas em regiões distintas. No presente estudo, o polimorfismo presente entre machos de *K. jatim* pode ser um exemplo de especiação alopátrica, que apenas

com uso de outras ferramentas, como comportamento, poderá levar a separação em duas espécies. O mesmo ocorre dentro das populações de *K. petersorum*, onde poderia tratar-se de um caso de especiação simpátrica.

Entretanto, enquanto utilizarmos as características morfológicas, sejam elas polimórficas, como coloração, tamanho e morfologia da placa genital feminina, ou mesmo conservadas, como a genitália masculina, dúvidas surgirão sobre a identidade dessas espécies. Um conjunto maior de ferramentas é necessário para o suporte de novas espécies ou mesmo para a compreensão do processo de especiação dentro de Plecoptera.

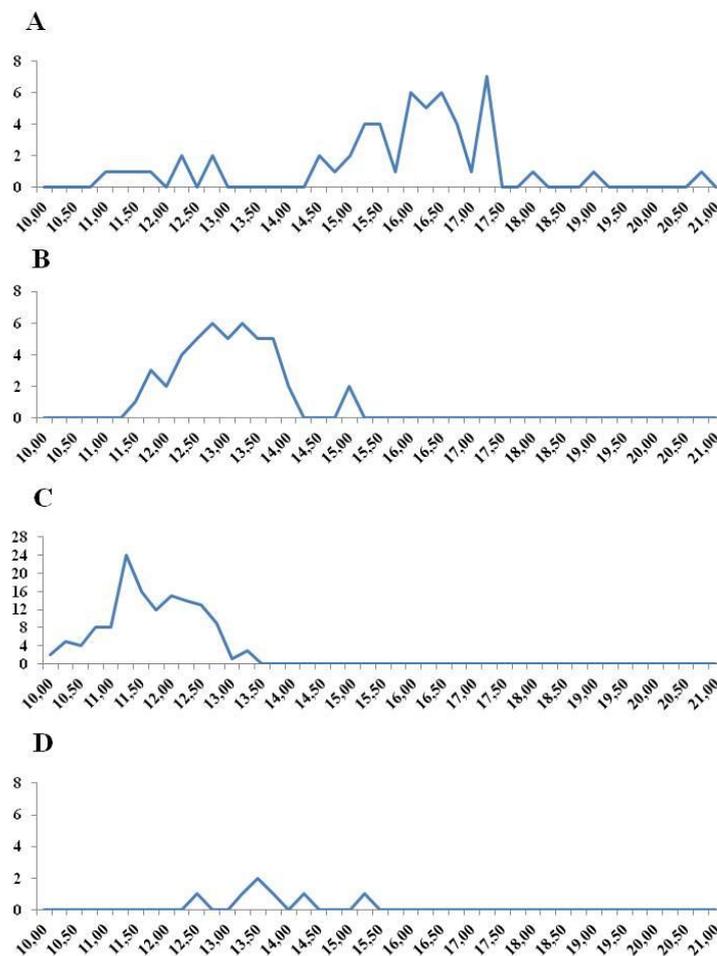


Figura 66. Histograma da distribuição das medidas (mm) da asa anterior das fêmeas de *Anacroneria debilis* (Pictet) (A), *Anacroneria* sp. BRM01♀ (B), *A. ipiau* sp.nov. (C) e *A. mantiqueirae* Froehlich (D).

5. Conclusões



- O conhecimento taxonômico da Bacia do Rio Macaé foi ampliado de oito para 35 espécies, incluindo cinco novos táxons. Entre estas, 14 são novos registros feitos para o Estado do Rio de Janeiro.
- Entre o material inventariado, seis permaneceram morfotipados, representados por fêmeas e ninfas, uma vez que não foram associados à nenhuma espécie (machos). Duas destas ninfas tratam-se de novos registros dos gêneros *Macrogynoplax* e *Guaranyperla* para a região do Rio Macaé. Tais dados nos mostram que ainda há espécies para serem reportadas para a Bacia.
- Cinco novas espécies foram encontradas e descritas, uma nova redescrição foi realizada com base no material coletado.
- O método molecular possibilitou a associação de 16 ninfas e 14 fêmeas a machos, sendo realizadas as descrições dessas ninfas e das fêmeas. Duas ninfas de *Gripopteryx* e uma de *Kempnyia* foram identificadas com base em descrições morfológicas.
- Foram geradas 124 sequências COI pertencentes a 35 espécies e quatro morfotipos de plecópteros neotropicais, sequências essas que serão depositadas e disponibilizadas na base de dados do GenBank. Estas são as primeiras sequências geradas para plecópteros neotropicais.
- Durante a análise molecular foram encontradas altas divergências intraespecíficas de COI entre machos identificados, corroborando com outros trabalhos que mostram a essa tendência nos Plecoptera. Desta forma, as maiores divergências intraespecíficas foram encontradas entre machos de *Kempnyia colossica* (máximo = 15%), servindo de base para delimitar as espécies dentro do gênero. Fatores como isolamento reprodutivo e geográfico, podem ser um dos motivos das altas divergências.
- Ainda entre as espécies de *Kempnyia*, espécies proximamente relacionadas, como *K. petersorum* e *K. neotropica* que possuem genitália muito similar e são diferenciadas

apenas pela coloração, se mantiveram agrupadas dentro do valor de corte estabelecidos para o grupo, sugerindo que essas possam pertencer a mesma espécie com variação morfológica.

- Durante o estudo, foram observadas variações polimórficas intraespecíficas, como na placa subgenital feminina, variações de tamanho e coloração. Variações de tamanho e forma da placa subgenital feminina foram comuns entre fêmeas de *Anacroneuria*. Polimorfismo de cor foi observado entre machos e fêmeas de *K. petersorum* e *K. jatim*. Esses dados sugerem que dentro dos Plecoptera pode existir um grande polimorfismo que deve ser considerado em trabalhos taxonômicos futuros.
- O uso da análise molecular se mostrou uma alternativa prática para associação e delimitação de espécies. Entretanto, esta é mais uma ferramenta utilizada na taxonomia integrativa e os resultados serão ainda mais robusto quando associados à outras técnicas de delimitação de espécies.

Referências



- Amstrong, K.F. & S.L. Ball (2005) DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.Biol. Sci.*, 360 (1462): 1813–1823.
- Aliabadian M, Kaboli M, Nijman V & M. Vences (2009) Molecular Identification of Birds: Performance of Distance-Based DNA Barcoding in Three Genes to Delimit Parapatric Species. *PLoS ONE* 4(1): e4119. doi:10.1371/journal.pone.0004119.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schaffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. & D.J. Lipman. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein search programs. *Nucleic Acids Research*, 25: 3389–3402.
- Aubert, J. (1956) Plécoptères décrits par le R.P.L. Navás, S.J. 4. Liste des types actuellement connus. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, 29: 437–445.
- Avelino-Capistrano, F. & J.M. Costa (2009) Coleção de tipos de Plecoptera (Insecta) do Museu Nacional (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil. *Biota Neotropica*, 9(4): 1–4.
- Avelino-Capistrano, F. (2010) *Plecoptera (Insecta) da Estação Biológica de Santa Lúcia, Espírito Santo, Brasil: distribuição espacial, sazonal e preferência por substratos*. Dissertação de Mestrado, PPG - Biologia Animal – UFRRJ. 76pp.
- Avelino-Capistrano, F., Barbosa, L.S. & G.L. Almeida (2011A) The nymph of *Anacroneuria debilis* (Pictet, 1841) (Plecoptera: Perlidae). *Zootaxa*, 2882: 59–63.
- Avelino-Capistrano, F.S., Barbosa, L.S. & G.L. Almeida (2011B) Complementary descriptions of *Kempnyia gracilentata* (Enderlein 1909) and *Kempnyia reticulata* (Klapálek 1916) (Plecoptera: Perlidae). *Illiesia*, 7(14): 142–147.
- Avelino-Capistrano, F. & J.L. Nessimian (2013) A new species and new records of Gripopterygidae (Plecoptera) from the Serra dos Orgãos, Rio de Janeiro State, Brazil. *Zootaxa*, 3683: 185–191.

- Avelino-Capistrano, F. & J.L. Nessimian (*no prelo*) Novos registros da fauna de Plecoptera (Insecta) para o Estado do Espírito Santo, Brasil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitao*.
- Avelino-Capistrano, F.S., Souza, M.R. & J.L. Nessimian. (2013) *Kempnyia puri* a new species of Plecoptera (Perlidae) from Rio de Janeiro, Brasil. *Zootaxa*, 3619 (5): 554–556.
- Avise, J.C. (1994) *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*. Chapman & Hall, New York. 511 pp.
- Baldin, C., Bispo, P.C. & M.C. Novaes (2013) New species and records of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from Rio de Janeiro State, Brazil. *Zootaxa*, 3694 (4): 391–397.
- Ball, S.L., Hebert, P.D.N., Burian, S.K. & J.M. Webb (2005) Biological identification of mayflies (Ephemeroptera) using DNA barcodes. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 24(3): 508–524.
- Banks, N. (1913) Perlidae. Pags. 85–86. In: *Neuropteroid insects from Brazil*. The Stanford Expedition to Brazil, 1911. *Psyche*, 20:83–89, pl. 4.
- Baptista, D.F., L.F.M. Dorvillé, D.F. Buss, J.L. Nessimian & L.H.J. Soares (1998) Distribuição de comunidades de insetos aquáticos no gradiente longitudinal de uma bacia fluvial do Sudeste brasileiro. Pags. 209–222. In: Nessimian J.L. & A.L. Carvalho (Eds.). *Ecologia de Insetos Aquáticos*, Series Oecologia Brasiliensis, Volume V. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.
- Benedetto, L. (1970) Notes about the biology of *Jewettoperla munoai* Benedetto (Plecoptera Gripopterygidae). *Limnologica* (Berlin), 7: 382–389.
- Bergsten, J., D.T. Bilton, T. Fujisawa, M. Elliott, M.T. Monaghan, M. Balke, L. Hendrich, J. Geijer, J. Herrmann, G.N. Foster, I. Ribera, A.N. Nilsson, T.G. Barraclough & A.P. Vogler (2012) The effect of geographical scale of sampling on DNA barcoding. *Systematic Biology*, 61: 851–869.
- Bispo, P.C. & C.G. Froehlich (2004B) Perlidae (Plecoptera) from Intervales State Park, São Paulo State, southeastern Brazil. *Aquatic Insects*, 26 (2): 97–114.

- Bispo, P. C. & C. G. Froehlich. (2008) Description of the larvae and redescription of the adult of *Kempnyia neotropica* Jacobsen & Bianchi (Plecoptera: Perlidae) with biological notes. *Aquatic Insects*, 30: 61–67.
- Bispo, P.C. & L.S. Lecci (2011) Gripopterygidae (Plecoptera) from Paranapiacaba mountains, southeastern Brazil. *Annals of Limnology*, 47: 373–385.
- Bispo, P.C., Leite, R. & L.S. Lecci (2012). Description of the larva of *Kempnyia colossica* (Navás) (Plecoptera: Perlidae) with biological notes. *Aquatic Insects*, 35: 1–5.
- Bispo, P.C., Neves, C.O. & Froehlich, C.G. (2005) Two new species of Perlidae (Plecoptera) from Mato Grosso State, western Brazil. *Zootaxa*, 795: 1-6.
- Bobot, S.R.M. & N. Hamada (2002). An illustrated key to nymphs of Perlidae (Insecta, Plecoptera) genera in Central Amazonia, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 47(3): 477–480.
- Bottorff, R.L., Szczytko, S.W. & A.W. Knight (1990) Descriptions of a new species and three incompletely known species of western Nearctic *Isoperla* (Plecoptera: Perlodidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 92: 286–303.
- Boumans, L. & R. W. Baumann (2012) *Amphinemura palmeni* is a valid Holarctic stonefly species (Plecoptera: Nemouridae). *Zootaxa*, 3537: 59–75.
- Brauer, F. (1866) Familie Perlidae. In: *Neuropteren. Reise der Österreichischen Fregatte Novara um die Erde in den Jahren 1857, 1858, 1859. Zoologischer Theil*, 2. Band (1:A), 4, pp. 51–52.
- Burmeister, H. (1839). *Handbuch der Entomologie, Plecoptera*. 2 (2):863-881. Theod. Chr. Friedr. Endlin, Berlin.
- Claassen, P. W. (1931) *Plecoptera nymphs of America (North Mexico)*. Memoirs of the Cornell University Agricultural Experiment Station 232. Thomas Say Foundation, Volumes III, VI.
- Couri, M. S., J. L. Nessimian, G. Mejdalani, M. L. Monné, S. M. Lopes, M. C. Mendonça, R. Monteiro, S. Buys & R. A. Carvalho (2009) Levantamento dos insetos da Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro. *Arquivos do Museu Nacional*, 67: 151–154.

- Derka, T., Tierno de Figueroa, J.M. & Gamboa, M. (2010). First records of Plecoptera from Pantepui biogeographical province, with the first record of genus *Kempnyia* Klapálek, 1914 for Venezuela (Insecta: Plecoptera). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, 33:493–502.
- DeWalt R. E. (2011) DNA barcoding: a taxonomic point of view. *Journal of the North American Benthological Society*, 30: 174–181.
- Dorvillé, L.F.M. (1998) Caracterização Taxonômica e Biologia de uma Espécie de *Kempnyia* Klapálek (Plecoptera, Perlidae) em um riacho da Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro (RJ). Mestrado em Ciências Biológicas (Zoologia). Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Museu Nacional – UFRJ.
- Dorvillé, L.F.M. & C.G. Froehlich (1998) Description of the nymph of *Kempnyia tijucana* Dorvillé & Froehlich (Plecoptera, Perlidae) with notes on its development and biology. p. 385–392. *In: XIII International Symposium on Ephemeroptera and Plecoptera, 1998, Tafi Del Valle. Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera*. New York: Kluwer Academics/ Plenum Press, 1998.
- Dorvillé, L.F.M. & C.G. Froehlich (1999) Additional characters to distinguish the nymphs of the perlid genera from southeastern Brazil (Insecta, Plecoptera). *Aquatic Insects*, 21: 281-284.
- Dorvillé, L.F.M. & C.G. Froehlich (1999). Additional characters to distinguish the nymphs of the perlid genera from southeastern Brazil (Insecta, Plecoptera). *Aquatic Insects*, 21 (4): 281–284.
- Dorvillé, L.F.M., Nessimian, J.L. & A.M. Sanseverino (2000) First Record of symphoresy between a nymph of a stonefly – *Kempnyia tijucana* – (Plecoptera, Perlidae) and a chironomid larva - *Nanocladius* (Plecopteracoluthus) - in the neotropics. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 35: 109–114.
- Enderlein, G. (1909) Klassifikation der Plecopteropteren, sowie Diagnosen neuer Gattungen und Arten. *Zoologischer Anzeiger*, 34: 385–419.
- Fochetti, R. & J. M. Tierno-de-Figueroa (2008) Global diversity of stoneflies (Plecoptera; Insecta) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 365–377.

- Fochetti, R., Gaetani, B., Fenoglio, S., Bo, T., López-Rodríguez, M. J. & J. M. Tierno-de-Figueroa (2011) Systematics and biogeography of the genus *Besdolus* Ricker, 1952 (Plecoptera, Perlodidae): molecules do not match morphology. *Zootaxa* 3067:49–58.
- Fochetti, R., Sezzi, E., Tierno-de-Figueroa, J.M., Modica, M.V. & M. Oliveira (2009) Molecular systematics and biogeography of the western Mediterranean stonefly genus *Tyrrhenoleuctra* (Insecta, Plecoptera). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 47: 328–336.
- Froehlich, C.G. (1969) Studies on Brazilian Plecoptera 1. Some Gripopterygidae from the Biological Station at Paranapiacaba, State of São Paulo. *Beiträge zur Neotropischen Fauna*, 6: 17–39.
- Froehlich, C.G. (1979) The genus *Eutactophlebia*. *Gewässer und Abwässer*, 64: 70–71.
- Froehlich, C.G. (1984A) Brazilian Plecoptera 2. Species of the *serrana*-group of *Kempnyia* (Plecoptera). *Aquatic Insects*, 6(3): 137–147.
- Froehlich, C.G. (1984B) Brazilian Plecoptera 4. Nymphs of Perlidae genera from southeastern Brazil. *Anns. Limnol.*, 20(1-2): 43–48.
- Froehlich, C.G. (1988) Brazilian Plecoptera 5. Old and new species of "*Kempnyia*" (Perlidae). *Aquatic Insects*, 10 (3): 153–170.
- Froehlich, C.G. (1990) Brazilian Plecoptera 6. *Gripopteryx* from Campos do Jordão, State of São Paulo (Gripopterygidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 25 (4): 235–247.
- Froehlich, C.G. (1993) Brazilian Plecoptera 7. Old and new species of *Gripopteryx* Gripopterygidae). *Aquatic Insects*, 15 (1): 21–38.
- Froehlich, C.G. (1994) Brazilian Plecoptera 8. On *Paragripopteryx* (Gripopterygidae). *Aquatic Insects*, 16 (4): 227–239.
- Froehlich, C.G. (1996) Two new species of *Kempnyia* from southern Brazil (Plecoptera: Perlidae). *Bulletin de la Société Entomologique Suisse*, 69: 117–120.
- Froehlich, C.G. (1998) Seven new species of *Tupiperla* (Plecoptera: Gripopterygidae) from Brazil, with a revision of the genus. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 33: 19–36.

- Froehlich, C.G. (2001) *Guaranyperla*, a new genus in the Gripopterygidae (Plecoptera). pp. 377–383. In: DOMINGUEZ, E. (Ed.). *Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera*. Kluwer Academic/Plenum, New York.
- Froehlich, C.G. (2002) *Anacroneuria* mainly from southern Brazil and northeastern Argentina (Plecoptera: Perlidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 115: 75–107.
- Froehlich, C.G. (2003) Stoneflies (Plecoptera: Perlidae) from the Brazilian Amazonia with the description of three new species and a key to *Macrogynoplax*. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 38: 129–134.
- Froehlich, C.G. (2004) *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from the Boracéia Biological Station, São Paulo State, Brazil. *Aquatic Insects*, 26 (1): 53–63.
- Froehlich, C.G. (2010A) Catalogue of Neotropical Plecoptera. *Illiesia*, 6(12):118–205.
- Froehlich, C.G. (2010B) *Anacroneuria* (Plecoptera, Perlidae) from the Mantiqueira Mountains, São Paulo State, Brazil. *Zootaxa*, 2365: 55–68.
- Froehlich, C.G. (2011A) *Kempnyia* (Plecoptera) from the Mantiqueira Mountains of Brazil. *Zootaxa*, 2999: 20–32.
- Froehlich, C.G. (2011B) Notes on *Kempnyia*, with description of three new species (Plecoptera: Perlidae). *Illiesia*, 7(13): 133–141.
- Froehlich, C.G. (2012). Plecoptera. In: Rafael, J.A., Melo, G.A.R., Carvalho, C.J.B., Cesari, S.A. & R. Constantino. (Eds.) *Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia*. Editora Holos, 810pp.
- Genkai-Kato, M., Nozaki, K., Mitsuhashi, H., Kohmatsu, Y., Miyasaka, H. & M. Nakanishi (2000) *Push-up* response of stonefly larvae in low-oxygen conditions. *Ecological Research*, 15: 175–179.
- Graf, W., Strandner, D. & S. Weiss (2008) A new *Siphonoperla* species from the Eastern Alps (Plecoptera: Chloroperlidae), with comments on the genus. *Zootaxa*, 1891: 31–38.

- Gray, D.P. (2009) A new species of *Zelandobius* (Plecoptera: Gripopterygidae: Antarctoperlinae) from upper Rangitata River, Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 43: 605–611.
- Gray, S.M. & J.S. McKinnon (2006). Linking color polymorphism maintenance and speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(2): 71 – 79.
- Grimaldi, D. & M.S. Engel (2005) *Evolution of the insects*. Cambridge University Press, XV + 755pp.
- Grubbs, S.A. & S.W. Szczytko (2010) A new species of eastern Nearctic *Isoperla* from Alabama and Mississippi, U.S.A. (Plecoptera: Perlodidae; Isoperlinae). *Illiesia*, 6(17): 241–247.
- Hagen, H.A. (1861). *Synopsis of the described Neuroptera of North America, with a list of the South American species*. Smithsonian Miscellaneous Collections, Vol. IV. 368 pp.
- Hagen, H.A. (1873) Report on the Pseudoneuroptera and Neuroptera of North America in collection of the late Theo. W. Harris. *Proc. Bost. Soc. Nat. Hist.*, 15: 263–301.
- Hajibabaei, M., Shokralla, S., Zhou, X., Singer, G.A.C. & D.J. Baird (2011) Environmental Barcoding: A Next-Generation Sequencing Approach for Biomonitoring Applications Using River Benthos. *PLoS ONE*, 6(4): e17497.
- Haro, R.J., Edley, K. & M.J. Wiley (1994) Body size and sex ratio in emergent stonefly nymphs (*Isogenoides olivaceus*: Perlodidae): variation between cohorts and populations. *Can. J. Zool.*, 72: 1371–1375.
- Hayashi, M. & T. Sota (2010) Identification of elm mid larvae (Coleoptera: Elmidae) from Sanin District of Honshu, Japan, based on mitochondrial DNA sequences. *Entomological Science*, 13: 417–424
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & J.R. deWaard (2003A). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 270: 313–321.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S. & J.R. deWaard (2003B). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, (Suppl.). disponível em: http://www.nematodes.org/teaching/retired_teaching/ecology4/Hebert_Barcoding.pdf

- Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H. & W. Hallwachs (2004) Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 12812–14817.
- Hillis, D.M., Moritz, C. & B.K. Mable (1996) *Molecular Systematics*. 2^a Edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- Hynes, H. B. N. (1941) The taxonomy and ecology of the nymphs of British Plecoptera, with notes on the adults and eggs. — *Transaction of the Royal entomological Society of London* 91: 459–557.
- Hynes, H. B. N. (1948) The nymph of *Anacroneuria aroucana* Kimmins (Plecoptera, Perlidae). *Proc. R. em. Soc. Lond.*, (A) 23: 105-110.
- Illies, J. (1958) Abranchioperlidae, eine neue Plecopterenfamilie. *Investigaciones Zoológicas Chilenas*, 4: 223–230.
- Illies, J. (1961) Südamerikanische Notonemourinae und die Stellung der Unterfamilie im System der Plecopteren. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, 34 (2): 97–126.
- Illies, J. (1963) Revision der südamerikanischen Gripopterygidae (Plecoptera). *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, 36: 145–248.
- Illies, J. (1964A) Die Plecopteren-Unterfamilie Andiperlinae. (Auflösung einer unnatürlichen Negativgruppe nach Remane). *Zoologischer Anzeiger*, 172(1): 37–48.
- Illies, J. (1964B) Südamerikanische Perlidae (Plecoptera), besonders aus Chile und Argentinien. *Beiträge zur Neotropischen Fauna*, 3(3):207-233.
- Illies, J. (1964C) Neue Plecopteren aus Südamerika. *Gewässer und Abwässer*, 36: 49–57.
- Illies, J. (1965) Neue Plecopteren aus Chile und Argentinien. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, 37 (3): 151–156.
- Illies, J. (1966) *Katalog der rezenten Plecoptera*. Das Tierreich 82: XXX+632 pp. Walter de Gruyter & Co., Berlin.
- IBGE (2010) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Mapeamento Sistemáticos. Disponível em: <ftp://geoftp.ibge.gov.br/>

- Jaramillo-Vila, U. (2010) *Efeito da retificação de rios sobre as taxocenoses de peixes: estudo em rios costeiros de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, Brasil*. (Rio de Janeiro). Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio de Janeiro, PPGGE. xii + 91 pp.
- Jewett, S.G.J. (1960) Notes and descriptions concerning Brazilian stoneflies, *Arquivos do Museu Nacional*, 1: 167–183.
- Joost, W. (1980). *Kempnyia calabriae* sp. n. aus Brasilien (Plecoptera, Perlidae). *Reichenbachia*, 18 (9): 73–75.
- Kapoor, N.N. (1972) Rearing and maintenance of Plecoptera nymphs. *Hydrobiologia*, 40(1): 51–53.
- Kimura, M. (1980) A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences. *J. Mol. Evol.*, (16): 111–120.
- Klapálek, F. (1904) Plecopteren. *Hamburger Magalhaensische Sammelreise*, 7 (5): 2–13.
- Klapálek, F. (1909) Vorläufige Bericht über exotische Plecopteren. *Wiener Entomologische Zeitung*, 28: 215–232.
- Klapálek, F. (1914) Analytická tabulka fam Perlidae a její dvou subfam., Perlinae a Acroneuriinae (Plecoptera). *Časopis České Společnosti Entomologické*, 11: 53–69.
- Klapálek, F. (1916) Subfamilia Acroneuriinae Klp. *Časopis České Společnosti Entomologické*, 13: 45–84.
- Klapálek, F. (1921) Plécoptères nouveaux. Troisième partie. *Annales de la Société Entomologique de Belgique*, 61: 320–327.
- Klapálek, F. (1922) Plécoptères nouveaux. Quatrième partie. *Annales de la Société Entomologique de Belgique*, 62: 89–95.
- Latreille, P.A. (1802) Perlaire: Perlarie. Pags. 292–293. In: *Histoire naturelle, générale et particulière, des crustacés et des insectes*: 3. Dufort, Paris.
- Lecci, L.S. (2013) Sistemática de *Kempnyia* Klapálek 1914 (Plecoptera: Perlidae). Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Entomologia – USP, vi + 113 pp.

- Lecci, L.S. & C.G. Froehlich (2007) Plecoptera. In: *Guia on-line: Identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo*. Froehlich, C.G. (org.). Disponível em: <http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/guiaonline>.
- Lecci, L.S. & Froehlich, C.G. (2011) Taxonomic revision of *Gripopteryx* (Pictet, 1841) (Plecoptera: Gripopterygidae). *Zootaxa*, 2792: 1–21.
- Lillehammer, A. (1974) Norwegian stoneflies. I. Analysis of the variations in morphological and structural characters used in taxonomy. *Norsk. ent. Tidsskr.*, 21: 59–107.
- Linnaeus, C. (1758) *Systema Naturae*. Systema Naturae per Regna Tria Naturae... Tomus I. Editio Decima, reformata. Holmiae, Laurentii Salvii, 824 pp.
- Lio P. & N. Goldman, (1998) Models of molecular evolution and phylogeny. *Genome Res.*, 8: 1233–1244.
- Luzón-Ortega, J.M., Tierno-de-Figueiroa, J.M. & A. Sánchez-Ortega (1999) Estudio de variabilidad morfológica em uma población de *Leuctra maroccana* Aubert, 1956 (Plecoptera, Leuctridae). *Boletim de La Asociacion Española de Entomologia*, 23(1–2): 9 – 13.
- Maldonado, V., B.P. Stark & C. Cressa (2002) Descriptions and records of *Anacroneuria* from Venezuela (Plecoptera: Perlidae). *Aquatic Insects*, 24: 219–236.
- McLellan, I.D. (1977) New alpine and southern Plecoptera from New Zealand, and a new classification of the Gripopterygidae. *New Zealand Journal of Zoology*, 4: 119–147. 2001AB,
- McLellan, I.D., Mercado, M. & S. Elliott (2005) A new species of *Notoperla* (Plecoptera: Gripopterygidae) from Chile. *Illiesia*, 1: 33–39.
- McLellan, I.D. & P. Zwick (2007) New species of and keys to South American Gripopterygidae (Plecoptera). *Illiesia*, 3(4): 20–42.
- Meier, R., Shiyang, K., Vaidya, G. & P.K.L. Ng (2006) DNA barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification success. *Syst. Biol.*, 55(5): 715–728.
- Meyer, C.P. & G. Paulay (2005) DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biol.*, 3: 2229–2238.

- Monaghan, M.T., Balke, M., Gregory, T.R. & A. Vogler (2005) DNA-based species delineation in tropical beetles using nuclear and mitochondrial markers. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 360: 1925–1933.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. & H. Erlich (1986) Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 51: 263–273.
- Mynott, J., Webb, J. & P. Suter (2011) Adult and larval associations of the alpine stonefly genus *Riekoperla* McLellan (Plecoptera: Gripopterygidae) using mitochondrial DNA. *Invertebrate Systematics*, 25: 11–21.
- Navás, L. (1934) Família Pérlidos. Pags. 22–23; 160–163. In: Insectos suramericanos. *Revista de la Real Academia de Ciencias de Madrid*, 31.
- Navás, L. (1936). Plecópteros. Pags. 726–732. In: Insectos del Brasil. 5a. Serie. *Revista do Museu Paulista*, 20: 721–734.
- Needham, J.G. (1899) Directions for collecting and rearing dragon flies, stone flies and may flies. *Bulletin of the United States National Museum*, 39: 1–9.
- Needham, J.G. (1901) Aquatic insects in the Adirondacks: Plecoptera. *N.Y. state Mus. Bull.*, 47: 412–418.
- Needham, J.G. (1905) New genera and species of Perlidae. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 18: 107–110.
- Needham, J.G. & E. Broughton (1927) Central American stoneflies, with descriptions of new species. *Journal of the New York Entomological Society*, 35: 109–121.
- Nessimian, J.L., Avelino-Capistrano, F.S., Correia, B.L. & J.M. Costa (2009) Espécies de Plecoptera (Insecta) registradas no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Arquivos do Museu Nacional*, 67(3-4): 313–319.
- Netto, L.E.S. & C.F.M. Menck (2001) Estabilidade do material genético: mutagênese e reparo. Pags. 40–51. In: MATIOLLI, S.R. (Eds.) *Biologia molecular e evolução*. Ribeirão Preto: Editora Holos.

- Novaes, M.C., Bispo, P.C. & J. Higuti (2012) A description of the nymph of *Anacroneuria ofaye* Froehlich (Plecoptera: Perlidae) and a apparatus for rearing Neotropical stonefly species. *Zootaxa*, 3547: 71–77
- Olifiers, M.H. (2005) *Estudo de comunidades de Plecoptera (Insecta) em rios com diferentes condições ambientais no Estado do Rio de Janeiro*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005. 84 pp.
- Olifiers, M.H., Dorvillé, L.F.M., Nessimian J.L. & N. Hamada (2004) A key to Brazilian genera of Plecoptera (Insecta) based on nymphs. *Zootaxa*, 651: 1–15.
- Palumbi, S.R. (1996) Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. Pag. 205–248. In: Hillis, D.M., Moritz, C. & B.K. Mable (eds). *Molecular Systematic*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Park, D.-S., Footitt, R., Maw, E. & P.D.N. Hebert (2011) Barcoding bugs: DNA-based identification of the true bugs (Insecta: Hemiptera: Heteroptera). *PlosOne*, 6(4): e18749 [1-9].
- Pauls, S.U., Blahnik, R.J., Zhou, X., Wardwell, C.T. & R.W. Holzenthal (2010) DNA barcode data confirm new species and reveal cryptic diversity in Chilean *Smicridea* (*Smicridea*) (Trichoptera: Hydropsychidae). *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 29(3): 1058–1074.
- Peckarsky, B.L. & C.A. Cowan (1991) Consequences of larval intraspecific competition to stonefly growth and fecundity. *Oecologia*, 88: 277–288.
- Pereira, J.R. (2010) Caracterização das conexões tróficas da ictiofauna no curso longitudinal do Rio Macaé, RJ. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós -Graduação em Ecologia, iii + 72 pp.
- Pessacq, P. (2008) Descripción del último estadio larval de *Neofulla biloba* (Plecoptera: Notonemouridae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.*, 67(3-4): 59–62.
- Pessacq, P. (2009) A new Gripopterygidae (Plecoptera) species from southern Patagonia. *Zootaxa* 2264: 51–57.
- Poulton, B. (2005) Methods for collection and rearing of stoneflies. Pags. 34 -36. In: DeWalt, E. Poulton, B.C. Alexander, K. & D. Heimdal (Org.). *Plecoptera Technical Workshop*.

Disponível

em:

http://plsa.inhs.uiuc.edu/plecoptera/pdf/NABS_Plecoptera_Workshop_2005.pdf

- Pictet, F.-J. (1841) *Histoire Naturelle Générale et Particulière des Insectes Névroptères. Famille des Perlides*. J. Kessmann, Genève.
- Pires, A.C. & Marinoni, L. (2010) DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. *Biota Neotropica*, 10(2): 339–346.
- Rach, J., Desalle, R., Sarkar, I.N., Schierwater, B. & H. Hadrys (2008) Character-based DNA barcoding allows discrimination of genera, species and populations in Odonata. *Proc Biol Sci.*, 275(1632): 237–247.
- Renaud, A.K., Savage, J. & S.J. Adamowicz (2012) DNA barcoding of Northern Nearctic Muscidae (Diptera) reveals high correspondence between morphological and molecular species limits. *BMC Ecology*, 12(24): 1–15.
- Ribeiro, J.M.F. (2004) *Plecoptera (Insecta) adultos da Reserva Ducke*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Instituto de Pesquisas da Amazônia, INPA/UFAM, 81 pp.
- Ribeiro, J.M.F. & J.A. Rafael (2005) A key to adult Amazonian stonefly genera with new geographical records of *Enderleina* Jewett for Brazil and first description of the *E. froehlichii* Ribeiro-Ferreira female (Insecta: Plecoptera). *Zootaxa*, 1096: 61–67.
- Ribeiro, J.M.F. & J.A. Rafael (2007) Description of one new species and a key to adults of *Macrogynoplax* Enderlein (Plecoptera, Perlidae) from Reserva Florestal Adolpho Ducke, Amazonas, Brazil. *Zootaxa*, 1511: 17–28.
- Ribeiro-Ferreira, A.C. & C.G. Froehlich (1999) New species of *Macrogynoplax* Enderlein 1909 from North Brazil (Plecoptera: Perlidae: Acroneuriinae). *Aquatic Insects*, 21(2): 133–140.
- Ricker, W.E. (1949) The North American species of *Paragnetina* (Plecoptera, Perlidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 42: 279–288.

- Romero, P. & R. Ramirez (2011) Divergência intraespecífica y código de barras de en *Systrophia helicycloides* (Gastropoda, Scolodontidae). *Rev. peru. biol.*, 18(2): 201–208.
- Rosa, D.C.O. (2011) Efeito da retificação de rios sobre as conexões tróficas da ictiofauna em dois rios costeiros de Mata Atlântica (Rio de Janeiro, Brasil). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, PPGE. ix + 88pp.
- Rubinoff, D. (2006) Utility of Mitochondrial DNA Barcodes in Species Conservation. *Conservation Biology*, 20(4): 1026–1033.
- Russo, C.A.M., Miyaki, C.Y. & S.L. Pereira (2001) Reconstrução filogenética: métodos geométricos. Pag. 108–116. In: Matioli, S.R. (Ed.) *Biologia Molecular*. Ribeirão Preto, Editora Holos.
- Saitou, N. & M. Nei (1987) The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Mol. Biol. Evol.* 4(4): 406–425.
- Salles, F. F., R. Boldrini, J. C. M. Nascimento, E. A. Raimundi & Y. F. Shimano (2013) Ephemeroptera do Brasil. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: <https://sites.google.com/site/ephemeropterabr/>
- Šamal, J. (1932) Larva chilské pošvatky *Diamphipnoa virescentipennis* Blanch. – The description of the larva of the Chilean stone-fly *Diamphipnoa virescentipennis* Blanch. (Plecoptera.). *Časopis Československé Společnosti Entomologické*, 29: 59–62.
- Sandberg, J.B. (2011) The *Isoperla* of California (Plecoptera: Perlodidae); larval descriptions and a key to 17 western nearctic species. *Illiesia*, 7(22): 202–258.
- Santos, A. P. M., L. L. Dumas, G. A. Jardim, A. L. R. Silva, and J. L. Nessimian (2013) Brazilian caddisflies: checklists and bibliography. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. Disponível em: <https://sites.google.com/site/braziliancaddisflies>
- Seemann, T.M. (1927) Dragonflies, Mayflies and Stoneflies of Southern California. *Jr. Ent. And Zool.*, 19: 1–70.

- Silveri, L., Tierno-de-Figueroa, J.M. & B. Maiolini (2008) Notes on the nymphal biology of *Nemoura mortoni* Ris 1902 (Plecoptera, Nemouridae) in a high altitude stream (Trentino, Italian Alps). *Zool. baetica*, 19: 51–56,
- Smith, L.W. (1913) The Biology of *Perla immarginata* Say. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 6: 203–211.
- Smith, M.A., Fisher, B.L. & P.D.N. Hebert (2005) DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: The ants of Madagascar. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 360(1462): 1825–1834.
- Smith, M.A., Woodley, N.E., Janzen, D.H., Hallwachs, W. & P.D.N. Hebert (2006) DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103: 3657–3662.
- Smith, P.J., Mcveagh, S.M. & E.D. Steinke (2008) DNA barcoding for the identification of smoked fish products. *J. Fish Biol.*, 72(2): 464–471.
- Stark, B.P. (1989) The genus *Enderleina* (Plecoptera: Perlidae). *Aquatic Insects*, 11(3): 153–160.
- Stark, B.P. (1994) *Anacroneuria* of Trinidad and Tobago (Plecoptera: Perlidae). *Aquatic Insects*, 16(3): 171–175.
- Stark, B.P. (1995) New species and records of *Anacroneuria* (Klapálek) from Venezuela (Insecta, Plecoptera, Perlidae). *Spixiana*, 18(3): 211–249.
- Stark, B.P. (1996) New species of *Macrogynoplax* (Insecta: Plecoptera: Perlidae) from Peru and Guyana. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 109(2): 318–325.
- Stark, B.P. (1998) The *Anacroneuria* of Costa Rica and Panama (Insecta: Plecoptera: Perlidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 111(3): 551–603.
- Stark, B.P. (2001) A synopsis of Neotropical Perlidae (Plecoptera). In: E. Domínguez (Ed.). *Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera*. Kluwer Academic/Plenum, New York.
- Stark, B.P., Froehlich, C.G. & M.C. Zúñiga (2009) *South American Stoneflies (Plecoptera)*. Volume 5. Aquatic Biodiversity in Latin America. Pensoft, Sofia-Moscow. 154 pp.

- Stark, B.P. & B.C. Kondratieff (2004) *Anacroneuria* from Mexico and upper Mesoamerica (Plecoptera: Perlidae). *Monographs of the Western North American Naturalist*, 2: 1–64.
- Stark, B.P. & J.W. Lacey (2005) Larvae of the winter stonefly genus *Allocapnia* (Plecoptera: Capniidae) in Mississippi, USA. *Illiesia*, 1: 10–20.
- Stark, B.P. & P. Zwick (1989) New species of *Macrogynoplax* from Venezuela and Surinam (Plecoptera: Perlidae). *Aquatic Insects*, 11: 247–255.
- Stewart, K.W. & P.P. Harper (1996) Plecoptera. Pags. 217–266. In: Merritt, R.W. & K.W. Cummins (Eds.). *An introduction to the aquatic insects of North America*. Kendall/Hunt Publishing Co., Dubuque, IA. 862 pp.
- Stewart, K.W. & J.B. Sandberg (2004) Description of the nymph and drumming calls of *Megaleuctra complicata* Claassen (Plecoptera: Leuctridae); evolution of drumming in Leuctridae. *Aquatic Insects*, 26(2): 123–129.
- SEMADS (Secretaria de Estado de Meio-Ambiente e Desenvolvimento) (2001) *Bacias Hidrográficas e Rios Fluminenses - Síntese Informativa por Macrorregião Ambiental*. Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento, Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: http://www.ciflorestas.com.br/arquivos/doc_bacias_ambiental_18875.pdf
- Strahler, A.N. (1957) Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Transactions: American Geophysical Union*, 38: 913-920.
- Sweeney, B.W., J.M. Battle & J.K. Jackson (2011) Can DNA barcodes of stream macroinvertebrates improve descriptions of community structure and water quality? *Journal of the North American Benthological Society*, 30: 195–216.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & S. Kumar (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.*, 28: 2731–2739.
- Tavares, E.S., Baker, A.J., Pereira, S.L. & C.Y. Miyaki (2006) Phylogenetic Relationships and Historical Biogeography of Neotropical Parrots (Psittaciformes: Psittacidae: Arini)

- Inferred from Mitochondrial and Nuclear DNA Sequences. *Syst. Biol.*, 55(3): 454–470.
- Taylor, B.W., Anderson, C.R. & B.L. Peckarsky (1998) Effects of size at metamorphosis on stonefly fecundity, longevity, and reproductive success. *Oecologia*, 114: 494–502.
- Teder, T. (2013) Sexual size dimorphism requires a corresponding sex difference in development time: a meta-analysis in insects. *Functional Ecology*, DOI: 10.1111/1365-2435.12172.
- Thompson, J. D., Higgins D. G. & T.J. Gibson (1994) Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673–4680.
- Tierno-de-Figueiroa, J.M. & R. Fochetti (2001) Variabilidad em la venacion alar de *Dictyogenus alpinus* (Pictet, 1842) (Plecoptera, Perlodidae). *Zoologica Baetica*, 12: 185–188.
- Tierno-de-Figueroa, J.M., Gaetani, B., Luzón-Ortega, J. M., López-Rodrigues, M.J. & R. Fochetti (2011) On the identity of *Isoperla curtata* (Plecoptera: Perlodidae): behavioural and molecular approaches show the existence of two separate species. *Zootaxa*, 3000: 49–58.
- Tomanova, S. & P.A. Tedesco (2007) Tamaño corporal, tolerancia ecológica y potencial de bioindicación de la calidad del agua de *Anacroneria* spp. (Plecoptera: Perlidae) en América del Sur. *Rev. biol. Trop.*, 55(1): 67–81.
- Vences, M., Thomas, M., Meijden, A., Chiari, Y. & D.R. Vieites (2005) Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. *Frontiers in Zoology*, 2(5): 1–12.
- Vera, A. (2005A) La ninfa de *Nigroperla costalis* Illies 1964 (Plecoptera: Perlidae: Acroneuriinae) y clave para ninfas de los géneros de Perlidae presentes en Chile. *Acta Entomológica Chilena*, 29(2): 7–13.
- Vera, A. (2005B) Los estados ninfales de *Limnoperla* Illies 1963 y *Rhithroperla* Illies 1963 (Plecoptera: Gripopterygidae, Gripopteryginae). *Revista Chilena de Entomología*, 31: 5–12.

- Vera, A. (2006A) Una nueva especie de *Teutoberla* Illies, 1963 para Chile: *Teutoberla maulina* n. sp. (Plecoptera: Gripopterygidae), con comentarios sobre su biología. *Acta Entomológica Chilena*, 30(1): 29–38.
- Vera, A. (2006B) Una nueva especie de Gripopterygidae de Chile, *Potamoperla testacea* n.sp. (Insecta: Plecoptera). *Gayana*, 70(2): 168–175.
- Vera, A. (2006C) Redescubrimiento de *Neopentura semifusca* Illies 1965 (Plecoptera: Gripopterygidae), descripción del imago macho, redesccripción de la hembra y la ninfa. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 65(3–4): 69–77.
- Vera, A. (2007) Descripción de la ninfa de *Araucanioperla bullocki* (Navás, 1933) (Plecoptera: Gripopterygidae). *Acta Entomológica Chilena*, 31(1): 15–22.
- Vera, R. (2010) Mutações: A aleatoriedade em sua essência. *Blog Evolucionismo*. Disponível em: <http://evolucionismo.org/> Acesso em: 20/01/2013.
- Virgilio, M., Backeljau, T., Nevado, B. & M. Meyer (2010) Comparative performances of DNA barcoding across insect orders. *Bioinformatics*, 11: 1–10.
- Walker, F. (1852) Perlides. Pags. 136–192. In: *Catalogue of the specimens of neuropterous insects in the collection of the British Museum*. Part I. (Phryganides – Perlides). 192 pp.
- Weiss, S., Stradner, D. & W. Graf (2012) Molecular systematics, evolution and zoogeography of the stonefly genus *Siphonoperla* (Insecta: Plecoptera, Chloroperlidae). *J Zool Syst Evol Res*, 50(1): 19–29.
- Wiemers, M. & K. Fiedler (2007) Does the DNA barcoding gap exist? – a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Frontiers in Zoology*, 4(8): 1–16.
- Wright, T.F., Schirtzinger, E.E., Matsumoto, T., Eberhard, J.R., Graves, G., Sanchez, J.J., Capelli, S., Müller, H., Scharpegge, J., Chambers, G.K. & R.C. Fleischer (2008). A multi-locus molecular phylogeny of parrots (Psittaciformes): support for Gondwanan origin during the Cretaceous. *Mol. Biol. Evol.*, 25: 2141–2156.
- Wu, C.F. (1923) Morphology, anatomy and ethology of *Nemoura*. *Bull. Lloyd. Libr. No 23. Ent. Ser.*, 3: 1–81.

- Zhiltzova, L.A., Cherchesova, S.K. & I.E. Dzhioeva (2012) Description of the larva of the Caucasian species *Protonemura microstyla* Martynov (Plecoptera, Nemouridae). *Illiesia*, 8(17): 158–161.
- Zhou, X., Kjer, K.M. & J.C. Morse (2007) Associating larvae and adults of Chinese Hydropsychidae caddisflies (Insecta: Trichoptera) using DNA sequences. *Journal of the North American Benthological Society*, 26: 719–742.
- Zhou, X., Adamowicz, S.J., Jacobus, L.M., DeWalt, R.E. & P.D.N. Hebert (2009) Towards a comprehensive barcode library for arctic life - Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera of Churchill, Manitoba, Canada. *Frontiers in Zoology*, 6(30): 1–9.
- Zhou, X., Jacobus, L.M., DeWalt, R.E., Adamowicz, S.J., Hebert, P.D.N. (2010) The Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera fauna of Churchill (Manitoba, Canada): insights into biodiversity patterns from DNA barcoding. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(3): 814–837.
- Zwick, P. (1972) Die Plecopteren Pictets und Burmeisters, mit Angaben über weitere Arten (Insecta). *Revue Suisse de Zoologie*, 78(4): 1123–1194.
- Zwick, P. (1973A) Die Plecopteren-Arten Enderleins (Insecta); Revision der Typen. *Annales Zoologici*, 30(16): 471–507.
- Zwick, P. (1973B) *Insecta: Plecoptera Phylogenetisches System und Katalog*. Das Tierreich, Walter de Gruyter & Co., Berlin, 94: xxxii+465 pp.
- Zwick, P. (1983) *Eutactophlebia*, a synonym of *Kempnyia* (Plecoptera: Perlidae). *Aquatic Insects*, 5(3): 177–180.
- Zwick, P. (2000). Phylogenetic System and Zoogeography of the Plecoptera, *Annu.Rev. Entomol.*, 45: 709–746.

ANEXO I. Lista de material testemunho de extração de DNA com informações do local de origem e da coleção de referência onde houve o depósito. Exemplares marcados com um asterisco (*) ainda não foram tombados.

| Voucher | Táxon | Localidade de Origem | Registro no GenBank | Nº de Tombo |
|---------|------------------------------------|---|---------------------|-------------|
| ENT083 | <i>Kempnyia petersorum</i> ♂ | RB35. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#1595 |
| ENT086 | <i>Kempnyia petersorum</i> ♂ | SA15. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#1593 |
| ENT087 | <i>Kempnyia petersorum</i> ♂ | SA15. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#1593 |
| ENT135 | <i>Kempnyia petersorum</i> ♀ | SA15. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#1647 |
| ENT136 | <i>Kempnyia petersorum</i> ♂ | SA15. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#1592 |
| ENT138 | <i>Kempnyia</i> sp.01N | L11. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1597 |
| ENT152 | <i>Kempnyia</i> sp.02N | MC01. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#1600 |
| ENT153 | <i>Kempnyia</i> sp.03N | RB27. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1602 |
| ENT155 | <i>Kempnyia</i> sp.04N | RM02. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#1605 |
| ENT156 | <i>Anacroneuria debilis</i> ♂ | SA11. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#1634 |
| ENT157 | <i>Anacroneuria flintorum</i> ♂ | RB35. RJ, Casimiro de Abreu | | DZRJ#1635 |
| ENT160 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N | RM05. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#2470 |
| ENT165 | <i>Anacroneuria</i> sp.03N | SA01. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#2492 |
| ENT167 | <i>Anacroneuria</i> sp.03N | SA15. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#2491 |
| ENT168 | <i>Anacroneuria</i> sp.04N | SA15. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#2491 |
| ENT185 | <i>Kempnyia</i> sp.06N | SP07. RJ, Macaé, Glicério | | DZRJ#2624 |
| ENT186 | <i>Kempnyia</i> sp.06N | RB20. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#2613 |
| ENT188 | <i>Kempnyia gracilentia</i> ♀ | MC01. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#2200 |
| ENT189 | <i>Kempnyia</i> sp.05N | MC01. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#2598 |
| ENT239 | <i>Kempnyia jatim</i> ♀ | SP, São José do Barreiro | | DZRJ#2942 |
| ENT240 | <i>Kempnyia jatim</i> ♂ | SP, São José do Barreiro | | DZRJ#2942 |
| ENT242 | <i>Kempnyia neotropica</i> ♂ | SP, Salesópolis | | DZRJ#3079 |
| ENT243 | <i>Kempnyia petersorum</i> ♂ | RJ, Petrópolis | | DZRJ#2866 |
| ENT246 | <i>Kempnyia neotropica</i> ♂ | PR, Morretes | | DZRJ#2973 |
| ENT247 | <i>Kempnyia colossica</i> ♂ | SP, São José do Barreiro | | DZRJ#3057 |
| ENT252 | <i>Kempnyia obtusa</i> ♂ | RJ, Petrópolis | | DZRJ#2865 |
| ENT253 | <i>Anacroneuria itatiaiensis</i> ♂ | MC01. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#3062 |
| ENT275 | <i>Kempnyia obtusa</i> ♂ | MG, Alto Caparaó | | DZRJ#3060 |
| ENT277 | <i>Kempnyia gracilentia</i> ♂ | ES, Castelo | | DZRJ#2923 |
| ENT278 | <i>Kempnyia obtusa</i> ♂ | SP, São José do Barreiro | | DZRJ#2826 |
| ENT280 | <i>Kempnyia obtusa</i> ♂ | MG, Itabirito | | DZRJ#2869 |
| ENT282 | <i>Kempnyia varipes</i> ♂ | RJ, Teresópolis | | DZRJ#1589 |
| ENT286 | <i>Macrogynoplax</i> sp.01N | RB21. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#2621 |
| ENT290 | <i>Paragripopteryx curupira</i> ♂ | MC01. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#3091 |
| ENT291 | <i>Tupiperla tessellata</i> ♂ | MC06. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#1679 |
| ENT292 | <i>Guaranyperla guapiara</i> | RJ, Nova Friburgo | | ***** |
| ENT346 | <i>Anacroneuria</i> sp.03♀ | RB23. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#1859 |
| ENT348 | <i>Anacroneuria</i> sp.05♀ | RB32. RJ, Casimiro de Abreu | | DZRJ#1942 |

ANEXO I (Cont.). Lista de material testemunho de extração de DNA com informações do local de origem e da coleção de referência onde houve o depósito. Exemplares marcados com um asterisco (*) ainda não foram tombados.

| Voucher | Táxon | Localidade de Origem | Registro no GenBank | Nº de Tombo |
|---------|------------------------------------|---|---------------------|-------------|
| ENT349 | <i>Anacroneuria sp.06</i> ♀ | SA02. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#1860 |
| ENT350 | <i>Anacroneuria sp.07</i> ♀ | RB09. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#1806 |
| ENT351 | <i>Anacroneuria sp.07</i> ♀ | SP01. RJ, Macaé, Glicério | | DZRJ#1857 |
| ENT352 | <i>Anacroneuria sp.06</i> ♀ | RB09. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#1813 |
| ENT353 | <i>Anacroneuria debilis</i> ♂ | SA15. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#1642 |
| ENT354 | <i>Anacroneuria sp.01</i> ♀ | RB04. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1805 |
| ENT355 | <i>Anacroneuria sp.02</i> ♀ | RB28. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1817 |
| ENT356 | <i>Anacroneuria sp.02</i> ♀ | RB03. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1809 |
| ENT358 | <i>Anacroneuria sp.10</i> ♀ | RB05. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1815 |
| ENT415 | <i>Kempnyia alterosorum</i> ♂ | MG, Itabirito | | DZRJ#2704 |
| ENT416 | <i>Kempnyia colossica</i> ♂ | MC02. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#3117 |
| ENT418 | <i>Kempnyia petersorum</i> ♂ | SA15. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#1594 |
| ENT419 | <i>Kempnyia reticulata</i> ♂ | ES, Santa Teresa | | MN#666 |
| ENT486 | <i>Anacroneuria sp.06N</i> | RB14. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#2635 |
| ENT487 | <i>Anacroneuria sp.09N</i> | RB05. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#2472 |
| ENT490 | <i>Anacroneuria sp.08N</i> | MC01. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#2711 |
| ENT491 | <i>Anacroneuria sp.08N</i> | RM02. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#2556 |
| ENT492 | <i>Anacroneuria sp.09N</i> | MC12. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#2710 |
| ENT494 | <i>Anacroneuria sp.11N</i> | SA12. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#2045 |
| ENT498 | <i>Anacroneuria sp.11</i> ♀ | RB22. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1913 |
| ENT499 | <i>Anacroneuria sp.11</i> ♀ | RB06. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1919 |
| ENT500 | <i>Anacroneuria sp.09</i> ♀ | L06. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1929 |
| ENT501 | <i>Anacroneuria sp.08</i> ♀ | SP06. RJ, Macaé, Crubixás de Cima | | DZRJ#1893 |
| ENT502 | <i>Anacroneuria sp.09</i> ♀ | RB21. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#2054 |
| ENT556 | <i>Anacroneuria fuscicosta</i> ♂ | MG, Santana do Ribeiro | | DZRJ#1613 |
| ENT558 | <i>Anacroneuria sp.01</i> ♂ | PI, Piracuruca | | ***** |
| ENT559 | <i>Anacroneuria sp.</i> ♀ | PI, Piracuruca | | ***** |
| ENT560 | <i>Gripopteryx sp.01</i> | RB07. RJ, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#2610 |
| ENT561 | <i>Gripopteryx flinti</i> ♀ | RB21. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#1720 |
| ENT563 | <i>Gripopteryx pilosa</i> ♂ | MC01. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#3041 |
| ENT568 | <i>Gripopteryx garbei</i> ♀ | SA01. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#1710 |
| ENT569 | <i>Gripopteryx maculosa</i> ♂ | ES, Santa Teresa | | DZRJ#2914 |
| ENT570 | <i>Gripopteryx reticulata</i> ♂ | MG, Itamonte | | DZRJ#1656 |
| ENT571 | <i>Anacroneuria sp.12</i> ♀ | SP, São José do Barreiro | | DZRJ#3296 |
| ENT572 | <i>Anacroneuria vanini</i> ♂ | SP, São José do Barreiro | | ***** |
| ENT573 | <i>Anacroneuria sp.12</i> ♀ | SP, São José do Barreiro | | DZRJ#3301 |
| ENT574 | <i>Anacroneuria boraceiensis</i> ♂ | SP, São José do Barreiro | | DZRJ#3316 |
| ENT575 | <i>Anacroneuria paulina</i> ♂ | SP, São José do Barreiro | | DZRJ#3305 |

ANEXO I (Cont.). Lista de material testemunho de extração de DNA com informações do local de origem e da coleção de referência onde houve o depósito. Exemplares marcados com um asterisco (*) ainda não foram tombados.

| Voucher | Táxon | Localidade de Origem | Registro no GenBank | Nº de Tombo |
|---------|------------------------------------|---|---------------------|-------------|
| ENT576 | <i>Anacroneuria debilis</i> ♂ | RJ, Itatiaia | | ***** |
| ENT577 | <i>Gripopteryx maculosa</i> ♀ | RJ, Itatiaia | | ***** |
| ENT578 | <i>Gripopteryx maculosa</i> ♂ | RJ, Itatiaia | | DZRJ#3287 |
| ENT579 | <i>Gripopteryx juetah</i> ♀ | MG, Bocaina de Minas | | DZRJ#3287 |
| ENT580 | <i>Gripopteryx juetah</i> ♀ | MG, Bocaina de Minas | | DZRJ#3287 |
| ENT582 | <i>Gripopteryx coruja</i> ♀ | SP, São José do Barreiro | | ***** |
| ENT585 | <i>Anacroneuria boraceiensis</i> ♂ | SP, São José do Barreiro | | ***** |
| ENT586 | <i>Kempnyia flava</i> ♂ | MG, Alto Caparaó | | ***** |
| ENT587 | <i>Gripopteryx brasiliensis</i> ♂ | PR, Morretes | | DZRJ#2976 |
| ENT588 | <i>Gripopteryx reticulata</i> ♂ | MG, Alto Caparaó | | DZRJ#2856 |
| ENT589 | <i>Gripopteryx pinima</i> ♂ | PR, Guaraqueçaba | | DZRJ#3069 |
| ENT591 | <i>Gripopteryx</i> sp.02N | L07. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#2461 |
| ENT592 | <i>Gripopteryx</i> sp.03N | SP05. RJ, Macaé, Crubixás de Cima | | DZRJ#2433 |
| ENT593 | <i>Gripopteryx cancellata</i> N | SP03. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#2443 |
| ENT595 | <i>Tupiperla modesta</i> ♀ | ES, Castelo | | DZRJ#2922 |
| ENT598 | <i>Tupiperla umbya</i> ♂ | MG, Itabirito | | DZRJ#2701 |
| ENT605 | <i>Tupiperla modesta</i> ♂ | ES, Castelo | | DZRJ#2222 |
| ENT609 | <i>Tupiperla tessellata</i> ♀ | RM02. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#3131 |
| ENT612 | <i>Tupiperla</i> sp.01N | SA12. RJ, Macaé, Sana | | DZRJ#2415 |
| ENT976 | <i>Anacroneuria mantiqueirae</i> ♂ | RB07. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | ***** |
| ENT979 | <i>Anacroneuria</i> sp.10N | RM02. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#3153 |
| ENT980 | <i>Anacroneuria ipiau</i> ♂ | RJ, Paraty | | DZRJ#3415 |
| ENT981 | <i>Anacroneuria debilis</i> ♂ | RB21. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#2675 |
| ENT984 | <i>Anacroneuria mantiqueirae</i> ♂ | RM02. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#3145 |
| ENT986 | <i>Anacroneuria</i> sp.02N | RB21. RJ, Nova Friburgo, Rio Bonito de Lumiar | | DZRJ#2533 |
| ENT990 | <i>Anacroneuria minuta</i> ♀ | PA, Carajás | | DZRJ#880 |
| ENT991 | <i>Anacroneuria polita</i> ♂ | PR, Morretes | | DZRJ#2979 |
| ENT997 | <i>Tupiperla tessellata</i> ♂ | MC06. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#1678 |
| ENT999 | <i>Anacroneuria</i> sp.12N | CE, Ubajara | | ***** |
| ENT1000 | <i>Kempnyia jatim</i> ♂ | ES, Dores do Rio Preto | | ***** |
| ENT1048 | <i>Anacroneuria toriba</i> ♂ | L04. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#2673 |
| ENT1053 | <i>Anacroneuria</i> sp.08♀ | MC01. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#3413 |
| ENT1058 | <i>Tupiperla barbosai</i> ♂ | RJ, Teresópolis | | ***** |
| ENT1059 | <i>Guaranyperla</i> sp.♀ | RJ, Teresópolis | | ***** |
| ENT1183 | <i>Kempnyia petersorum</i> ♂ | PR, Morretes | | DZRJ#2973 |
| ENT1184 | <i>Kempnyia petersorum</i> ♂ | PR, Morretes | | DZRJ#2973 |
| ENT1194 | <i>Kempnyia</i> sp.03N | MC05. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#2627 |
| ENT1195 | <i>Kempnyia</i> sp.03N | MC05. RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima | | DZRJ#2627 |

ANEXO I (Cont.). Lista de material testemunho de extração de DNA com informações do local de origem e da coleção de referência onde houve o depósito. Exemplares marcados com um asterisco (*) ainda não foram tombados.

| Voucher | Táxon | Localidade de Origem | Registro no GenBank | Nº de Tombo |
|----------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------|--------------------|
| ENT1196 | <i>Kempnyia</i> sp.03N | RB27. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1601 |
| ENT1197 | <i>Kempnyia</i> sp.03N | RB27. RJ, Nova Friburgo, Lumiar | | DZRJ#1601 |
| ENT1198 | <i>Kempnyia obtusa</i> ♂ | RJ, Petrópolis | | ***** |
| ENT1202 | <i>Paragripopteryx guardae</i> ♂ | SP, Ubatuba | | DZRJ#1591 |
| ENT1206 | <i>Paragripopteryx analuciaae</i> ♂ | RB18. RJ, Nova Friburgo, Cascata | | DZRJ#1688 |
| ENT1207 | <i>Gripopteryx garbei</i> ♀ | RJ, Rio de Janeiro | | ***** |
| ENT1208 | <i>Gripopteryx garbei</i> ♂ | RJ, Rio de Janeiro | | ***** |
| ENT1209 | <i>Anacroneuria</i> sp.01♂ | CE, Ubajara | | ***** |
| ENT1210 | <i>Anacroneuria</i> sp.01♂ | CE, Ubajara | | ***** |
| ENT1211 | <i>Anacroneuria</i> sp.13♀ | CE, Ubajara | | ***** |

ANEXO II . Lista de material adicional examinado, testemunho de extração de DNA, não associados à exemplares da Bacia do Rio Macaé.

Gripopterygidae

***Gripopteryx* (Pictet)**

***Gripopteryx brasiliensis* (Samal, 1921)** – BR. PR. Morretes. Serra da Graciosa, Cachoeira do Rio Grota Funda, 25°20'26,10S 48°53'41,20"O, 657 m, 24.i.2011, 1♂(#2976*ENT587), Col. Braga, RB, Nessimian, JL, Dumas, LL, Takiya, DM & APM Santos.

***Gripopteryx juetah* Froehlich, 1990** – BR. MG. Bocaina de Minas. Toca da Raposa, Ribeirão Santa Clara, 22°18'24,70"S 44°35'50,10"O, 1294 m, 27.i.2012, 1♂1♀(#3287*ENT579/ENT580), Col. ALH Oliveira, BHL Sampaio & SPGomes.

***Gripopteryx maculosa* Jewett, 1960** – BR. RJ. Itatiaia, Parque Nacional de Itatiaia, Portaria, Rio Campo Belo, 22°23'11,30"S 44°40'40,10"O, 2388 m, 05.xi.2011, 1♂1♀(#3515*ENT577/ENT578), Col. JL Nessimian.

***Paragripopteryx* Enderlein**

***Paragripopteryx guardae* Froehlich, 1994** – BR. SP. Ubatuba. Parque Nacional da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Praia da Fazenda, Corrego caindo do costão, 06.x.2010, 1♂(#1703*ENT1202), Col. APM Santos.

***Paragripopteryx* sp.01♂** - BR. ES. Dores do Rio Preto. Parque Nacional da Serra do Caparaó, Pedra Menina, Afluente do rio Preto, 20°29'26,20"S 41°49'17,10"O, 1507 m, 07.i.2013, 1♂ (#3439*ENT1204), Col. ALH Oliveira.

***Tupiperla* Froehlich**

***Tupiperla barbosai* Avelino-Capistrano & Nessimian, 2013** – BR. RJ. Teresópolis. Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio Paquequer, Ponte, 22°27'25,05"S 42°59'51,80"O, 1112 m, 15-18.x.2011, 1♂ (#3465*ENT1058), Malaise, Col. DM Takiya.

***Tupiperla modesta* Froehlich, 1998** – BR. ES. Castelo. Parque Estadual do Forno Grande, Afluente do Rio Caxixe, 20°31'05,60"S 41°05'09,00"O, 1156 m, 1♂1♀ (#2922*ENT595/ ENT605), Col. Dumas, LL, Nessimian, JL, Jardim, GA & LFL Silveira.

***Tupiperla umbya* Froehlich, 1998** – BR. MG. Itabirito. Vale da Catana, Cachoeira da Carranca, 20°12'26,00"S 43°38'24,80"O, 1046 m, 1♂ (#2701*ENT598), Col. Dumas, LL, Oliveira, ALH, Gomçalves, IC, Silva, ALR & JL Nessimian.

Perlidae

Anacroneuria Klapálek

Anacroneuria fuscicosta (Enderlein, 1909) – BR. MG. Santana do Riacho. Serra do Cipó, Rio Cipó, Cachoeira Grande, 19°20'51,20"S 43°38'03,50"O, 795 m, 21.iv.2010, 1♂ (#1613*ENT556), Col. Dumas, LL, Takiya, DM & APM Santos.

Anacroneuria paulina (Navás, 1936) – BR. SP. São José do Barreiro. Parque Nacional da Serra do Bocaina, Rio Mambucaba, Cachoeira das Posses, 22°46'28,20"S 44°36'06,90"O, 1233 m, 13.iv.2012, 3♂ (#3305*ENT575), Col. Santos, APM, Dumas, LL, Clarkson, B, Nessimian, JL & MR Souza.

Anacroneuria polita (Burmeister, 1839) – BR. PR. Morretes. Porto de Cima, Rio Nhundiaquara, 25°25'01,50"S 48°54'04,30"O, 89 m, 24.i.2011, 10♂ (#2929*ENT991), Col. Braga, RB, Nessimian, JL, Dumas, LL, Takiya, DM & APM Santos.

Anacroneuria vanini Froehlich, 2004 – BR. SP. São José do Barreiro. Parque Nacional da Serra do Bocaina, Estrada para o Pico do Chapéu, Rio Mambucaba, 18.xii.2010, 22°43'38,00"S 44°37'56,40"O, 1529 m, 1♂ (ENT572), Col. Dumas, LL, Souza, MR, ALH Oliveira & JL Nessimian.

Anacroneuria sp. 12♀ - BR. SP. São José do Barreiro. Parque Nacional da Serra do Bocaina, Rio Mambucaba, Cachoeira das Posses, 22°46'28,20"O 44°36'06,90", 1233 m, 13.iv.2012, 1♀ (3296*ENT571), Col. Souto, PM, Souza, MR, Duarte, LCC & N Ferreira-Jr. BR. SP. São José do Barreiro. Parque Nacional da Serra do Bocaina, Lajeado, Córrego da Floresta, Cachoeira do Paredão, 22°43'33,30"S 44°37'17,60", 1540 m, 12.iv.2012, 1♀ (3301*ENT573), Col. Souto, PM, Souza, MR, Duarte, LCC & N Ferreira-Jr.

Kempnyia Klapálek

Kempnyia flava Klapálek, 1916 – BR. MG. Alto Caparaó. Parque Nacional do Caparaó, Vale Verde, riacho 2a. Ordem afluyente do Rio Caparaó, 20°25'09,70"S 41°50'47,50"O, 1364 m, 23.iii.2012, 1♂ (#3405*ENT586), Col. Oliveira, ALH, Jardim, GA, Carvalho, RA & JL Nessimian.

Kempnyia neotropica (Jacobson & Bianchi, Klapálek, 1905) – BR. SP. Salesópolis. Estação Biológica de Boracéia, Ponte Sobre o Rio Guaratuba, 23°40'05,10"S 45°53'57,70"O, 800 m, 28.i.2011, 4♂ (#3079*ENT242), Col. Santos, APM, Takiya, DM, Nessimian, JL, Dumas, LL & RB Braga.

ANEXO III. Distâncias K2P de sequências de COI de Gripopterygidae e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--|--------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|--------|--------|
| | ENT160 | ENT136 | ENT292 | ENT1059 | ENT1058 | ENT605 | ENT595 | ENT290 | ENT1202 | ENT1204 | ENT1206 | ENT598 | ENT291 |
| 1 <i>A. debilis</i> ♂ ENT160 | | | | | | | | | | | | | |
| 2 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | 0,285 | | | | | | | | | | | | |
| 3 <i>G. guapiara</i> ♀ ENT292 | 0,312 | 0,258 | | | | | | | | | | | |
| 4 <i>Tupiperla</i> sp.♀ ENT1059 | 0,310 | 0,259 | 0,005 | | | | | | | | | | |
| 5 <i>T. barbosai</i> ♂ ENT1058 | 0,291 | 0,262 | 0,048 | 0,049 | | | | | | | | | |
| 6 <i>T. modesta</i> ♂ ENT605 | 0,263 | 0,297 | 0,179 | 0,179 | 0,179 | | | | | | | | |
| 7 <i>T. modesta</i> ♀ ENT595 | 0,263 | 0,297 | 0,179 | 0,179 | 0,182 | 0,002 | | | | | | | |
| 8 <i>P. curupira</i> sp.n.♂ ENT290 | 0,249 | 0,312 | 0,198 | 0,205 | 0,204 | 0,221 | 0,221 | | | | | | |
| 9 <i>P. guardae</i> ♂ ENT1202 | 0,273 | 0,283 | 0,200 | 0,201 | 0,173 | 0,201 | 0,203 | 0,172 | | | | | |
| 10 <i>Paragripopteryx</i> sp.01♂ ENT1204 | 0,265 | 0,315 | 0,185 | 0,192 | 0,177 | 0,189 | 0,192 | 0,176 | 0,135 | | | | |
| 11 <i>P. analucia</i> sp.n.♂ ENT1206 | 0,288 | 0,315 | 0,232 | 0,230 | 0,213 | 0,216 | 0,219 | 0,232 | 0,197 | 0,175 | | | |
| 12 <i>T. umbya</i> ♂ ENT598 | 0,264 | 0,280 | 0,215 | 0,216 | 0,196 | 0,197 | 0,200 | 0,235 | 0,187 | 0,202 | 0,223 | | |
| 13 <i>T. tessellata</i> ♂ ENT291 | 0,278 | 0,280 | 0,193 | 0,197 | 0,184 | 0,207 | 0,210 | 0,219 | 0,187 | 0,184 | 0,200 | 0,036 | |
| 14 <i>T. tessellata</i> ♀ ENT609 | 0,278 | 0,280 | 0,193 | 0,197 | 0,184 | 0,207 | 0,210 | 0,219 | 0,187 | 0,184 | 0,200 | 0,036 | 0,000 |
| 15 <i>T. tessellata</i> ♂ ENT997 | 0,300 | 0,308 | 0,197 | 0,201 | 0,197 | 0,215 | 0,217 | 0,231 | 0,210 | 0,204 | 0,214 | 0,050 | 0,019 |
| 16 <i>Tupiperla</i> sp.01N ENT612 | 0,276 | 0,281 | 0,195 | 0,198 | 0,185 | 0,202 | 0,205 | 0,220 | 0,188 | 0,185 | 0,204 | 0,034 | 0,002 |
| 17 <i>G. garbei</i> ♂ ENT1207 | 0,263 | 0,265 | 0,218 | 0,209 | 0,206 | 0,244 | 0,246 | 0,223 | 0,223 | 0,244 | 0,229 | 0,215 | 0,206 |
| 18 <i>G. Garbei</i> ♀ ENT1208 | 0,263 | 0,266 | 0,219 | 0,210 | 0,203 | 0,244 | 0,247 | 0,224 | 0,224 | 0,241 | 0,226 | 0,212 | 0,203 |
| 19 <i>G. garbei</i> ♀ ENT568 | 0,271 | 0,263 | 0,215 | 0,206 | 0,209 | 0,238 | 0,241 | 0,231 | 0,227 | 0,241 | 0,226 | 0,212 | 0,199 |
| 20 <i>Gripopteryx</i> sp.01♀ ENT561 | 0,305 | 0,313 | 0,266 | 0,257 | 0,235 | 0,254 | 0,256 | 0,238 | 0,252 | 0,235 | 0,207 | 0,231 | 0,232 |
| 21 <i>Gripopteryx</i> sp.01N ENT560 | 0,299 | 0,304 | 0,263 | 0,254 | 0,232 | 0,247 | 0,250 | 0,229 | 0,249 | 0,229 | 0,205 | 0,222 | 0,222 |
| 22 <i>Gripopteryx</i> sp.06N ENT593 | 0,304 | 0,256 | 0,217 | 0,221 | 0,221 | 0,244 | 0,251 | 0,234 | 0,260 | 0,238 | 0,267 | 0,194 | 0,191 |
| 23 <i>G. maculosa</i> ♂ ENT577 | 0,296 | 0,289 | 0,249 | 0,247 | 0,226 | 0,234 | 0,234 | 0,222 | 0,222 | 0,203 | 0,198 | 0,200 | 0,194 |
| 24 <i>G. maculosa</i> ♀ ENT578 | 0,305 | 0,302 | 0,255 | 0,253 | 0,228 | 0,237 | 0,244 | 0,218 | 0,218 | 0,209 | 0,207 | 0,203 | 0,197 |
| 25 <i>G. juetah</i> ♂ ENT579 | 0,273 | 0,294 | 0,215 | 0,213 | 0,203 | 0,213 | 0,216 | 0,234 | 0,230 | 0,199 | 0,207 | 0,213 | 0,210 |
| 26 <i>G. juetah</i> ♀ ENT580 | 0,273 | 0,298 | 0,215 | 0,213 | 0,197 | 0,213 | 0,216 | 0,234 | 0,230 | 0,193 | 0,200 | 0,206 | 0,204 |
| 27 <i>G. pilosa</i> ♂ ENT563 | 0,259 | 0,309 | 0,221 | 0,219 | 0,206 | 0,227 | 0,229 | 0,231 | 0,250 | 0,202 | 0,197 | 0,212 | 0,210 |
| 28 <i>Gripopteryx</i> sp.02♀ ENT582 | 0,273 | 0,302 | 0,228 | 0,225 | 0,216 | 0,207 | 0,209 | 0,251 | 0,254 | 0,189 | 0,194 | 0,213 | 0,207 |
| 29 <i>Gripopteryx</i> sp.02N ENT591 | 0,280 | 0,336 | 0,227 | 0,231 | 0,228 | 0,218 | 0,221 | 0,257 | 0,240 | 0,197 | 0,215 | 0,214 | 0,204 |
| 30 <i>G. coruja</i> ♂ ENT569 | 0,276 | 0,325 | 0,222 | 0,226 | 0,226 | 0,214 | 0,216 | 0,251 | 0,241 | 0,196 | 0,207 | 0,219 | 0,207 |
| 31 <i>G. brasiliensis</i> ♂ ENT587 | 0,292 | 0,274 | 0,228 | 0,235 | 0,212 | 0,231 | 0,234 | 0,221 | 0,255 | 0,221 | 0,234 | 0,216 | 0,210 |

ANEXO III (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de Griopterygidae e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|-------------|--|--------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|--------|--------|
| | | ENT160 | ENT136 | ENT292 | ENT1059 | ENT1058 | ENT605 | ENT595 | ENT290 | ENT1202 | ENT1204 | ENT1206 | ENT598 | ENT291 |
| 32 | <i>G. reticulata</i>♂ ENT588 | 0,276 | 0,264 | 0,230 | 0,238 | 0,221 | 0,231 | 0,234 | 0,254 | 0,227 | 0,223 | 0,229 | 0,225 | 0,219 |
| 33 | <i>G. reticulata</i>♀ ENT570 | 0,305 | 0,270 | 0,231 | 0,238 | 0,228 | 0,241 | 0,244 | 0,272 | 0,234 | 0,257 | 0,252 | 0,219 | 0,219 |
| 34 | <i>Griopteryx</i> sp.03N ENT592 | 0,293 | 0,281 | 0,224 | 0,231 | 0,215 | 0,241 | 0,244 | 0,265 | 0,234 | 0,243 | 0,241 | 0,219 | 0,213 |

ANEXO III (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de Gripopterygidae e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
|-------------|---|--------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | ENT609 | ENT997 | ENT612 | ENT1207 | ENT1208 | ENT568 | ENT561 | ENT560 | ENT593 | ENT577 | ENT578 | ENT579 | ENT580 | ENT563 |
| 1 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT160 | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | <i>G. guapiara</i> ♀ ENT292 | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | <i>Tupiperla</i> sp. ♀ ENT1059 | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | <i>T. barbosai</i> ♂ ENT1058 | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | <i>T. modesta</i> ♂ ENT605 | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | <i>T. modesta</i> ♀ ENT595 | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | <i>P. curupira</i> sp.n. ♂ ENT290 | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | <i>P. guardae</i> ♂ ENT1202 | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | <i>Paragripopteryx</i> sp.01 ♂ ENT1204 | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | <i>P. analucia</i> sp.n. ♂ ENT1206 | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | <i>T. umbya</i> ♂ ENT598 | | | | | | | | | | | | | |
| 13 | <i>T. tessellata</i> ♂ ENT291 | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | <i>T. tessellata</i> ♀ ENT609 | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | <i>T. tessellata</i> ♂ ENT997 0,019 | | | | | | | | | | | | | |
| 16 | <i>Tupiperla</i> sp.01N ENT612 0,002 0,017 | | | | | | | | | | | | | |
| 17 | <i>G. garbei</i> ♂ ENT1207 0,206 0,226 0,207 | | | | | | | | | | | | | |
| 18 | <i>G. Garbei</i> ♀ ENT1208 0,203 0,223 0,204 0,000 | | | | | | | | | | | | | |
| 19 | <i>G. garbei</i> ♀ ENT568 0,199 0,220 0,200 0,005 0,005 | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | <i>Gripopteryx</i> sp.01 ♀ ENT561 0,232 0,233 0,229 0,221 0,218 0,218 | | | | | | | | | | | | | |
| 21 | <i>Gripopteryx</i> sp.01N ENT560 0,222 0,224 0,220 0,221 0,218 0,218 0,012 | | | | | | | | | | | | | |
| 22 | <i>Gripopteryx</i> sp.06N ENT593 0,191 0,198 0,192 0,211 0,212 0,215 0,191 0,183 | | | | | | | | | | | | | |
| 23 | <i>G. maculosa</i> ♂ ENT577 0,194 0,202 0,198 0,185 0,186 0,185 0,191 0,182 0,193 | | | | | | | | | | | | | |
| 24 | <i>G. maculosa</i> ♀ ENT578 0,197 0,205 0,201 0,182 0,182 0,181 0,194 0,185 0,190 0,012 | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | <i>G. juetah</i> ♂ ENT579 0,210 0,225 0,208 0,178 0,179 0,184 0,200 0,188 0,191 0,173 0,163 | | | | | | | | | | | | | |
| 26 | <i>G. juetah</i> ♀ ENT580 0,204 0,218 0,201 0,178 0,176 0,184 0,193 0,181 0,191 0,173 0,163 0,005 | | | | | | | | | | | | | |
| 27 | <i>G. pilosa</i> ♂ ENT563 0,210 0,221 0,207 0,188 0,185 0,197 0,193 0,181 0,194 0,179 0,172 0,048 0,043 | | | | | | | | | | | | | |
| 28 | <i>Gripopteryx</i> sp.02 ♀ ENT582 0,207 0,225 0,205 0,203 0,201 0,197 0,190 0,178 0,211 0,173 0,166 0,038 0,033 0,043 | | | | | | | | | | | | | |
| 29 | <i>Gripopteryx</i> sp.02N ENT591 0,204 0,216 0,202 0,221 0,218 0,215 0,184 0,172 0,215 0,206 0,199 0,063 0,058 0,050 | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | <i>G. coruja</i> ♂ ENT569 0,207 0,218 0,204 0,213 0,210 0,207 0,184 0,172 0,207 0,205 0,198 0,059 0,054 0,046 | | | | | | | | | | | | | |
| 31 | <i>G. brasiliensis</i> ♂ ENT587 0,210 0,233 0,211 0,225 0,223 0,230 0,221 0,228 0,206 0,238 0,248 0,197 0,191 0,191 | | | | | | | | | | | | | |

ANEXO III (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de Gripopterygidae e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
|-------------|---|--------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | ENT609 | ENT997 | ENT612 | ENT1207 | ENT1208 | ENT568 | ENT561 | ENT560 | ENT593 | ENT577 | ENT578 | ENT579 | ENT580 | ENT563 |
| 32 | <i>G. reticulata</i>♂ ENT588 | 0,219 | 0,240 | 0,221 | 0,190 | 0,191 | 0,190 | 0,253 | 0,244 | 0,233 | 0,210 | 0,213 | 0,201 | 0,201 | 0,203 |
| 33 | <i>G. reticulata</i>♀ ENT570 | 0,219 | 0,234 | 0,214 | 0,206 | 0,206 | 0,209 | 0,253 | 0,246 | 0,239 | 0,236 | 0,239 | 0,200 | 0,200 | 0,200 |
| 34 | <i>Gripopteryx</i> sp.03N ENT592 | 0,213 | 0,237 | 0,215 | 0,200 | 0,200 | 0,203 | 0,253 | 0,246 | 0,239 | 0,226 | 0,229 | 0,198 | 0,198 | 0,204 |

ANEXO III (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de Gripopterygidae e a relação de espécimes amostrados.

| | Continuação | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 |
|----|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | ENT582 | ENT591 | ENT569 | ENT587 | ENT588 | ENT570 | ENT592 |
| 1 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT160 | | | | | | | |
| 2 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | | | | | | | |
| 3 | <i>G. guapiara</i> ♀ ENT292 | | | | | | | |
| 4 | <i>Tupiperla</i> sp. ♀ ENT1059 | | | | | | | |
| 5 | <i>T. barbosai</i> ♂ ENT1058 | | | | | | | |
| 6 | <i>T. modesta</i> ♂ ENT605 | | | | | | | |
| 7 | <i>T. modesta</i> ♀ ENT595 | | | | | | | |
| 8 | <i>P. curupira</i> sp.n. ♂ ENT290 | | | | | | | |
| 9 | <i>P. guardae</i> ♂ ENT1202 | | | | | | | |
| 10 | <i>Paragripopteryx</i> sp.01 ♂ ENT1204 | | | | | | | |
| 11 | <i>P. analucia</i> sp.n. ♂ ENT1206 | | | | | | | |
| 12 | <i>T. umbya</i> ♂ ENT598 | | | | | | | |
| 13 | <i>T. tessellata</i> ♂ ENT291 | | | | | | | |
| 14 | <i>T. tessellata</i> ♀ ENT609 | | | | | | | |
| 15 | <i>T. tessellata</i> ♂ ENT997 | | | | | | | |
| 16 | <i>Tupiperla</i> sp.01N ENT612 | | | | | | | |
| 17 | <i>G. garbei</i> ♂ ENT1207 | | | | | | | |
| 18 | <i>G. Garbei</i> ♀ ENT1208 | | | | | | | |
| 19 | <i>G. garbei</i> ♀ ENT568 | | | | | | | |
| 20 | <i>Gripopteryx</i> sp.01 ♀ ENT561 | | | | | | | |
| 21 | <i>Gripopteryx</i> sp.01N ENT560 | | | | | | | |
| 22 | <i>Gripopteryx</i> sp.06N ENT593 | | | | | | | |
| 23 | <i>G. maculosa</i> ♂ ENT577 | | | | | | | |
| 24 | <i>G. maculosa</i> ♀ ENT578 | | | | | | | |
| 25 | <i>G. juetah</i> ♂ ENT579 | | | | | | | |
| 26 | <i>G. juetah</i> ♀ ENT580 | | | | | | | |
| 27 | <i>G. pilosa</i> ♂ ENT563 | | | | | | | |
| 28 | <i>Gripopteryx</i> sp.02 ♀ ENT582 | | | | | | | |
| 29 | <i>Gripopteryx</i> sp.02N ENT591 | 0,047 | | | | | | |
| 30 | <i>G. coruja</i> ♂ ENT569 | 0,043 | 0,002 | | | | | |
| 31 | <i>G. brasiliensis</i> ♂ ENT587 | 0,201 | 0,201 | 0,191 | | | | |

ANEXO III (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de Gripopterygidae e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 |
|-------------|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | ENT582 | ENT591 | ENT569 | ENT587 | ENT588 | ENT570 | ENT592 |
| 32 | <i>G. reticulata</i> ♂ ENT588 | 0,207 | 0,205 | 0,194 | 0,169 | | | |
| 33 | <i>G. reticulata</i> ♀ ENT570 | 0,207 | 0,205 | 0,194 | 0,150 | 0,041 | | |
| 34 | <i>Gripopteryx</i> sp.03N ENT592 | 0,204 | 0,209 | 0,198 | 0,157 | 0,031 | 0,019 | |

ANEXO IV. Distâncias K2P de sequências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | |
|----|-------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|-------|
| | ENT291 | ENT290 | ENT286 | ENT136 | ENT292 | ENT563 | ENT168 | ENT346 | ENT352 | ENT349 | ENT348 | ENT980 | ENT1053 | ENT572 | |
| 1 | <i>T. tessellata</i> ♂ ENT291 | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | <i>P. curupira</i> sp.n. ♂ ENT290 | 0,211 | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | <i>Macrogynoplax</i> sp. ENT286 | 0,286 | 0,284 | | | | | | | | | | | | |
| 4 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | 0,272 | 0,296 | 0,177 | | | | | | | | | | | |
| 5 | <i>G. guapiara</i> ♀ ENT292 | 0,183 | 0,193 | 0,271 | 0,247 | | | | | | | | | | |
| 6 | <i>G. pilosa</i> ♂ ENT563 | 0,203 | 0,222 | 0,288 | 0,294 | 0,213 | | | | | | | | | |
| 7 | <i>Anacroneuria</i> sp.04N ENT168 | 0,268 | 0,261 | 0,258 | 0,290 | 0,324 | 0,275 | | | | | | | | |
| 8 | <i>Anacroneuria</i> sp.03 ♀ ENT346 | 0,268 | 0,261 | 0,258 | 0,290 | 0,324 | 0,275 | 0,000 | | | | | | | |
| 9 | <i>Anacroneuria</i> sp.06 ♀ ENT352 | 0,268 | 0,261 | 0,258 | 0,290 | 0,324 | 0,275 | 0,000 | 0,000 | | | | | | |
| 10 | <i>Anacroneuria</i> sp.06 ♀ ENT349 | 0,268 | 0,261 | 0,258 | 0,290 | 0,324 | 0,275 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | | | | |
| 11 | <i>Anacroneuria</i> sp.05 ♀ ENT348 | 0,267 | 0,261 | 0,254 | 0,290 | 0,316 | 0,278 | 0,007 | 0,007 | 0,007 | 0,007 | | | | |
| 12 | <i>Anacroneuria</i> ipiau ♂ ENT980 | 0,285 | 0,275 | 0,272 | 0,283 | 0,332 | 0,271 | 0,041 | 0,041 | 0,041 | 0,041 | 0,036 | | | |
| 13 | <i>Anacroneuria</i> sp.08 ♀ ENT1053 | 0,269 | 0,277 | 0,231 | 0,266 | 0,286 | 0,301 | 0,141 | 0,141 | 0,141 | 0,141 | 0,140 | 0,135 | | |
| 14 | <i>A. vanini</i> ♂ ENT572 | 0,245 | 0,272 | 0,241 | 0,253 | 0,312 | 0,300 | 0,146 | 0,146 | 0,146 | 0,146 | 0,146 | 0,149 | 0,134 | |
| 15 | <i>Anacroneuria</i> sp.12 ♀ ENT571 | 0,283 | 0,263 | 0,265 | 0,263 | 0,294 | 0,308 | 0,143 | 0,143 | 0,143 | 0,143 | 0,146 | 0,140 | 0,132 | 0,130 |
| 16 | <i>Anacroneuria</i> sp.12 ♀ ENT573 | 0,285 | 0,265 | 0,261 | 0,263 | 0,293 | 0,311 | 0,142 | 0,142 | 0,142 | 0,142 | 0,145 | 0,142 | 0,134 | 0,133 |
| 17 | <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♀ ENT354 | 0,273 | 0,263 | 0,246 | 0,272 | 0,278 | 0,316 | 0,168 | 0,168 | 0,168 | 0,168 | 0,171 | 0,168 | 0,156 | 0,148 |
| 18 | <i>Anacroneuria</i> sp.02 ♀ ENT356 | 0,276 | 0,266 | 0,245 | 0,271 | 0,281 | 0,318 | 0,171 | 0,171 | 0,171 | 0,171 | 0,174 | 0,171 | 0,155 | 0,147 |
| 19 | <i>Anacroneuria</i> sp.02 ♀ ENT355 | 0,275 | 0,269 | 0,245 | 0,270 | 0,280 | 0,321 | 0,174 | 0,174 | 0,174 | 0,174 | 0,176 | 0,174 | 0,155 | 0,150 |
| 20 | <i>Anacroneuria</i> sp.10 ♀ ENT358 | 0,275 | 0,269 | 0,245 | 0,270 | 0,280 | 0,321 | 0,174 | 0,174 | 0,174 | 0,174 | 0,176 | 0,174 | 0,155 | 0,150 |
| 21 | <i>A. toriba</i> ♂ ENT1048 | 0,247 | 0,255 | 0,234 | 0,263 | 0,299 | 0,294 | 0,126 | 0,126 | 0,126 | 0,126 | 0,126 | 0,126 | 0,129 | 0,117 |
| 22 | <i>Anacroneuria</i> sp.06N ENT486 | 0,247 | 0,262 | 0,241 | 0,260 | 0,306 | 0,294 | 0,126 | 0,126 | 0,126 | 0,126 | 0,123 | 0,129 | 0,126 | 0,120 |
| 23 | <i>Anacroneuria</i> sp.08N ENT491 | 0,276 | 0,314 | 0,273 | 0,285 | 0,294 | 0,306 | 0,170 | 0,170 | 0,170 | 0,170 | 0,169 | 0,170 | 0,163 | 0,167 |
| 24 | <i>Anacroneuria</i> sp.08N ENT490 | 0,271 | 0,313 | 0,272 | 0,284 | 0,293 | 0,304 | 0,167 | 0,167 | 0,167 | 0,167 | 0,167 | 0,167 | 0,161 | 0,164 |
| 25 | <i>Anacroneuria</i> sp.13 ♀ ENT1211 | 0,271 | 0,276 | 0,311 | 0,313 | 0,337 | 0,295 | 0,189 | 0,189 | 0,189 | 0,189 | 0,189 | 0,176 | 0,207 | 0,194 |
| 26 | <i>Anacroneuria</i> sp.12 ENT999 | 0,289 | 0,296 | 0,329 | 0,331 | 0,353 | 0,309 | 0,206 | 0,206 | 0,206 | 0,206 | 0,205 | 0,189 | 0,214 | 0,208 |
| 27 | <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♂ ENT1210 | 0,271 | 0,276 | 0,311 | 0,313 | 0,337 | 0,295 | 0,189 | 0,189 | 0,189 | 0,189 | 0,189 | 0,176 | 0,207 | 0,194 |
| 28 | <i>Anacroneuria</i> sp.12N ENT1209 | 0,271 | 0,276 | 0,311 | 0,313 | 0,337 | 0,295 | 0,189 | 0,189 | 0,189 | 0,189 | 0,189 | 0,176 | 0,207 | 0,194 |
| 29 | <i>Anacroneuria</i> sp.13 ♀ ENT559 | 0,275 | 0,270 | 0,305 | 0,298 | 0,338 | 0,292 | 0,186 | 0,186 | 0,186 | 0,186 | 0,186 | 0,174 | 0,204 | 0,191 |
| 30 | <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♂ ENT558 | 0,274 | 0,273 | 0,308 | 0,301 | 0,341 | 0,295 | 0,186 | 0,186 | 0,186 | 0,186 | 0,186 | 0,173 | 0,207 | 0,194 |
| 31 | <i>Anacroneuria</i> sp.11N ENT494 | 0,264 | 0,263 | 0,233 | 0,268 | 0,316 | 0,270 | 0,152 | 0,152 | 0,152 | 0,152 | 0,145 | 0,146 | 0,150 | 0,152 |

ANEXO IV (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|-------------|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|
| | | ENT291 | ENT290 | ENT286 | ENT136 | ENT292 | ENT563 | ENT168 | ENT346 | ENT352 | ENT349 | ENT348 | ENT980 | ENT1053 | ENT572 |
| 32 | <i>A. itatiaiensis</i> ♂ ENT253 | 0,231 | 0,276 | 0,259 | 0,273 | 0,287 | 0,266 | 0,186 | 0,186 | 0,186 | 0,186 | 0,183 | 0,177 | 0,200 | 0,178 |
| 33 | <i>A. polita</i> ♂ ENT991 | 0,240 | 0,294 | 0,261 | 0,280 | 0,313 | 0,303 | 0,171 | 0,171 | 0,171 | 0,171 | 0,170 | 0,174 | 0,176 | 0,167 |
| 34 | <i>Anacroneuria</i> sp.02N ENT986 | 0,256 | 0,254 | 0,230 | 0,240 | 0,285 | 0,267 | 0,140 | 0,140 | 0,140 | 0,140 | 0,149 | 0,158 | 0,156 | 0,166 |
| 35 | <i>A. minuta</i> ♀ ENT990 | 0,277 | 0,275 | 0,252 | 0,257 | 0,305 | 0,292 | 0,157 | 0,157 | 0,157 | 0,157 | 0,167 | 0,173 | 0,171 | 0,178 |
| 36 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT585 | 0,251 | 0,245 | 0,225 | 0,252 | 0,283 | 0,275 | 0,142 | 0,142 | 0,142 | 0,142 | 0,151 | 0,160 | 0,152 | 0,159 |
| 37 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT574 | 0,251 | 0,245 | 0,225 | 0,252 | 0,283 | 0,275 | 0,142 | 0,142 | 0,142 | 0,142 | 0,151 | 0,160 | 0,152 | 0,159 |
| 38 | <i>A. flintorum</i> ♂ ENT157 | 0,248 | 0,262 | 0,228 | 0,260 | 0,285 | 0,295 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,150 | 0,156 | 0,127 | 0,121 |
| 39 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT487 | 0,252 | 0,257 | 0,233 | 0,265 | 0,315 | 0,277 | 0,136 | 0,136 | 0,136 | 0,136 | 0,136 | 0,145 | 0,128 | 0,113 |
| 40 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT492 | 0,244 | 0,253 | 0,232 | 0,267 | 0,311 | 0,268 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,142 | 0,125 | 0,113 |
| 41 | <i>Anacroneuria</i> sp.11♀ ENT499 | 0,250 | 0,259 | 0,241 | 0,277 | 0,317 | 0,281 | 0,146 | 0,146 | 0,146 | 0,146 | 0,145 | 0,155 | 0,134 | 0,123 |
| 42 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT976 | 0,270 | 0,279 | 0,253 | 0,294 | 0,335 | 0,295 | 0,157 | 0,157 | 0,157 | 0,157 | 0,154 | 0,167 | 0,145 | 0,137 |
| 43 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT984 | 0,254 | 0,262 | 0,244 | 0,280 | 0,320 | 0,278 | 0,149 | 0,149 | 0,149 | 0,149 | 0,148 | 0,158 | 0,137 | 0,126 |
| 44 | <i>Anacroneuria</i> sp.11♀ ENT498 | 0,254 | 0,262 | 0,244 | 0,280 | 0,320 | 0,278 | 0,149 | 0,149 | 0,149 | 0,149 | 0,148 | 0,158 | 0,137 | 0,126 |
| 45 | <i>A. fuscicosta</i> ♂ ENT556 | 0,257 | 0,245 | 0,216 | 0,269 | 0,309 | 0,309 | 0,177 | 0,177 | 0,177 | 0,177 | 0,183 | 0,199 | 0,172 | 0,159 |
| 46 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT576 | 0,254 | 0,238 | 0,231 | 0,274 | 0,301 | 0,261 | 0,163 | 0,163 | 0,163 | 0,163 | 0,163 | 0,154 | 0,173 | 0,157 |
| 47 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT981 | 0,273 | 0,259 | 0,246 | 0,290 | 0,310 | 0,295 | 0,195 | 0,195 | 0,195 | 0,195 | 0,195 | 0,192 | 0,196 | 0,176 |
| 48 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT167 | 0,254 | 0,232 | 0,229 | 0,267 | 0,287 | 0,262 | 0,167 | 0,167 | 0,167 | 0,167 | 0,167 | 0,164 | 0,174 | 0,149 |
| 49 | <i>Anacroneuria</i> sp.09♀ ENT502 | 0,254 | 0,231 | 0,228 | 0,267 | 0,286 | 0,261 | 0,166 | 0,166 | 0,166 | 0,166 | 0,166 | 0,163 | 0,173 | 0,148 |
| 50 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT353 | 0,254 | 0,231 | 0,228 | 0,267 | 0,286 | 0,261 | 0,166 | 0,166 | 0,166 | 0,166 | 0,166 | 0,163 | 0,173 | 0,148 |
| 51 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT501 | 0,267 | 0,241 | 0,231 | 0,276 | 0,308 | 0,261 | 0,178 | 0,178 | 0,178 | 0,178 | 0,178 | 0,169 | 0,179 | 0,154 |
| 52 | <i>Anacroneuria</i> sp.09♀ ENT500 | 0,267 | 0,238 | 0,235 | 0,273 | 0,311 | 0,258 | 0,172 | 0,172 | 0,172 | 0,172 | 0,172 | 0,163 | 0,175 | 0,151 |
| 53 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT160 | 0,270 | 0,241 | 0,231 | 0,276 | 0,308 | 0,261 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,166 | 0,179 | 0,154 |
| 54 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT351 | 0,270 | 0,241 | 0,231 | 0,276 | 0,308 | 0,261 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,166 | 0,179 | 0,154 |
| 55 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT350 | 0,270 | 0,241 | 0,231 | 0,276 | 0,308 | 0,261 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,166 | 0,179 | 0,154 |
| 56 | <i>Anacroneuria</i> sp.03N ENT165 | 0,270 | 0,241 | 0,231 | 0,276 | 0,308 | 0,261 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,166 | 0,179 | 0,154 |
| 57 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT156 | 0,270 | 0,244 | 0,235 | 0,280 | 0,311 | 0,265 | 0,181 | 0,181 | 0,181 | 0,181 | 0,181 | 0,172 | 0,182 | 0,157 |
| 58 | <i>Anacroneuria</i> sp.10N ENT979 | 0,243 | 0,280 | 0,238 | 0,249 | 0,278 | 0,286 | 0,184 | 0,184 | 0,184 | 0,184 | 0,184 | 0,188 | 0,198 | 0,181 |
| 59 | <i>A. paulina</i> ♂ ENT575 | 0,303 | 0,269 | 0,260 | 0,274 | 0,305 | 0,269 | 0,193 | 0,193 | 0,193 | 0,193 | 0,187 | 0,190 | 0,207 | 0,210 |

ANEXO IV (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|---------|
| | ENT571 | ENT573 | ENT354 | ENT356 | ENT355 | ENT358 | ENT1048 | ENT486 | ENT491 | ENT490 | ENT1211 | ENT999 | ENT1210 | ENT1209 |
| 1 <i>T. tessellata</i> ♂ ENT291 | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 <i>P. curupira</i> sp.n. ♂ ENT290 | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 <i>Macrogynoplax</i> sp. ENT286 | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 <i>G. guapiara</i> ♀ ENT292 | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 <i>G. pilosa</i> ♂ ENT563 | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 <i>Anacroneuria</i> sp.04N ENT168 | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 <i>Anacroneuria</i> sp.03 ♀ ENT346 | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 <i>Anacroneuria</i> sp.06 ♀ ENT352 | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 <i>Anacroneuria</i> sp.06 ♀ ENT349 | | | | | | | | | | | | | | |
| 11 <i>Anacroneuria</i> sp.05 ♀ ENT348 | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 <i>Anacroneuria</i> ipiau ♂ ENT980 | | | | | | | | | | | | | | |
| 13 <i>Anacroneuria</i> sp.08 ♀ ENT1053 | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 <i>A. vanini</i> ♂ ENT572 | | | | | | | | | | | | | | |
| 15 <i>Anacroneuria</i> sp.12 ♀ ENT571 | | | | | | | | | | | | | | |
| 16 <i>Anacroneuria</i> sp.12 ♀ ENT573 | 0,002 | | | | | | | | | | | | | |
| 17 <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♀ ENT354 | 0,099 | 0,102 | | | | | | | | | | | | |
| 18 <i>Anacroneuria</i> sp.02 ♀ ENT356 | 0,102 | 0,104 | 0,000 | | | | | | | | | | | |
| 19 <i>Anacroneuria</i> sp.02 ♀ ENT355 | 0,104 | 0,107 | 0,000 | 0,000 | | | | | | | | | | |
| 20 <i>Anacroneuria</i> sp.10 ♀ ENT358 | 0,104 | 0,107 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | | | | | | | | |
| 21 <i>A. toriba</i> ♂ ENT1048 | 0,100 | 0,102 | 0,120 | 0,123 | 0,125 | 0,125 | | | | | | | | |
| 22 <i>Anacroneuria</i> sp.06N ENT486 | 0,112 | 0,114 | 0,132 | 0,134 | 0,137 | 0,137 | 0,017 | | | | | | | |
| 23 <i>Anacroneuria</i> sp.08N ENT491 | 0,158 | 0,160 | 0,172 | 0,171 | 0,171 | 0,171 | 0,125 | 0,134 | | | | | | |
| 24 <i>Anacroneuria</i> sp.08N ENT490 | 0,155 | 0,157 | 0,169 | 0,168 | 0,168 | 0,168 | 0,123 | 0,132 | 0,000 | | | | | |
| 25 <i>Anacroneuria</i> sp.13 ♀ ENT1211 | 0,173 | 0,172 | 0,211 | 0,214 | 0,217 | 0,217 | 0,173 | 0,178 | 0,200 | 0,196 | | | | |
| 26 <i>Anacroneuria</i> sp.12 ENT999 | 0,185 | 0,185 | 0,226 | 0,229 | 0,232 | 0,232 | 0,182 | 0,187 | 0,214 | 0,210 | 0,007 | | | |
| 27 <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♂ ENT1210 | 0,173 | 0,172 | 0,211 | 0,214 | 0,217 | 0,217 | 0,173 | 0,178 | 0,200 | 0,196 | 0,000 | 0,007 | | |
| 28 <i>Anacroneuria</i> sp.12N ENT1209 | 0,173 | 0,172 | 0,211 | 0,214 | 0,217 | 0,217 | 0,173 | 0,178 | 0,200 | 0,196 | 0,000 | 0,007 | 0,000 | |
| 29 <i>Anacroneuria</i> sp.13 ♀ ENT559 | 0,164 | 0,163 | 0,212 | 0,214 | 0,217 | 0,217 | 0,173 | 0,178 | 0,194 | 0,190 | 0,007 | 0,015 | 0,007 | 0,007 |
| 30 <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♂ ENT558 | 0,167 | 0,166 | 0,211 | 0,214 | 0,217 | 0,217 | 0,173 | 0,178 | 0,193 | 0,190 | 0,007 | 0,015 | 0,007 | 0,007 |
| 31 <i>Anacroneuria</i> sp.11N ENT494 | 0,159 | 0,159 | 0,210 | 0,213 | 0,216 | 0,216 | 0,138 | 0,135 | 0,184 | 0,181 | 0,168 | 0,177 | 0,168 | 0,168 |

ANEXO IV (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
|-------------|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|---------|
| | | ENT571 | ENT573 | ENT354 | ENT356 | ENT355 | ENT358 | ENT1048 | ENT486 | ENT491 | ENT490 | ENT1211 | ENT999 | ENT1210 | ENT1209 |
| 32 | <i>A. itatiaiensis</i> ♂ ENT253 | 0,180 | 0,177 | 0,189 | 0,188 | 0,188 | 0,188 | 0,143 | 0,160 | 0,153 | 0,150 | 0,182 | 0,195 | 0,182 | 0,182 |
| 33 | <i>A. polita</i> ♂ ENT991 | 0,161 | 0,160 | 0,180 | 0,182 | 0,182 | 0,182 | 0,117 | 0,126 | 0,151 | 0,149 | 0,175 | 0,184 | 0,175 | 0,175 |
| 34 | <i>Anacroneuria</i> sp.02N ENT986 | 0,150 | 0,150 | 0,166 | 0,168 | 0,168 | 0,168 | 0,109 | 0,118 | 0,155 | 0,153 | 0,195 | 0,205 | 0,195 | 0,195 |
| 35 | <i>A. minuta</i> ♀ ENT990 | 0,165 | 0,164 | 0,188 | 0,190 | 0,190 | 0,190 | 0,122 | 0,131 | 0,158 | 0,155 | 0,212 | 0,207 | 0,212 | 0,212 |
| 36 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT585 | 0,140 | 0,140 | 0,155 | 0,158 | 0,157 | 0,157 | 0,100 | 0,109 | 0,164 | 0,161 | 0,200 | 0,211 | 0,200 | 0,200 |
| 37 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT574 | 0,140 | 0,140 | 0,155 | 0,158 | 0,157 | 0,157 | 0,100 | 0,109 | 0,164 | 0,161 | 0,200 | 0,211 | 0,200 | 0,200 |
| 38 | <i>A. flintorum</i> ♂ ENT157 | 0,140 | 0,142 | 0,155 | 0,154 | 0,157 | 0,157 | 0,112 | 0,124 | 0,150 | 0,148 | 0,176 | 0,178 | 0,176 | 0,176 |
| 39 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT487 | 0,122 | 0,122 | 0,129 | 0,131 | 0,134 | 0,134 | 0,110 | 0,116 | 0,157 | 0,154 | 0,170 | 0,182 | 0,170 | 0,170 |
| 40 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT492 | 0,122 | 0,122 | 0,128 | 0,131 | 0,133 | 0,133 | 0,110 | 0,116 | 0,156 | 0,154 | 0,169 | 0,181 | 0,169 | 0,169 |
| 41 | <i>Anacroneuria</i> sp.11♀ ENT499 | 0,129 | 0,129 | 0,135 | 0,138 | 0,140 | 0,140 | 0,120 | 0,126 | 0,166 | 0,164 | 0,169 | 0,182 | 0,169 | 0,169 |
| 42 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT976 | 0,140 | 0,140 | 0,147 | 0,149 | 0,152 | 0,152 | 0,131 | 0,134 | 0,182 | 0,179 | 0,182 | 0,182 | 0,182 | 0,182 |
| 43 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT984 | 0,132 | 0,131 | 0,138 | 0,141 | 0,143 | 0,143 | 0,123 | 0,129 | 0,170 | 0,167 | 0,173 | 0,185 | 0,173 | 0,173 |
| 44 | <i>Anacroneuria</i> sp.11♀ ENT498 | 0,132 | 0,131 | 0,138 | 0,141 | 0,143 | 0,143 | 0,123 | 0,129 | 0,170 | 0,167 | 0,173 | 0,185 | 0,173 | 0,173 |
| 45 | <i>A. fuscicosta</i> ♂ ENT556 | 0,157 | 0,156 | 0,179 | 0,178 | 0,181 | 0,181 | 0,155 | 0,167 | 0,156 | 0,154 | 0,172 | 0,188 | 0,172 | 0,172 |
| 46 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT576 | 0,140 | 0,142 | 0,164 | 0,167 | 0,170 | 0,170 | 0,123 | 0,138 | 0,183 | 0,180 | 0,181 | 0,190 | 0,181 | 0,181 |
| 47 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT981 | 0,170 | 0,172 | 0,187 | 0,186 | 0,189 | 0,189 | 0,156 | 0,168 | 0,206 | 0,203 | 0,217 | 0,229 | 0,217 | 0,217 |
| 48 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT167 | 0,143 | 0,145 | 0,159 | 0,158 | 0,161 | 0,161 | 0,129 | 0,141 | 0,184 | 0,181 | 0,194 | 0,208 | 0,194 | 0,194 |
| 49 | <i>Anacroneuria</i> sp.09♀ ENT502 | 0,143 | 0,145 | 0,158 | 0,158 | 0,160 | 0,160 | 0,129 | 0,141 | 0,183 | 0,180 | 0,194 | 0,207 | 0,194 | 0,194 |
| 50 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT353 | 0,143 | 0,145 | 0,158 | 0,158 | 0,160 | 0,160 | 0,129 | 0,141 | 0,183 | 0,180 | 0,194 | 0,207 | 0,194 | 0,194 |
| 51 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT501 | 0,148 | 0,151 | 0,161 | 0,160 | 0,163 | 0,163 | 0,131 | 0,143 | 0,185 | 0,182 | 0,194 | 0,204 | 0,194 | 0,194 |
| 52 | <i>Anacroneuria</i> sp.09♀ ENT500 | 0,151 | 0,154 | 0,167 | 0,166 | 0,169 | 0,169 | 0,134 | 0,140 | 0,192 | 0,189 | 0,197 | 0,208 | 0,197 | 0,197 |
| 53 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT160 | 0,148 | 0,151 | 0,164 | 0,163 | 0,166 | 0,166 | 0,131 | 0,143 | 0,189 | 0,186 | 0,194 | 0,204 | 0,194 | 0,194 |
| 54 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT351 | 0,148 | 0,151 | 0,164 | 0,163 | 0,166 | 0,166 | 0,131 | 0,143 | 0,189 | 0,186 | 0,194 | 0,204 | 0,194 | 0,194 |
| 55 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT350 | 0,148 | 0,151 | 0,164 | 0,163 | 0,166 | 0,166 | 0,131 | 0,143 | 0,189 | 0,186 | 0,194 | 0,204 | 0,194 | 0,194 |
| 56 | <i>Anacroneuria</i> sp.03N ENT165 | 0,148 | 0,151 | 0,164 | 0,163 | 0,166 | 0,166 | 0,131 | 0,143 | 0,189 | 0,186 | 0,194 | 0,204 | 0,194 | 0,194 |
| 57 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT156 | 0,151 | 0,154 | 0,164 | 0,163 | 0,166 | 0,166 | 0,134 | 0,146 | 0,189 | 0,186 | 0,197 | 0,208 | 0,197 | 0,197 |
| 58 | <i>Anacroneuria</i> sp.10N ENT979 | 0,169 | 0,175 | 0,183 | 0,182 | 0,182 | 0,182 | 0,164 | 0,173 | 0,175 | 0,176 | 0,201 | 0,208 | 0,201 | 0,201 |
| 59 | <i>A. paulina</i> ♂ ENT575 | 0,200 | 0,197 | 0,191 | 0,194 | 0,196 | 0,196 | 0,186 | 0,194 | 0,214 | 0,214 | 0,245 | 0,255 | 0,245 | 0,245 |

ANEXO IV (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 |
|-------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | ENT559 | ENT558 | ENT494 | ENT253 | ENT991 | ENT986 | ENT990 | ENT585 | ENT574 | ENT157 | ENT487 | ENT492 | ENT499 | ENT976 |
| 1 | <i>T. tessellata</i> ♂ ENT291 | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | <i>P. curupira</i> sp.n. ♂ ENT290 | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | <i>Macrogynoplax</i> sp. ENT286 | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | <i>G. guapiara</i> ♀ ENT292 | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | <i>G. pilosa</i> ♂ ENT563 | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | <i>Anacroneuria</i> sp.04N ENT168 | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | <i>Anacroneuria</i> sp.03 ♀ ENT346 | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | <i>Anacroneuria</i> sp.06 ♀ ENT352 | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | <i>Anacroneuria</i> sp.06 ♀ ENT349 | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | <i>Anacroneuria</i> sp.05 ♀ ENT348 | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | <i>Anacroneuria</i> <i>ipiau</i> ♂ ENT980 | | | | | | | | | | | | | |
| 13 | <i>Anacroneuria</i> sp.08 ♀ ENT1053 | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | <i>A. vanini</i> ♂ ENT572 | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | <i>Anacroneuria</i> sp.12 ♀ ENT571 | | | | | | | | | | | | | |
| 16 | <i>Anacroneuria</i> sp.12 ♀ ENT573 | | | | | | | | | | | | | |
| 17 | <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♀ ENT354 | | | | | | | | | | | | | |
| 18 | <i>Anacroneuria</i> sp.02 ♀ ENT356 | | | | | | | | | | | | | |
| 19 | <i>Anacroneuria</i> sp.02 ♀ ENT355 | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | <i>Anacroneuria</i> sp.10 ♀ ENT358 | | | | | | | | | | | | | |
| 21 | <i>A. toriba</i> ♂ ENT1048 | | | | | | | | | | | | | |
| 22 | <i>Anacroneuria</i> sp.06N ENT486 | | | | | | | | | | | | | |
| 23 | <i>Anacroneuria</i> sp.08N ENT491 | | | | | | | | | | | | | |
| 24 | <i>Anacroneuria</i> sp.08N ENT490 | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | <i>Anacroneuria</i> sp.13 ♀ ENT1211 | | | | | | | | | | | | | |
| 26 | <i>Anacroneuria</i> sp.12 ENT999 | | | | | | | | | | | | | |
| 27 | <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♂ ENT1210 | | | | | | | | | | | | | |
| 28 | <i>Anacroneuria</i> sp.12N ENT1209 | | | | | | | | | | | | | |
| 29 | <i>Anacroneuria</i> sp.13 ♀ ENT559 | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♂ ENT558 | 0,000 | | | | | | | | | | | | |
| 31 | <i>Anacroneuria</i> sp.11N ENT494 | 0,162 | 0,165 | | | | | | | | | | | |

ANEXO IV (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 |
|-------------|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | ENT559 | ENT558 | ENT494 | ENT253 | ENT991 | ENT986 | ENT990 | ENT585 | ENT574 | ENT157 | ENT487 | ENT492 | ENT499 | ENT976 |
| 32 | <i>A. itatiaiensis</i> ♂ ENT253 | 0,183 | 0,185 | 0,145 | | | | | | | | | | | |
| 33 | <i>A. polita</i> ♂ ENT991 | 0,172 | 0,175 | 0,164 | 0,156 | | | | | | | | | | |
| 34 | <i>Anacroneuria</i> sp.02N ENT986 | 0,186 | 0,189 | 0,154 | 0,149 | 0,137 | | | | | | | | | |
| 35 | <i>A. minuta</i> ♀ ENT990 | 0,202 | 0,205 | 0,166 | 0,160 | 0,148 | 0,012 | | | | | | | | |
| 36 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT585 | 0,191 | 0,193 | 0,147 | 0,145 | 0,134 | 0,017 | 0,032 | | | | | | | |
| 37 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT574 | 0,191 | 0,193 | 0,147 | 0,145 | 0,134 | 0,017 | 0,032 | 0,000 | | | | | | |
| 38 | <i>A. flintorum</i> ♂ ENT157 | 0,176 | 0,179 | 0,137 | 0,138 | 0,118 | 0,094 | 0,112 | 0,086 | 0,086 | | | | | |
| 39 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT487 | 0,167 | 0,170 | 0,134 | 0,159 | 0,130 | 0,123 | 0,142 | 0,114 | 0,114 | 0,081 | | | | |
| 40 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT492 | 0,166 | 0,169 | 0,128 | 0,156 | 0,130 | 0,120 | 0,139 | 0,110 | 0,110 | 0,078 | 0,002 | | | |
| 41 | <i>Anacroneuria</i> sp.11♀ ENT499 | 0,167 | 0,169 | 0,129 | 0,160 | 0,137 | 0,129 | 0,149 | 0,117 | 0,117 | 0,085 | 0,007 | 0,005 | | |
| 42 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT976 | 0,179 | 0,182 | 0,146 | 0,175 | 0,151 | 0,144 | 0,164 | 0,131 | 0,131 | 0,098 | 0,015 | 0,012 | 0,012 | |
| 43 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT984 | 0,170 | 0,173 | 0,132 | 0,163 | 0,140 | 0,132 | 0,152 | 0,120 | 0,120 | 0,088 | 0,005 | 0,002 | 0,002 | 0,010 |
| 44 | <i>Anacroneuria</i> sp.11♀ ENT498 | 0,170 | 0,173 | 0,132 | 0,163 | 0,140 | 0,132 | 0,152 | 0,120 | 0,120 | 0,088 | 0,005 | 0,002 | 0,002 | 0,010 |
| 45 | <i>A. fuscicosta</i> ♂ ENT556 | 0,167 | 0,169 | 0,174 | 0,179 | 0,172 | 0,173 | 0,186 | 0,163 | 0,163 | 0,139 | 0,146 | 0,142 | 0,143 | 0,157 |
| 46 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT576 | 0,172 | 0,175 | 0,199 | 0,184 | 0,156 | 0,170 | 0,183 | 0,164 | 0,164 | 0,157 | 0,145 | 0,145 | 0,154 | 0,169 |
| 47 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT981 | 0,208 | 0,210 | 0,233 | 0,200 | 0,187 | 0,196 | 0,213 | 0,186 | 0,186 | 0,173 | 0,170 | 0,169 | 0,179 | 0,182 |
| 48 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT167 | 0,185 | 0,188 | 0,203 | 0,181 | 0,159 | 0,171 | 0,187 | 0,161 | 0,161 | 0,145 | 0,142 | 0,142 | 0,152 | 0,167 |
| 49 | <i>Anacroneuria</i> sp.09♀ ENT502 | 0,185 | 0,187 | 0,202 | 0,181 | 0,159 | 0,170 | 0,186 | 0,160 | 0,160 | 0,145 | 0,142 | 0,142 | 0,151 | 0,166 |
| 50 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT353 | 0,185 | 0,187 | 0,202 | 0,181 | 0,159 | 0,170 | 0,186 | 0,160 | 0,160 | 0,145 | 0,142 | 0,142 | 0,151 | 0,166 |
| 51 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT501 | 0,185 | 0,188 | 0,198 | 0,178 | 0,171 | 0,176 | 0,192 | 0,166 | 0,166 | 0,153 | 0,145 | 0,144 | 0,151 | 0,166 |
| 52 | <i>Anacroneuria</i> sp.09♀ ENT500 | 0,188 | 0,191 | 0,195 | 0,181 | 0,174 | 0,173 | 0,188 | 0,163 | 0,163 | 0,156 | 0,148 | 0,148 | 0,154 | 0,169 |
| 53 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT160 | 0,185 | 0,188 | 0,198 | 0,178 | 0,174 | 0,176 | 0,192 | 0,166 | 0,166 | 0,153 | 0,145 | 0,144 | 0,151 | 0,166 |
| 54 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT351 | 0,185 | 0,188 | 0,198 | 0,178 | 0,174 | 0,176 | 0,192 | 0,166 | 0,166 | 0,153 | 0,145 | 0,144 | 0,151 | 0,166 |
| 55 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT350 | 0,185 | 0,188 | 0,198 | 0,178 | 0,174 | 0,176 | 0,192 | 0,166 | 0,166 | 0,153 | 0,145 | 0,144 | 0,151 | 0,166 |
| 56 | <i>Anacroneuria</i> sp.03N ENT165 | 0,185 | 0,188 | 0,198 | 0,178 | 0,174 | 0,176 | 0,192 | 0,166 | 0,166 | 0,153 | 0,145 | 0,144 | 0,151 | 0,166 |
| 57 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT156 | 0,188 | 0,191 | 0,202 | 0,181 | 0,174 | 0,179 | 0,195 | 0,169 | 0,169 | 0,156 | 0,148 | 0,148 | 0,154 | 0,169 |
| 58 | <i>Anacroneuria</i> sp.10N ENT979 | 0,195 | 0,198 | 0,220 | 0,172 | 0,159 | 0,160 | 0,167 | 0,169 | 0,169 | 0,150 | 0,160 | 0,161 | 0,169 | 0,175 |
| 59 | <i>A. paulina</i> ♂ ENT575 | 0,239 | 0,242 | 0,201 | 0,215 | 0,187 | 0,182 | 0,192 | 0,194 | 0,194 | 0,190 | 0,201 | 0,200 | 0,210 | 0,224 |

ANEXO IV (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 |
|-------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | ENT984 | ENT498 | ENT556 | ENT576 | ENT981 | ENT167 | ENT502 | ENT353 | ENT501 | ENT500 | ENT160 | ENT351 | ENT350 | ENT165 |
| 1 | <i>T. tessellata</i> ♂ ENT291 | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | <i>P. curupira</i> sp.n. ♂ ENT290 | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | <i>Macrogynoplax</i> sp. ENT286 | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | <i>G. guapiara</i> ♀ ENT292 | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | <i>G. pilosa</i> ♂ ENT563 | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | <i>Anacroneuria</i> sp.04N ENT168 | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | <i>Anacroneuria</i> sp.03 ♀ ENT346 | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | <i>Anacroneuria</i> sp.06 ♀ ENT352 | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | <i>Anacroneuria</i> sp.06 ♀ ENT349 | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | <i>Anacroneuria</i> sp.05 ♀ ENT348 | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | <i>Anacroneuria</i> <i>ipiau</i> ♂ ENT980 | | | | | | | | | | | | | |
| 13 | <i>Anacroneuria</i> sp.08 ♀ ENT1053 | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | <i>A. vanini</i> ♂ ENT572 | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | <i>Anacroneuria</i> sp.12 ♀ ENT571 | | | | | | | | | | | | | |
| 16 | <i>Anacroneuria</i> sp.12 ♀ ENT573 | | | | | | | | | | | | | |
| 17 | <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♀ ENT354 | | | | | | | | | | | | | |
| 18 | <i>Anacroneuria</i> sp.02 ♀ ENT356 | | | | | | | | | | | | | |
| 19 | <i>Anacroneuria</i> sp.02 ♀ ENT355 | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | <i>Anacroneuria</i> sp.10 ♀ ENT358 | | | | | | | | | | | | | |
| 21 | <i>A. toriba</i> ♂ ENT1048 | | | | | | | | | | | | | |
| 22 | <i>Anacroneuria</i> sp.06N ENT486 | | | | | | | | | | | | | |
| 23 | <i>Anacroneuria</i> sp.08N ENT491 | | | | | | | | | | | | | |
| 24 | <i>Anacroneuria</i> sp.08N ENT490 | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | <i>Anacroneuria</i> sp.13 ♀ ENT1211 | | | | | | | | | | | | | |
| 26 | <i>Anacroneuria</i> sp.12 ENT999 | | | | | | | | | | | | | |
| 27 | <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♂ ENT1210 | | | | | | | | | | | | | |
| 28 | <i>Anacroneuria</i> sp.12N ENT1209 | | | | | | | | | | | | | |
| 29 | <i>Anacroneuria</i> sp.13 ♀ ENT559 | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | <i>Anacroneuria</i> sp.01 ♂ ENT558 | | | | | | | | | | | | | |
| 31 | <i>Anacroneuria</i> sp.11N ENT494 | | | | | | | | | | | | | |

ANEXO IV(Cont.). Distâncias K2P de seqüências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 |
|-------------|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | ENT984 | ENT498 | ENT556 | ENT576 | ENT981 | ENT167 | ENT502 | ENT353 | ENT501 | ENT500 | ENT160 | ENT351 | ENT350 | ENT165 |
| 32 | <i>A. itatiaiensis</i> ♂ ENT253 | | | | | | | | | | | | | |
| 33 | <i>A. polita</i> ♂ ENT991 | | | | | | | | | | | | | |
| 34 | <i>Anacroneuria</i> sp.02N ENT986 | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | <i>A. minuta</i> ♀ ENT990 | | | | | | | | | | | | | |
| 36 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT585 | | | | | | | | | | | | | |
| 37 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT574 | | | | | | | | | | | | | |
| 38 | <i>A. flintorum</i> ♂ ENT157 | | | | | | | | | | | | | |
| 39 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT487 | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT492 | | | | | | | | | | | | | |
| 41 | <i>Anacroneuria</i> sp.11♀ ENT499 | | | | | | | | | | | | | |
| 42 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT976 | | | | | | | | | | | | | |
| 43 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT984 | | | | | | | | | | | | | |
| 44 | <i>Anacroneuria</i> sp.11♀ ENT498 | 0,000 | | | | | | | | | | | | |
| 45 | <i>A. fuscicosta</i> ♂ ENT556 | 0,146 | 0,146 | | | | | | | | | | | |
| 46 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT576 | 0,157 | 0,157 | 0,155 | | | | | | | | | | |
| 47 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT981 | 0,182 | 0,182 | 0,177 | 0,044 | | | | | | | | | |
| 48 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT167 | 0,155 | 0,155 | 0,156 | 0,024 | 0,021 | | | | | | | | |
| 49 | <i>Anacroneuria</i> sp.09♀ ENT502 | 0,154 | 0,154 | 0,155 | 0,024 | 0,021 | 0,000 | | | | | | | |
| 50 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT353 | 0,154 | 0,154 | 0,155 | 0,024 | 0,021 | 0,000 | 0,000 | | | | | | |
| 51 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT501 | 0,154 | 0,154 | 0,155 | 0,031 | 0,044 | 0,021 | 0,021 | 0,021 | | | | | |
| 52 | <i>Anacroneuria</i> sp.09♀ ENT500 | 0,157 | 0,157 | 0,158 | 0,036 | 0,049 | 0,026 | 0,026 | 0,026 | 0,005 | | | | |
| 53 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT160 | 0,154 | 0,154 | 0,155 | 0,034 | 0,046 | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,002 | 0,002 | | | |
| 54 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT351 | 0,154 | 0,154 | 0,155 | 0,034 | 0,046 | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,002 | 0,002 | 0,000 | | |
| 55 | <i>Anacroneuria</i> sp.07♀ ENT350 | 0,154 | 0,154 | 0,155 | 0,034 | 0,046 | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,002 | 0,002 | 0,000 | 0,000 | |
| 56 | <i>Anacroneuria</i> sp.03N ENT165 | 0,154 | 0,154 | 0,155 | 0,034 | 0,046 | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,002 | 0,002 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 57 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT156 | 0,157 | 0,157 | 0,158 | 0,034 | 0,046 | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,002 | 0,007 | 0,005 | 0,005 | 0,005 |
| 58 | <i>Anacroneuria</i> sp.10N ENT979 | 0,172 | 0,172 | 0,183 | 0,178 | 0,196 | 0,179 | 0,178 | 0,178 | 0,181 | 0,184 | 0,181 | 0,181 | 0,181 |
| 59 | <i>A. paulina</i> ♂ ENT575 | 0,213 | 0,213 | 0,217 | 0,187 | 0,204 | 0,175 | 0,175 | 0,175 | 0,184 | 0,184 | 0,187 | 0,187 | 0,187 |

ANEXO IV (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | 57 ENT156 | 58 ENT979 | 59 ENT575 |
|-------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | | | |
| 2 | | | |
| 3 | | | |
| 4 | | | |
| 5 | | | |
| 6 | | | |
| 7 | | | |
| 8 | | | |
| 9 | | | |
| 10 | | | |
| 11 | | | |
| 12 | | | |
| 13 | | | |
| 14 | | | |
| 15 | | | |
| 16 | | | |
| 17 | | | |
| 18 | | | |
| 19 | | | |
| 20 | | | |
| 21 | | | |
| 22 | | | |
| 23 | | | |
| 24 | | | |
| 25 | | | |
| 26 | | | |
| 27 | | | |
| 28 | | | |
| 29 | | | |
| 30 | | | |
| 31 | | | |

ANEXO IV (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Anacroneuria* Klapálek e a relação de espécimes amostrados.

| | Continuação | 57 ENT156 | 58 ENT979 | 59 ENT575 |
|----|------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 32 | <i>A. itatiaiensis</i> ♂ ENT253 | | | |
| 33 | <i>A. polita</i> ♂ ENT991 | | | |
| 34 | <i>Anacroneuria</i> sp.02N ENT986 | | | |
| 35 | <i>A. minuta</i> ♀ ENT990 | | | |
| 36 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT585 | | | |
| 37 | <i>A. boraceiensis</i> ♂ ENT574 | | | |
| 38 | <i>A. flintorum</i> ♂ ENT157 | | | |
| 39 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT487 | | | |
| 40 | <i>Anacroneuria</i> sp.09N ENT492 | | | |
| 41 | <i>Anacroneuria</i> sp.11 ♀ ENT499 | | | |
| 42 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT976 | | | |
| 43 | <i>A. mantiqueire</i> ♂ ENT984 | | | |
| 44 | <i>Anacroneuria</i> sp.11 ♀ ENT498 | | | |
| 45 | <i>A. fuscicosta</i> ♂ ENT556 | | | |
| 46 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT576 | | | |
| 47 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT981 | | | |
| 48 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT167 | | | |
| 49 | <i>Anacroneuria</i> sp.09 ♀ ENT502 | | | |
| 50 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT353 | | | |
| 51 | <i>Anacroneuria</i> sp.07 ♀ ENT501 | | | |
| 52 | <i>Anacroneuria</i> sp.09 ♀ ENT500 | | | |
| 53 | <i>Anacroneuria</i> sp.01N ENT160 | | | |
| 54 | <i>Anacroneuria</i> sp.07 ♀ ENT351 | | | |
| 55 | <i>Anacroneuria</i> sp.07 ♀ ENT350 | | | |
| 56 | <i>Anacroneuria</i> sp.03N ENT165 | | | |
| 57 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT156 | | | |
| 58 | <i>Anacroneuria</i> sp.10N ENT979 | 0,184 | | |
| 59 | <i>A. paulina</i> ♂ ENT575 | 0,187 | 0,200 | |

ANEXO V. Distâncias K2P de seqüências de COI de *Kempnyia* e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|------------------------------------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|-------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|
| | ENT290 | ENT156 | ENT253 | ENT1183 | ENT1184 | ENT246 | ENT83 | ENT87 | ENT418 | ENT86 | ENT136 | ENT135 | ENT189 | ENT243 |
| 1 <i>P. curupira</i> sp.n.♂ ENT290 | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 <i>A. debilis</i> ♂ ENT156 | 0,243 | | | | | | | | | | | | | |
| 3 <i>A. itatiaiensis</i> ♂ ENT253 | 0,305 | 0,200 | | | | | | | | | | | | |
| 4 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT1183 | 0,307 | 0,273 | 0,283 | | | | | | | | | | | |
| 5 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT1184 | 0,306 | 0,272 | 0,268 | 0,000 | | | | | | | | | | |
| 6 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT246 | 0,307 | 0,273 | 0,283 | 0,000 | 0,000 | | | | | | | | | |
| 7 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT83 | 0,286 | 0,312 | 0,295 | 0,040 | 0,029 | 0,040 | | | | | | | | |
| 8 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT87 | 0,300 | 0,274 | 0,271 | 0,037 | 0,029 | 0,037 | 0,004 | | | | | | | |
| 9 <i>K. petersorum</i> ♀ ENT418 | 0,297 | 0,274 | 0,268 | 0,034 | 0,026 | 0,034 | 0,004 | 0,000 | | | | | | |
| 10 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT86 | 0,300 | 0,274 | 0,271 | 0,037 | 0,029 | 0,037 | 0,004 | 0,000 | 0,000 | | | | | |
| 11 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | 0,296 | 0,280 | 0,274 | 0,039 | 0,031 | 0,039 | 0,004 | 0,002 | 0,002 | 0,002 | | | | |
| 12 <i>K. petersorum</i> ♀ ENT135 | 0,299 | 0,276 | 0,271 | 0,036 | 0,029 | 0,036 | 0,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,002 | | | |
| 13 <i>Kempnyia</i> sp.05N ENT189 | 0,299 | 0,276 | 0,271 | 0,036 | 0,029 | 0,036 | 0,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,002 | 0,000 | | |
| 14 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT243 | 0,310 | 0,273 | 0,274 | 0,046 | 0,040 | 0,046 | 0,018 | 0,009 | 0,009 | 0,009 | 0,011 | 0,009 | 0,009 | |
| 15 <i>K. neotropica</i> ♂ ENT242 | 0,320 | 0,280 | 0,244 | 0,089 | 0,075 | 0,089 | 0,088 | 0,078 | 0,078 | 0,078 | 0,081 | 0,078 | 0,078 | 0,083 |
| 16 <i>K. alterosorum</i> ♂ ENT415 | 0,292 | 0,247 | 0,252 | 0,201 | 0,198 | 0,201 | 0,198 | 0,197 | 0,193 | 0,197 | 0,196 | 0,196 | 0,196 | 0,196 |
| 17 <i>Kempnyia</i> sp.04N ENT155 | 0,313 | 0,232 | 0,215 | 0,190 | 0,180 | 0,190 | 0,173 | 0,179 | 0,176 | 0,179 | 0,179 | 0,179 | 0,179 | 0,191 |
| 18 <i>K. reticulata</i> ♂ ENT419 | 0,261 | 0,243 | 0,289 | 0,180 | 0,175 | 0,180 | 0,180 | 0,172 | 0,172 | 0,172 | 0,172 | 0,172 | 0,172 | 0,178 |
| 19 <i>K. gracilenta</i> ♂ ENT277 | 0,287 | 0,228 | 0,231 | 0,178 | 0,165 | 0,178 | 0,191 | 0,199 | 0,196 | 0,199 | 0,201 | 0,198 | 0,198 | 0,198 |
| 20 <i>Kempnyia</i> sp.03♀ ENT188 | 0,273 | 0,240 | 0,279 | 0,173 | 0,162 | 0,173 | 0,173 | 0,187 | 0,187 | 0,187 | 0,186 | 0,189 | 0,189 | 0,196 |
| 21 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT153 | 0,273 | 0,240 | 0,279 | 0,173 | 0,162 | 0,173 | 0,173 | 0,187 | 0,187 | 0,187 | 0,186 | 0,189 | 0,189 | 0,196 |
| 22 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1194 | 0,273 | 0,240 | 0,279 | 0,173 | 0,162 | 0,173 | 0,173 | 0,187 | 0,187 | 0,187 | 0,186 | 0,189 | 0,189 | 0,196 |
| 23 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1195 | 0,273 | 0,240 | 0,279 | 0,173 | 0,162 | 0,173 | 0,173 | 0,187 | 0,187 | 0,187 | 0,186 | 0,189 | 0,189 | 0,196 |
| 24 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1196 | 0,273 | 0,240 | 0,279 | 0,173 | 0,162 | 0,173 | 0,173 | 0,187 | 0,187 | 0,187 | 0,186 | 0,189 | 0,189 | 0,196 |
| 25 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1197 | 0,273 | 0,240 | 0,279 | 0,173 | 0,162 | 0,173 | 0,173 | 0,187 | 0,187 | 0,187 | 0,186 | 0,189 | 0,189 | 0,196 |
| 26 <i>K. jatim</i> ♂ ENT1000 | 0,309 | 0,253 | 0,253 | 0,178 | 0,166 | 0,178 | 0,185 | 0,179 | 0,176 | 0,179 | 0,178 | 0,178 | 0,178 | 0,190 |
| 27 <i>K. jatim</i> ♂ ENT240 | 0,302 | 0,271 | 0,254 | 0,197 | 0,186 | 0,197 | 0,192 | 0,185 | 0,183 | 0,185 | 0,185 | 0,185 | 0,185 | 0,191 |
| 28 <i>K. jatim</i> ♀ ENT239 | 0,296 | 0,262 | 0,252 | 0,189 | 0,180 | 0,189 | 0,188 | 0,177 | 0,174 | 0,177 | 0,177 | 0,177 | 0,177 | 0,183 |
| 29 <i>K. varipes</i> ♂ ENT282 | 0,333 | 0,273 | 0,263 | 0,209 | 0,212 | 0,209 | 0,223 | 0,216 | 0,217 | 0,216 | 0,219 | 0,219 | 0,219 | 0,222 |
| 30 <i>Kempnyia</i> sp.06N ENT186 | 0,322 | 0,276 | 0,272 | 0,200 | 0,197 | 0,200 | 0,202 | 0,207 | 0,207 | 0,207 | 0,209 | 0,209 | 0,209 | 0,212 |

ANEXO V (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Kempnyia* e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|-------------|-------------------------------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|-------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|
| | | ENT290 | ENT156 | ENT253 | ENT1183 | ENT1184 | ENT246 | ENT83 | ENT87 | ENT418 | ENT86 | ENT136 | ENT135 | ENT189 | ENT243 |
| 31 | <i>Kempnyia</i> sp.06 ENT185 | 0,306 | 0,244 | 0,260 | 0,188 | 0,193 | 0,188 | 0,211 | 0,198 | 0,198 | 0,198 | 0,200 | 0,200 | 0,200 | 0,203 |
| 32 | <i>K. colossica</i> ♂ ENT247 | 0,290 | 0,272 | 0,206 | 0,212 | 0,197 | 0,212 | 0,200 | 0,219 | 0,216 | 0,219 | 0,221 | 0,218 | 0,218 | 0,228 |
| 33 | <i>K. colossica</i> ♂ ENT416 | 0,280 | 0,256 | 0,225 | 0,224 | 0,208 | 0,224 | 0,206 | 0,215 | 0,216 | 0,215 | 0,215 | 0,218 | 0,218 | 0,231 |
| 34 | <i>Kempnyia</i> sp.01N ENT138 | 0,270 | 0,261 | 0,207 | 0,231 | 0,217 | 0,231 | 0,214 | 0,239 | 0,236 | 0,239 | 0,239 | 0,239 | 0,239 | 0,245 |
| 35 | <i>K. flava</i> ♂ ENT586 | 0,274 | 0,240 | 0,263 | 0,177 | 0,174 | 0,177 | 0,190 | 0,185 | 0,183 | 0,185 | 0,185 | 0,185 | 0,185 | 0,191 |
| 36 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT275 | 0,293 | 0,267 | 0,265 | 0,208 | 0,198 | 0,208 | 0,197 | 0,215 | 0,212 | 0,215 | 0,214 | 0,214 | 0,214 | 0,220 |
| 37 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT280 | 0,281 | 0,254 | 0,236 | 0,181 | 0,180 | 0,181 | 0,173 | 0,190 | 0,187 | 0,190 | 0,187 | 0,190 | 0,190 | 0,196 |
| 38 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT1198 | 0,277 | 0,234 | 0,242 | 0,165 | 0,150 | 0,165 | 0,149 | 0,174 | 0,171 | 0,174 | 0,174 | 0,174 | 0,174 | 0,180 |
| 39 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT278 | 0,276 | 0,257 | 0,242 | 0,163 | 0,168 | 0,163 | 0,187 | 0,184 | 0,181 | 0,184 | 0,183 | 0,183 | 0,183 | 0,189 |
| 40 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT252 | 0,279 | 0,264 | 0,245 | 0,165 | 0,175 | 0,165 | 0,187 | 0,187 | 0,184 | 0,187 | 0,186 | 0,186 | 0,186 | 0,192 |
| 41 | <i>Kempnyia</i> sp.02N ENT152 | 0,276 | 0,257 | 0,245 | 0,160 | 0,168 | 0,160 | 0,187 | 0,181 | 0,178 | 0,181 | 0,180 | 0,180 | 0,180 | 0,186 |

ANEXO V (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Kempnyia* e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
|-------------|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|
| | | ENT242 | ENT415 | ENT155 | ENT419 | ENT277 | ENT188 | ENT153 | ENT1194 | ENT1195 | ENT1196 | ENT1197 | ENT1000 | ENT240 | ENT239 |
| 1 | <i>P. curupira</i> sp.n.♂ ENT290 | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | <i>A. debilis</i> ♂ ENT156 | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | <i>A. itatiaiensis</i> ♂ ENT253 | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT1183 | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT1184 | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT246 | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT83 | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT87 | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | <i>K. petersorum</i> ♀ ENT418 | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT86 | | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | <i>K. petersorum</i> ♀ ENT135 | | | | | | | | | | | | | | |
| 13 | <i>Kempnyia</i> sp.05N ENT189 | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | <i>K. petersorum</i> ♂ ENT243 | | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | <i>K.neotropica</i> ♂ ENT242 | | | | | | | | | | | | | | |
| 16 | <i>K. alterosorum</i> ♂ENT415 | 0,199 | | | | | | | | | | | | | |
| 17 | <i>Kempnyia</i> sp.04N ENT155 | 0,193 | 0,064 | | | | | | | | | | | | |
| 18 | <i>K. reticulata</i> ♂ ENT419 | 0,207 | 0,189 | 0,200 | | | | | | | | | | | |
| 19 | <i>K. gracilentia</i> ♂ ENT277 | 0,181 | 0,180 | 0,180 | 0,161 | | | | | | | | | | |
| 20 | <i>Kempnyia</i> sp.03♀ ENT188 | 0,181 | 0,183 | 0,187 | 0,152 | 0,112 | | | | | | | | | |
| 21 | <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT153 | 0,181 | 0,183 | 0,187 | 0,152 | 0,112 | 0,000 | | | | | | | | |
| 22 | <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1194 | 0,181 | 0,183 | 0,187 | 0,152 | 0,112 | 0,000 | 0,000 | | | | | | | |
| 23 | <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1195 | 0,181 | 0,183 | 0,187 | 0,152 | 0,112 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | | | | | |
| 24 | <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1196 | 0,181 | 0,183 | 0,187 | 0,152 | 0,112 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | | | | |
| 25 | <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1197 | 0,181 | 0,183 | 0,187 | 0,152 | 0,112 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | | | |
| 26 | <i>K. jatim</i> ♂ ENT1000 | 0,191 | 0,193 | 0,164 | 0,234 | 0,179 | 0,193 | 0,193 | 0,193 | 0,193 | 0,193 | 0,193 | | | |
| 27 | <i>K. jatim</i> ♂ ENT240 | 0,204 | 0,189 | 0,174 | 0,211 | 0,185 | 0,209 | 0,209 | 0,209 | 0,209 | 0,209 | 0,209 | 0,077 | | |
| 28 | <i>K. jatim</i> ♀ ENT239 | 0,205 | 0,180 | 0,172 | 0,206 | 0,189 | 0,213 | 0,213 | 0,213 | 0,213 | 0,213 | 0,213 | 0,075 | 0,002 | |
| 29 | <i>K. varipes</i> ♂ ENT282 | 0,205 | 0,250 | 0,237 | 0,228 | 0,224 | 0,216 | 0,216 | 0,216 | 0,216 | 0,216 | 0,216 | 0,231 | 0,220 | 0,221 |
| 30 | <i>Kempnyia</i> sp.06N ENT186 | 0,203 | 0,232 | 0,236 | 0,215 | 0,212 | 0,188 | 0,188 | 0,188 | 0,188 | 0,188 | 0,188 | 0,215 | 0,198 | 0,199 |

ANEXO V (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Kempnyia* e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
|-------------|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|
| | | ENT242 | ENT415 | ENT155 | ENT419 | ENT277 | ENT188 | ENT153 | ENT1194 | ENT1195 | ENT1196 | ENT1197 | ENT1000 | ENT240 | ENT239 |
| 31 | <i>Kempnyia</i> sp.06 ENT185 | 0,209 | 0,203 | 0,208 | 0,193 | 0,212 | 0,203 | 0,203 | 0,203 | 0,203 | 0,203 | 0,203 | 0,212 | 0,223 | 0,221 |
| 32 | <i>K. colossica</i> ♂ ENT247 | 0,191 | 0,222 | 0,194 | 0,207 | 0,183 | 0,207 | 0,207 | 0,207 | 0,207 | 0,207 | 0,207 | 0,197 | 0,187 | 0,188 |
| 33 | <i>K. colossica</i> ♂ ENT416 | 0,227 | 0,211 | 0,200 | 0,174 | 0,183 | 0,149 | 0,149 | 0,149 | 0,149 | 0,149 | 0,149 | 0,201 | 0,175 | 0,173 |
| 34 | <i>Kempnyia</i> sp.01N ENT138 | 0,219 | 0,200 | 0,177 | 0,190 | 0,186 | 0,180 | 0,180 | 0,180 | 0,180 | 0,180 | 0,180 | 0,214 | 0,212 | 0,213 |
| 35 | <i>K. flava</i> ♂ ENT586 | 0,207 | 0,194 | 0,193 | 0,188 | 0,200 | 0,198 | 0,198 | 0,198 | 0,198 | 0,198 | 0,198 | 0,199 | 0,164 | 0,168 |
| 36 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT275 | 0,221 | 0,174 | 0,190 | 0,245 | 0,229 | 0,244 | 0,244 | 0,244 | 0,244 | 0,244 | 0,244 | 0,219 | 0,198 | 0,192 |
| 37 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT280 | 0,212 | 0,171 | 0,157 | 0,210 | 0,214 | 0,196 | 0,196 | 0,196 | 0,196 | 0,196 | 0,196 | 0,172 | 0,174 | 0,169 |
| 38 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT1198 | 0,183 | 0,156 | 0,163 | 0,213 | 0,207 | 0,195 | 0,195 | 0,195 | 0,195 | 0,195 | 0,195 | 0,178 | 0,170 | 0,165 |
| 39 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT278 | 0,196 | 0,195 | 0,199 | 0,207 | 0,216 | 0,208 | 0,208 | 0,208 | 0,208 | 0,208 | 0,208 | 0,204 | 0,168 | 0,163 |
| 40 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT252 | 0,199 | 0,192 | 0,193 | 0,213 | 0,216 | 0,202 | 0,202 | 0,202 | 0,202 | 0,202 | 0,202 | 0,197 | 0,162 | 0,157 |
| 41 | <i>Kempnyia</i> sp.02N ENT152 | 0,193 | 0,192 | 0,196 | 0,207 | 0,216 | 0,208 | 0,208 | 0,208 | 0,208 | 0,208 | 0,208 | 0,200 | 0,165 | 0,160 |

ANEXO V (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Kempnyia* e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 |
|------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|
| | ENT282 | ENT186 | ENT185 | ENT247 | ENT416 | ENT138 | ENT586 | ENT275 | ENT280 | ENT1198 | ENT278 | ENT252 | ENT152 |
| 1 <i>P. curupira</i> sp.n.♂ ENT290 | | | | | | | | | | | | | |
| 2 <i>A. debilis</i> ♂ ENT156 | | | | | | | | | | | | | |
| 3 <i>A. itatiaiensis</i> ♂ ENT253 | | | | | | | | | | | | | |
| 4 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT1183 | | | | | | | | | | | | | |
| 5 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT1184 | | | | | | | | | | | | | |
| 6 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT246 | | | | | | | | | | | | | |
| 7 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT83 | | | | | | | | | | | | | |
| 8 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT87 | | | | | | | | | | | | | |
| 9 <i>K. petersorum</i> ♀ ENT418 | | | | | | | | | | | | | |
| 10 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT86 | | | | | | | | | | | | | |
| 11 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT136 | | | | | | | | | | | | | |
| 12 <i>K. petersorum</i> ♀ ENT135 | | | | | | | | | | | | | |
| 13 <i>Kempnyia</i> sp.05N ENT189 | | | | | | | | | | | | | |
| 14 <i>K. petersorum</i> ♂ ENT243 | | | | | | | | | | | | | |
| 15 <i>K. neotropica</i> ♂ ENT242 | | | | | | | | | | | | | |
| 16 <i>K. alterosorum</i> ♂ ENT415 | | | | | | | | | | | | | |
| 17 <i>Kempnyia</i> sp.04N ENT155 | | | | | | | | | | | | | |
| 18 <i>K. reticulata</i> ♂ ENT419 | | | | | | | | | | | | | |
| 19 <i>K. gracilenta</i> ♂ ENT277 | | | | | | | | | | | | | |
| 20 <i>Kempnyia</i> sp.03♀ ENT188 | | | | | | | | | | | | | |
| 21 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT153 | | | | | | | | | | | | | |
| 22 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1194 | | | | | | | | | | | | | |
| 23 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1195 | | | | | | | | | | | | | |
| 24 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1196 | | | | | | | | | | | | | |
| 25 <i>Kempnyia</i> sp.03N ENT1197 | | | | | | | | | | | | | |
| 26 <i>K. jatim</i> ♂ ENT1000 | | | | | | | | | | | | | |
| 27 <i>K. jatim</i> ♂ ENT240 | | | | | | | | | | | | | |
| 28 <i>K. jatim</i> ♀ ENT239 | | | | | | | | | | | | | |
| 29 <i>K. varipes</i> ♂ ENT282 | | | | | | | | | | | | | |
| 30 <i>Kempnyia</i> sp.06N ENT186 | 0,056 | | | | | | | | | | | | |

ANEXO V (Cont.). Distâncias K2P de sequências de COI de *Kempnyia* e a relação de espécimes amostrados.

| Continuação | | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 |
|-------------|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|
| | | ENT282 | ENT186 | ENT185 | ENT247 | ENT416 | ENT138 | ENT586 | ENT275 | ENT280 | ENT1198 | ENT278 | ENT252 | ENT152 |
| 31 | <i>Kempnyia</i> sp.06 ENT185 | 0,096 | 0,089 | | | | | | | | | | | |
| 32 | <i>K. colossica</i> ♂ ENT247 | 0,195 | 0,193 | 0,174 | | | | | | | | | | |
| 33 | <i>K. colossica</i> ♂ ENT416 | 0,194 | 0,182 | 0,226 | 0,151 | | | | | | | | | |
| 34 | <i>Kempnyia</i> sp.01N ENT138 | 0,201 | 0,207 | 0,195 | 0,133 | 0,107 | | | | | | | | |
| 35 | <i>K. flava</i> ♂ ENT586 | 0,200 | 0,188 | 0,189 | 0,195 | 0,187 | 0,190 | | | | | | | |
| 36 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT275 | 0,198 | 0,180 | 0,184 | 0,216 | 0,232 | 0,213 | 0,168 | | | | | | |
| 37 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT280 | 0,198 | 0,189 | 0,181 | 0,165 | 0,188 | 0,192 | 0,165 | 0,063 | | | | | |
| 38 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT1198 | 0,194 | 0,185 | 0,176 | 0,182 | 0,209 | 0,186 | 0,150 | 0,066 | 0,054 | | | | |
| 39 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT278 | 0,189 | 0,171 | 0,199 | 0,210 | 0,206 | 0,194 | 0,159 | 0,086 | 0,086 | 0,076 | | | |
| 40 | <i>K. obtusa</i> ♂ ENT252 | 0,189 | 0,171 | 0,205 | 0,210 | 0,206 | 0,204 | 0,165 | 0,096 | 0,086 | 0,082 | 0,009 | | |
| 41 | <i>Kempnyia</i> sp.02N ENT152 | 0,189 | 0,171 | 0,199 | 0,210 | 0,209 | 0,201 | 0,159 | 0,091 | 0,086 | 0,076 | 0,004 | 0,004 | |

ANEXO VI. Descrição de *Kempnyia puri* publicada na Revista Zootaxa.

TERMS OF USE

This pdf is provided by Magnolia Press for private/research use.
Commercial sale or deposition in a public library or website is prohibited.

 Zootaxa 3619 (5): 554–556
www.mapress.com/zootaxa/
Copyright © 2013 Magnolia Press

Correspondence

ISSN 1175-5326 (print edition)
ZOOTAXA
ISSN 1175-5334 (online edition)

<http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3619.5.4>
<http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org/pub:7FEB2DB1-6B36-4B7F-90DC-A481E9626AFB>

Kempnyia puri, a new species of Perlidae (Plecoptera) from Rio de Janeiro, Brazil

FERNANDA AVELINO CAPISTRANO DA SILVA^{1,2,3,4}, MARCIA REGINA DE-SOUZA^{1,2,3} &
JORGE LUIZ NESSIMIAN¹

¹Laboratório de Entomologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Caixa Postal 68044, CEP: 21941-971, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil

³Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Departamento de Entomologia, Núcleo de Morfologia e Ultraestrutura de Vetores, CEP: 21045-900, Mangunhos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁴Corresponding author. E-mail: fernandaasilva@yahoo.com.br

Abstract

Kempnyia puri sp. nov. is described from male specimens from Rio de Janeiro State, southeastern Brazil. This species is distinguished from its congeners by the male genitalia bearing moderately long and curved hooks with apex directed laterad and a large and rounded dorsal projection of the penial ring.

Key words: Plecoptera, Perlidae, *Kempnyia*, new species, Brazil

Introduction

Kempnyia Klapálek, 1914 is an endemic genus from South America, occurring from southern to central region of Brazil, but recent studies indicate the possible occurrence in neighboring areas such as Uruguay, Argentina, and Paraguay (Bispo & Froehlich 2004). Derka *et al.* (2010) reported immatures of the genus in Venezuela. The genus currently includes 36 species and 16 occurring Rio de Janeiro State (Froehlich 2010, 2011a, 2011b, Nessimian *et al.* 2009). *Kempnyia* is characterized by W-shaped postfrontal line, eyes totally pigmented and a triangular to pear-shaped hammer (Froehlich 1984, Bispo & Froehlich 2007). The immatures are found in relatively pristine low order rivers, inhabiting leaf litter and rock substrates (Baptista *et al.* 2001). In this work, we describe a new species from the central mountains of Rio de Janeiro State.

Materials and methods

Two males were collected using light traps at rivers in Teresópolis and Nova Friburgo municipalities, Rio de Janeiro State by Luís Fernando Marques Dorvillé. To examine the genitalia, abdomens were removed and cleared in 10% KOH. The specimens were preserved in 98% ethanol and deposited in the Coleção Entomológica Professor José Alfredo Pinheiro Dutra, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (DZRJ).

Results

Kempnyia puri sp. nov.

Figs. 1–5.

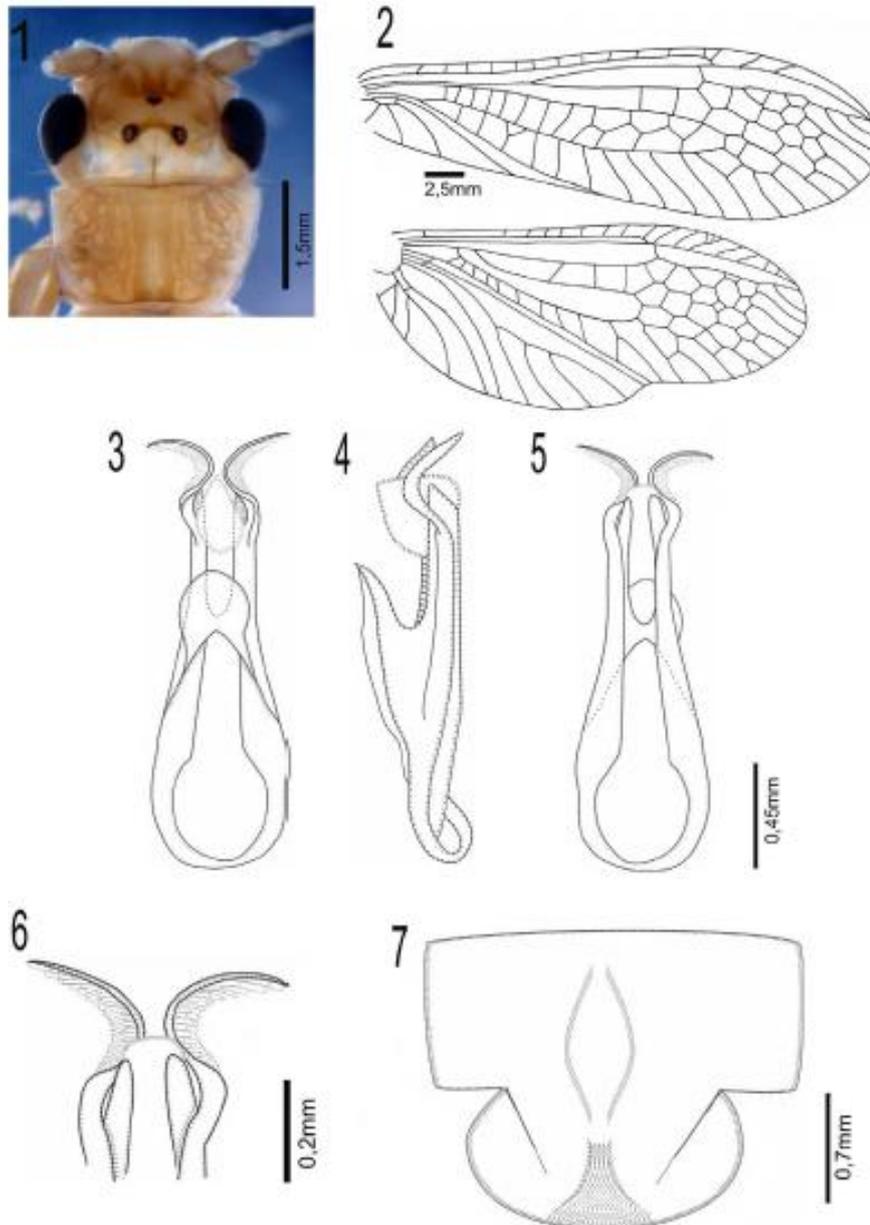
Type material. **Holotype.** Brazil, Rio de Janeiro State, Nova Friburgo, Rio das Flores, 22°25'36,6"S 42°30'26,4"W, 1.062m, 16.vii.1995. L.F.M. Dorvillé leg., 1♂ (DZRJ #1,591); **Paratype.** Teresópolis, Rio Varginha, Hotel Sayonara, 22°26'46.30"S 42°53'22.20"W, 947m, 17.viii.1997. L.F.M. Dorvillé leg., 1♂ (DZRJ #237).

554 Accepted by B. Kondratieff: 30 Jan. 2013; published: 4 Mar. 2013

ANEXO VI. (Cont.) Descrição de *Kempnyia puri* publicada na Revista Zootaxa.

TERMS OF USE

This pdf is provided by Magnolia Press for private research use.
Commercial sale or deposition in a public library or website is prohibited.



FIGURES 1–7. *Kempnyia puri* sp. nov., male. Fig. 1, head and pronotum; Fig. 2, forewing and hindwing; Fig. 3, penial armature, dorsal view; Fig. 4, penial armature, lateral view; Fig. 5, penial armature, ventral view; Fig. 6, detail of the hooks in ventral view; Fig. 7, sternum 9.

ANEXO VI. (Cont.) Descrição de *Kempnyia puri* publicada na Revista Zootaxa.

TERMS OF USE

This pdf is provided by Magnolia Press for private/research use.

Commercial sale or deposition in a public library or website is prohibited.

Male. General color light brown (in alcohol). Ventral side lighter. M-line present and clearly marked (Fig. 1). Three ocelli, partly black. Eyes black. Antennae yellow and setose. Epicranial line not surpassing ocelli. Area between paired ocelli with a transverse brown stripe. Pronotum trapezoidal with rough surface. Wings pale; veins of forewings light brown, except Sc, R₁[RP] and Cu [CuA] darker; area between R, [RA] and Cu, [CuP] with numerous cross veins (Figs. 2). Legs yellow, with apex of femora, base and the apex of tarsi light brown. Abdomen light brown. Sternum 9 oval, outlined by brown; hammer subtriangular (Fig. 7). Tergum 10 with peg-like bristles area. Paraprocts directed dorsally with sharp apex. Penial armature brown. Hooks moderately developed, with apex toward the ventral face of the structure, opposite to gonopore (Figs. 3–5); tip of hooks with crenulated outer surface (Fig. 6). Penial ring large, covering 2/3 of this structure, bearing a large and rounded median projection in dorsal view (Figs. 3–5).

Female and nymphs. Unknown.

Measurements. **Male:** Forewing length: 19.2–20.9 mm; head width: 3.08–3.17 mm; Penial armature length: 1.8mm.

Discussion. *Kempnyia puri* shares with the male of *K. reticulata* (Klapálek, 1916) numerous cross veins between Rs and Cu, on distal margin of both wings (Fig. 2) and shape of median projection of penial ring (Figs. 3–5) (see Joost (1980), fig. 1–4 as *K. calabriae*). The new species can be distinguished from *K. reticulata* by the shape of penial armature hooks, curved on *K. puri* (Figs. 3–5), moderately twisted on *K. reticulata* (see Joost (1980), figs. 3–4; Zwick (1983), figs. 1–2) and the shape of the subgenital plate, oval in the new species (Fig. 7) and squared in *K. reticulata* (see Joost (1980), fig. 2; Zwick, (1983), fig. 4).

Distribution. Brazil. Rio de Janeiro State.

Etymology. The name refers to the Puri Indigenous people who lived in mountains regions of Rio de Janeiro State.

Acknowledgements

We are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), to Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), that partially funded this study, and to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and CNPq, for providing fellowships, respectively, to F.A.C.S.; M.R.S. and to J.L.N. To Leandro S. Barbosa for the suggestions on the illustrations.

References

- Batista, D.F., Buss, D.F., Dorvillé, L.F.M. & Nessimian, J.L. (2001) Diversity and habitat preference of aquatic insects along the longitudinal gradient of the Macaé River Basin, Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*, 61(2), 249–258.
- Bispo, P.C. & Froehlich, C.G. (2007) Stoneflies (Plecoptera) from northern Goiás State: new record of *Kempnyia oliverai* (Perlidae) and a new species of *Tipiporia* (Gripopterygidae). *Aquatic Insects*, 29, 213–217. <http://dx.doi.org/10.1080/01650420701411184>
- Bispo, P.C. & Froehlich, C.G. (2004) The first records of *Kempnyia* (Plecoptera: Perlidae) from central Brazil, with descriptions of new species. *Zootaxa*, 530, 1–7.
- Derka, T., Tierno de Figueiroa, J.M. & Gamboa, M. (2010) First records of Plecoptera from Pantepui biogeographical province, with the first record of genus *Kempnyia* Klapálek, 1914 for Venezuela (Insecta: Plecoptera). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, 33, 493–502.
- Froehlich, C.G. (1984) Brazilian Plecoptera 2. Species of the *serrana*-group of *Kempnyia* (Plecoptera). *Aquatic Insects*, 6(3), 137–147. <http://dx.doi.org/10.1080/01650428409361176>
- Froehlich, C.G. (2010) Catalog of Neotropical Plecoptera. *Illiesia*, 6(12), 118–205.
- Froehlich, C.G. (2011a) Notes on *Kempnyia*, with description of three new species (Plecoptera, Perlidae). *Illiesia*, 7(13), 133–141.
- Froehlich, C.G. (2011b) *Kempnyia* (Plecoptera) from the Mantiqueira Montais of Brazil. *Zootaxa*, 2999, 20–32.
- Joost, W. (1980). *Kempnyia calabriae* sp. n. aus Brasilien. *Reichenbachia*, 18(9), 73–75.
- Klapálek, F. (1914) Analytická tabulka fam Perlidae a její dvou subfam., Perlinae a Acroneuriinae (Plecoptera). *Časopis České Společnosti Entomologické*, 11, 53–69.
- Klapálek, F. (1916) Subfamilia Acroneuriinae Klp. *Časopis České Společnosti Entomologické*, 13, 45–84.
- Nessimian, J.L., Avelino-Capistrano, F.S., Corrêa, B.L. & Costa, J.M. (2009) Espécies de plec6pteros (Plecoptera) registradas no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Arquivos do Museu Nacional*, 67(3–4), 313–319.
- Zwick, P. (1983) *Eutactophlebia*, a synonym of *Kempnyia* (Plecoptera: Perlidae). *Aquatic Insects*, 5(3), 177–180. <http://dx.doi.org/10.1080/01650428309361142>

DNA-based identification and descriptions of immatures of *Kempnyia* Klapálek (Insecta:Plecoptera) from Macaé River Basin, Rio de Janeiro State, Brazil

Fernanda Avelino-Capistrano^{1,2,3,4}, Jorge Luiz Nessimian^{1,5}, Jacenir Reis Santos-Mallet^{2,3,6}, and Daniela Maeda Takiya^{1,7}

¹Laboratório de Entomologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Caixa Postal 68044, 21941-971, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

²Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Caixa Postal 68044, 21941-971, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

³Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Abstract: Deoxyribonucleic acid (DNA) barcode (cytochrome *c* oxidase subunit 1 [COI]) sequences have been used to associate adult and immature stages of stoneflies as a rapid and effective alternative to rearing immatures. However, no molecular associations have been made for Neotropical species, which have very few described immature stages. *Kempnyia* Klapálek (Perlidae) is an endemic South American genus. Currently, 20 females have been associated with males of the 40 valid species, but only 5 nymphs have been described. We collected stonefly nymphs at Macaé River Basin, Rio de Janeiro State, Brazil, and *Kempnyia* nymphs were separated those in 6 morphotypes. These morphotypes were associated to nominal *Kempnyia* species using 38 COI sequences (471 base pairs [bp]) of immatures and identified adults of 10 species occurring in southern and southeastern Brazil. Based on a neighbor-joining analysis of Kimura-2-parameter (K2P) pairwise divergences, we found 6 genetic *Kempnyia* lineages at Macaé River Basin represented by all morphotypes of nymphs included in our study. These nymphs were associated with males of *Kempnyia alterosarium*, *K. colossica*, *K. gracilentia*, *K. petersorum*, *K. obtusa*, and *K. varipes*. Intraspecific divergences in *Kempnyia* varied from 0 to 15%, but ~1/3 of comparisons had values >3%. These data are in agreement with previous studies with stonefly populations, which tend to show high COI divergences. Based on our results, we described previously unknown immatures of *K. alterosarium*, *K. petersorum*, and *K. obtusa*, and the male genitalia of *K. varipes* for the first time. We also described a new adult color morph of *K. petersorum*. Our study increased the number of *Kempnyia* species recorded at Macaé River Basin from 5 to 11. We recorded for the first time *K. alterosarium* and *K. reticulata* from Rio de Janeiro State and *K. jatum* from Espírito Santo State.

Key words: stoneflies, taxonomy, COI, Atlantic Forest

Benthic macroinvertebrates are the most commonly used freshwater organisms for assessing water quality because 1) they are ubiquitous and can be used to detect environmental disturbances in many types of aquatic systems and 2) their large number of species offers a spectrum of responses to environmental stresses (Rosenberg and Resh 1993, Bae et al. 2005). Macroinvertebrates have been used in freshwater monitoring programs in the Neotropics (Galdican et al. 2000, Callisto et al. 2001, Buss et al. 2002) and indicate that stonefly nymphs are very sensitive to environmental change (Junqueira and Campos 1998, Miserendino

and Pizzolón 1999). Most such studies in the Neotropics are based on identifications at the family level (e.g., Junqueira and Campos 1998, Miserendino and Pizzolón 1999) because of high diversity and the lack of appropriate taxonomic tools for identification at a lower level, even though some authors recommend identification at species level for greater sensitivity (Jones 2008, Sweeney et al. 2011).

Taxonomic descriptions of most Neotropical stoneflies are based only on adult males, and species identification of stonefly nymphs is almost impossible based on the published literature. Nymphal stages of few Neotropical spe-

E-mail addresses: ¹fernandac@iaq.ufrj.br; ²nessimian@ad.ufrj.br; ³joenir@ioc.fiocruz.br; ⁴mtakiya@ufrj.br

DOI: 10.1006/675226. Received 04 February 2013; Accepted 04 November 2013; Published online 22 January 2014.
Freshwater Science, 2014, 33(1):325–337. © 2014 by The Society for Freshwater Science.

325