

**Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-Graduação em Entomologia - PPG-ENT**

**Taxonomia de *Macronema* Pictet (Insecta: Trichoptera:
Hydropsychidae) e associação de larvas e adultos por
metamorfótipo e sequências de DNA do gene COI**

Thyago Augusto da Silva Vidovix

Manaus, Junho de 2013

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA
Programa de Pós-Graduação em Entomologia - PPG-ENT

**Taxonomia de *Macronema Pictet* (Insecta: Trichoptera:
Hydropsychidae) e associação de larvas e adultos por
metamorfótipo e sequências de DNA do gene COI**

Aluno: Thyago Augusto da Silva Vidovix

Orientadora: Dra. Ana Maria Oliveira Pes

Coorientadora: Dra. Janisete Gomes da Silva Miller

Dissertação de Mestrado, apresentada ao conselho da PPGEnto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia.

Manaus, Junho de 2013

Ficha Catalográfica

V654 Vidovix, Thyago Augusto da Silva
Taxonomia de *Macronema* Pictet (Insecta: Trichoptera: Hydropsychidae) e associação de larvas e adultos por meio do metamorfótipo e sequências de DNA do gene COI / Thyago Augusto da Silva Vidovix. --- Manaus : [s.n], 2013.
xix, 119 f : il. color.

Dissertação (mestrado) --- INPA, Manaus, 2013.

Orientador : Ana Maria Oliveira Pes

Coorientador : Janisete Gomes da Silva Miller

Área de concentração : Entomologia

1. Insetos aquáticos. 2. Insetos – Taxonomia. 3. Larvas I.

Título.

CDD 19. ed. 595.7450415

Sinopse:

Estudou-se a taxonomia das larvas e adultos das espécies do gênero *Macronema* coletadas no estado do Amazonas, utilizando a combinação de caracteres moleculares, DNA mitocondrial gene COI, com caracteres morfológicos. Através deste estudo, foi possível associar larvas com adultos, fêmeas com machos, descrever 12 larvas, 3 pupas e 7 novas espécies para o gênero.

Palavras-chave: Insetos aquáticos, DNA *Barcoding*, Floresta Amazônica, taxonomia integrativa, biodiversidade.

“A ciência se torna fascinante quando você não fica só na teoria.”

Marcelo Gleiser

“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro.”

Albert Einstein

Aos meus pais Odair Francisco Vidovix e Euvanir da Silva Vidovix, a minha irmã Tatiani da Silva Vidovix, minha sobrinha Pietra Vidovix. Vocês são a minha inspiração, alegria e apoio.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, Euvanir da Silva Vidovix e Odair Francisco Vidovix , por terem sempre me apoiado e acreditado nas minhas escolhas e nos meus estudos, e principalmente na minha vinda para o Amazonas. Obrigado pais por estarem presentes mesmo estando longe. Pai sempre lembrarei de você e dos seus conselhos. A minha irmã Tatiani que sempre me aturou, que compartilha momentos incríveis da minha vida e que ajuda nas minhas decisões. A minha sobrinha Pietrinha, por colocar alegria no meu caminho, pelos beijos adoráveis na época que estava estudando para o mestrado. Amo todos vocês, minha família, minha base diamantada.

Aos meus tios Oscar e Vera que abriram suas portas no começo da minha caminhada, e sempre me aconselharam, aos tios Edivar e Marlene pelo apoio na minha formação em Ciências Biológicas e por acreditar no meu sonho, muitas saudades de vocês.

A Simone Halfen o grande amor da minha vida, que compartilha momentos a sete anos, amiga dos momentos difíceis e alegres, companheira, minha inspiração, meu aconchego. Pela sua incrível ajuda de todos os momentos, do nosso namoro a distância durante um ano. Agradeço muito meu amor, tudo o que você já fez e faz por mim, agradeço por ter te conhecido e ter te dado as mãos, assim juntos possamos construir, planejar e realizar nossos sonhos.

Aos professores da UEMS, pelas conversas enriquecedoras, obrigado pela ajuda e pelos momentos incríveis de todas as coletas e momentos nos laboratórios. As professoras e orientadoras da graduação, professora Iana A. D. Valle de Oliveira e a professora Dra. Valéria F. Batista da Silva, por me orientarem e ajudarem no começo da minha carreira, acreditando no meu sonho, correndo atrás e conquistando uma bolsa de iniciação científica. Todo o pessoal dos laboratórios que compartilharam comigo momentos inesquecíveis. À professora Dra. Milza Abelha pelas incríveis conversas e ser uma excelente professora aumentando em mim a vontade de ser um professor acadêmico e cientista.

A todos os meus amigos da graduação, Anderson, Dhonatan, Alessandro, Daiane, Diovani, Marilene, Gisa, Fernando, Adriano, Dani, Cristina, Cristiane, Bianca, dentre muitos outros que me ajudaram a construir um passado tão bonito e inesquecível. Ao Ederlon e Rafael e a todos que moraram comigo no começo da minha vida em Manaus, Thiago, Diego e Amauri, que proporcionaram ótimas lembranças.

Ao professor Adolfo Calor que possibilitou meu estágio no seu laboratório em Ribeirão Preto no período da graduação, pela força quando eu não passei na prova do mestrado da UFBA e por sempre compartilhar conhecimento.

Agradeço a minha orientadora Dra. Ana Pes pela ajuda desde a graduação tirando minhas dúvidas e compartilhando artigos, por compartilhar momentos no laboratórios e nas coletas, por aturar minhas piadas e meu jeito de ser, por abrir as portas do seu laboratório possibilitando a minha jornada com os tricópteros, estes incríveis insetos áquaticos. A minha coorientadora Dra. Janisete Miller por me ajudar na prática e teórica da parte molecular.

À Dra. Neusa Hamada, pela infraestrutura do laboratório e das coletas, por todo o suporte disponibilizado, pela ajuda e dicas, por ser um exemplo profissional da área de sistemática, ecologia e genética de insetos aquáticos. Agradeço também à dupla dinâmica Jefferson e Cícero, pela ajuda logística e suporte nas coletas, onde dávamos muitas risadas dos imprevistos e das estórias engraçadas.

Às doutoras Vivian Dutra e Vanderly Andrade de Souza que me ajudaram muito na teoria e práticas moleculares. A todo o pessoal do laboratório de insetos aquáticos, Ulisses, Paulo, Vívian, Karina, Nayra, Tohnson, Cláudio Jr., Gisele, Cláudio Neto, Luciana, Renato, Higor, Galileu, Kaká, obrigado pela ajuda.

À turma de mestrado 2011-2013 da Entomologia do INPA, por nossos momentos alegres e tristes desde quando nos conhecemos na disciplina ministrada na Reserva Ducke. Aos grandes colegas da entomologia que eu fiz Val, Vitão, Gaúcho (Gaudério da entomologia), Rodrigo, Cintía e Edigar (os entomólogos mais baianos que conheço), Josenir, Mery por todas as risadas e companheirismo compartilhados.

Aos companheiros de laboratórios: Rafita por ser além de tudo um grande amigo, pela ajuda nas idéias e discussões científicas. À Bianca pela sua amizade, alegria, preocupação e por compartilhar os momentos. À Paula por me aguentar tanto tempo enchendo sua paciência e pela amizade e ao Lucas, o entomólogo mais Goiano e “facebuqueiro” que conheço.

Aos professores Dr. Carlos G. Nunes da Silva, Dr. Sergio Luiz Luz e à Dra. Gislene A. de Carvalho Zilse, por terem aceitado participar da minha aula de qualificação, dando sugestões construtivas ao meu projeto. Aos membros do Conselho de Curso, onde adquiri conhecimentos importantes por um ano, conhecendo um pouco mais do mundo administrativo da entomologia. Também à Lenir, que sempre me ajudou antes mesmo de eu entrar no mestrado. Agradeço também a todos os professores da entomologia e aqueles de outros estados que vem ministrar disciplinas aqui no INPA, por compartilharem seus conhecimentos

e suas experiências. Ao Chiquinho pelo seu grande conhecimento técnico ajudando assim a tirar muitas dúvidas, pela parte logística e muitas brincadeiras e histórias divertidas.

O projeto foi desenvolvido com recursos e infraestrutura provenientes dos seguintes projetos: Taxonomia e Biologia de Trichoptera (Insecta) na Amazônia Central - CNPq Bprocesso: 558776/2008-6; Insetos Aquáticos: Biodiversidade, Ferramentas Ambientais e a Popularização da Ciência para Melhoria da Qualidade de Vida Humana no Estado do Amazonas – PRONEX/CNPq/FAPEAM; CAPES-Pró-Equipamentos, Adaptações da Biota Aquática da Amazônia – ADAPTA, CNPq pela bolsa de mestrado concedida, ao INPA pela viabilização das coletas. Coletas foram realizadas com as Licenças do SISBIO: 12482-1, 24303-1, 2403-2, 28811-1. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM pela concessão das passagens aéreas para o XXIX Congresso Brasileiro de Zoologia realizado em Salvador.

Muito obrigado a todos.

Resumo

Apesar da família Hydropsychidae e do gênero *Macronema* possuírem uma elevada tolerância a alterações ambientais, a sua utilização em programas de biomonitoramento de qualidade de água doce tem sido altamente impedida pela falta de larvas identificadas e ilustradas. Ferramentas convencionais para associar larvas com adultos, geralmente são demoradas e problemáticas, assim uma técnica rápida e segura é proposta, integrando a morfologia com a análise molecular, principalmente do gene mitocondrial COI. Foram coletados adultos e larvas em dois municípios Manaus, Presidente Figueiredo e Barcelos/AM, dos quais foram identificados os adultos machos utilizando-se a genitália e o padrão de coloração das asas anteriores e as larvas separadas em morfótipos antes de submetidas à análise molecular. Dos espécimes descritos e morfotipados, foi extraído o DNA e amplificado um fragmento do gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade 1 (COI) de 43 espécimes, os quais foram sequenciados. A sequência do grupo externo (da mesma região mitocondrial) foi obtido no GenBank e de exemplares do gênero *Macrostemum ulmeri* (Banks). As análises filogenéticas foram realizadas utilizando-se os métodos de Máxima Parcimônia (MP), Máxima Verossimilhança (ML) e Neighbor-Joining (NJ) utilizando-se o modelo evolutivo Kimura-2-Parâmetros (K2P). Como resultado, oito espécies de larvas foram associadas com êxito, seis fêmeas também foram associadas a machos através do padrão de coloração e análise do DNA. Foram descritas neste trabalho três novas espécies para a ciência e quatro larvas não associadas facilitando trabalhos futuros de associação. Este estudo pode ser útil também para relacionar macho e fêmea, ajudar na identificação de espécies e revelar espécies crípticas, não só do gênero *Macronema*, mas também abrangendo outros níveis taxonômicos.

Abstract

Although the family Hydropsychidae and the genus *Macronema* have a high tolerance to environmental changes, its use in freshwater biomonitoring programs has been greatly hampered by the lack of identified and illustrated larvae. Conventional tools to associate larvae with adults have generally been slow and problematic, so a faster and safer technique is proposed, integrating morphology with molecular analysis. Integrative taxonomy is defined by the integration of different types of analyzes, for example using morphological and molecular characters available to delimit species. Adults and larvae were collected in two municipalities, Manaus and Presidente Figueiredo/AM, which were identified using the adult male genitalia and the staining pattern of the forewings, and the larvae classified in morphotypes before the molecular analysis. DNA was extracted from the morphotyped specimens and a fragment of the mitochondrial DNA gene cytochrome oxidase subunit 1 (COI) was amplified for 43 specimens, which were sequenced. The sequence from an outgroup (from the same mitochondrial region) was obtained from GenBank. Phylogenetic analyses were carried out using the methods of Maximum Parsimony (MP), Neighbor-Joining (NJ) and Maximum Likelihood using the Kimura-2-parameters (K2P) model. As a result, eight species of larvae were associated successfully, six females were also associated with the males through the staining pattern and DNA analysis. Two new species to science and four larvae not associated before were described in this study facilitating further the association studies. This study may also be useful to associate male and female, to assist in species identification and reveal cryptic species not just within the genus *Macronema*, but also encompassing other taxonomic levels.

SUMÁRIO

1. Introdução	1
1.2. Aspectos gerais da ordem	2
1.3. Aspectos gerais do gênero	3
1.4. Métodos de associação dos estágios da vida	4
1.5. DNA mitocondrial.....	4
1.6. DNA Barcoding	5
2. Justificativa	7
3. Objetivos	7
3.1. Geral	7
3.2. Específicos	8
4. Material e métodos	8
4.1. Áreas de estudo.....	8
4.2. Município de Presidente Figueiredo	8
4.2.1. Igarapés.....	9
4.3. Reserva Florestal Ducke.....	9
4.3.1. Igarapés.....	9
4.4. Coletas	10
4.5. Identificação e descrições.....	10
4.6. Análises Moleculares	12
4.6.1. Extração do DNA.....	12
4.6.2. Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	12
4.6.3. Eletroforese dos produtos amplificados	13
4.6.4. Reação de Purificação dos fragmentos amplificados	13
4.6.5. Reconstrução filogenética.....	17
4.6.5.1 Critério de associação.....	18
5. Resultados e discussão	19
5.1. Descrições e material examinado do Amazonas.....	27
6. Conclusões.....	105
7. Referências bibliográficas	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Iniciadores utilizados (Folmer <i>et al.</i> , 1994)	13
Tabela 2: Espécies de <i>Macronema</i> com o gene COI sequenciadas em 2012	14
Tabela 3: Programas específicos utilizados para as ampliações de cada par de oligonucleotídeos iniciadores (primers) para espécies de <i>Macronema</i>	16
Tabela 4: Limites dos valores de distância genética baseados no modelo Kimura-2-Parâmetros	21
Tabela 5: Distância interespecífica e intraespecífica utilizando o modelo K2P das sequências do gene mitocondrial Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) entre espécies dos gêneros <i>Macronema</i> , <i>Macrostemum</i> e <i>Smicridea</i> da família Hydropsychidae	25

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01:** No item A – a larva é considerada associada se as sequências do mesmo fragmento de gene são similares. No item B – a larva é considerada associada quando for um grupo irmão (monofiletismo com ancestral mais recente) dos adultos identificados. No item C – exigiria uma maior amostragem de adultos adicionais da mesma espécie até que a larva ficasse dentro de um dos dois critérios anteriores (Adaptado de Zhou *et al.*, 2007)18
- Figura 02:** Reconstrução filogenética pelo método de Neighbor-Joining utilizando sequências de COI para larvas e adultos de espécies do gênero *Macronema* usando o método Kimura-2-parâmetros com análise de *bootstrap* com 1000 réplicas22
- Figura 03:** Reconstrução filogenética pelo método da Máxima Parcimônia utilizando sequências de COI para larvas e adultos de espécies do gênero *Macronema* com análise de *bootstrap* com 1000 réplicas 23
- Figura 04:** Reconstrução filogenética pelo método de Máxima Verossimilhança utilizando sequências de COI para larvas e adultos de espécies do gênero *Macronema* usando o método Kimura-2-parâmetros com análise de *bootstrap* com 1000 réplicas24
- Figuras 05:** *Macronema argentilineatum*. Asas anteriores do macho – vista dorsal27
- Figura 06:** *Macronema bifidum*. Asas anteriores do macho – vista dorsal29
- Figura 07:** *Macronema bifidum*. Diagrama da posição e tipo de brânquias do metanoto e segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento simples, sem ramificações laterais. S(R) = um filamento simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum31
- Figura 08:** Larva *Macronema bifidum*. A: Corpo – vista lateral. B: Tórax – vista dorsal. C: Labro – vista dorsal. D: Mandíbulas – vista ventral. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral33
- Figura 09:** Larva *Macronema bifidum*. A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral34

Figura 10: Pupa <i>Macronema bifidum</i> . A: Cabeça – vista ventral. B: Processo ápical – vista dorsal. C: Placas em forma de gancho – vista dorsal; (3a – 8a) número dos segmentos abdominais, a = anterior e p = posterior	35
Figura 11: <i>Macronema burmeisteri</i> . Asa anterior do macho – vista dorsal	36
Figura 12: <i>Macronema exophthalmum</i> . Asa anterior do macho – vista dorsal.....	37
Figura 13: <i>Macronema exophthalmum</i> . Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central afilado simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum	39
Figura 14: Larva <i>Macronema exophthalmum</i> . A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Prosternito – vista ventral. E: Tórax – vista dorsal. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral..	42
Figura 15: Larva <i>Macronema exophthalmum</i> . A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral	43
Figura 16: Pupa <i>Macronema exophthalmum</i> . A: Pupa – vista dorsal. B: Placas em forma de gancho – vista dorsal; (3a – 8a) número dos segmentos abdominais, a = anterior e p = posterior. C: Cabeça – vista ventral. D: Processo ápical – vista dorsal	44
Figura 17: <i>Macronema fragile</i> . Asa anterior do macho – vista dorsal	45
Figura 18: <i>Macronema fragile</i> . Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e segmentos abdominais I-VIII. Onde: S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum	47
Figura 19: Larva <i>Macronema fragile</i> . A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Prosternito – vista ventral. E: Tórax – vista dorsal. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral	49
Figura 20: Larva <i>Macronema fragile</i> . A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. C: Fêmur da perna anterior – vista ventral. D: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. E: Pernas anterior, mediana e	

posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista dorsolateral.....50

Figura 21: Pupa *Macronema fragile*. A: Pupa – vista dorsal. B: Placas em forma de gancho – vista dorsal; (3a – 8a) número dos segmentos abdominais, a = anterior e p = posterior. C: Cabeça – vista ventral. D: Processo apical – vista dorsal51

Figura 22: *Macronema hageni*. Asa anterior do macho – vista dorsal52

Figura 23: *Macronema hageni*. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. Onde, S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum54

Figura 24: Larva *Macronema hageni*. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Prosternito – vista ventral. E: Tórax – vista dorsal. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral56

Figura 25: Larva *Macronema hageni*. A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral57

Figura 26: *Macronema parvum*. Asas anteriores do macho – vista dorsal59

Figura 27: *Macronema pennyi*. Asa anterior do macho – vista dorsal60

Figura 28: *Macronema pennyi*. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. Onde S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum61

Figura 29: Larva *Macronema pennyi*. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Tórax – vista dorsal. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral63

Figura 30: Larva *Macronema pennyi*. A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e

posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral	64
Figura 31: <i>Macronema percitans</i> . Asas anteriores do macho – vista dorsal	65
Figura 32: <i>Macronema bilobata</i> sp. nov.. Asa anterior do macho – vista dorsal	66
Figura 33: Genitália masculina <i>Macronema bilobata</i> sp. nov.. A: Genitália – vista lateral. B: Genitália – vista dorsal. C: Falo – vista lateral. D: Ápice do falo – vista lateral. E: Ápice do falo – vista ventral. F: Ápice do falo – vista dorsal	68
Figura 34: Genitália masculina <i>Macronema digitiformis</i> sp. nov.. A: Genitália – vista lateral. B: Genitália – vista dorsal. C: Falo – vista lateral. D: Ápice do falo – vista lateral. E: Ápice do falo – vista ventral.....	70
Figura 35: <i>Macronema duckensis</i> sp. nov.. Asas anteriores do macho – vista dorsal	71
Figura 36: <i>Macronema duckensis</i> sp. nov.. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do mesonoto, metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum	73
Figura 37: Genitália masculina <i>Macronema duckensis</i> sp. nov.. A: Genitália – vista lateral. B: Genitália – vista dorsal. C: Falo – vista lateral. D: Ápice do falo – vista dorsal. E: Ápice do falo – vista lateral	75
Figura 38: Larva <i>Macronema duckensis</i> sp. nov.. A: Corpo – vista lateral. B: Tórax – vista dorsal. C: Labro – vista dorsal. D: Mandíbulas – vista ventral. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral	76
Figura 39: Larva <i>Macronema duckensis</i> sp. nov.. A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral	77
Figura 40: <i>Macronema</i> sp. nov. 3 (Paprocki 2008). Asa anterior do macho – vista dorsal ...	78
Figura 41: <i>Macronema</i> sp. nov. 3 (Paprocki 2008). Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do mesonoto, metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. Onde S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com	

ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum	80
Figura 42: Larva <i>Macronema</i> sp. nov. 3 (Paprocki 2008). A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Tórax – vista dorsal. D: Cabeça – vista dorsal. E: Cabeça – vista ventral. F: Cabeça – vista lateral	81
Figura 43: Larva <i>Macronema</i> sp. nov. 3 (Paprocki 2008). A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista ventral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral	82
Figura 44: <i>Macronema</i> sp. nov. 8 (Paprocki 2008). Asa anterior do macho – vista dorsal ...	83
Figura 45: <i>Macronema</i> sp. nov. 9 (Paprocki 2008). Asas anteriores do macho – vista dorsal... ..	84
Figura 46: <i>Macronema</i> sp. nov. 9 (Paprocki 2008). Diagrama da posição e tipo de brânquias do meso, metanoto e segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento simples, sem ramificações laterais. S(R) = um filamento simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum	86
Figura 47: Larva <i>Macronema</i> sp. nov. 9 (Paprocki 2008). A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Tórax – vista dorsal. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral	88
Figura 48: Larva <i>Macronema</i> sp. nov. 9 (Paprocki 2008). A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral	89
Figura 49: <i>Macronema</i> sp. L1. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum ..	92

Figura 50: Larva <i>Macronema</i> sp. L1. A: Corpo - vista lateral. B: Tórax – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Labro – vista dorsal. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral	93
Figura 51: Larva <i>Macronema</i> sp. L1. A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral	94
Figura 52: <i>Macronema</i> sp. L2. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central afilado simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum ..	96
Figura 53: Larva <i>Macronema</i> sp. L2. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Tórax – vista dorsal. E: Cabeça – vista dorsal. F: Cabeça – vista ventral. G: Cabeça – vista lateral	98
Figura 54: Larva <i>Macronema</i> sp. L2. A: Trocântim e coxa da perna anterior - vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista ventrolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral	99
Figura 55: <i>Macronema</i> sp. L3. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central afilado simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum	101
Figura 56: Larva <i>Macronema</i> sp. L3. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Tórax – vista dorsal. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral	103
Figura 57: Larva <i>Macronema</i> sp. L3. A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista ventrolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventrolateral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral	104

Prefácio

Os nomes atribuídos às novas espécies (*Macronema bilobata* sp. nov., *Macronema digitiformis* sp. nov., *Macronema duckensis* sp. nov.) descritas neste trabalho não são válidos, de acordo com o Artigo 8 do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (1999).

1. Introdução

1.1. Aspectos gerais da ordem

A ordem Trichoptera Kirby 1813 é a maior entre as outras ordens de insetos restritamente de ambientes aquáticos (Neboiss 1991). O nome da ordem deve-se ao fato de suas asas possuírem cerdas (grego: *tricho* = cerda (pelo) e *ptera* = asa) que supostamente têm como função repelir as moléculas de água (Calor 2007).

Os tricópteros são insetos holometábolos possuindo assim os quatro estágios de vida: ovo, larva, pupa sendo estas aquáticas e adulto tendo fase terrestre (Holzenthal *et al.* 2007). Tem registro fóssil no Triássico, aproximadamente 230 milhões de anos atrás (Morse 1997; Ansoerge 2003; Grimaldi e Engel 2005; Holzenthal *et al.* 2007). A ordem Trichoptera tem atualmente 49 famílias, 616 gêneros e 14.548 espécies descritas no mundo (Morse 2013). São registrados para o Brasil 16 famílias, 70 gêneros e 579 espécies; para o estado do Amazonas 13 famílias, 42 gêneros e 168 espécies até o momento (Santos *et al.* 2013).

Apenas as formas imaturas são aquáticas, sendo os adultos terrestres (Holzenthal *et al.* 2007). As larvas distinguem-se pelo comportamento de construção de refúgios fixos, alguns com redes de captura de alimento, e abrigos móveis que carregam enquanto se alimentam (Huamantínco e Nessimian 1999).

As larvas possuem cabeça distinta com cápsula cefálica totalmente desenvolvida e esclerosada, com estemas presentes. As antenas são muito curtas, embora na família Leptoceridae as antenas sejam mais longas (pelo menos 4 a 5 vezes mais longas que largas) e conspícuas. Ao contrário dos adultos, as larvas possuem peças bucais bem desenvolvidas que consistem em um pequeno labro, um par de mandíbulas, um par de maxilas e um lábio. Cada segmento torácico é diferenciado na esclerose, geralmente o primeiro segmento diferenciando do segundo e terceiro (Holzenthal *et al.* 2007). O abdômen é membranoso, podendo ter geralmente brânquias respiratórias externas e o nono segmento dotado de um par de falsas pernas anais providas de ganchos (Angrisano 1998).

As pupas geralmente são aquáticas e semelhantes aos adultos, porém possuem estruturas exclusivas: labro com cerdas rígidas, extremo abdominal com um par de apêndices com cerdas; mandíbulas fortes, pernas com cerdas natatórias, tergitos abdominais com ganchos dorsais e geralmente possuem brânquias abdominais externas (Angrisano 1998).

Os adultos possuem asas recobertas de cerdas e algumas escamas, geralmente de coloração marrom, verde, cinza, amarelo, bege, entre outros tons escuros, provavelmente uma adaptação que permite a camuflagem durante o dia na vegetação. Outros possuem combinações de cores vibrantes, possivelmente relacionadas com comportamento de corte e cópula. O comprimento do corpo dos adultos varia entre 1,5-3,0 mm em Hydroptilidae e alguns Glossosomatidae, chegando até 30-45 mm nas famílias Hydropsychidae e Odontoceridae (Holzenthal *et al.* 2007; Flint 1978; Paprocki e Holzenthal 2002). Possuem palpos maxilares e labiais desenvolvidos, mas algumas espécies podem ter as peças bucais atrofiadas, geralmente com longas antenas filiformes, até quatro vezes mais longas que o corpo. Os adultos são encontrados próximos a lagos e cursos d'água, sob a vegetação ou pedras (Angrisano 1995).

As maiorias das espécies de Trichoptera são identificadas a partir de machos adultos, pois a genitália masculina, associada aos segmentos 9º e 10º, é visivelmente complexa e contém os principais caracteres para identificar gêneros e espécies. Porém, em alguns grupos a coloração das asas, tórax e cabeça são importantes para a taxonomia (Holzenthal *et al.* 2007).

São poucas as espécies de Trichoptera que têm seus estágios imaturos descritos, dificultando dessa forma a realização de estudos como o de ecologia de comunidades aquáticas. Atualmente, vem crescendo o número de trabalhos que associam larvas com os adultos dessa ordem na região amazônica (e.g. Flint 1983; Flint *et al.* 1999; Pes e Hamada 2003, 2004; Pes *et al.* 2008; Pes 2001; Pes 2005; Pes *et al.* 2005; Albino *et al.* 2011; Camargos 2012).

1.2. Aspectos gerais da família

A família Hydropsychidae é encontrada em todos os domínios biogeográficos do mundo menos na região Antártica, sendo mais diversa nas regiões temperadas e tropicais (Flint 1991). São reconhecidas atualmente para essa família cinco subfamílias: Arctopsychinae, Macronematinae, Hydropsychinae, Diplectroninae e Smicrideinae. As relações filogenéticas dessas subfamílias indicam que a família é monofilética, porém ainda não foi estabelecida uma classificação estável (Holzenthal 2007; Geraci *et al.* 2005; Scheffer 1996, 2005).

Esta família possui uma elevada tolerância a alterações ambientais (Lenat 1993), porém, a sua utilização em programas de biomonitoramentos de qualidade de água doce tem sido altamente impedida pela falta de identificação específica e ilustrações das larvas. Assim, a identificação dos estágios imaturos de espécies da família Hydropsychidae torna-se um pré-requisito e uma ferramenta indispensável para esses tipos de estudos (Zhou *et al.* 2007).

1.3. Aspectos gerais do gênero

O gênero *Macronema* Pictet, 1836 pertencente à subfamília Macronematinae, tem distribuição restrita à região Neotropical, desde o sul do México até a Argentina (Paprocki 2008), possui atualmente 30 espécies descritas (Morse 2013), com 16 espécies citadas para o Brasil sendo 12 para a Amazônia (Flint 1978, 1991). Dados não publicados Paprocki (2008) descreveu nove espécies novas do gênero, das quais duas foram coletadas no estado do Amazonas. Os adultos desse gênero são coloridos, geralmente com asas, tórax e cabeça recobertos por pequenas cerdas e escamas brilhantes de coloração verde, amarela e branca. O abrigo da pupa é mais espesso do que o abrigo da larva e raramente as pupas são coletadas.

A espécie *Macronema variipenne* Flint e Bueno-Soria 1979, foi à primeira do gênero que teve a larva descrita e associada por Flint e Bueno-Soria (1982), a qual possui os seguintes caracteres diagnósticos: gena lisa sem estrutura de estridulação, falsas pernas anais longas e delgadas com região mediana dobrável, brânquias abdominais com talo central grosso com ramificações muito finas e uniformes (penada), trocantim protorácico curto e simples. Os imaturos dessa espécie são encontrados associados a folhas e raízes de macrófitas, não constroem rede de captura de alimento e alimentam-se de fragmentos vegetais pertencendo assim à categoria fragmentador. Constroem seus abrigos em formato de tubos frouxos de seda e sedimento, geralmente preso a raízes, no remanso, ou sob rochas (Flint e Bueno-Soria 1982).

Foi observado que larvas de diferentes espécies de *Macronema* alimentam-se de fragmentos de raízes vivas (Pes comunicação pessoal) e esse é um fator importante, pois provavelmente essas larvas devem ter associação com algum micro-organismo para a absorção de nutrientes e degradação da celulose, indicando que larvas desse gênero podem ser bons alvos para pesquisas biotecnológicas.

1.4. Métodos de associação dos estágios da vida

Uma técnica empregada para associar larvas, pupas e adultos é o método do metamorfótipo, onde se pode observar o adulto formado dentro da cutícula pupal. Nessa fase, a genitália do macho já está formada, podendo o mesmo ser identificado no nível de espécie. Os escleritos da larva também permanecem dentro do abrigo pupal, permitindo a associação dos estágios da vida (Rueda Martín 2006). Mas, essa técnica, na maioria das vezes, tem o empecilho por demandar a coleta de pupas machos, diminuindo assim a probabilidade de serem coletadas.

A técnica de criação as larvas ficam em aquários, com o auxílio de uma bomba de ar, onde precisam ser alimentadas e observadas frequentemente. Esta técnica possui sua importância, pois podemos observar o comportamento e o tempo de duração de cada instar. As larvas do gênero *Macronema* são pouco estudadas tendo apenas uma associação com o adulto descrita para a espécie *Macronema variipenne* obtida por meio de criação em laboratório (Flint e Bueno-Sória 1982).

Até o momento, todos os trabalhos utilizaram o método do metamorfótipo, criação e emergência no laboratório para associar larvas e adultos na Amazônia (Albino *et al.* 2011; Camargos 2012). Contudo técnicas moleculares utilizando sequências de DNA mitocondrial podem auxiliar e complementar o processo de associação dos estágios de vida para a ordem Trichoptera. Em outros países, diversos trabalhos obtiveram sucesso na associação de larvas e adultos das mesmas espécies utilizando principalmente o gene mitocondrial codificante do Citocromo Oxidase subunidade I (COI) (Blaxter 2004; Shan *et al.* 2004a, b; Johanson 2007; Zhou *et al.* 2007; Waringer *et al.* 2008; Graf *et al.* 2009; Zhou 2009; Zhou *et al.* 2009; Pauls *et al.* 2010; Geraci *et al.* 2011; Zhou *et al.* 2011; Ruiter *et al.* 2013).

Uma abordagem molecular utilizando o gene mitocondrial COI, juntamente com a taxonomia alfa, tem revelado resultados promissores oferecendo um método rápido e confiável para a associação de larvas e adultos de uma mesma espécie (Zhou *et al.* 2007; Ruiter *et al.* 2013).

1.5. DNA mitocondrial

As mitocôndrias são organelas presentes no citoplasma dos organismos eucariotos e seu DNA é o único extracromossômico dentro da célula (exceto nos cloroplastos das plantas) (Taylor e Turnbull 2005). São responsáveis pelo processo de respiração celular, e são

excelentes “usinas” de produção da energia (ATP), sendo de suma importância para o ótimo funcionamento da célula (Junqueira e Carneiro 1997).

O genoma mitocondrial é composto por duas fitas de DNA circular, tendo uma distribuição assimétrica de guaninas e citosinas do qual gera um filamento H (fita pesada) e o filamento L (fita leve), com um tamanho de 15.236 pares de bases para a ordem Lepidoptera (Liu *et al.* 2012;), tendo geralmente 37 genes em insetos (Sheffield *et al.* 2008; Liu *et al.* 2012;).

Há evidências de que a genética mitocondrial é diferente da genética mendeliana por possuir seu próprio arcabouço genético. O DNA mitocondrial (mtDNA), tem sido muito utilizado em trabalhos na área de sistemática no nível de espécie. São excelentes genes por possuírem as seguintes características: ausência de íntrons, rápida evolução (devido à sua elevada taxa de coalescência), recombinação limitada, fácil disponibilidade de iniciadores universais para a maioria dos animais, ausência de mecanismos de reparos de mutações, elevado número de moléculas, herança uniparental materna sendo haplóide, poucas inserções e deleções, e poucos problemas de alinhamento (Lang *et al.* 1999; Saccone *et al.* 1999; Taylor e Turnbull 2005).

Porém, sua recombinação tem sido analisada e questionada para alguns artrópodes (Hebert *et al.* 2004a ; Ladoukakis e Zouros 2001; Moulton *et al.* 2010; Smith e Smith 2002) e a presença de cópias de pseudogenes mitocondriais no núcleo (*numts*) (Antunes e Ramos 2005), por vezes, pode chegar a uma incorreta reconstrução filogenética, sendo recomendados outros marcadores moleculares, caracteres morfológicos e ecológicos para estes estudos, diminuindo assim a probabilidade de erros (Burns *et al.* 2007; Decaëns e Rougerie 2008; Song *et al.* 2008; Zhou *et al.* 2007).

1.6. DNA Barcoding

O “DNA Barcoding” é uma sequência com um comprimento mínimo (600 a 800 pares de bases) de um gene padronizado, geralmente o gene Citocromo Oxidase Sub Unidade 1 (COI) tem seu emprego na identificação de espécies de animais. Este gene é o mais utilizado e sugerido para identificar e registrar o máximo de espécies (Hebert *et al.* 2003a, b; Hebert *et al.* 2004a; Hebert e Gregory 2005).

Devido ao crescimento de estudos envolvendo o “DNA Barcoding”, foi criado um projeto ambicioso chamado de *Barcode of Life Initiative*, para identificar todas as espécies da Terra, unindo diversas instituições de pesquisa, museus de história natural e universidades

(Savolainen *et al.* 2005). Projetos semelhantes focados para os invertebrados de água doce estão apenas começando e a ordem Trichoptera é a mais completa até o momento tendo 2.636 espécies sequenciadas (Trichoptera Barcode of Life 2013). Estudos com essa finalidade utilizando sequências de DNA (Tautz *et al.* 2003; Monaghan *et al.* 2006; Vogler e Monaghan 2006) e a técnica “DNA Barcoding” (Hebert *et al.* 2003a, b) utilizam como critério para identificação e delimitação de espécies, a distância genética. Esses estudos têm mostrado uma elevada taxa no sucesso da identificação de espécies, acima de 95% (Hebert *et al.* 2004a, b; Meyer e Paulay 2005), atingindo 100% para alguns grupos de insetos (Hebert *et al.* 2003a).

Diversos tipos de análises filogenéticas e modelos de substituição nucleotídica são aplicados para diferenciar espécies, sendo um dos mais utilizando o modelo evolutivo Kimura-2-Parâmetros (K2P), que serve para calcular a divergência de nucleotídeos (Kimura 1980). A análise métrica do método fenético de *Neighbor-Joining* (NJ) (Saitou e Nei 1987) que relaciona os táxons, através da matriz de distância (Hebert *et al.* 2004a; Zhou *et al.* 2007; Pauls *et al.* 2010; Geraci *et al.* 2011). Duas reconstruções filogenéticas são também bem utilizadas, como a Máxima Parcimônia (MP) (Ekrem *et al.* 2007) e Máxima Verossimilhança (ML) (Sutou *et al.* 2011; Matz e Nilsen 2005).

Atualmente já se descobriu diversas aplicações e benefícios do “DNA Barcoding” para a ciência, geralmente na biodiversidade, tais como:

1. Diagnosticar diversos organismos dentre eles plantas (Chase e Fay 2009; Li *et al.* 2012); fungos (Begerow *et al.* 2010; Kelly *et al.* 2011); invertebrados como: moluscos, anelídeos, platelmintos dentre outros (Folmer *et al.* 1994); insetos de diversas ordens como Coleoptera (Sheffield *et al.* 2008), Lepidoptera (Kaila e Stahls 2006), Ephemeroptera (Webb *et al.* 2012) e Trichoptera (Johanson 2007; Zhou *et al.* 2007; Pauls *et al.* 2010);
2. Propiciar a descoberta e separação de espécies crípticas (Hebert *et al.* 2003a, b; Pauls *et al.* 2009; Hausmann *et al.* 2009; Pauls *et al.* 2010; Clare *et al.* 2011);
3. Fornecer identificações taxonômicas padronizadas para outras áreas da ciência, *e.g.* biomedicina (parasita e vetores), agricultura (pragas), estudos de conservação (espécies ameaçadas de extinção) (Savolainen *et al.* 2005), no entanto esta abordagem precisa ser complementada com outros métodos para que os esforços de conservação sejam mais eficazes (Krishnamurthy e Francis 2012);
4. Identificar diversas fases da vida de uma mesma espécie (por exemplo, pupas e larvas) (Savolainen *et al.* 2005).

2. Justificativa

As larvas do gênero *Macronema* são fragmentadoras de matéria orgânica principalmente raízes, desse modo são muito importantes, pois estão ligadas diretamente a ciclagem de nutrientes nos ambientes aquáticos. Geralmente as larvas ocupam pequenos cursos d'água em ambientes de floresta, sendo vulneráveis a degradação destes ambientes, podendo vir a desaparecer. *Macronema* é um dos gêneros que contem um grande número de espécies no estado do Amazonas onde são conhecidas somente pelo adulto. Porém em trabalhos de ecologia de riachos e programas de biomonitoramento, são as larvas que são coletadas e utilizadas, sendo por esse motivo a descrição das mesmas de extrema importância por gerar respostas ecológicas mais precisas.

A técnica de associação (método do metamorfótipo) usualmente empregada até o momento possui algumas limitações, pois requer a coleta de pupa de macho farado para a identificação no nível de espécie, diminuindo dessa forma, a probabilidade de ser encontrada e coletada. O processo de criação de imaturos em laboratório para a família Hydropsychidae pode ter alguns empecilhos como: mudança radical de hábitat, substrato, alimentação, temperatura, pH e oxigenação da água; por outro lado a criação em campo está sujeita a problemas imprevisíveis relacionados a causas naturais.

Devido ao insucesso da identificação das larvas no nível de espécie e pelo grande potencial desse gênero para os programas biotecnológicos e de conservação, este trabalho, utilizando o DNA mitocondrial gene COI, é uma tentativa diferenciada de superar estas dificuldades. Cabe ressaltar que o conhecimento completo das fases da vida de uma espécie é de suma importância para a compreensão de sua taxonomia, fisiologia, genética, filogenia, e evolução.

3. Objetivos

3.1. Geral

Contribuir para o estudo da taxonomia do gênero *Macronema* tendo como base aspectos morfológicos e moleculares.

3.2. Específicos:

- a) Associar larvas e adultos de *Macronema* utilizando uma ferramenta molecular, através da comparação de sequências de um fragmento do gene mitocondrial Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) e do método do metamorfótipo;
- b) Descrever eventuais táxons novos e larvas de espécies conhecidas;
- c) Atualizar registros de distribuição das espécies para o estado do Amazonas.

4. Materiais e métodos

4.1. Áreas de estudo

As áreas amostradas incluem os municípios: Manaus, Presidente Figueiredo, São Gabriel da Cachoeira e Barcelos, Amazonas, Brasil; onde estão dentro do domínio das florestas de terra firme. Possuem um solo que é classificado como latossolo amarelo com textura desde média a muito argilosa, com altos índices de alumínio, o que está relacionado com o baixo pH (solos ácidos), pois resulta na formação de fosfato de alumínio, diminuindo os percentuais de fósforo disponíveis. Esses solos estão recobertos por floresta densa e em locais onde o solo é mais raso e a drenagem é alta, ocorre a formação da vegetação tipo campinarana (Brasil, Departamento Nacional de Produção Mineral/projeto RADAMBRASIL 1978).

Pela classificação de Köppen, o clima dessa região pertence ao grupo A (Clima Tropical Chuvoso) que apresenta montantes pluviométricos anuais superiores a 2.000 mm. A umidade relativa é bastante elevada variando de 85 a 95%. As temperaturas médias anuais têm variações limitadas pelas isotermas de 24 °C e 26 °C (Brasil, Departamento Nacional de Produção Mineral/projeto RADAMBRASIL 1978).

Os igarapés da Amazônia Central, em sua maioria, possuem águas ácidas com valores de pH entre 4,4 e 5,3 e temperatura da água entre 20-26 °C (Ferrari *et al.* 1997; Couceiro *et al.* 2012).

4.2. Município de Presidente Figueiredo

A formação geomorfológica deste município possui flora e fauna exuberantes além de cavernas, igarapés e rios com corredeiras e cachoeiras. As cachoeiras são formadas sobre rochas sedimentares das formações Nhamundá e Manacapuru (Nogueira e Sarges 2001). Os igarapés e rios dessa área fazem parte das bacias dos rios urubu, urubuí e uatumã, que por sua vez são afluentes do rio Amazonas.

Esse município sofre com a ação antrópica em diversos locais devido ao desmatamento para agricultura, pecuária, extração mineral e pela construção da represa da usina hidrelétrica de Balbina, que alagou uma extensa área de floresta (Barcellos e Lima 2002; Santos e Oliveira 1999).

4.2.1. Igarapés

Independente da ordem do igarapé, as predominâncias dos substratos são de fundo rochoso, com bancos de areia, pedras soltas e seixos; alguns igarapés e rios possuem raízes submersas, advindas da vegetação marginal. As macrófitas como a *Thurnia sphaerocephala* (Rudge) Hook. f., (Thurniaceae) e *Tonina fluviatilis* Aubl. (Eriocaulaceae), podem estar em bancos de areia (Holzenthal e Pes 2004).

4.3. Reserva Florestal Ducke

Essa reserva pertence ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Está localizada a 26 km do centro da cidade de Manaus entre 02°55' e 03°01'S e entre 59°53' e 59°59'O e compreende uma área de 10.000 hectares de floresta de terra firme (Mendonça *et al.* 2005). A reserva possui um platô central que divide claramente o sistema hidrológico dos igarapés, no sentido norte-sul, entre duas bacias.

4.3.1. Igarapés

Os igarapés afluentes da bacia do igarapé do Tarumã - rio Negro situados no lado oeste da reserva (Barro Branco, Acará e Bolívia). Na bacia leste está o igarapé Água Branca e os igarapés afluentes (Tinga, Uberê e Ipiranga), os quais drenam para o rio Puraquequara, desaguardo no rio Amazonas (Ribeiro *et al.* 1999). A reserva possui um sistema de 10 trilhas a cada 1 Km, cortando a reserva de norte a sul (N-S) e 10 de leste a oeste (L-O) (Baccaro *et al.* 2008), o que facilitou o trabalho das coletas.

Os igarapés amostrados possuem substratos principalmente compostos por areia, folhas soltas e raízes. A macrófita aquática mais abundante nos igarapés da Reserva Florestal Ducke é *Thurnia sphaerocephala* (Ribeiro *et al.* 1999).

4.4. Coletas

Para a realização do presente estudo foram utilizados larvas e adultos de *Macronema* obtidos de duas formas: a partir de material já coletado nos municípios de Manaus (Reserva Ducke), Presidente Figueiredo, São Gabriel da Cachoeira e Barcelos e através de coletas complementares onde foram realizadas nos igarapés da Reserva Ducke/Manaus e nos igarapés do município de Presidente Figueiredo em torno da AM-240. As amostras estão devidamente fixadas em álcool etílico absoluto P.A. (99,3° INPM) e armazenadas em freezer -20 °C no Laboratório de Citotaxonomia e Insetos Aquáticos do INPA (LACIA).

As larvas foram coletadas com auxílio de rede entomológica aquática (rede D ou rapiché) com malha de no máximo 0,5 mm de abertura e bandeja branca. Os adultos foram coletados por meio de armadilhas de luz tipo Pennsylvania (Frost 1957), armadilhas do tipo suspensa (Rafael e Gorayeb 1982), instaladas a 1 m acima da superfície da água nos mesmos locais de amostragem das larvas, e armadilha Malaise, instaladas a cerca de 0,30 m da superfície da água. Foi trocado três vezes o álcool absoluto das amostras e mantidos em temperaturas amenas até a chegada ao laboratório para a conservação do DNA dos espécimes.

4.5. Identificação e descrições

As identificações dos estágios de vida (larva, pupa e adulto) foram realizadas por meio de descrições e redescrições das espécies do gênero *Macronema* (Banks 1910, 1915, 1924; Botosaneanu e Flint 1982; Burmeister 1988; Flint 1964, 1966, 1968, 1972, 1974, 1978, 1982, 1983a, b, 1991; Flint e Bueno-Soria 1979, 1982; Oliveira 2006; Paprocki 2008; Pes 2005; Ulmer 1905; Wiggins 1996a, b 2004). Como a maior parte de espécimes coletados são fêmeas e estas não possuem descrições da morfologia de suas genitálias até o momento, foram utilizadas as sequências de DNA, a comparação pela coloração das asas e a venação para associar com os machos.

Para a identificação e descrição das larvas foram utilizados os seguintes caracteres: comprimento da larva; na cabeça: marcações das inserções musculares, formato, coloração, tipo e disposição de cerdas na região dorsal seguindo o método de quetotaxia de Williams e Wiggins (1981), forma do labro e mandíbulas; no tórax foram empregados: manchas de inserção de músculos, formato e disposição das cerdas nas placas dorsais, formato do prosternito; nas pernas anteriores os principais caracteres usados foram: forma do trocântim, formato da coxa, número e disposição de cerdas, formato do fêmur bem como a disposição, forma e número de cerdas na margem ventral mediana. Os caracteres morfológicos para as

descrições das pupas foram: comprimento total, forma do labro e mandíbulas, processo terminal, número e formato dos ganchos dorsais dos segmentos abdominais.

Para as descrições dos adultos machos foram usadas os seguintes caracteres: comprimento, padrão de coloração da asa anterior, coloração do tórax; fórmula de esporões tibiais; formato da região posteroventral do VIII segmento abdominal, formato do IX tergito abdominal, formato do X tergito, formato e inserção do falo e formato do esclerito fálico na genitália masculina.

Para a identificação das espécies foram utilizados machos dos quais foi destacado o abdômen e diafanizado em ácido láctico 85% aquecido a 110 - 125 °C, durante 40 minutos a 1 hora e 30 minutos em banho-maria, ajudando também na expansão da genitália. A estrutura foi monitorada até a completa diafanização. Algumas genitálias que não ficaram completamente diafanizadas ou ainda retinham musculatura foram colocadas em KHO 10% em banho-maria por 25 minutos, lavadas com água destilada e em seguida com ácido acético 50% (50% ácido acético e 50% álcool etílico 92,8° INPM) por 15-20 minutos, após o que foram lavadas em água destilada. As genitálias foram acondicionadas em microtubos (eppendorf) com glicerina ou junto ao exemplar, em álcool 80%. A estrutura foi observada em lâmina escavada, contendo álcool gel 46° a 70° INPM e glicerina para proporcionar uma maior consistência e evitar o ressecamento do meio.

As identificações foram realizadas sob microscópio estereoscópico, auxiliado, quando necessário, por um microscópio óptico. Para a descrição das larvas, estas foram fotografadas com o auxílio de câmera fotográfica DFC420 acoplada ao estereomicroscópio Leica (M165C), Software de Processamento de Imagem Digital, Leica Application Suíte V3. 4.1. A genitália e algumas estruturas menores da larva foram fotografadas em microscópio ótico Olympus com câmera fotográfica acoplada e as fotos foram montadas no software livre CombineZP (Hadley 2010).

As pernas anteriores das larvas que se encontravam em álcool absoluto foram destacadas e colocadas no secador de ponto crítico por vapor de CO₂. Logo após a desidratação, foram montadas sobre fita adesiva de dupla face sob “stubs” de 32 mm e identificadas. Em seguida as amostras foram metalizadas com uma camada de ouro e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) no Laboratório Temático de Microscopia Eletrônica do INPA. A terminologia utilizada na descrição das larvas foi conforme Flint e Bueno-Soria (1982). Após a publicação os exemplares serão depositados na Coleção de Invertebrados do INPA.

As espécies citadas como *Macronema* sp. nov. 3, 8, 9 e 10 são espécies novas (dados não publicados) da tese de Henrique Paprocki (Paprocki 2008), foi empregada nesse trabalho a mesma nomenclatura.

4.6. Análises Moleculares

4.6.1. Extração do DNA

Para a extração do DNA foi utilizado o método destrutivo utilizando o kit de extração de DNA “DNeasy Blood & Tissue” (Qiagen[®]), conforme as instruções do fabricante. Onde se utilizou para o estágio larval: 3 pernas, músculos do tórax e uma parte do abdômen onde o intestino foi removido cuidadosamente para reduzir uma provável contaminação, para o estágio adulto: 3 pares de pernas e uma parte do tórax. Cada amostra de DNA dos 44 espécimes analisados (Tabela 1) foi sequenciada nos dois sentidos da fita: iniciador direto e iniciador reverso.

Foram mantidas em álcool absoluto como material testemunho as seguintes estruturas da larva: cabeça, escleritos torácicos, três pernas de cada indivíduo e falsas pernas anais. Nos adultos foram retiradas cabeça, asas e a genitália, as quais também foram mantidas em álcool como material testemunho (Tabela 1).

Das espécies novas e raras, no entanto, apenas alguns indivíduos estavam disponíveis para o sequenciamento, pois eram espécimes muito antigos e não deram concentração de DNA. A extração não destrutiva ficou em banho-maria em *overnight*, mas esta técnica não foi eficiente nas 3 extrações realizadas utilizando larvas, supostamente tendo que ficar por mais tempo em banho-maria para melhor resultado.

4.6.2. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Nas reações em cadeia da polimerase (PCR) foram utilizados os iniciadores LCO 1490 e HCO 2198 (Folmer *et al.* 1994) (Tabela 1) para amplificação de um fragmento do gene da Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) das espécies de *Macronema*. Cada 25 µL da reação continha: 2,5 µL de TP, 2,5 µL de DNTP, 3 µL de MgCl₂, 1,2 µL de cada iniciador (direto e reverso), 0,3 µL de Taq, 12,3 µL de dH₂O e 2 µL de DNA. As amplificações foram realizadas nos termocicladores (Swift Maxi Thermal Cycler (ESCO) e TC-512 (Techine)) do Laboratório de prospecção de bioativos de insetos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Utilizando-se 3 programas que obtiveram êxito (Tabela 3), dando destaque para o programa Teste 1, sendo este o mais utilizado para a maioria das amostras, Teste 2 e 3 foram

criados para amplificar o DNA das espécies que não amplificaram com o Teste 1. Os produtos de PCR foram mantidos em freezer em temperaturas próximas de - 20 °C.

Tabela 1: Iniciadores utilizados (Folmer *et al.* 1994).

Código	Iniciadores
LCO 1490	5' GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG 3'
HCO 2198	5' TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA 3'

4.6.3. Eletroforese dos produtos amplificados

Com o objetivo de verificar se o gene foi amplificado, para cada reação de amplificação foram feitas eletroforese de géis de agarose a 1% corados com GelRed™ (10.000X) em tampão TBE 0,5X preparado de acordo com Sambrook e Russel (2001). As amostras foram preparadas utilizando-se 2 µL de produto de PCR, 2 µL de uma solução de azul de bromofenol 0,25%, xileno cianol 0,25% e sacarose 40% e 4µL de água milli-Q estéril. Como marcador de peso molecular foi usado φX174 DNA/*Bsu*RI (Fermentas®). As bandas de DNA foram observadas e fotografadas em um fotodocumentador com luz ultravioleta (UV).

4.6.4. Reação de purificação dos fragmentos amplificados

Os produtos de PCR foram purificados para a eliminação de resíduos de dinucleotídeos trifosfato, de oligonucleotídeos iniciadores e RNA que poderiam interferir no sequenciamento dos fragmentos de DNA que foram amplificados. Para a purificação foram utilizadas as enzimas exonuclease I de *Escherichia coli* (EXO1) e fosfatase alcalina de camarão (SAP), adicionada ao produto de PCR.

As reações de purificação foram realizadas em termociclador (Mastercycler® Gradiente, Eppendorf) onde foram incubadas a 37 °C por 30 minutos e em seguida a 80 °C por 15 minutos. Para cada reação de purificação foram corridos géis de agarose a 1%, corados com GelRed™ (10.000X), utilizando-se o tampão TBE 0,5X preparado de acordo com Sambrook e Russel (2001) no Laboratório de Prospecção de Bioativos de Insetos do INPA.

Tabela 2: Espécies de *Macronema* com o gene COI sequenciadas em 2012.

Espécie/ morfótipo	Estágio de vida	Voucher N °	Localização Brasil, Amazonas	Data	Coletores
<i>M. argentilineatum</i>	Macho	EXT5M.argAd#1	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Bolívia (Bo 31)	01-03.ii.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. argentilineatum</i>	Macho	EXT5M.argAd#6	Manaus, BR AM-174, Km 18,5	26.viii.2009	R. Boldrini
<i>M. exophthalmum</i>	Fêmea	EXT7M.exoAd1#	Manaus, BR AM-174, Km 18,5	26.viii.2009	R. Boldrini
<i>M. bifidum</i>	Fêmea	EXT7M.biAd3#	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Bolívia (Bo 31)	01-03.ii.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. duckensis</i> sp. nov.	Macho	EXT16M.sp.n.6Ad#2	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco	16.iii.2010	C.B. Souza
<i>M. exophthalmum</i>	Macho	EXT5M.exoAd#4	Presidente Figueiredo, BR AM-240, Km 18,5	26.viii.2009	R. Boldrini
<i>M. fragile</i>	Macho	EXT16M.fraAd#1	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco	29.vii.2010	C.B. Souza
<i>M. bifidum</i>	Macho	EXT3M.fraAd#5	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Bolívia (Bo 31)	01-03.ii.2012	T.A.S. Vidovix
<i>Macronema</i> sp. 1	Larva	EXT2M.sp.1L#1	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé L1 afluente do Igarapé Acará	05.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. pennyi</i>	Macho	EXT13M.penAd#2	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco	23.xi.2011	T.A.S. Vidovix
<i>M. duckensis</i> sp. nov.	Macho	EXT14M.sp.n.6#6	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Afluente do Igarapé Acará	03.viii.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. pennyi</i>	Macho	EXT16M.penAd#3	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco	29.vii.2010	C.B. Souza
<i>M. bifidum</i>	Larva	EXT2M.bifL#3	Manaus, Reserva Ducke, afluente do Igarapé Acará (Ac 13)	25.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. hageni</i>	Fêmea	EXT16M.haAd#6	Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça	14-16.vii.2012	A.M.O. Pes
<i>M. bilobata</i> sp. nov.	Fêmea	EXT16M.sp.n.1#5	Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça	14-16.vii.2012	A.M.O. Pes
<i>Macronema</i> sp. nov. 3	Fêmea	EXT16M.sp.n.3#7	Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça	14-16.vii.2012	A.M.O. Pes
<i>Macrostemum ulmeri</i>	Macho	EXT18Mct.ulmAd#14	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco	16.iii.2010	J.L.V. Lima e Pes
<i>M. digitiformis</i> sp. nov.	Macho	EXT18M.sp.n.2Ad#18	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco	16.iii.2010	J.L.V. Lima e Pes
<i>M. exophthalmum</i>	Larva	EXT18M.exoL#13	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé afluente do Igarapé Bolívia (Bo 12)	01.ii.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. bilobata</i> sp. nov.	Macho	EXT18M.sp.n.1Ad#19	Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça	14-16.vii.2012	A.M.O. Pes
<i>Macronema</i> sp. nov. 3	Macho	EXT18M.sp.n.3Ad#15	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco	28.vii-03.viii.12	T.A.S. Vidovix
<i>M. percitans</i>	Fêmea	EXT13M.perAd#1	Barcelos, Rio Aracá, Emb. do Rio Demene	07.viii.2009	N.Hamada e Pes

Continuação...

<i>Macronema</i> sp. nov. 7	Larva	EXT18M.sp.n.7L#7	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé afluente do Igarapé Bolívia (Bo 13)	01.ii.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. hageni</i>	Larva	EXT18M.haL#10	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Acará (Ac 34)	02.vii.2010	C.B. Souza
<i>Macronema</i> sp. nov. 7	Fêmea	EXT9M.sp.n.7Ad#3	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Acará (Ac 34)	25.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>Macronema</i> sp. nov. 7	Fêmea	EXT9M.sp.n.7Ad#4	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Acará (Ac 34)	25.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. duckensis</i> sp. nov.	Larva	EXT17M.sp.n.6L#4	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Bolívia (Bo 31)	05.viii.2010	C.B. Souza
<i>Macronema</i> sp. 3	Larva	EXT15M.sp.3L#1	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Bolívia (Bo 31)	05.viii.2010	C.B. Souza
<i>M. percitans</i>	Fêmea	EXT11M.perAd#2	Barcelos, Rio Jauari	23-24.vii.2009	N.Hamada e Pes
<i>M. hageni</i>	Fêmea	EXT11M.haAd#3	Barcelos, Rio Jauari	23-24.vii.2009	N.Hamada e Pes
<i>M. pennyi</i>	Larva	EXT17M.peL#2	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Acará (Ac 34)	24.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. exophthalmum</i>	Larva	EXT18M.exoL#1	Barcelos, Igarapé da Anta	22.vii.2009	A.M.O. Pes
<i>M. hageni</i>	Larva	EXT18M.haL#5	Barcelos, Rio Acará	04.viii.2009	A.M.O. Pes
<i>M. exophthalmum</i>	Larva	EXT18M.exoL#6	Barcelos, comunidade Bacuquara, Igarapé Coró	29.vii.2009	A.M.O. Pes
<i>M. hageni</i>	Larva	EXT18M.haL#3	Barcelos, Rio Aracá	04.viii.2009	A.M.O. Pes
<i>Macronema</i> sp. nov. 3	Larva	EXT18M.sp.n3L#7	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé afluente do Igarapé Bolívia (Bo 13)	01.ii.2012	T.A.S. Vidovix
<i>Macronema</i> sp. 2	Larva	EXT18M.sp.2L#11	Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça	06.i.2010	A.M.O. Pes
<i>Macronema</i> sp. nov. 3	Larva	EXT17M.sp.n.3#1	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco	21.i.2010	C.B. Souza
<i>M. exophthalmum</i>	Larva	EXT18M.exoL#2	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé afluente do Igarapé Acará (Ac 13)	25.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>Macronema</i> sp. nov. 7	Larva	EXT10M.sp.n.7L#2	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé afluente do Igarapé Acará (Ac 32)	24.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>Macronema</i> sp. nov. 7	Larva	EXT10M.sp.n.7L#3	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé afluente do Igarapé Acará (Ac 32)	24.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. bifidum</i>	Larva	EXT10M.biL#5	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé afluente do Igarapé Acará (Ac 32)	24.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>M. bifidum</i>	Larva	EXT10M.biL#7	Manaus, Reserva Ducke, Igarapé afluente do Igarapé Acará (Ac 32)	24.i.2012	T.A.S. Vidovix
<i>Smicridea catherinae</i>	Larva	(HM 065092.1)	GenBank		

As amostras foram preparadas utilizando-se 14 µL de produto de PCR na concentração de 20 ng/µL, 0,875 µL de EXOI, 1,75 µL de fosfatase alcalina termossensível FastAP, enzimas responsáveis em eliminar fitas simples e restos de nucleotídeos deixando apenas a dupla fita específica do gene analisado. O marcador de peso molecular utilizado foi *Low DNA Mass™ Ladder* (Invitrogen™). Os géis foram visualizados e fotografados em um fotodocumentador com luz ultravioleta (UV).

Os produtos de PCR foram sequenciados com os mesmos oligonucleotídeos iniciadores utilizados na reação de amplificação. O sequenciamento dos fragmentos de DNA amplificados foi realizado em um sequenciador de capilar 3.500 xL ABI no Centro de Estudos do Genoma Humano da Universidade de São Paulo.

Tabela 3: Programas específicos utilizados para as amplificações de cada par de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) para espécies de *Macronema*.

Etapa	Temperatura	Tempo (min)	
Teste 1			
Desnaturação inicial	94 °C	3:00	
Desnaturação	94 °C	1:00	36 ciclos
Anelamento dos iniciadores	45 °C	1:30	
Extensão	72 °C	1:30	
Extensão final	72 °C	5:00	
Teste 2			
Desnaturação inicial	94 °C	5:00	
Desnaturação	94 °C	0:30	35 ciclos
Anelamento dos iniciadores	40 °C	0:30	
Extensão	72 °C	1:00	
Extensão final	68 °C	5:00	
Teste 3			
Desnaturação inicial	94 °C	4:00	
Desnaturação	94 °C	0:45	38 ciclos
Anelamento dos iniciadores	45 °C	1:30	
Extensão	72 °C	1:30	
Extensão final	70 °C	6:00	

O alinhamento das sequências foi conduzido utilizando-se o programa Clustal W (Thompson *et al.* 1994), dentro do programa BIOEDIT 7.0.8 (Hall 1999). Para chegar a uma matriz de dados robustos para análises das sequências, foram adotadas as seguintes etapas:

- 1) As duas fitas (5'3' e 3'5') foram unicamente conferidas com os seus eletroferogramas correspondentes, as sequências de qualidade inferior foram descartadas.

- 2) Foi realizado o reverso complemento da sequência *reverse* e juntamente alinhadas no programa Clustal W (Thompson *et al.* 1994). Logo depois de obter-se as fitas de consensos, estas foram comparadas, e conferidas com os seus eletroferogramas para a correção dos nucleotídeos.
- 3) As sequências consenso foram nomeadas com o nome das espécies correspondentes e logo em seguida salvas.
- 4) No fim foram unidas todas as 44 sequências num único “bloco”. As bordas iniciais e finais foram excluídas para garantir homologia entre os sítios e que todas as sequências ficassem do mesmo tamanho e ultimamente revisadas visualmente.

As sequências nucleotídicas também foram conferidas, utilizando-se o programa MEGA 5.0 (Tamura *et al.* 2011), a fim de verificar possíveis erros como mutações gênicas por substituições e causadas pela inserção ou deleção de um ou mais pares de bases. As espécies deste estudo foram comparadas com *Macronema* spp. anteriormente armazenados em bancos de dados virtuais disponíveis no BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST.cgi), para confirmar a identidade da região analisada. As sequências deste trabalho serão futuramente depositadas no GenBank.

4.6.5. Reconstrução filogenética

Foram realizadas dois tipos de análises filogenéticas e uma análise fenética para relacionar os 44 espécimes sequenciados sendo elas:

- (1) Máxima parcimônia (MP), este método assume o critério da parcimônia, minimizando o número de passos evolutivos aceitos na árvore. É baseado no princípio da homologia, ou seja, se uma característica é compartilhada por dois táxons, esta foi herdada do último ancestral comum a ambos (Schneider 2007).
- (2) Neighbor-Joining (NJ) (Saitou e Nei 1987), esta análise não examina todas as topologias possíveis, mas procura encontrar sequencialmente vizinhos que minimizem o comprimento total da árvore (Schneider 2007).
- (3) Máxima Verossimilhança (ML) (Felsenstein 1981), esta análise precisa de um modelo probabilístico de evolução de caracteres e considera todos os sítios indistintamente (Schneider 2007). O modelo escolhido para as análises foi o Kimura-2-Parâmetros (Kimura 1980), que leva em consideração a diferença das taxas de substituição por transição e transversão, assumindo frequências de bases iguais (Schneider 2007). A divergência dos nucleotídeos foi calculada usando o mesmo modelo. Foi calculado o grau de confiabilidade dos ramos em

todas as árvores utilizando a medida de suporte estatístico não-paramétrico de *bootstrap* (Felsenstein 1985).

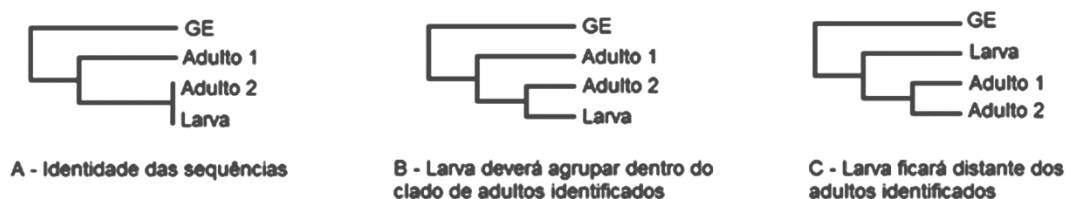
Foram realizadas 1000 replicações, resultando para cada análise uma árvore de consenso como resultado. Os valores em percentuais foram colocados para cada nó interno das árvores, representando quantas vezes o clado foi recuperado.

4.6.5.1 Critério de associação

Todas as associações estavam dentro dos três critérios rigorosos de separação (Figura 2) propostas por Zhou *et al.* (2007), sendo eles:

- A. Uma ou mais larvas terão que ser idênticas para um ou mais adultos através de ambos os genes sequenciados, tendo as sequências parecidas;
- B. A larva é considerada associada quando fica dentro de um clado com adultos identificados;
- C. A condição exigiria uma amostragem maior de adultos adicionais da mesma espécie até satisfazer um dos dois critérios anteriores.

Zhou *et al.* (2007) recomendam mais genes para associar larvas e adultos para espécies de Trichoptera, no entanto outros trabalhos conseguiram sucesso em suas associações e delimitações de espécies utilizando apenas um gene (COI), para a ordem Trichoptera (Graf *et al.* 2005; 2009; Waringer *et al.* 2008; Pauls *et al.* 2010) e para a ordem Coleoptera (Miller *et al.* 2005, 2007).



1

Figura 01: No item A – a larva é considerada associada se as sequências do mesmo fragmento de gene são similares. No item B – a larva é considerada associada quando for um grupo irmão (monofiletismo com ancestral mais recente) dos adultos identificados. No item C – exigiria uma maior amostragem de adultos adicionais da mesma espécie até que a larva ficasse dentro de um dos dois critérios anteriores (Adaptado de Zhou *et al.* 2007).

Foi usado para a construção das árvores o programa Mega 5.0 (Tamura *et al.* 2011). Para testar a associação entre larvas e adultos da mesma espécie o ramo teria que ter um suporte alto acima de 95% e estar dentro de um clado monoespecífico (Zhou *et al.* 2007).

Para determinar os estados ancestrais ou derivados de um determinado caráter (grupo externo), foram incluídas na análise sequências de duas espécies de gêneros diferentes, *Macrostemum ulmeri* Banks 1913 e *Smicridea catherinae* Blahnik 1995 (para esta última foi utilizada a sequência obtida do GenBank código (HM065092.1)) pois são esses grupos que permitirão a polarização nas árvores. A inclusão de mais de um grupo externo em estudos filogenéticos, evita assim que paralelismos em um dos grupos externos resultem em falsas interpretações sobre a evolução de caracteres no grupo interno (Miyaki *et al.* 2001).

5. Resultados e discussão

Foram identificadas 17 espécies, sendo sete delas novas para a ciência, destas quatro espécies já foram descritas e ilustradas na tese de Paprocki (2008). Neste trabalho foram descritas e ilustradas três espécies e realizada associação de sete espécies de *Macronema* com suas respectivas larvas, também sete espécies foram identificadas pelo padrão de coloração da asa anterior, destas quatro confirmadas pelas sequencias moleculares do gene COI.

Este estudo foi capaz de associar de forma eficiente larvas de 5 espécies já conhecidas (*M. bifidum*, *M. exophthalmum*, *M. pennyi*, *M. hageni*, *M. fragile*) e 3 espécies novas (*Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008), *Macronema duckensis* sp. nov., *Macronema* sp. nov. 7 (Paprocki 2008)) totalizando 8 associações. Para as espécies *M. bifidum* e *M. exophthalmum* foram confirmadas suas associações por meio do método do metamorfótipo (Milne 1938; Wiggins 1996a; Rueda-Martín 2006), confirmando assim a confiabilidade da ferramenta molecular no emprego da associação. *M. fragile* foi associada apenas pelo metamorfótipo, pois as larvas utilizadas eram antigas e não deu concentração de DNA assim não foi possível a realização do sequenciamento.

O tamanho estimado do fragmento de DNA do gene COI neste estudo foi de 658 pares de bases para os 44 espécimes, sendo 20 sequências para larvas anteriormente morfotipadas, 20 sequências de 8 espécies já descritas e 6 sequências de 3 de espécies novas (Tabela: 1).

A média da composição nucleotídica das sequências de COI para o gênero *Macronema* mostrou uma alta porcentagem para timina (42,1%) e adenina (31,3%). No grupo externo não houve diferença significativa na composição nucleotídica. Para a espécie *Macrostemum ulmeri* foi de T=40,1% e A=34,0% e para *Smicridea catherinae* foi de T=41,1% e A=32,8%, mostrando que tal porcentagem é comum do genoma mitocondrial de artrópodes (Wilson *et al.* 2000).

Houve diferenças na topologia das árvores de Neighbor-Joining (Fig. 2) e Máxima Verossimilhança (Fig. 4) em relação aos 11 grupos formados e 10 grupos para a árvore de Máxima Parcimônia (Fig. 3). Os grupos ficaram em posições diferentes nas três árvores, mas não foram alterados, mostrando a robustez dos clados. Os dois espécimes adultos da espécie *M. argentilineatum* não foram recuperados no mesmo clado na análise de Máxima Parcimônia (Fig. 4), devido à sua variação intraespecífica ser muito elevada, mas não ficou relacionada com a espécie *M. bifidum* que foi a espécie que teve a divergência interespecífica mais próxima de *M. argentilineatum*, com 9,78% (Tab. 4).

A eficiência do DNA Barcoding depende muito de clados bem compreendidos e uma relação com espécies bem amostradas. Para a maioria das espécies analisadas até agora existe um “*Gap Barcoding*” onde a variação intraespecífica não pode ultrapassar a divergência interespecífica, mas também existe uma sobreposição entre as duas divergências “*Overlap*” (Meyer e Paulay 2005).

Wiemers e Fiedler (2007) defendem que estudos com DNA Barcode precisam ser combinados com outros dados, para a resolução clara da delimitação das espécies. Os seis espécimes de *M. exophthalmum* formaram um clado muito robusto (*bootstrap* = 100), os valores também foram altos para a associação das outras sete espécies.

A variação genética intraespecífica foi baixa para quase todas as espécies exceto para *M. argentilineatum* e *M. hageni* (Tab. 3) que apresentaram os valores de 10,18% e 5,76%, respectivamente. Em outro estudo, essa característica foi observada em duas espécies da família Hydropsychidae que apresentaram uma variação intraespecífica próxima a 12%, enquanto que os menores valores estavam próximos de 7%, bem diferente da maioria dos valores interespecíficos que geralmente variaram entre 12-18% (Pauls *et al.* 2010). Outras espécies estudadas por Zhou *et al.* (2007), *Hydropsyche ovatus*, *Mexipsyche grahami*, *Mexipsyche rhomboana* e *Mexipsyche* n. sp. Código 20060413_01, apresentaram uma variação intraespecífica de 9,04%, 11,75%, 6,38%, e 10,48%, respectivamente, onde estes dois estudos encontraram espécies que possuem uma alta variação intraespecífica, acima de 3%.

As espécies *Macronema exophthalmum*, *M. bifidum*, *M. pennyi*, *Macronema digitiformis* sp. nov., *Macronema duckensis* sp. nov., *Macronema* sp. nov. 7 (Paprocki 2008), apresentaram uma variação intraespecífica de 3%, limite este estabelecido como “*gap barcoding*” (Smith *et al.* 2005) (Tabela 3).

A árvore obtida através da análise de Neighbor-Joining (Fig. 3) foi similar à árvore de Máxima Verossimilhança (Fig. 5), porém só foi observada diferença em relação à topologia, não alterando a associação das espécies e relações filogenéticas entre as espécies.

Para *Macronema digitiformis* sp. nov. foram associados macho e a fêmea com um suporte alto (*bootstrap* = 100) não tendo nenhuma larva associada, este elevado suporte foi obtido nas três árvores consenso (Fig. 02 – 04).

Tabela 04: Limites dos valores de distância genética baseados no modelo Kimura-2-Parâmetros.

Espécies	Limites da distância
<i>Macronema argentilineatum</i>	0,1018
<i>M. bifidum</i>	0
<i>M. exophthalmum</i>	0 - 0,0033
<i>M. fragile</i>	--
<i>M. hageni</i>	0 - 0,0576
<i>M. pennyi</i>	0,0050 - 0,0204
<i>M. percitans</i>	0
<i>Macronema</i> sp. nov. 7 (Paprocki 2008)	0
<i>Macronema bilobata</i> sp. nov.	0,0101
<i>Macronema digitiformis</i> sp. nov.	--
<i>Macronema</i> sp. nov. 3 (Paprocki 2008)	0 - 0,0033
<i>Macronema duckensis</i> sp. nov.	0,0055 - 0,0186

Onde: -- Indica nenhuma distância disponível, pois apenas um espécime foi sequenciado.

Neste estudo o gene mitocondrial COI “*DNA Barcoding*” foi uma ferramenta robusta para associar os estágios de vida larva e adulto, identificar e separar as espécies do gênero *Macronema*. A taxonomia integrativa é uma excelente abordagem para a identificação das espécies e sua diversidade, facilitando e otimizando o trabalho dos taxonomistas.

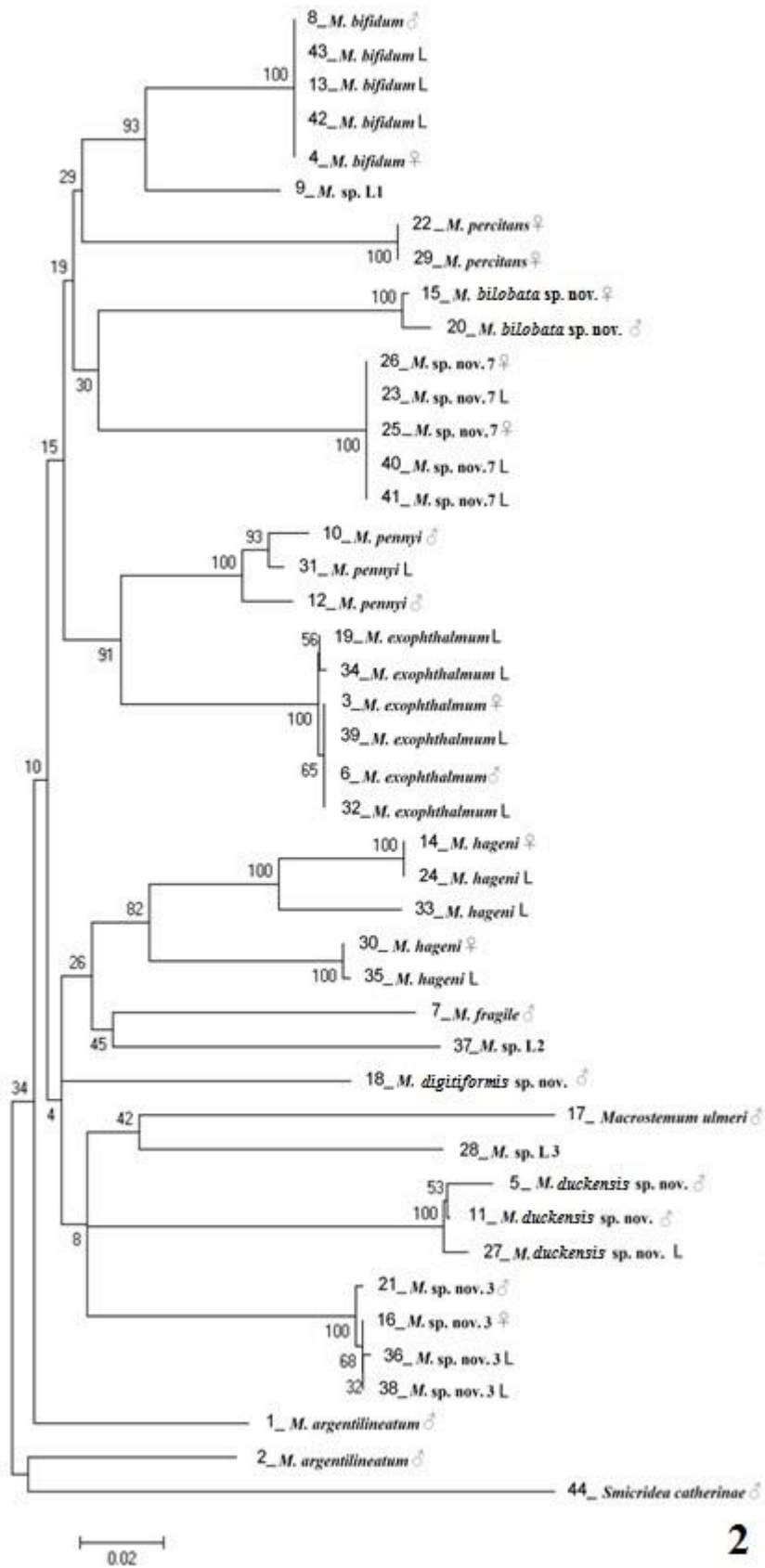
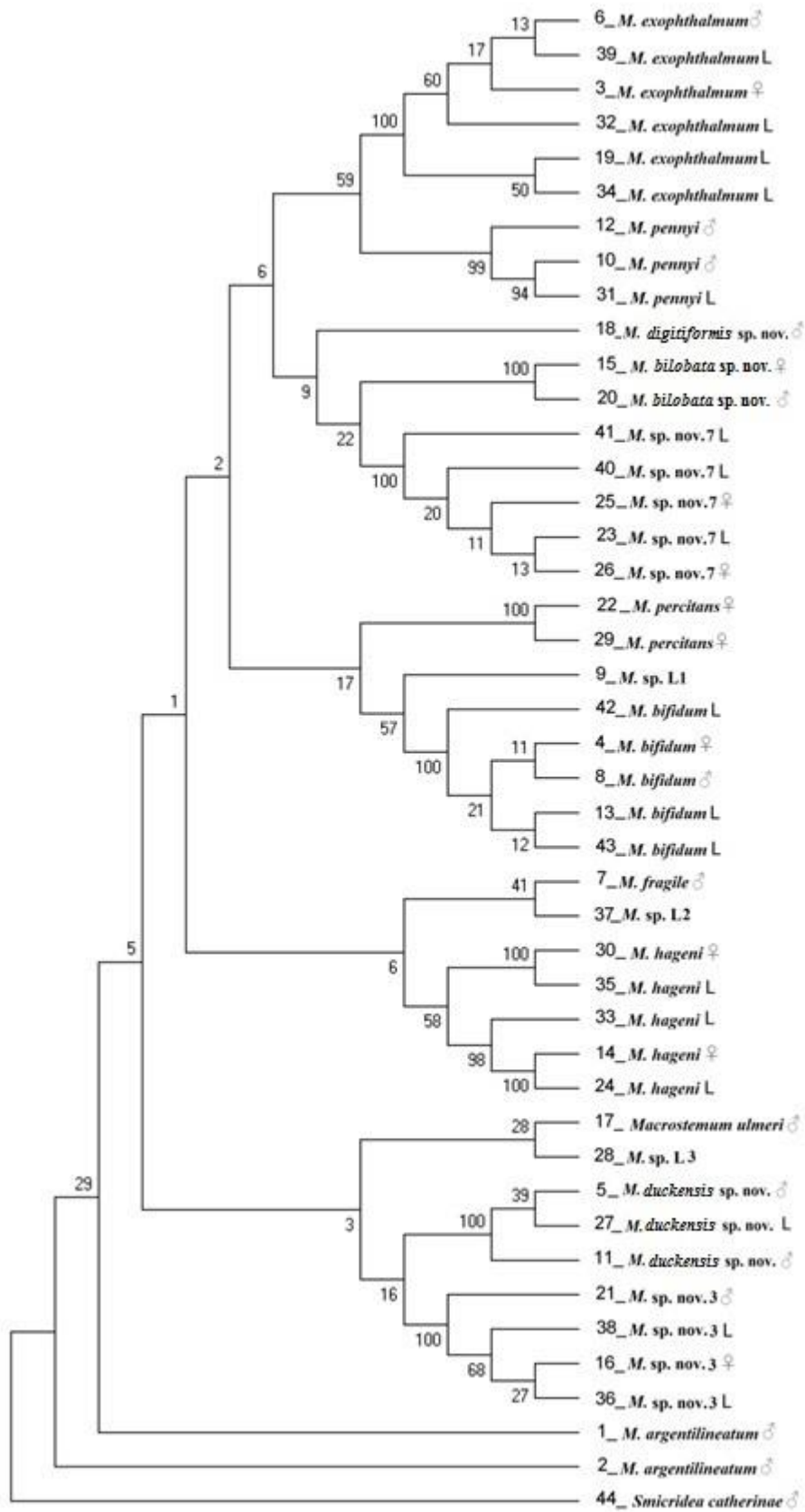
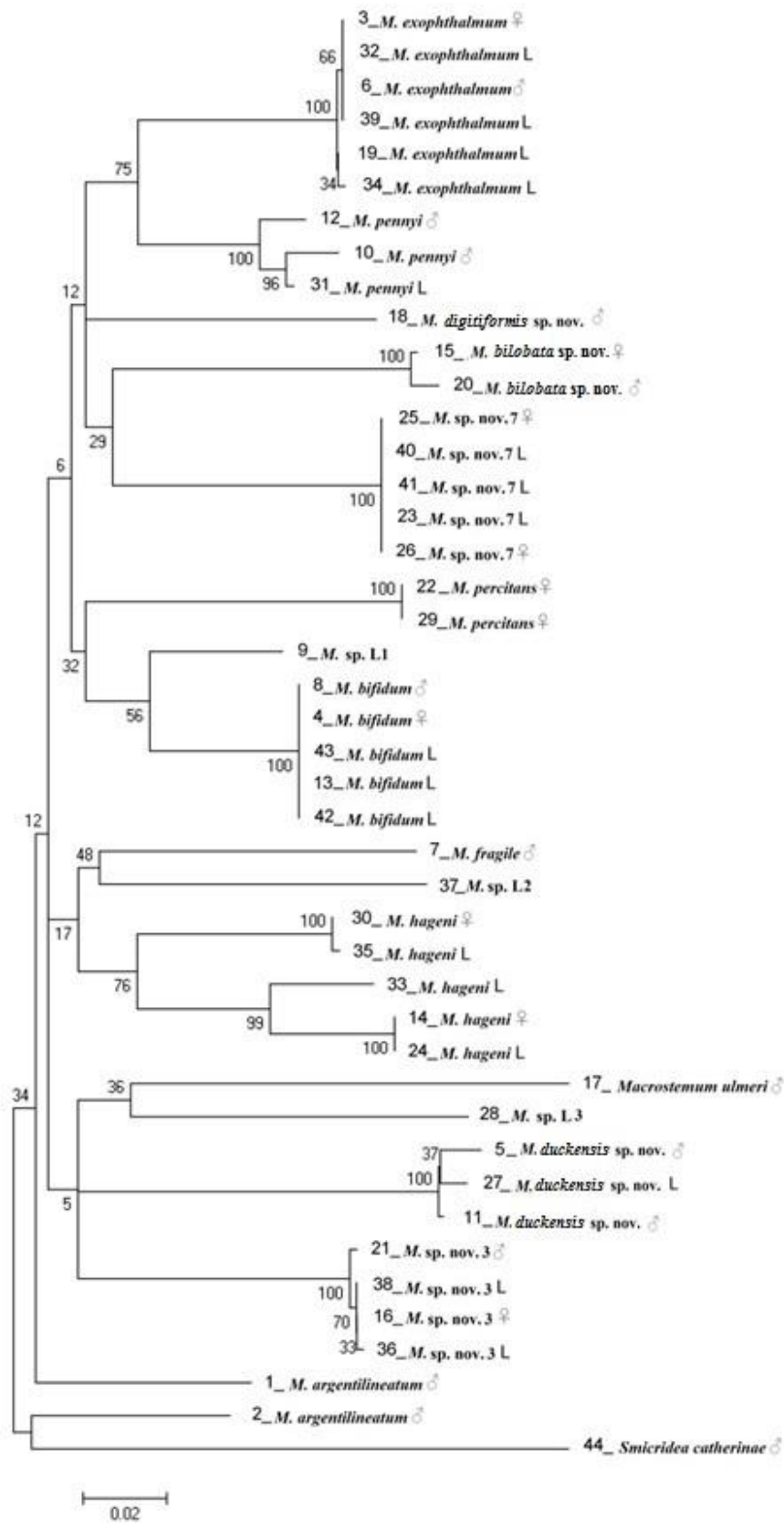


Figura 02: Reconstrução filogenética pelo método de Neighbor-Joining utilizando sequências de COI para larvas e adultos de espécies do gênero *Macronema* usando o método Kimura-2-parâmetros com análise de *bootstrap* com 1000 réplicas.



3

Figura 03: Reconstrução filogenética pelo método da Máxima Parcimônia utilizando seqüências de COI para larvas e adultos de espécies do gênero *Macronema* com análise de *bootstrap* com 1000 réplicas.



4

Figura 04: Reconstrução filogenética pelo método de Máxima Verossimilhança utilizando seqüências de COI para larvas e adultos de espécies do gênero *Macronema* usando o método Kimura-2-parâmetros com análise de *bootstrap* com 1000 réplicas.

Continuação....

23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

0,1717
 0,0000 0,1717
 0,0000 0,1717 0,0000
 0,1741 0,1717 0,1741 0,1741
 0,1699 0,1637 0,1699 0,1699 0,1702
 0,1380 0,1439 0,1380 0,1380 0,1821 0,1703
 0,1400 0,1094 0,1400 0,1400 0,1637 0,1537 0,1440
 0,1265 0,1341 0,1265 0,1265 0,1559 0,1559 0,1422 0,1188
 0,1265 0,1597 0,1265 0,1265 0,1637 0,1682 0,1601 0,1380 0,0873
 0,1800 0,0593 0,1800 0,1800 0,1597 0,1619 0,1440 0,1020 0,1264 0,1598
 0,1264 0,1597 0,1264 0,1264 0,1637 0,1683 0,1601 0,1380 0,0873 0,0032 0,1597
 0,1420 0,1113 0,1420 0,1420 0,1657 0,1557 0,1460 0,0016 0,1207 0,1399 0,1038 0,1399
 0,1499 0,1517 0,1499 0,1499 0,1597 0,1559 0,1559 0,1499 0,1322 0,1322 0,1578 0,1360 0,1518
 0,1699 0,1558 0,1699 0,1699 0,1863 0,1601 0,1660 0,1561 0,1520 0,1603 0,1499 0,1602 0,1581 0,1558
 0,1479 0,1497 0,1479 0,1479 0,1577 0,1539 0,1539 0,1479 0,1302 0,1302 0,1558 0,1341 0,1498 0,0016 0,1538
 0,1265 0,1597 0,1265 0,1265 0,1637 0,1682 0,1601 0,1380 0,0873 0,0000 0,1598 0,0032 0,1399 0,1322 0,1603 0,1302
 0,0000 0,1717 0,0000 0,0000 0,1741 0,1699 0,1380 0,1400 0,1265 0,1265 0,1800 0,1264 0,1420 0,1499 0,1699 0,1479 0,1265
 0,0000 0,1717 0,0000 0,0000 0,1741 0,1699 0,1380 0,1400 0,1265 0,1265 0,1800 0,1264 0,1420 0,1499 0,1699 0,1479 0,1265 0,0000
 0,1302 0,1342 0,1302 0,1302 0,1619 0,1644 0,1286 0,1245 0,1094 0,1150 0,1342 0,1150 0,1264 0,1361 0,1580 0,1341 0,1150 0,1302 0,1302
 0,1302 0,1342 0,1302 0,1302 0,1619 0,1644 0,1286 0,1245 0,1094 0,1150 0,1342 0,1150 0,1264 0,1361 0,1580 0,1341 0,1150 0,1302 0,1302 0,0000
 0,1944 0,2331 0,1944 0,1944 0,2180 0,2221 0,2334 0,2199 0,1986 0,2071 0,2331 0,2071 0,2178 0,2243 0,2287 0,2221 0,2071 0,1944 0,1944 0,2007 0,2007

5.1. Descrições e material examinado do Amazonas

Macronema argentilineatum Ulmer 1905

(Fig. 05)

Macronema argentilineatum Ulmer 1905:77 [descrição original: macho; distribuição, localidade tipo: Brasil, Pará, “Amazonstrom”; depósito do holótipo: PAN]; Flint 1966: 6 [macho; refez a ilustração da genitália masculina; asa]; Flint 1978:392, 402 [asa; macho]; Paprocki *et al.* 2004:8 [checklist]; Paprocki 2008:73 [redescrição do macho; refez a ilustração da genitália masculina; asa; distribuição; novo registro: Brasil, Espírito Santo, Linhares, fêmea] – *Macronema polygramma* Navás 1927a: 42 [localidade tipo: Brasil, São Paulo de Olivensa, rio Solimões; depósito do holótipo: DEI; macho]; Flint 1978:392,402 [sinonímia].

Diagnose: Adulto *M. argentilineatum* difere das demais espécies do gênero por possuir uma característica única, ter uma longa projeção na região posteroventral no VIII segmento abdominal. Padrão das asas anteriores com cerdas de coloração verde azulada metálica, cobrindo $\frac{3}{4}$; margem costal com faixa branca; faixa transversal branca desde a veia subcostal até a cubital; região posterior $\frac{1}{4}$ com cerdas de coloração marrom com duas máculas brancas no centro; estreita faixa branca no ápice desde a veia R4 até a M4 (Fig.05).



5

Figura 05: *Macronema argentilineatum*. Asas anteriores do macho – vista dorsal.

Notas. Foi utilizado dois espécimes adultos (machos) de *M. argentilineatum* não assiou a nenhuma larva nas reconstruções filogenéticas, esta espécie posicionou-se distante das demais espécies de *Macronema*, com suporte baixo, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância

intraespecífica de *M. argentilineatum* foi maior do que a distância interespecífica com algumas espécies, sendo a única a possuir esta característica das análises.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" O, 04-08.ii.2010, L.C. de Pinho e H. Mendes leg., 4 machos [álcool]; mesmos dados, exceto 16.iii.2010, C.B. de Souza leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados, exceto 23.ix.2011, T.A.S. Vidovix e L.M. de Camargos leg., 2 machos [álcool]; Igarapé Bolívia, 02°59'19,6" S 59°56'48,3" O, 01-03.ii.2012, T.A.S. Vidovix leg., 3 machos [álcool]; Igarapé Acará, 02°56'05" S 59°57'16" O, 25.i.2012, T.A.S. Vidovix leg., 2 machos [álcool]; Igarapé Tinga, 02°59'15" S 59°53'13" O, 10-13.vi.2012, T.A.S. Vidovix leg., 1 macho [álcool]; Manaus, Km 18, 5, AM-240, 02°49'00,8" S 60°02'05,6" O, 26.viii.2009, R. Boldrini leg., 1 macho [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas, Espírito Santo, Pará), Guiana e Suriname.

Bionomia: Esta espécie foi coletada por armadilhas de luz instaladas próxima a igarapés de 1ª e 2ª e 3ª ordem. Não foi associada à larva desta espécie, desconhecendo assim o comportamento deste estágio.

***Macronema bifidum* Flint 1974**

(Fig. 06 – 10)

Macronema bifidum Flint 1974c: 113 [descrição original: macho; localidade tipo: Suriname, rio Litani próximo do Feti Creek; RNH]; Paprocki 2008:80 [redescrição; distribuição; novo registro: Guiana, Rupunumi, Rupunumi, rancho Manari].

Diagnose: Adulto – *M. bifidum* difere das demais espécies do gênero, por possuir um falo curto com diversas cerdas afinadas nas laterais do ápice; além de possuir uma projeção posteroventral côncava e quadrada no IX segmento abdominal. Padrão das asas anteriores com cerdas de coloração verde metálica, cobrindo $\frac{3}{4}$; margem costal com faixa branca; faixa transversal branca desde a veia subcostal até a cubita; região posterior $\frac{1}{4}$ com cerdas de coloração marrom; pequena mácula branca no ápice desde a veia R2 até a R4 (Fig.06). **Pupa** – A pupa de *M. bifidum* possui o par da placa de ganchos abdominais dorsais do segmento III (3a) semelhante ao de *M. fragile*, com três ganchos na direita e dois ganchos na esquerda; a placa de ganchos dorsais (3p) assemelha-se a *M. variipenne* no formato, mas difere no número de ganchos; o par de placas de ganchos dorsais do segmento IV (4a) são semelhantes ao de *M. exophthalmum*, pois não possuem ganchos; o par de placas de ganchos dorsais (4p)

assemelha-se a *M. variipenne* no formato e sentido dos ganchos, voltados anteriormente, diferindo das pupas *M. exophthalmum* e *M. fragile*, placas de ganchos dorsais (4p) que possuem os ganchos voltados posteriormente. Os pares das placas de ganchos (5a), (6a), (7a) (8a) são similares a *M. fragile*, porém os ganchos de *M. bifidum* são mais contraídos e a placa (8a) esquerda, difere no número e tamanho, esta possui dois ganchos pequenos, enquanto que *M. fragile* possui somente um gancho grande. **Larva** – Esta espécie se difere das demais espécies principalmente por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior uma variação de 10-11 cerdas espatuladas franjadas curtas e arredondadas, não possuindo cerdas na mesma área. Possui um corpo esbranquiçado, escleritos amarelos, cabeça de coloração amarela com manchas das inserções musculares de coloração marrom.



Figura 06: *Macronema bifidum*. Asas anteriores do macho – vista dorsal.

Descrição: Larva – Comprimento 19-20 mm (n = 3), escleritos e pernas amarelos; manchas das inserções musculares de cor marrom na cabeça e tórax; corpo revestido por poucas cerdas (Fig. 08A). **Cabeça:** sub-retangular, levemente mais longa que larga; dorsalmente com coloração amarela, com algumas manchas das inserções musculares de cor marrom-escura. Cutícula com cerdas de comprimentos e espessuras variáveis; cerdas nas posições 1, 2, 3, 7, 12, 17 presentes; cerdas curtas e grossas na região mediana e látero-dorsal; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo com uma reentrância mediana na margem anterior, um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 08F). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração amarela; manchas das inserções musculares mais escuras na região póstero-lateral; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 08G). Gena em vista lateral com uma série de cerdas a partir dos estemas até a região mediana posterior (Fig. 08H).

Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna de cada mandíbula com um pequeno dente truncado, com região apical pontiaguda (Fig. 08D). Labro curto, mais largo que longo; margem mediana da região anterior com uma reentrância, margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 08C). **Tórax:** pronoto amarelo na metade anterior; região anterior com margem reta; linha de cerdas médias e cerdas finas esparsas até a região mediana; região mediana sem constrição transversal; região posterior de coloração marrom-escuro; sem cerdas (Fig. 08B). Mesonoto com cerdas curtas esparsas desde a região anterior até a região mediana, intercaladas por muitas cerdas curtas e finas; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior (Fig. 08B); região ventral com um par de brânquias simples. Prosternito em vista ventral de coloração marrom; margem anterior com uma protuberância central curta, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente; bordas laterais largas; placa prosternal triangular com uma protuberância central larga e curta (Fig. 08E). Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto; região apical arredondada; margem dorsal tendo 2-3 cerdas grossas (Fig. 09A). Coxa curta e larga, com várias cerdas curtas e grossas, intercaladas por cerdas finas; margem dorsal tendo 1-2 cerdas (Fig. 09A). Trocânter com várias cerdas espatuladas longas e estreitas. Fêmur estreito, longo e reto em vista dorsal (Figs. 09B, C); margem dorsal com duas cerdas, uma dorso-mediana e uma apico-distal (Fig. 09B); margem ventrolateral com variação de 10-11 cerdas espatuladas franjadas curtas e arredondadas, sem cerdas (Figs. 09B, D, F). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis (Fig. 09 E). **Abdômen:** esbranquiçado, com poucas cerdas longas e finas espaçadas; brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 08A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas longas e finas; escleritos ventrais claros, com muitas cerdas longas e finas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas na base (Fig. 08A). Distribuição das brânquias somente na região ventro-lateral (Fig. 07).

Ventro-lateral	S	D	DD	DD	DD	S(R) S(R) S	S(R) S(R) S	S (R) S	
----------------	---	---	----	----	----	-------------	-------------	---------	--

7

Figura 07: *Macronema bifidum*. Diagrama da posição e tipo de brânquias do metanoto e segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento simples, sem ramificações laterais. S(R) = um filamento simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

Pupa (macho farado) – Comprimento 8,5 mm (n = 1). **Cabeça:** Retangular, com quatro cerdas longas distribuídas no vértice da cabeça em vista dorsal. Labro curto e semicircular com um tufo de cerdas curtas na margem anterior, um par de lóbulos arredondados basolaterais, com quatro cerdas curtas. Mandíbulas membranosas, retraídas, com margem semitriangular. Antenas compridas, afiladas, ultrapassando o comprimento do corpo, não envolvendo o abdômen (Fig. 10A). **Tórax:** Meso e metanoto com cerdas curtas e finas esparsas e um conjunto de cerdas finas na região posterior do mesonoto. Pernas medianas com tíbias e tarsos achatados e franjados na margem. **Abdômen:** Presença de brânquias laterais, nos segmentos I-VIII. Região dorsal com pares de placas de ganchos anteriores (a) presentes nos segmentos abdominais 3–8 e placas de ganchos posteriores nos segmentos 3–4 (Fig. 10C). Par de placas (3a) com dois ganchos em cada par; par de placas (3p) com 18 a 21 ganchos pequenos; placa (4a) simples sem gancho proeminente, (4p) placa com 9 a 11 voltados para a região anterior; (5a–7a) com 1 gancho simples e longo voltado para a região posterior e 8a com 1 gancho longo e 1 curto. Processo apical bilobado arredondado lateralmente, com uma densa franja de cerdas escuras, longas e finas na margem posterior (Fig. 10B).

Notas. *Macronema bifidum* se assemelha a *M. variipenne* e *Macronema* sp. L1, pela ausência de cerdas curtas e grossas na margem ventrolateral do fêmur e pela presença de uma série contínua de cerdas espatuladas curtas. A margem ventrolateral do fêmur de *M. bifidum* possui entre 10 a 11 cerdas, enquanto que *M. variipenne* possui 8 cerdas espatuladas e *Macronema* sp. L1 possui de 10 a 12 cerdas. Na reconstrução filogenética realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, *M. bifidum* posicionou-se próxima do morfótipo *Macronema* sp. L1, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *M. bifidum* e *Macronema* sp. L1 foi de 6,76%, uma menor distância comparada com as outras espécies. A coloração da cabeça e a disposição das marcas de inserções musculares também são dois outros caracteres que separam as espécies neste estágio. *M. bifidum* possui uma cabeça de coloração amarelo claro com diversas manchas das inserções musculares de coloração

marrom enquanto que *Macronema* sp. L1 possui uma cabeça mais escura de coloração marrom, e algumas manchas das inserções musculares de coloração marrom escuro. A cabeça de *M. bifidum* é similar a *M. hageni*, devido à distribuição de marcas de inserções musculares, mas diferem no formato, sendo que *M. bifidum* possui uma casula cefálica estreita e alongada, enquanto que *M. hageni* possui uma cabeça alargada e semicircular na margem posterior. Estas duas espécies diferem também no formato e disposição das cerdas no fêmur das pernas anteriores, enquanto que o fêmur de *M. bifidum* possui uma série única de cerdas espatuladas, não tendo cerdas, *M. hageni* possui um tufo de cerdas espatuladas e possui algumas cerdas na mesma região.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Acará, 02°56'05" S 59°57'16" O, 25.i.2012, T.A.S. Vidovix leg., 2 machos [álcool]; mesmos dados exceto, Igarapé 13 afluente do Igarapé Acará, 02°56'56,0" S 59°56'53,9" O, 3 larvas [álcool]; mesmos dados exceto, Igarapé 32 afluente do Igarapé Acará, L-O 3: 2.900 m, 24.i.2012, 2 larvas [álcool]; mesmos dados exceto, 03.viii.2010, C.B. de Souza leg., 1 larva [álcool]; mesmos dados exceto, 24.i.2012, T.A.S. Vidovix leg., 1 larva [álcool]; Igarapé Bolívia, 02°55'11,0" S 59°59'42,6" O, 30.i.2012 a 01.ii.2012, T.A.S. Vidovix leg., 7 machos [álcool]; Igarapé afluente do Igarapé Bolívia, 02°59'52,8" S 59°56'47,9" O, 05.viii.2010, C.B. de Souza leg., 2 larvas [álcool]; Igarapé 12 afluente do Igarapé Bolívia, 02°59'19,6" S 059°56'48,3" O, U.G. Neiss leg., 3 larvas [álcool]; Igarapé Barro Branco, 02° 55'46,7" S 59° 58'22,00" O, C. de S. Barros leg., 1 larva [álcool]; Barcelos, Com. Bacuquara, Igarapé Coró, 00°08'48,12"N 63°09'58,7"O, 29.vii.2009, A. M. O. Pes e N. Hamada leg., 1 larva [álcool]; Presidente Figueiredo, Sítio do Rodrigo, 23-25.ii.2007, A. M. O. Pes leg., 1 pupa [álcool]; Igarapé Bolívia, 02°59'19,6" S 59°56'48,3" O, 01-03.ii.2012, 1 fêmea [álcool]; mesmos dados exceto, 1 macho [álcool].

Distribuição geográfica: Suriname, Guiana, Brasil (Amazonas) (novo registro).

Bionomia: Esta espécie foi encontrada em igarapés de 1ª 2ª e 3ª ordem localizados em áreas de mata fechada (terra firme), encontradas nos igarapés de Barcelos e Reserva Ducke. As larvas foram encontradas próximas a corredeiras em raízes localizadas nas margens. Os adultos foram desta espécie foram coletados por armadilhas de luz instaladas próxima a igarapés.

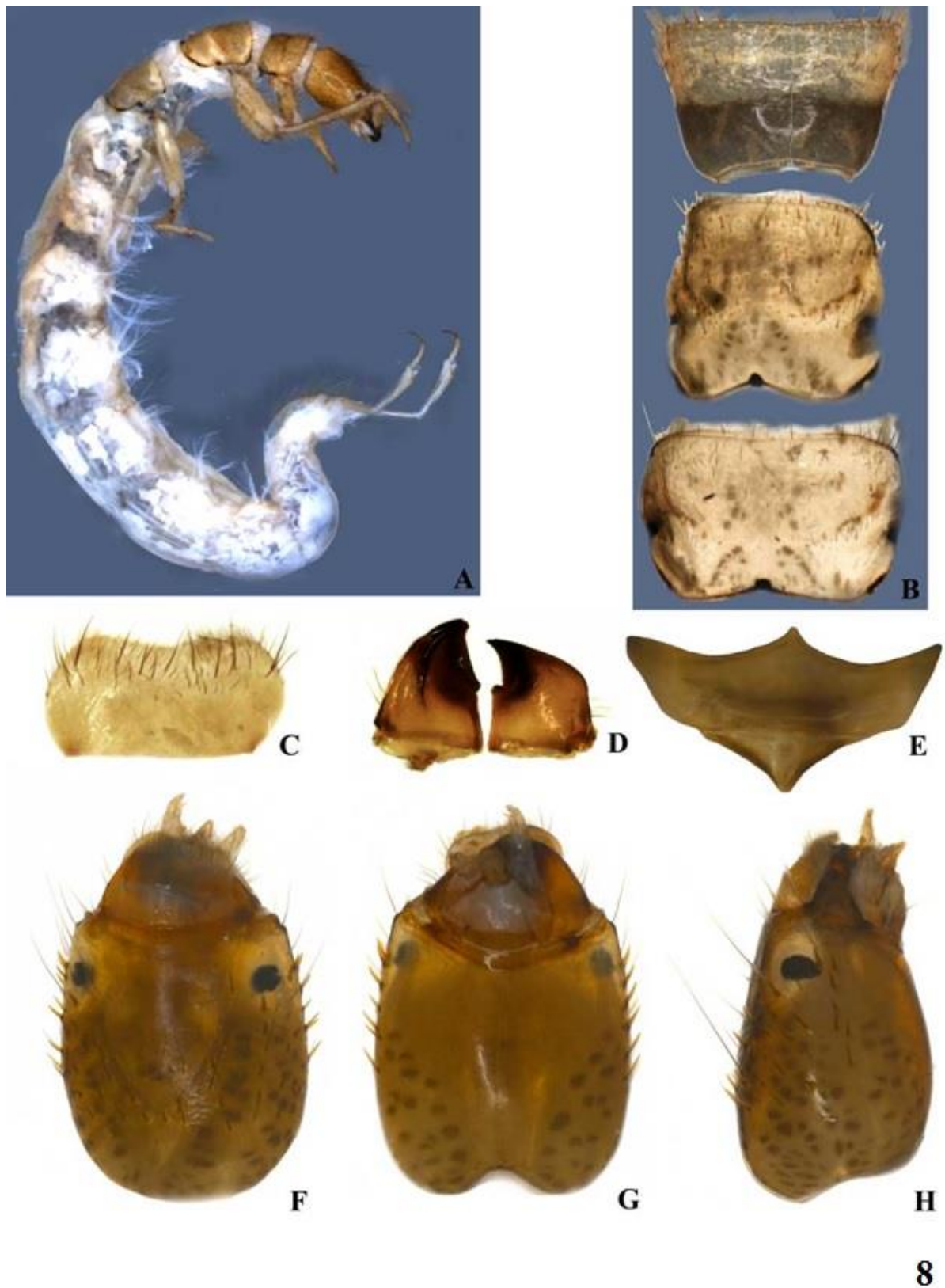
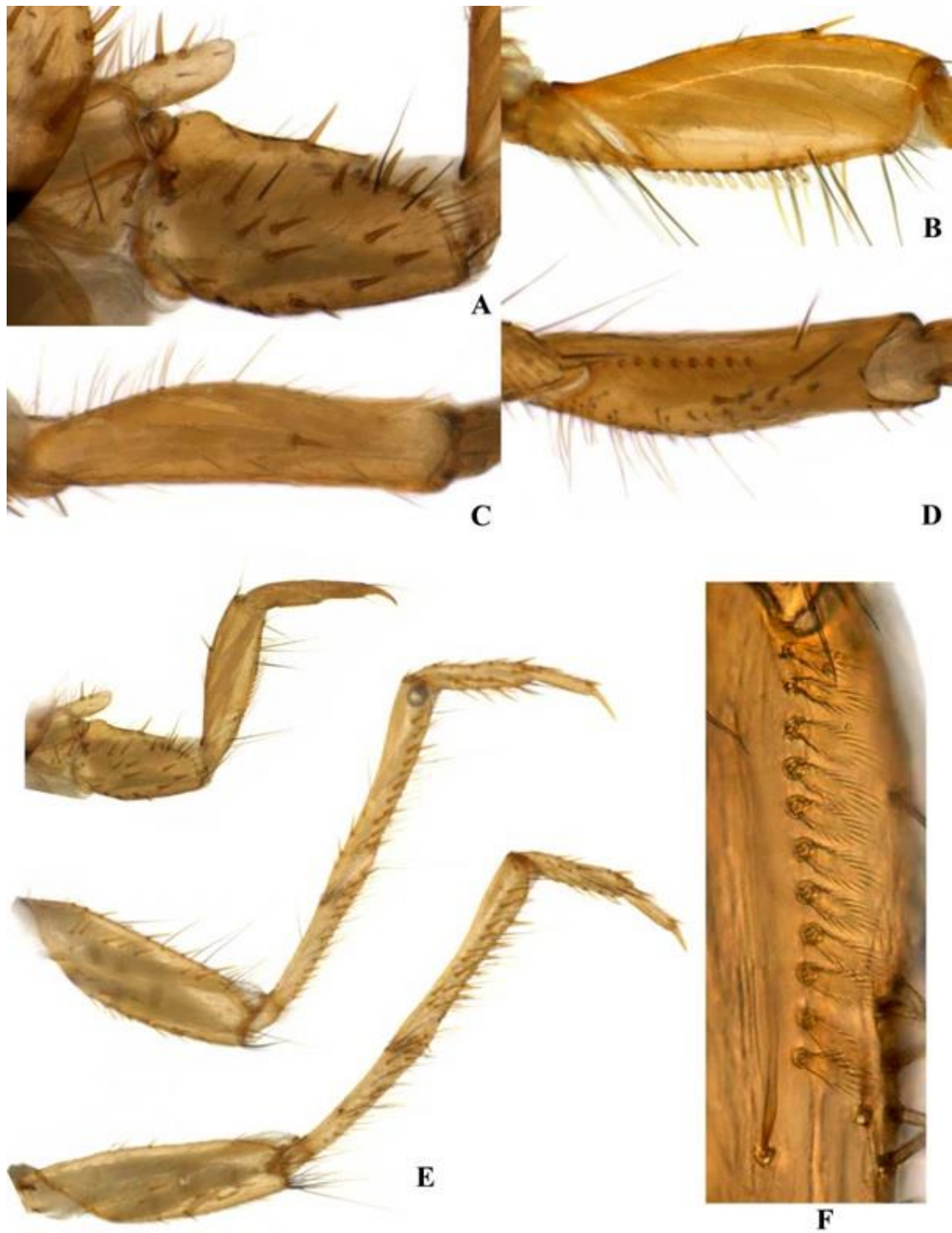
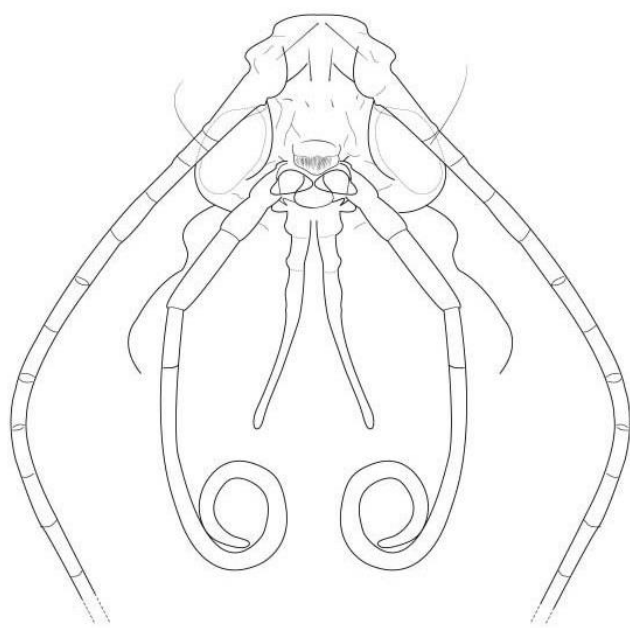


Figura 08: Larva *Macronema bifidum*. A: Corpo – vista lateral. B: Tórax – vista dorsal. C: Labro – vista dorsal. D: Mandíbulas – vista ventral. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral.

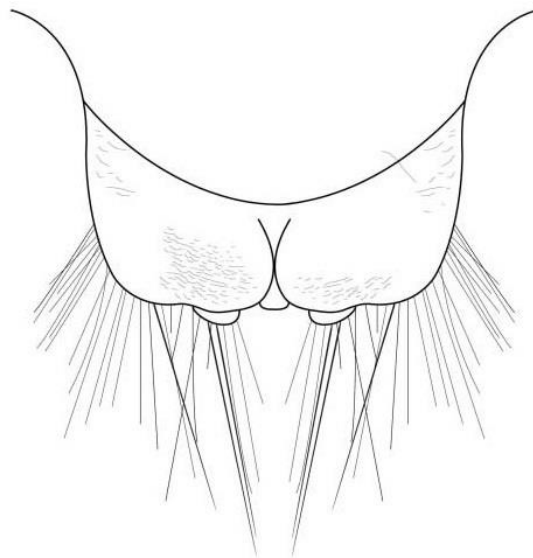


9

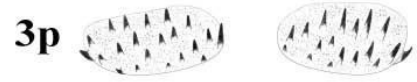
Figura 09: Larva *Macronema bifidum*. A: Trocantim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.



A



B



C **10**

Figura 10: Pupa *Macronema bifidum*. A: Cabeça – vista ventral. B: Processo ápical – vista dorsal. C: Placas em forma de gancho – vista dorsal; (3a – 8a) número dos segmentos abdominais, a = anterior e p = posterior.

Macronema burmeisteri Banks 1924

(Fig. 11)

Macronema burmeisteri Banks 1924: 452 [descrição original: fêmea, asas, localidade tipo: Peru, Yurimaguas; depósito do tipo: MCZ]; Flint 1967: 9 [lectótipo, fêmea]; 1978: 393, 402 [ilustração da genitália masculina, asas, distribuição, novos registros: Brasil, rio Branquinho, Lager Tapiri; Equador, Prov. Napo, 3 km sudoeste do Lago Agrio]; Flint e Bueno-Soria 1979: 527 [macho; refez a ilustração da genitália masculina; asas; distribuição; novos registros: Nicaragua, Chontales, Puente Quinama, leste da Vila Somoza; Panama, Panama, La Chorrera; depósito dos holótipos: USNM, macho]; Holzenthal 1988c:68 [distribuição]; Paprocki *et al.* 2004 [checklist]; Paprocki 2008:80 [redescrição do macho; ilustração da genitália masculina; asa; distribuição; novos registros: Costa Rica, Linhares, fêmea].

Diagnose: Adulto – *M. burmeisteri* difere das demais espécies do gênero, por possuir uma combinação de caracteres de sua genitália tais como: margem posterior do IX tergito ser contínua em vista lateral e quadrado no ápice dorsal em vista dorsal. A genitália desta espécie se assemelha em vista dorsal as espécies *Macronema muelleri* e *Macronema duckensis* sp. nov. por possuir no X tergito bifurcado, mas difere no IX tergito, enquanto *M. burmeisteri* possui o ápice quadrado *M. muelleri* e *M. duckensis* sp. nov. possuem um ápice pontiagudo. As asas anteriores de *M. burmeisteri* possuem cerdas de coloração verde-metálica e marrom-claro; margem costal com uma fina margem com cerdas de coloração branca; 1/3 da asa na região posterior possui uma faixa transversal de coloração amarelo-claro atingindo desde a veia R2 até a Cu_{1b} (Fig. 11).



11

Figura 11: *Macronema burmeisteri*. Asa anterior do macho – vista dorsal.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça, 02°00'52" S 60°01'43" O, 3-4.v.2000, A. M. O. Pes leg., 1 macho [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas), Costa Rica, Equador, Nicarágua, Panamá, Peru.

Bionomia: Esta espécie foi coletada em armadilha de luz próximas a igarapés de 1ª, 2ª e 3ª ordem. Não foi associada à larva desta espécie, desconhecendo assim o comportamento deste estágio.

***Macronema exophthalmum* Flint 1978**

(Fig. 12 – 16)

Macronema exophthalmum Flint 1978:391, 401 [descrição original: macho, asas do holótipo macho; localidade tipo: Brasil, Edo. Amazonas, Cachoeira do Gigante; depósito do holótipo: NMNH]; Paprocki *et al.* 2004:8 [checklist]; Paprocki 2008:86 [redescrição].

Diagnose: Larva – *Macronema exophthalmum* difere das demais espécies principalmente por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior uma variação de 9 a 11 cerdas espatuladas e três cerdas curtas e grossas; cabeça marrom escura delimitada com marcas de inserções musculares amarelas. Possui um corpo geralmente lilás, escleritos amarelos.

Pupa – Esta espécie difere das demais espécies por possuir escleritos abdominais direitos (5a – 8a) com três ganchos enquanto *M. variipenne* possui dois ganchos, *M. bifidum* e *M. fragile* possuem apenas um gancho. *M. exophthalmum* possui o esclerito abdominal (4a) simples sem gancho, similar *M. bifidum*; placa (4p) de *M. exophthalmum* é semelhante a *M. fragile*, pelo mesmo número de ganchos e a mesma direção (voltados para a região posterior).

Adulto – *Macronema exophthalmum* difere das demais espécies por possuir olhos grandes quase unidos; o falo é curto e possui longos processos ventrais com cerdas curtas, com o ápice bífido; possui uma projeção ventral no falo. Padrão de coloração com manchas amarelas (Fig.12).



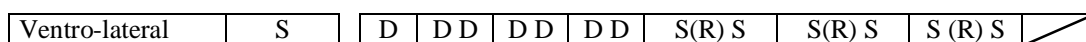
12

Figura 12: *Macronema exophthalmum*. Asa anterior do macho – vista dorsal.

Descrição: Larva – Comprimento 17-21 mm (n = 5), escleritos e pernas de coloração marrom-clara com manchas das inserções musculares de cor amarela na cabeça e tórax; corpo revestido por poucas cerdas (Fig. 14A). **Cabeça:** sub-retangular levemente mais longa que

larga; dorsalmente com uma mancha marrom-escura delimitada, marcada por manchas das inserções musculares de cor amarela. Cutícula com cerdas de comprimentos e espessuras variáveis, cerdas nas posições 1, 4, 7, 11 e 12 presentes; cerdas curtas e grossas na região mediana e lateral; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo com uma reentrância mediana na margem anterior; um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana, grupo de manchas claras das inserções musculares no ápice da margem posterior (Fig. 14F). Gena ventral com algumas cerdas diminutas, coloração amarelo-clara; com algumas manchas claras das inserções musculares; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 14G). Vista lateral com uma série de cerdas a partir dos estemas até a região mediana posterior (Fig. 14H). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna da mandíbula direita com um pequeno dente truncado; região apical pontiaguda nas duas mandíbulas (Fig. 14C). Labro curto, mais largo que longo; margem mediana da região anterior com uma reentrância, margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 14B). **Tórax:** pronoto amarelo na metade anterior; região anterior com margem reta; linha de cerdas curtas e cerdas finas esparsas até a região mediana; região mediana com uma constrição transversal; região posterior de coloração marrom com manchas das inserções musculares amarelas; sem cerdas (Fig. 14E). Mesonoto com cerdas curtas esparsas, desde a região anterior até a região mediana, intercaladas por muitas cerdas curtas e finas; manchas das inserções musculares de coloração amarela; região posterior de coloração marrom. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana; manchas das inserções musculares amarelas na região mediana e posterior (Fig. 14E); região ventral com um par de brânquias simples com base esclerosada. Prosternito em vista ventral, coloração marrom escurecido nas laterais; margem anterior e posterior com uma protuberância central alongada, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente; bordas laterais estreitas; placa prosternal triangular com uma protuberância central estreita e longa (Fig. 14D). Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto; região apical arredondada; tendo 2-3 cerdas grossas na margem dorsal. Coxa estreita e longa com várias cerdas curtas e grossas, intercaladas por cerdas finas; margem dorsal sem cerdas (Fig. 15A). Trocânter com várias cerdas espatuladas longas e estreitas. Fêmur estreito e longo, curvado em vista dorsal; margem dorsal com duas cerdas, uma dorso-mediana e uma apico-distal (Figs. 15B, D, F);

margem ventrolateral com variação de 9-11 cerdas espatuladas longas e estreitas, agrupadas na região distal; região com três cerdas curtas e grossas (Figs. 15B, D, F). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis (Fig. 15E). **Abdômen:** lilás com poucas cerdas longas e finas espaçadas, brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 14A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas longas e finas; escleritos ventrais claros, com muitas cerdas finas e longas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas (Fig. 14A). Distribuição das brânquias somente na região ventrolateral (Fig. 13).



13

Figura 13: *Macronema exophthalmum*. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central afilado simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

Pupa – Comprimento 9 mm , macho (n = 1) (Fig. 16A). **Cabeça:** Semicircular, com um par de cerdas longas no vértice da cabeça em vista dorsal. Labro curto e semicircular com um tufo de cerdas curtas na margem anterior, 28 minúsculas cerdas afinadas distribuídas na região anterior, um par de lóbulos arredondados basolaterais, com seis cerdas curtas. Mandíbulas membranosas retraídas, com margem semitriangular. Antenas compridas, afinadas, ápice enrolado, ultrapassando o comprimento do corpo, não envolvendo o abdômen (Fig. 16C). **Tórax:** Meso e metanota com três pares de cerdas distribuídas na região lateral. Pernas medianas com tíbias e tarsos levemente achatados e franjados nas margens laterais. **Abdômen:** Possui brânquias laterais, nos segmentos I-VIII. Região dorsal com placas de ganchos: pares de placas de ganchos anteriores (a) presentes nos segmentos abdominais 3-8 e placas de ganchos posteriores presentes nos segmentos 3-4 (Fig. 16B). Par de placas (3a) com seis ganchos na placa esquerda e quatro ganchos na placa direita; placa (3p) esquerda com quarenta e um ganchos pequenos e direita com cinquenta ganchos; placa (4a) simples sem gancho proeminente, placa (4p) direita com onze ganchos e esquerda com oito, dispostos em linha reta; placa (5a) esquerda com dois ganchos, direita com três ganchos; placa (6a) esquerda e direita tendo três ganchos; placas (7a-8a) com a mesma quantidade, com dois

ganchos na placa esquerda e três ganchos na placa direita. Processo apical em vista dorsal, com uma densa franja de cerdas, com dois lóbulos arredondados, algumas cerdas curtas e finas distribuídas na margem posterior do IX segmento (Fig. 16D).

Notas: *Macronema exophthalmum* se assemelha a *M. hageni* por possuir fêmur alargado e um tufo de cerdas espatuladas na margem ventrolateral agrupadas na região distal, mas diferem no número de cerdas, enquanto que *M. exophthalmum* possui três cerdas curtas e grossas e 9 a 11 cerdas espatuladas, *M. hageni* possui duas cerdas curtas e grossas e 11 a 12 cerdas espatuladas. O abdômen de *M. exophthalmum* se assemelha a *M. pennyi* tendo a mesma coloração lilás, mas diferem no arranjo das brânquias no 2º, 4º e 6º segmento abdominal, sendo que *M. exophthalmum* possui no 2º e 4º segmento dois pares de filamentos simples ramificados e no 6º possui dois filamentos simples um simples sem ramificações e um com ramificações, enquanto *M. pennyi* possui no 2º segmento três filamentos dois filamentos simples ramificados de uma mesma base comum e um filamento central simples com ramificações, 4º possui dois filamentos simples ramificados, de uma mesma base comum e no 6º possui três filamentos dois filamentos simples com ramificações e um filamento simples sem ramificação. Na reconstrução filogenética realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, *M. exophthalmum* posicionou-se próximo de *M. pennyi* tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *M. bifidum* e *Macronema* sp. L1 teve uma variação de 8,92-9,47%, uma menor distância comparada com as outras espécies.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus: Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" O, 21.i.2010, C.B. de Souza leg., 9 larvas [álcool]; mesmos dados, exceto, 16.iii.2010, 4 larvas [álcool]; mesmos dados exceto, 18.xi.2011, T.A.S. Vidovix leg., 1 larva [álcool]; Igarapé Bolívia, 02°55'11,0" S 59°59'42,6" O, 05.viii.2010, C.B. de Souza leg., 1 larva [álcool]; mesmos dados exceto, 01-03.ii.2012, 1 macho [álcool]; Igarapé 12 afluente do Igarapé Bolívia, 02°59'19,6" S 59°56'48,3" O, 15.x.2009, U.G. Neiss leg., 1 larva [álcool]; mesmos dados exceto, 01.ii.2012, T.A.S. Vidovix leg., 4 larvas [álcool]; Igarapé 13 afluente do Igarapé Bolívia, 02°59'23,6" S 59° 57'21,3" O, 01.ii.2012, T.A.S. Vidovix leg., 4 larvas [álcool]; Igarapé 21 afluente do Igarapé Bolívia, 02°59'07,4" S 59°55'40,7" O, 01-03.ii.2012, T.A.S. Vidovix leg., 9 larvas [álcool]; Igarapé Acará, 02°56'05" S 59°57'16" O, 02.viii.2010, C.B. de Souza leg., 6 larvas [álcool]; mesmos dados, exceto 24.i.2012, T.A.S. Vidovix leg., 1 larva [álcool]; Igarapé 13 afluente do Igarapé Acará 02°56'56,0" S 59° 56'53,9" O, 03.viii.2010, C.B. de Souza leg., 1 larva [álcool]; mesmos

dados exceto, 25.i.2012, T. A. S. Vidovix leg., 6 larvas [álcool]; Igarapé 32 afluente do Igarapé Acará, 24.i.2012, T. A. S. Vidovix leg., 2 larvas [álcool]; Igarapé 13 afluente do Igarapé Ipiranga, 02°59'12,8" S 59°56'14,3" O, 11.ii.2012, T. A. S. Vidovix leg., 2 larvas [álcool]; Igarapé 21 afluente do Igarapé Ipiranga, 02°58'52,4" S 59°54'02,9" O, 12.ii.2012, T.A.S. Vidovix leg., 2 larvas [álcool]; Igarapé Ipiranga, 02°58'53,1" S 59° 54'05,5" O, 13.ii.2012, T.A.S. Vidovix leg., 1 larva [álcool]; Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" O, 16.iii.2010, C.B. de Souza leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados exceto, Igarapé Tinga, 10-13.vi.2002, A. M. O. Pes leg., 1 pupa [álcool]; Manaus, Km 18, AM-240, 02°49'00,8" S 60°02'05,6" O, 26.viii.2009, R. Boldrini leg., 2 machos e 1 fêmea [álcool]; mesmos dados, exceto 27.x.2009, R. Boldrini leg., 2 machos [álcool]; Presidente Figueiredo, Igarapé do Sr. José Souza, Ramal do km 24, AM 240, 02°01'06" S 59°49'27" O, 24.ii.2000, A. M. O. Pes leg., 3 machos [álcool]; pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça, 02°00'52" S 60°01'43" O, 3-4.v.2000, A. M. O. Pes leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados, exceto 24.vii.2012, T. A. S. Vidovix e P. Barcelos leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados exceto, 06.i.2010, A. M. O. Pes e V. Souza leg., 14 larvas [álcool]; mesmos dados exceto Igarapé do Et, 03.viii.2000, A. M. O. Pes leg., 1 pupa [álcool].

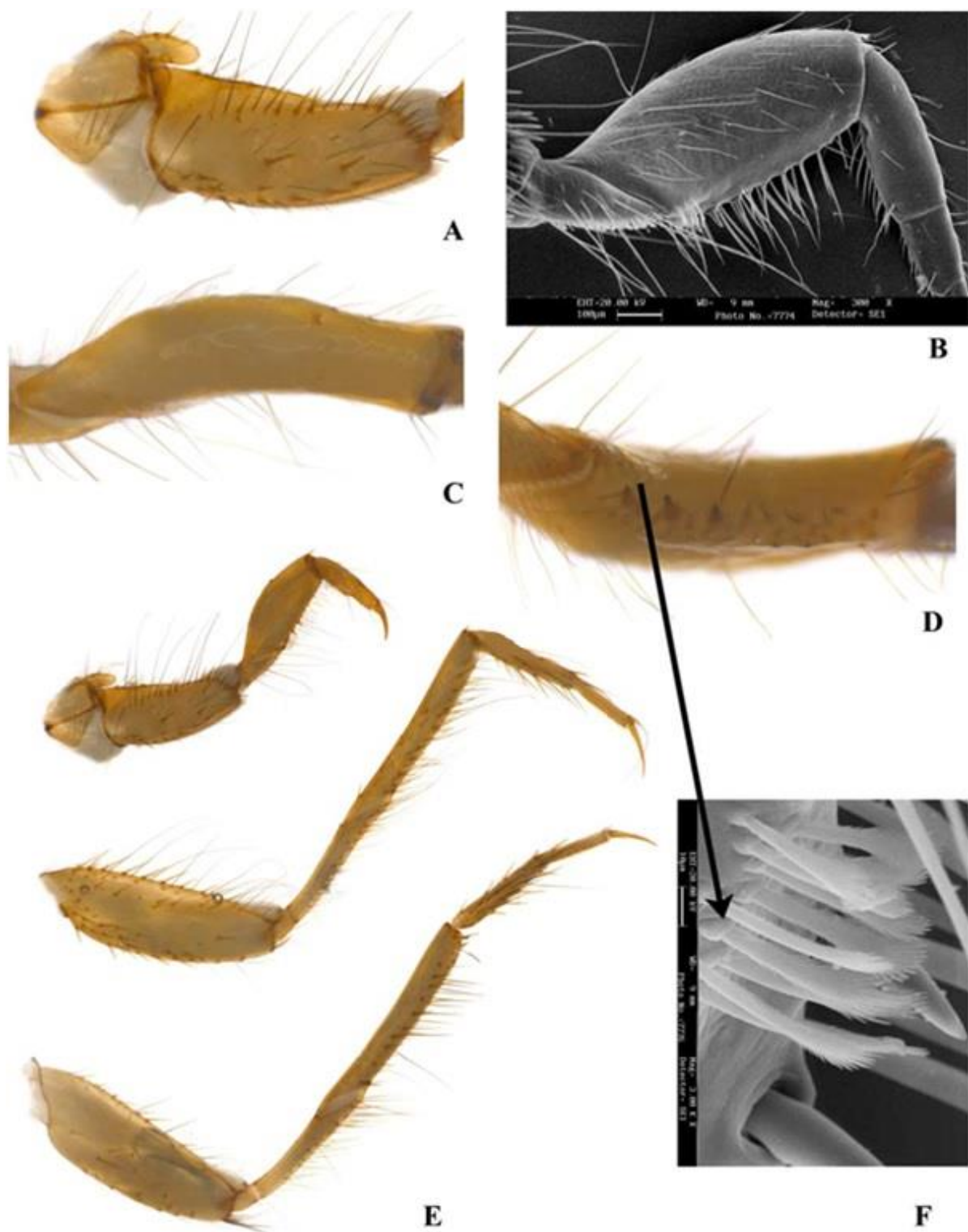
Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas).

Bionomia: As larvas foram encontradas próximas a corredeiras em raízes localizadas nas margens de igarapés de 1ª 2ª e 3ª ordem, localizados em áreas de mata fechada (terra firme), esta espécie é uma das mais abundantes nos igarapés de Presidente Figueiredo e Reserva Ducke (Pes, 2005). Hábito herbívoro foi observado nas larvas, devido o conteúdo intestinal, onde foram encontrados diversos fragmentos de raízes, assim como nas demais espécies de *Macronema*. A pupa foi encontrada fixa nas raízes em remanso. Os adultos foram coletados, atraídos por armadilhas luminosas, ou de interceptação de vôo.



14

Figura 14: Larva *Macroneura exophthalmum*. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Prosternito – vista ventral. E: Tórax – vista dorsal. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral.



15

Figura 15: Larva *Macronema exophthalmum*. A: Trocantim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.

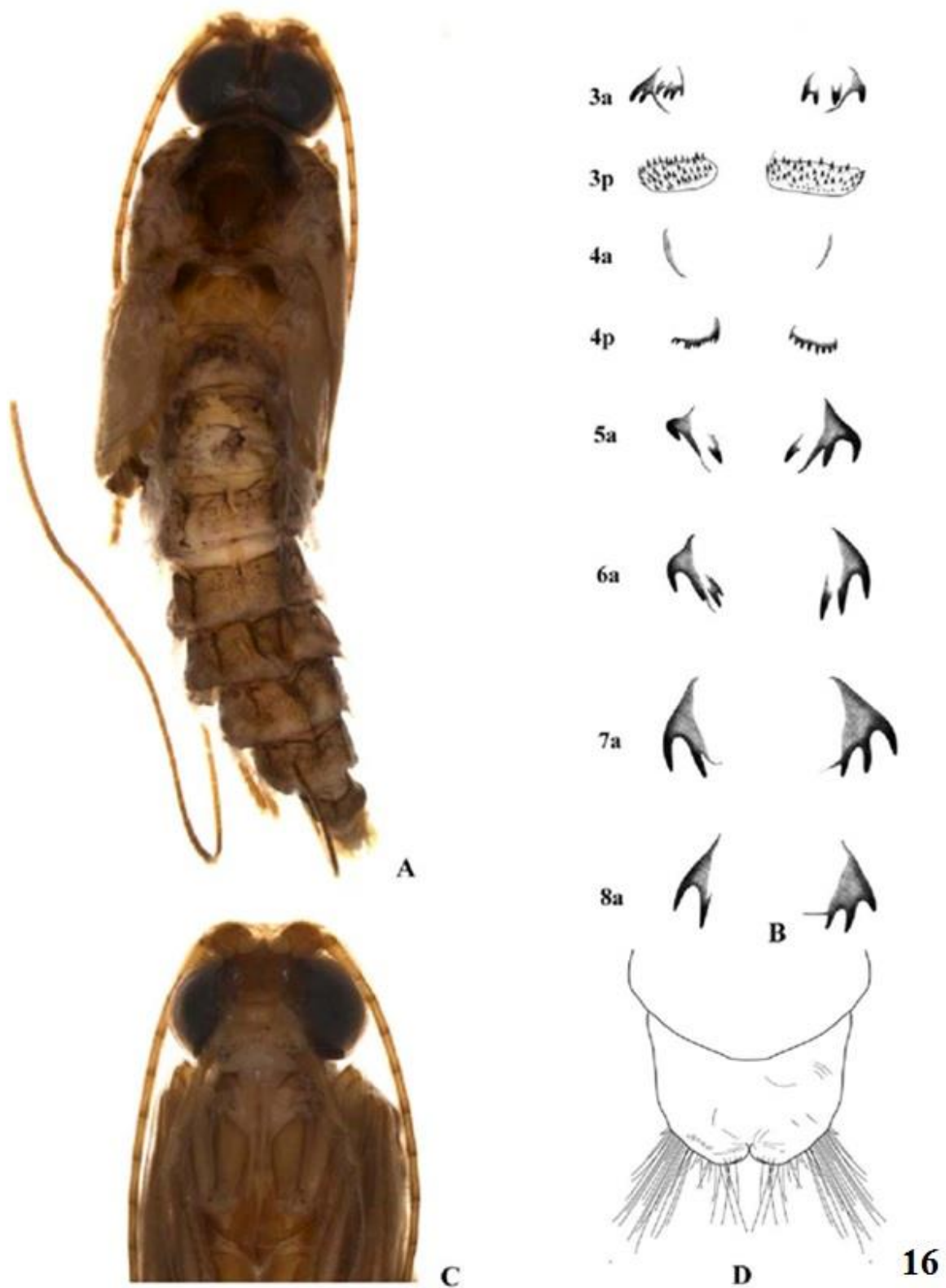


Figura 16: Pupa *Macronema exophthalmum*. A: Pupa – vista dorsal. B: Placas em forma de gancho – vista dorsal; (3a – 8a) número dos segmentos abdominais, a = anterior e p = posterior. C: Cabeça – vista ventral. D: Processo ápical – vista dorsal.

***Macronema fragile* Banks 1915**

(Figs. 17 – 21)

Macronema fragile Banks 1915:631 [descrição original: macho; localidade tipo: Guiana, Bartica; depósito do tipo como *fragilis*: MCZ]; Flint 1967: 10 [holótipo, macho (refez a ilustração da genitália)]; 1978: 403 [macho, asas do holótipo, distribuição, novo registro: Amazonas, Manaus, Reserva Ducke]; Pes 2005 [larva, bionomia (como *Macronema* sp. 4)]; Paprocki *et al.* 2004:8 [checklist]; Paprocki 2008:87 [redescrição do macho, ilustração da genitália masculina, asa, distribuição].

Diagnose: Larva – Esta espécie difere das demais por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior uma série de 5-7 cerdas e ausência cerda espatulada; cabeça circular recoberta por uma densa camada de pequenas cerdas finas por toda a cutícula dorsal e não possui cerdas curtas e grossas. Possui um corpo de coloração amarelado; escleritos amarelos.

Pupa – *M. fragile* se diferencia das outras espécies por possuir no ápice do IX segmento uma margem ondulada com três projeções de cada lado, já para *M. bifidum* o ápice é reto com um par de projeções e *M. exophthalmum* o ápice tem a margem levemente arredondada. O esclerito abdominal 3a de *M. fragile* assemelha o da *M. bifidum* no número e formato, tendo três ganchos no lado esquerdo e dois no direito em *M. fragile*, já em *M. bifidum* possui dois ganchos nos dois lados. Os escleritos abdominais dos segmentos 5a, 6a, 7a, 8a possuem apenas um forte gancho, diferindo das demais espécies.

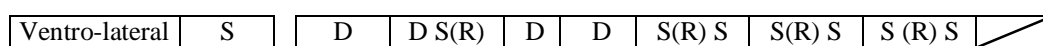
Adulto – Uma característica primordial desta espécie é o fato dela ser muito pequena, comparada às demais espécies conhecidas. *M. fragile* possui um falo afilado e estreito no ápice, semelhante à *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008). Um caractere único de *M. fragile* é a longa e afinada verruga localizada dorsolateralmente no X tergito, *M. hageni* também possui uma verruga longa e fina no X tergito, mas diferencia na forma e posição. Possui a asa de coloração marrom com algumas manchas claras (Fig. 17).



Figura 17: *Macronema fragile*. Asa anterior do macho – vista dorsal.

Descrição: Larva – Comprimento 9-12 mm (n = 4), escleritos e pernas amarelos, manchas das inserções musculares de cor amarelo na cabeça e tórax; corpo revestido por poucas cerdas (Fig. 19A). **Cabeça:** sub-arredondada, tão longa quanto larga; dorsalmente com coloração marrom-claro com algumas manchas das inserções musculares de cor amarelo. Cutícula recoberta por numerosas cerdas finas e curtas, incluindo o frontoclípeo; cerdas nas posições 1, 2, 3, 11 presentes; cerdas ausentes; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo com uma reentrância mediana na margem anterior, um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 19F). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração marrom-clara; manchas das inserções musculares mais claras na região póstero-lateral; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 19G). Gena em vista lateral com uma série de cerdas a partir dos estemas até a região mediana posterior (Fig. 19H). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna da mandíbula direita com um pequeno dente truncado, com região apical pontiaguda (Fig. 19C). Labro curto, duas vezes mais largo que longo; margem mediana da região anterior com uma reentrância, margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 19B). **Tórax:** pronoto marrom-claro; região anterior com margem reta; diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis; linha de cerdas curtas esparsas na região mediana; região mediana com uma constrição transversal; região posterior de coloração marrom-claro, sem cerdas (Fig. 19E). Mesonoto com cerdas curtas esparsas desde a região anterior até a região mediana, intercaladas por muitas cerdas curtas e finas; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana; manchas das inserções musculares de coloração marrom na região mediana e posterior (Fig. 19E); região ventral sem brânquias simples. Prosternito em vista ventral de coloração marrom claro mais escuro na região mediana, com as laterais pretas, margem anterior com uma protuberância central curta, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente; bordas laterais estreitas; placa prosternal triangular com uma protuberância central estreita (Fig. 19D). Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto, região apical quadrada, margem dorsal sem cerdas. Coxa curta e larga, com várias cerdas finas, margem ventral com algumas cerdas; margem dorsal sem cerdas (Fig. 20A). Trocânter, com cerdas longas e finas, cerdas espatuladas ausentes. Fêmur largo, curto e reto em vista

dorsal, margem dorsal com duas cerdas, uma dorso-mediana e uma apico-distal (Figs. 20B, C, D); margem ventrolateral arredondada, com variação de 5-7 cerdas, cerdas espatuladas ausentes (Figs. 20C, D, F). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis. Segundo par de pernas com a coxa alongada com várias cerdas distribuídas em linha reta na região mediana. Terceiro par de pernas com a coxa mais larga e com poucas cerdas (Fig. 20E). Par de brânquias torácicas simples ventrais no metanoto. **Abdômen:** marrom-claro, com poucas cerdas longas e finas espaçadas, brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 19A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas longas e finas; escleritos ventrais claros, com muitas cerdas longas e finas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas na base (Fig. 19A). Distribuição das brânquias somente na região ventro-lateral (Figura 18).



18

Figura 18: *Macronema fragile*. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e segmentos abdominais I-VIII. Onde: S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

Pupa (macho farado) – Comprimento 7 mm, macho (n = 1) (Fig. 21A). **Cabeça:** Retangular, com seis cerdas longas, um par de cada lado da cabeça e um par na margem anterior central em vista dorsal. Labro curto e semicircular com um tufo de cerdas curtas na margem anterior, 16 minúsculas cerdas finas distribuídas na região anterior, um par de lóbulos arredondados basolaterais, com sete cerdas curtas. Mandíbulas membranosas retraídas, com margem subtriangular. Antenas compridas, finas com ápice enrolado, ultrapassando o comprimento do corpo, não envolvendo o abdômen (Fig. 21C). **Tórax:** Meso-metanoto com um par de cerdas distribuídas lateralmente. Pernas medianas com tíbias e tarsos levemente achatados e franjados nas margens laterais. **Abdômen:** Possui brânquias laterais, nos segmentos I-VIII. Região dorsal com placas de ganchos: pares de placas de ganchos anteriores (a) presentes nos segmentos abdominais 3 – 8 e placas de ganchos posteriores presentes nos segmentos 3 – 4 (Fig. 21 B). Par de placas (3a) com quatro pequenos ganchos e direita com dois ganchos; par de placas (3p) esquerda com 20 ganchos pequenos e direita com 16; par de placas (4a) com

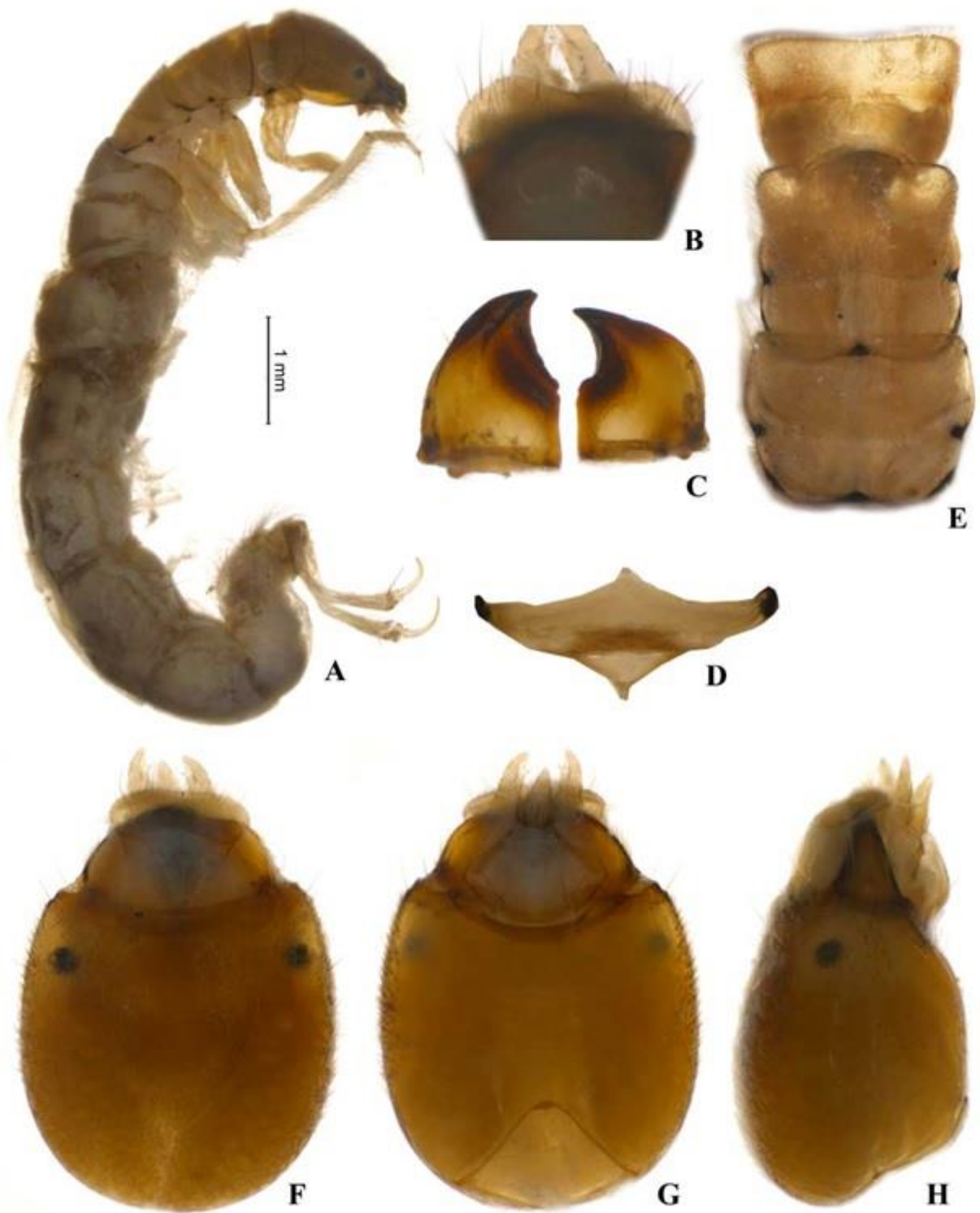
um gancho, par de placas (4p) direita com 11 ganchos e esquerda com 8, direcionados para a região posterior; par de placas (5a) com um gancho curto e grosso; par de placas (6a–8a) com um gancho longo e fino (Fig. 21 B). Processo apical em vista dorsal, com três pares de cerdas finas; com dois pares de lobos e uma densa franja de cerdas escuras, longas e finas na margem posterior do IX segmento (Fig. 21B).

Notas. O fêmur da perna anterior de *M. fragile*, é semelhante à *Macronema* sp. L2 por ser largo e globoso, mas difere por possuir 5-7 cerdas e ausência de cerdas espatuladas na margem ventrolateral, enquanto *Macronema* sp. L2 possui quatro cerdas curtas e grossas e quatro cerdas espatuladas. Na reconstrução filogenética realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, foi utilizado somente um adulto de *M. fragile* devido à falta de espécimes, este se posicionou próximo do morfótipo *Macronema* sp. L2, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança, mas o suporte foi baixo para todas as árvores. A distância interespecífica entre *M. fragile* e *Macronema* sp. L2 foi de 15,06%, uma distância alta e basicamente a mesma comparada com as outras espécies. A distribuição das brânquias das duas espécies difere em quase todos os segmentos abdominais exceto nos segmentos I e VII.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus: Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" O, 29.vii.2010, C.B. de Souza leg., 1 macho [álcool]; Igarapé 15 afluente do Igarapé Bolívia, 17.v.2002, A.M.O. Pes leg., 4 larvas [álcool]; Presidente Figueiredo, Reserva Biológica do Uatumã, Ponto #15, 01°48'50" S 59°16'21" O, 22.viii.2008, J.L.D. Albino leg., 1 pupa farada macho [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas), Guiana e Suriname.

Bionomia: as larvas foram encontradas próximas a corredeiras em raízes localizadas nas margens de igarapés de 1ª e 2ª ordem, com fundo de areia e muitas raízes marginais localizados em áreas de mata fechada (terra firme). Muito raras de serem coletadas.



19

Figura 19: Larva *Macronema fragile*. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Prosternito – vista ventral. E: Tórax – vista dorsal. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral.

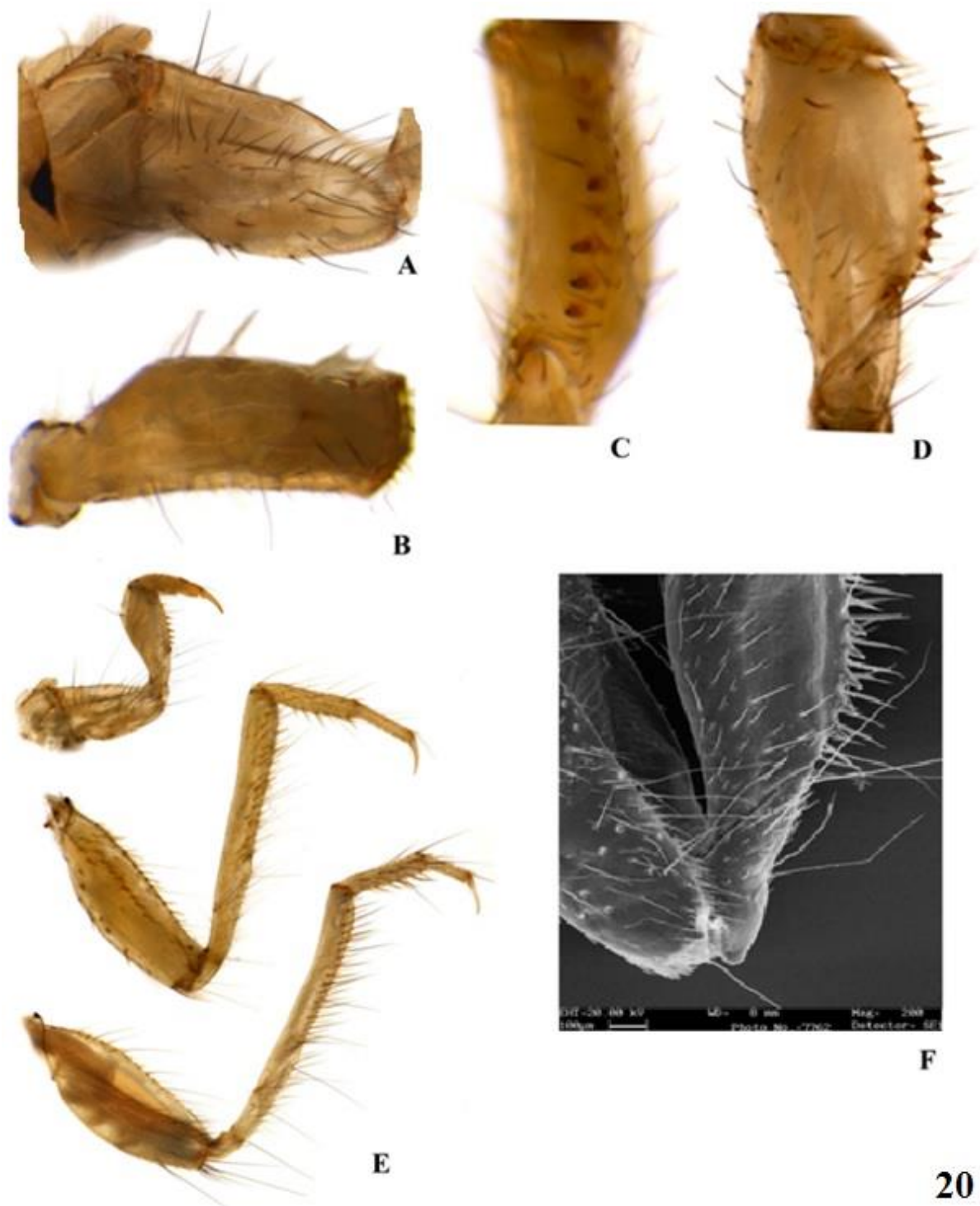


Figura 20: Larva *Macronema fragile*. A: Trocantim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. C: Fêmur da perna anterior – vista ventral. D: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista dorsolateral.

20

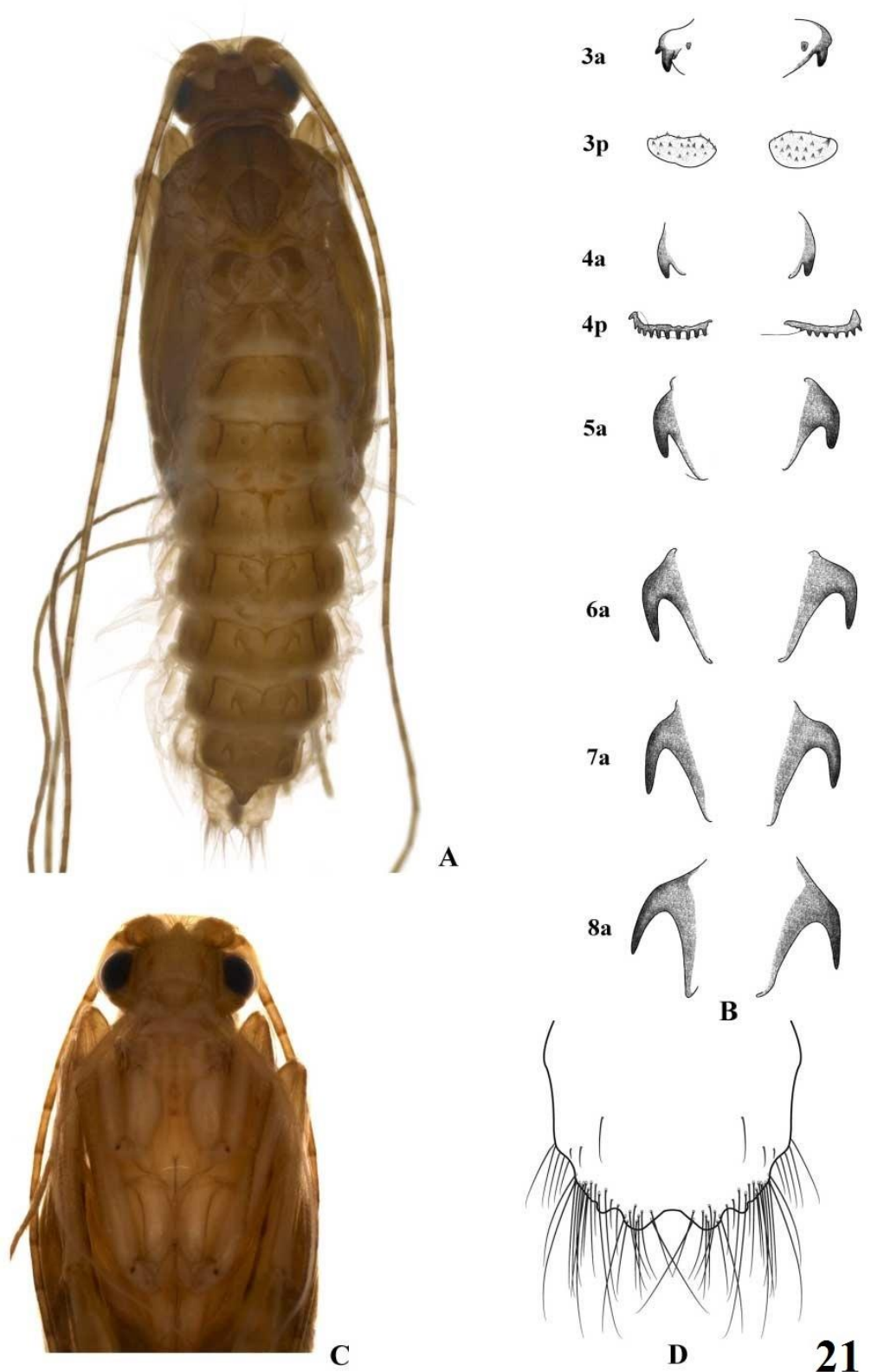


Figura 21: Pupa *Macronema fragile*. A: Pupa – vista dorsal. B: Placas em forma de gancho – vista dorsal; (3a – 8a) número dos segmentos abdominais, a = anterior e p = posterior. C: Cabeça – vista ventral. D: Processo apical – vista dorsal.

Macronema hageni Banks 1924

(Figs. 22-25)

Macronema hageni Banks 1924: 452 [descrição original: macho; distribuição, localidade tipo: Brasil, Pará, Tapajós; depósito do holótipo: MCZ, distribuição]; Flint 1967: 10 [lectótipo, macho; refez a ilustração da genitália masculina; asa]; 1978: 392 [distribuição; novo registro: Argentina, Bolívia, Equador, Paraguai, Venezuela, Brasil: Amazonas, Manaus]; 1991: 79 [macho, distribuição; novo registro: Colômbia, Peru, Brasil: Roraima, Ilha Maracá, rio Uraricoera, asas]; Blahnik *et al.* 2004 [distribuição; novo registro: Brasil, Minas Gerais]; Paprocki *et al.* 2004:8 [checklist]; Paprocki 2008:94 [redescrição do macho; refez a ilustração da genitália masculina; asas].

Diagnose: Larva – *Macronema hageni* difere das demais espécies principalmente por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior uma variação de 13-15 cerdas espatuladas franjadas e duas cerdas curtas e grossas; cabeça marrom delimitada com marcas de inserções musculares de coloração marrom-escuro; região ventral da cabeça com duas manchas centrais de coloração marrom-escuro. Possui um corpo geralmente lilás, escleritos amarelos.

Adulto – O padrão de coloração da asa anterior nesta espécie se diferencia das outras por ter uma coloração verde metálica cobrindo 3/4 da asa; 1/3 da asa com faixa transversal branca, região posterior com escamas de coloração verde escuro com mancha grande laranja metálico com uma série de manchas grandes e pequenas de cor branca (Fig. 22). Outro aspecto importante é o seu falo curto e robusto, vista lateral intensamente curvado basalmente, possui uma projeção ventral alongada lisa e arredondada no ápice.



Figura 22: *Macronema hageni*. Asa anterior do macho – vista dorsal.

Descrição: Larva – Comprimento 12-15 mm (n = 4), escleritos e pernas amarelos, manchas das inserções musculares de cor marrom na cabeça e tórax, corpo revestido por poucas cerdas (Fig. 24A). **Cabeça:** sub-arredondada, levemente mais longa que larga; dorsalmente com coloração marrom-escura com algumas manchas das inserções musculares de cor amarela. Cutícula com cerdas de comprimentos e espessuras variáveis; cerdas nas posições 1, 7, 12, 17 presentes; cerdas curtas e grossas na região mediana, látero-dorsal e entorno dos estemas; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo com uma reentrância mediana na margem anterior, um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 24F). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração amarelo nas laterais e marrom na região mediana; manchas das inserções musculares mais escuras na região póstero-lateral; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 24G). Gena em vista lateral com uma série de cerdas a partir dos estemas até a região mediana posterior (Fig. 24H). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna da mandíbula direita com um pequeno dente truncado; mandíbulas com região apical pontiaguda (Fig. 24C). Labro curto, duas vezes mais largo que longo; margem da região anterior reta, sem reentrância; margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 24B). **Tórax:** pronoto amarelo; região anterior com margem reta; linha de cerdas médias esparsas até a região mediana; região mediana sem constrição transversal; região posterior com manchas das inserções musculares de coloração marrom-escura; sem cerdas (Fig. 24E). Mesonoto com cerdas curtas esparsas desde a região anterior até a região mediana, intercaladas por muitas cerdas curtas e finas; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escura na região mediana e posterior. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escura na região mediana e posterior (Fig. 24E); um par de brânquias torácicas simples ventrais. Prosternito em vista ventral de coloração marrom; margem anterior com uma protuberância central curta, formando um ângulo quadrado; invaginação mediana presente; bordas laterais estreitas; placa prosternal triangular com uma protuberância central estreita (Fig. 24D). Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto; região apical arredondada; margem dorsal tendo 4-5 cerdas grossas (Fig. 25A). Coxa longa e estreita, com várias cerdas curtas e grossas, intercaladas por cerdas finas; margem dorsal tendo 2-3 cerdas (Fig. 25A). Trocânter com

várias cerdas espatuladas longas e finas. Fêmur estreito, longo e curvado em vista dorsal (Fig. 25B, C, D); margem dorsal com duas cerdas, uma dorso-mediana e uma apico-distal (Fig. 25B, C); margem ventrolateral com variação de 13-15 cerdas espatuladas franjadas longas e finas e duas cerdas curtas, ambas agrupadas na região distal (Figs. 25B, D, F). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis (Fig. 25E). **Abdômen:** lilás, com poucas cerdas longas e finas espaçadas; brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 24A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas longas e finas, escleritos ventrais claros, com muitas cerdas longas e finas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas na base (Fig. 24A). Distribuição das brânquias somente na região ventro-lateral (Fig. 23).

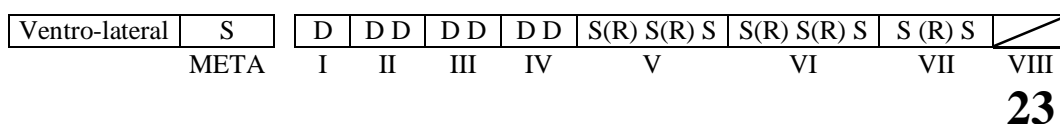


Figura 23: *Macronema hageni*. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. Onde, S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

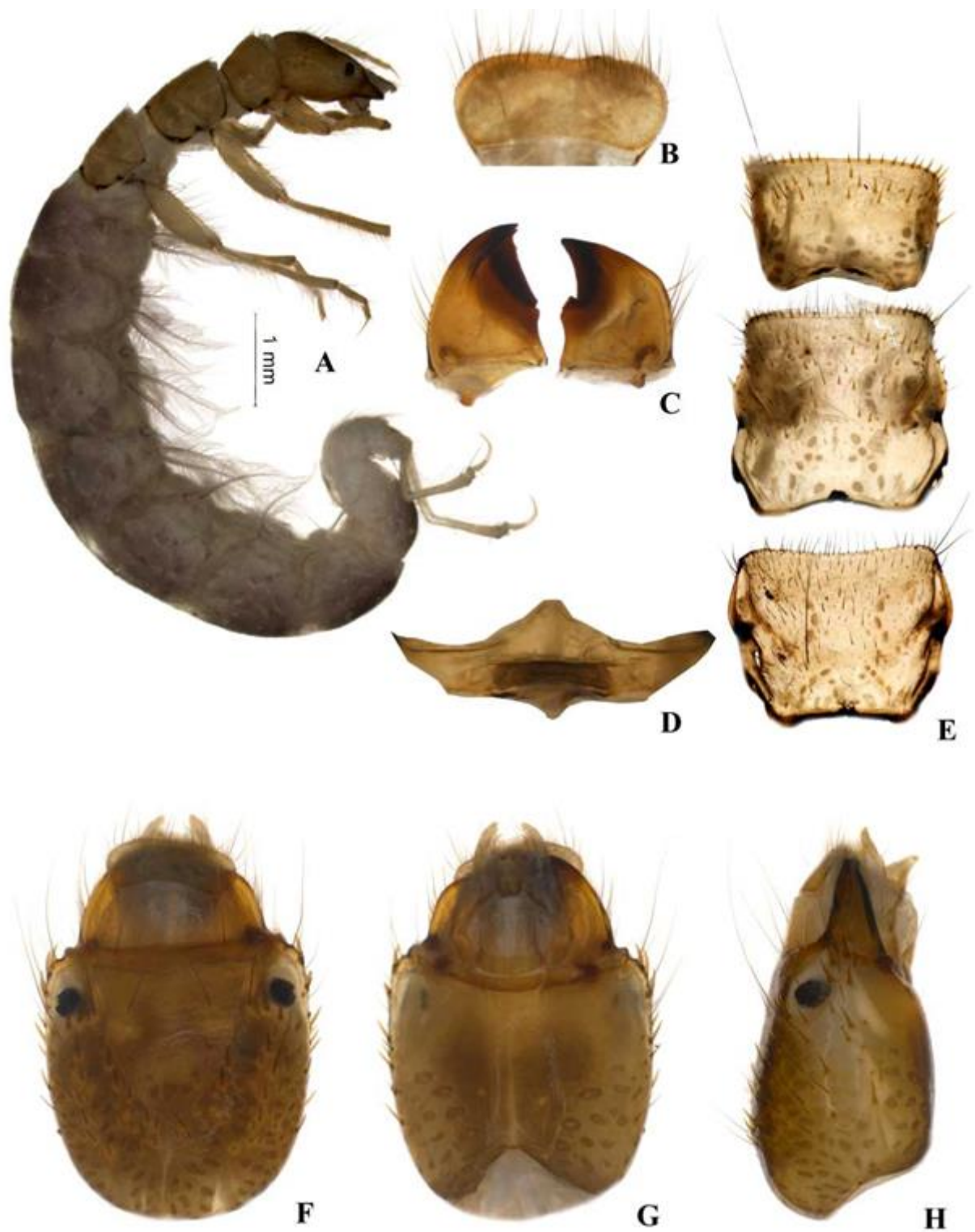
Notas. Larva de *M. hageni* é similar à *M. pennyi* e *Macronema duckensis* com relação ao padrão de coloração e disposição das marcações musculares da cabeça, mas difere por possuir marcações musculares escuras e bem definidas e duas manchas de coloração marrom-escura na gena em vista ventral, já *M. pennyi* e *Macronema duckensis* não possuem manchas e nem marcações das inserções musculares escuras. O fêmur de *M. hageni* assemelha-se ao fêmur de *M. exophthalmum*, onde *M. hageni* possui entre 13-15 cerdas espatuladas e duas cerdas na margem ventrolateral, enquanto *M. exophthalmum* possui 9-11 cerdas espatuladas e três cerdas. A distribuição das brânquias de *M. hageni* é igual de *M. bifidum*, mas as duas espécies não ficaram próximas nas reconstruções filogenéticas realizadas com sequências do COI do DNA mitocondrial, *M. hageni* posicionou-se próxima do morfótipo *Macronema* sp. L2 e *M. fragile*, mas com um suporte muito baixo, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Barcelos, Igarapé Serrinha tributário do rio Aracá, 02.viii.2009, A. M. O. Pes; N. Hamada, 6 larvas [álcool]; mesmos dados exceto,

28.vii.2009, 2 larvas [álcool]; mesmos dados exceto, Rio Jauari Pt. 431, 23-24.vii.2009 1 fêmea [álcool]; mesmos dados exceto, Rio Acará Pt. 630, 04.viii.2009, 1 larva [álcool]; Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça, 02°00'52" S 60°01'43" O, 14-16.viii.2012, 1 fêmea [álcool].

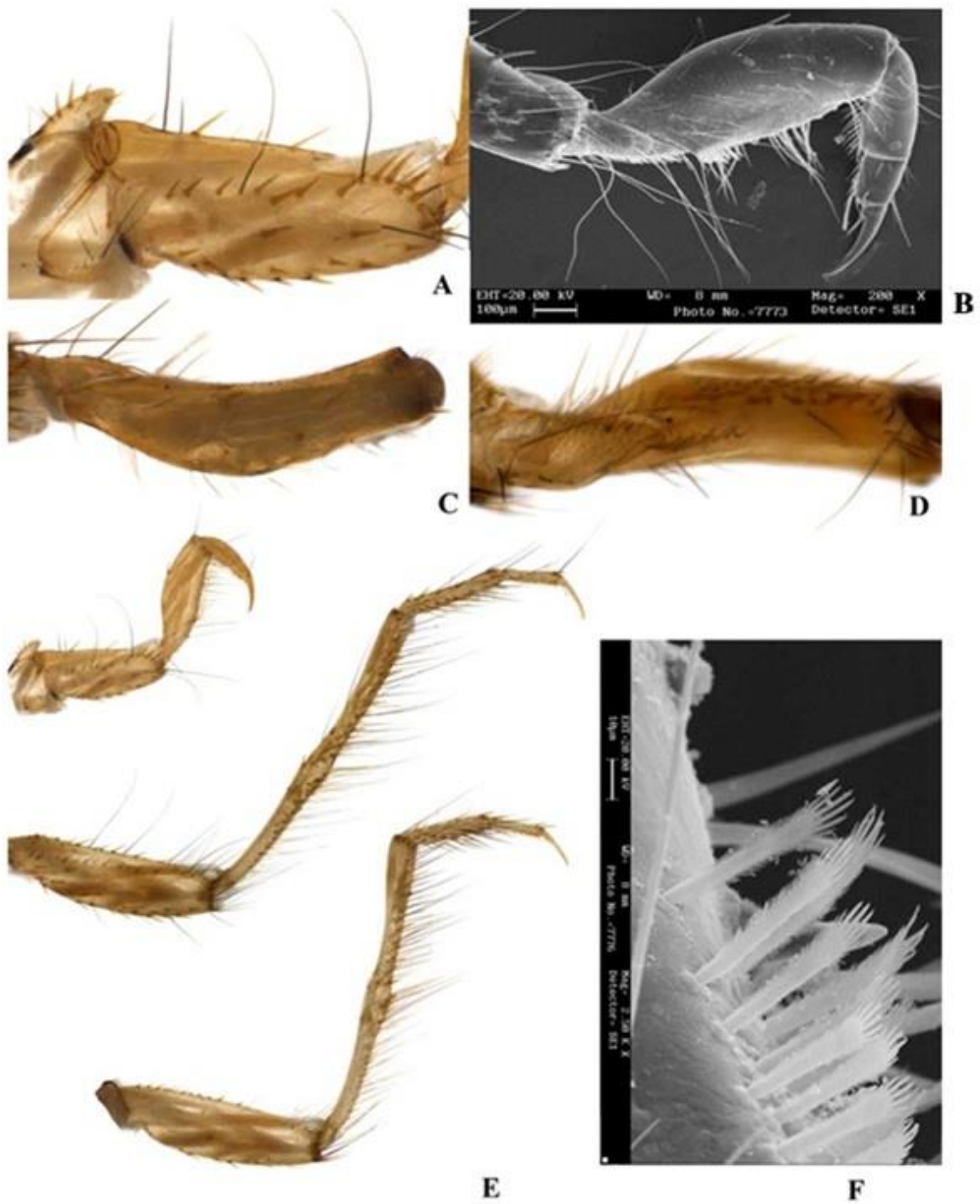
Distribuição geográfica: Argentina, Bolívia, Brasil (Amazonas, Minas Gerais e Pará), Colômbia, Equador, Guiana, Paraguai, Peru, Suriname, Venezuela.

Bionomia: As larvas foram encontradas próximas a corredeiras em raízes localizadas nas margens de igarapés de 1^a 2^a e 3^a ordem, localizados em áreas de mata fechada (terra firme). As larvas são fragmentadoras, devido o conteúdo intestinal, onde foram encontrados diversos fragmentos de raízes, assim como nas demais espécies de *Macronema*.



24

Figura 24: Larva *Macronema hageni*. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Prosternito – vista ventral. E: Tórax – vista dorsal. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral.



25

Figura 25: Larva *Macronema hageni*. A: Trocantim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.

***Macronema muelleri* Banks 1924**

Macronema muelleri Banks 1924: 453 [descrição original: macho; distribuição; localidade tipo: Brasil, Amazonas, Flores e Tefé; depósito do holótipo: MCZ; como mulleri]; Flint 1967: 11 [lectótipo, macho; refez a ilustração da genitália masculina]; 1978: 393, 402 [macho, refez a ilustração da genitália masculina, asas, distribuição]; Paprocki 2008:106 [redescrição do macho; refez a ilustração da genitália masculina; asa; distribuição].

Diagnose: Adulto – A disposição e número de escleritos fálcos, ápice do falo globoso, quilha acuminada dorsal do tergito IX em vista dorsal são os caracteres diagnósticos desta espécie. A genitália desta espécie lembra as espécies *M. burmeisteri* e *Macronema* sp. nov. 5. (Paprocki 2008). As asas anteriores de *M. muelleri* possuem características únicas, faixa branca tracejada ao longo da margem costal, duas faixas amarelas que não se ligam na região 5/6 apical.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça, 02°00'52" S 60°01'43" O, 18-24.iv.2008, A.M.O. Pes leg., 1 macho [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas) e Venezuela.

Bionomia: Esta espécie foi coletada próximas a igarapés de 4ª ordem de fundo rochoso, em área de dossel aberto, com presença de vegetação marginal.

***Macronema parvum* Ulmer 1905**

(Fig. 26)

Macronema parvum Ulmer 1905: 73 [descrição original: macho; distribuição, localidade tipo: "Südamerika"; depósito do holótipo: PAN]; Flint 1966: 7 [lectótipo, macho, refez a ilustração da genitália masculina, asas]; 1978: 393, 402 [macho, asas, distribuição; novo registro: Brasil, Amazonas, rio Marauia]; Paprocki *et al.* 2004:8 [checklist]; Paprocki 2008:112 [redescrição do macho; refez a ilustração da genitália masculina; distribuição: Guiana, Misiones].

Diagnose: Adulto – *Macronema parvum* distingue das demais espécies por possuir duas grandes verrugas no X segmento abdominal e uma pequena quilha arredondada no IX segmento abdominal em vista dorsal. Seu padrão de coloração é semelhante à *Macronema digitiformis*, diferencia por ter uma coloração marrom claro com escamas verde metálica, faixa transversal marrom escuro com a região posterior de coloração marrom claro tendo no

meio uma mancha estreita marrom escuro, margem costal com uma faixa branca tracejada contornando até a cabeça (Fig. 26).



Figura 26: *Macronema parvum*. Asas anteriores do macho – vista dorsal.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Presidente Figueiredo, pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça, 02°00'52" S 60°01'43" O, 3-4.vii.2000, A. M. O. Pes leg., 1 macho [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas), Guiana e Suriname.

Bionomia: Esta espécie foi coletada com armadilha Malaise em igarapés de 1ª 2ª e 3ª ordens, de fundo arenoso e com depósito de folhas e raízes, localizados em mata primária de terra firme.

***Macronema pennyi* Flint 1978**

(Fig. 27 – 30)

Macronema pennyi Flint 1978: 401 [descrição original: macho, asas, distribuição, localidade tipo: Brasil, Amazonas, Manaus, Reserva Ducke; depósito do holótipo: INPA]; Paprocki *et al.* 2004:8 [checklist]; Paprocki 2008 [redescrição do macho; refez a ilustração da genitália masculina; distribuição].

Diagnose: Larva – *Macronema pennyi* difere das demais espécies principalmente por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior três cerdas espatuladas e uma variação de 5-6 cerdas curtas e grossas; cabeça marrom delimitada com manchas das inserções musculares marrom-escura. Possui um corpo geralmente lilás, escleritos amarelos.

Adulto – Esta espécie se assemelha a *Macronema exophthalmum* devido o seu padrão de coloração das asas anteriores. *Macronema pennyi* possui um falo diferenciado, sendo curto e robusto, mas com o processo ventral largo e redondo voltado para dentro, tendo diversos espinhos curtos distribuídos, outra característica principal é uma pequena e forte quilha quadrada no IX segmento abdominal em vista dorsal. Asa com manchas amarelas (Fig. 27).



Figura 27: *Macronema pennyi*. Asa anterior do macho – vista dorsal.

Descrição: Larva – Comprimento 17-21 mm (n = 4), escleritos e pernas amarelos; manchas das inserções musculares de cor marrom na cabeça e tórax; corpo revestido por poucas cerdas (Fig. 29A). **Cabeça:** sub-retangular, levemente mais longa que larga; dorsalmente com coloração marrom com algumas manchas das inserções musculares de cor marrom-escura. Cutícula com cerdas de comprimentos e espessuras variáveis; cerdas nas posições 1, 4, 7, 11 e 12 presentes; cerdas curtas e grossas na região mediana e látero-dorsal; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo com uma reentrância mediana na margem anterior, um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 29F). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração marrom; manchas das inserções musculares mais escuras na região póstero-lateral; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 29G). Gena em vista lateral com uma série de cerdas a partir dos estemas até a região mediana posterior (Fig. 29H). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna da mandíbula direita com um pequeno dente truncado; região apical pontiaguda nas duas mandíbulas (Fig. 29C). Labro curto, duas vezes mais largo que longo; margem mediana da região anterior com uma reentrância, margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 29B). **Tórax:** pronoto amarelo na metade anterior; região anterior

com margem levemente côncava; linha de cerdas curtas e cerdas finas esparsas até a região mediana; região mediana com uma constrição transversal; região posterior de coloração amarela com manchas das inserções musculares marrons; sem cerdas (Fig. 29D). Mesonoto com algumas cerdas curtas esparsas, desde a região anterior até a região mediana, intercaladas por muitas cerdas curtas e finas; manchas das inserções musculares de coloração marrom na região mediana e posterior. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana; manchas das inserções musculares marrom na região mediana e posterior (Fig. 29D); região ventral sem brânquias. Prosternito em vista ventral, coloração marrom escurecido no centro, margem anterior com uma protuberância central alongada, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente; bordas laterais estreitas; placa prosternal triangular com uma protuberância central larga e longa (Fig. 29E). Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto; região apical arredondada; margem dorsal tendo uma cerda (Fig. 30A). Coxa curta e larga, com várias cerdas curtas e grossas, intercaladas por cerdas finas; margem dorsal tendo 1-2 cerdas (Fig. 30A). Trocânter com várias cerdas espatuladas longas e estreitas. Fêmur estreito, longo e curvado em vista dorsal (Fig. 30B); margem dorsal com duas cerdas, uma dorso-mediana e uma apico-distal (Figs. 30B, C); margem ventrolateral com três cerdas espatuladas curtas e finas, agrupadas na região distal; região com variação de 5-6 cerdas (Fig. 30B, D, F). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis (Fig. 30E). **Abdômen:** lilás com poucas cerdas longas e finas espaçadas; brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 29A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas longas e finas; escleritos ventrais claros, com muitas cerdas finas e longas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas (Fig. 29A). Distribuição das brânquias somente na região ventro-lateral (Fig. 28).



28

Figura 28: *Macronema pennyi*. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. Onde S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

Notas: Larva de *M. pennyi* assemelha a *Macronema duckensis* sp. nov., pois ambas possuem o mesmo padrão de coloração e manchas das inserções musculares na cabeça; terem o fêmur da perna anterior similares no formato e na presença de duas cerdas grossas e curtas na margem dorsal, mas diferem no número de cerdas e espatuladas, enquanto que *M. pennyi* possui 5-6 cerdas e três espatuladas, *Macronema duckensis* sp. nov. possui uma variação de 4-5 cerdas e uma variação de 2-3 cerdas espatuladas. A distribuição das brânquias de *M. pennyi* assemelha-se a *M. fragile* tendo o mesmo número de brânquias no metanoto e nos seguintes segmentos abdominais: I, II, IV, V, VII. Na reconstrução filogenética realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, *M. pennyi* posicionou-se próxima de *M. exophthalmum*, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *M. pennyi* e *M. exophthalmum* foi de 8,92-9,47%, uma distância menor comparada com as outras espécies. Morfologicamente as asas anteriores dessas duas espécies são bem similares.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus: Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" O, 16.iii.2010, C.B. de Souza leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados, exceto 29.vii.2010, C.B. de Souza leg., 2 machos [álcool]; mesmos dados, exceto, 23.xi.2012, T.A.S. Vidovix leg., 1 macho [álcool]; Igarapé Acará, 02°56'05" S 59°57'16" O, 24.i.2012, T.A.S. Vidovix leg., 1 larva [álcool]. Presidente Figueiredo, Igarapé do Sr. José Souza, Ramal do km 24, AM 240, 02°01'06" S 59°49'27" O, 24.ii.2000, A.M.O. Pes leg., 6 machos [álcool].

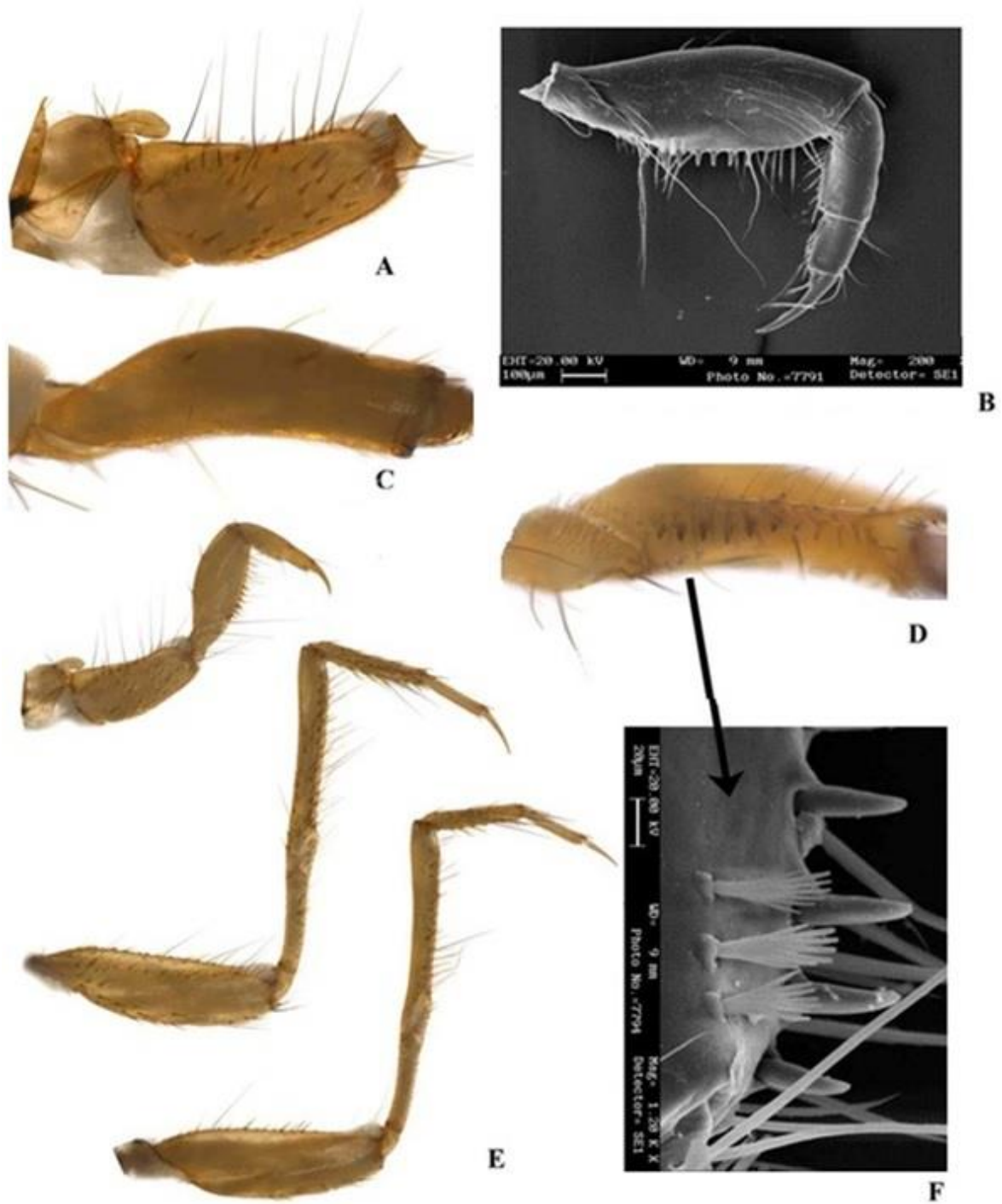
Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas).

Bionomia: As larvas foram encontradas próximas a corredeiras em raízes localizadas nas margens de igarapés de 1ª 2ª e 3ª ordem, localizados em áreas de mata fechada (terra firme) com fundo rochoso e arenoso e muitas raízes submersas, as larvas são fragmentadoras, pois foi observado o conteúdo intestinal, onde foram encontrados somente fragmentos de raízes, assim como nas demais espécies de *Macronema*.



29

Figura 29: Larva *Macronema pennyi*. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Tórax – vista dorsal. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral.



30

Figura 30: Larva *Macronema pennyi*. A: Trocantim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.

Macronema percitans Walker 1860

(Fig. 31)

Macronema percitans Walker 1860: 177 [descrição original: macho; distribuição, localidade tipo: Região amazônica; depósito do tipo: BMNH]; Betten e Mosely 1940: 203 [redescrição, holótipo, macho]; Flint 1978: 392, 402 [macho; distribuição, Brasil, rio Branquinho; asas]; 1996: 411 [distribuição,]; Paprocki *et al.* 2004:8 [checklist]; Paprocki 2008 [redescrição do macho; refez a ilustração da genitália masculina; asa; distribuição, novos registros: Brasil, Rondônia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Peru e Venezuela].

Diagnose: Adulto – O padrão de coloração das asas anteriores de *Macronema percitans* se diferencia por possuir 1/3 posterior com grandes manchas amarelo metálico e marrom escuro, 2/3 tendo escamas de cor verde metálico (Fig. 31). A genitália desta espécie se assemelha muito com *Macronema picteli* por possuir um par de projeções afinada posteroventral no ápice do falo, no entanto, *M. percitans* não tem uma membrana no ápice do processo ventral como *M. picteli*. No IX segmento abdominal na parte dorsal não possui uma forte quilha quadrada encontrada em *M. picteli* sendo outro caractere de diagnóstico importante para *M. percitans*.



Figura 31: *Macronema percitans*. Asas anteriores do macho – vista dorsal.

Notas. Foi utilizado dois espécimes adultos (fêmea) de *M. percitans* não sendo associada a nenhuma larva utilizada nas reconstruções filogenéticas, esta espécie posicionou-se próxima do morfótipo *Macronema* sp. L1 e de *M. bifidum* com suporte baixo, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *M. percitans* e *Macronema* sp. L1 foi de 11,13%, e com *M. bifidum* foi de 13,41% sendo que estas duas distâncias foram menores do que comparada com as outras espécies.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" O, 23.xi.2011, T.A.S. Vidovix leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados, exceto 02.viii.2012, T.A.S. Vidovix e A.M.P. Junior leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados, exceto, T.A.S. Vidovix leg., 2 fêmeas [álcool]; Barcelos, Rio Jauari, Pt. 431, 23-24.vii.2009, N. Hamada e A.M.O. Pes leg., 1 fêmea [álcool]; mesmos dados exceto, Rio Aracá, Emb. do Rio Demene, 07.viii.2009, 1 fêmea [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas, Mato Grosso, Pará), Equador, Guiana, Guiana Francesa, Peru e Suriname.

Bionomia: Esta espécie foi coletada com armadilha de luz, próximas a igarapés de 1ª a 3ª ordem, com fundo de areia em área de mata primária.

***Macronema bilobata* sp. nov.**

(Figs. 32-33)

Diagnose: Adulto – *Macronema bilobata* sp. nov. difere das demais espécies por possuir dois pares de escleritos falotremal, um fino e alongado e um par curvado em forma de anzol, os dois no centro do falo em vista ventral, falo bifido em vista ventral. O falo de *Macronema bilobata* sp. nov. em vista lateral se assemelha a *M. hageni* por ser curto e ter uma projeção ventral no ápice, mas difere por ter a projeção estreita, enquanto *M. hageni* possui uma projeção larga. As asas anteriores são estreitas e possuem cerdas na região anterior de coloração esverdeada uma larga faixa com cerdas amarelas na região médio posterior e cerdas de cor marrom na região posterior (Fig. 32).



32

Figura 32: *Macronema bilobata* sp. nov.. Asa anterior do macho – vista dorsal.

Descrição: Adulto – Comprimento da asa anterior de 11,5 – 12 mm (n = 3). Cabeça e olhos marrons, região mediana coberta por diversas cerdas verdes e brancas prateadas até a base das antenas, labro retangular, palpos maxilar e labial marrom claros. Pernas marrom claras com o 5º tarsômero marrom escuro. Asa anterior com a região apical de coloração marrom (em

álcool), região subapical da asa com duas manchas de cerdas amarelas, duas faixas estreitas de coloração branca da veia R5 até a Cu1a (possivelmente o tórax e parte marrom das asas sejam cobertos por escamas e cerdas verdes) (Fig. 32). Fórmula Tibial 0,4,4. **Genitália masculina:** tergito IX com margem anterior ondulada em vista lateral, margem posterior com aproximadamente 16 cerdas longas, presença de curta projeção laterodorsal; margem posterior ligeiramente côncava (Fig. 33A, B); apêndice inferior longo, ápice arredondado, recoberto por cerdas finas (Fig. 33A); Segmento X, vista dorsal com região apical bifida. Falo curto, ápice vista lateral com um processo ventral externo longo e um interno curto; em vista ventral, processo longo curvado para dentro (Fig. 33C, D), vista ventral com um par de lobos membranosos laterais; esclerito fállico de forma anelar em torno do ducto ejaculatório em vista ventral e dorsal (Fig. 33E); em vista dorsal com região apical terminado em processos digitiformes e abertura do ducto ejaculatório em fenda (Fig. 33F).

Notas. *Macronema bilobata* sp. nov. não associou a nenhuma larva utilizada nas reconstruções filogenéticas realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, mas associou macho com fêmea com um suporte alto, sendo confirma com a morfologia utilizando as asas anteriores dos dois sexos. *Macronema bilobata* sp. nov. posicionou-se próxima de *Macronema* sp. nov. 8 (Paprocki 2008) e *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008), mas com um suporte baixo, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *Macronema bilobata* sp. nov. e *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008) e *Macronema bilobata* sp. nov. com *Macronema* sp. nov. 8 (Paprocki 2008), não teve relevância, pois as distâncias entre essas três espécies manteve na média com a distância interespecífica das outras espécies.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça, 02°00'52" S 60°01'43" O, 14-16.vii.2012, A.M.O. Pes leg., 2 machos e 1 fêmea [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas).

Etimologia: O nome dessa espécie se origina da junção de (bi) dois e da palavra latim (*lobata*) que significa lóbulos, do qual a genitália masculina dessa espécie possui dois lóbulos no ápice.

Bionomia: Esta espécie foi coletada com armadilha de luz em igarapé de 4ª ordem com 12 a 20 m de largura e profundidade entre 0,15 a 1,5 m de profundidade, com fundo rochoso, areia,

seixos, raízes e troncos da vegetação marginal, área de dossel aberto, porém com vegetação marginal parcial.

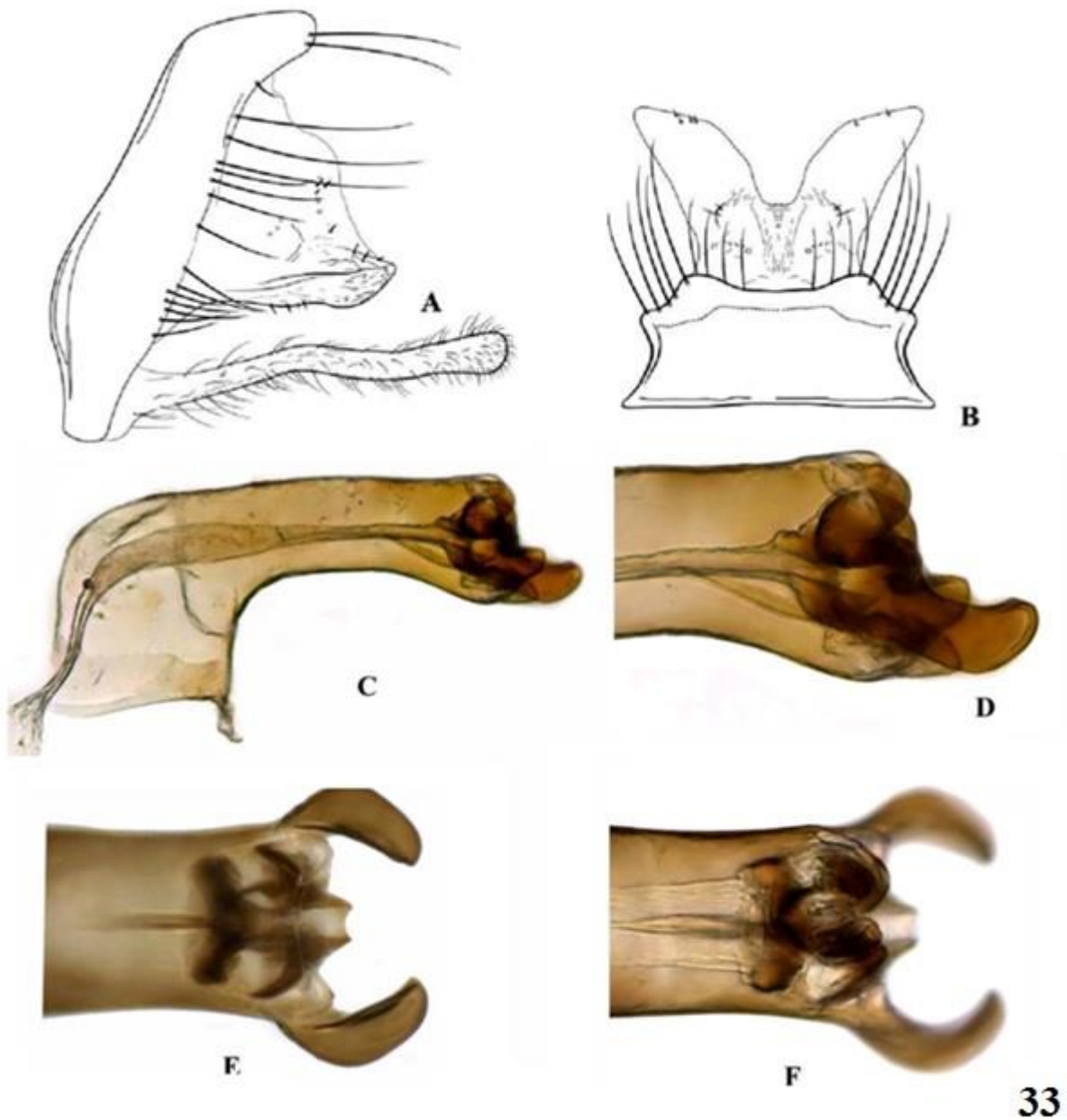


Figura 33: Genitália masculina *Macronema bilobata* sp. nov.. A: Genitália – vista lateral. B: Genitália – vista dorsal. C: Falo – vista lateral. D: Ápice do falo – vista lateral. E: Ápice do falo – vista ventral. F: Ápice do falo – vista dorsal.

***Macronema digitiformis* sp. nov.**

(Fig. 34)

Diagnose: Adulto – Macho de *Macronema digitiformis* sp. nov. difere das demais espécies por possuir processos digitiformes no ápice do falo em vista lateral, dois pares de escleritos falotremal; X tergito curto bífido com um par de projeções latero-basais. Em vista lateral a genitália de *Macronema digitiformis* sp. nov. assemelha a *M. burmeisteri*, na forma do tergito IX estreito, com a margem anterior reta e margem posterior ondulada, mas difere por possuir uma projeção pontiaguda em *M. burmeisteri* e arredondada em *Macronema digitiformis* sp. nov..

Descrição: Adulto – Comprimento da asa anterior 12 mm (n = 1). Cabeça com olhos compostos pretos, região mediana coberta por diversas cerdas marrons até a base das antenas, asa anterior com 2/3 de coloração marrom clara (em álcool) e 1/3 com uma faixa transversal clara, região subapical com duas manchas esbranquiçadas e uma pequena mancha branca no ápice entre a veia R2 e R3 até entre as veias R4 e R5, possivelmente a parte escura das asas seja coberto por cerdas verdes no indivíduo seco. Pernas marrom escuras. Fórmula tibial 0,4,4. Genitália masculina: IX tergito com margem anterior ondulada e margem posterior convexa com uma cerca de nove cerdas longas e na margem dorsal e um tufo de seis cerdas médias nas laterais em vista lateral e subtriangular em vista dorsal (Figs. 34A, B), apêndice inferior longo e fino (Fig. 34A); X tergito curto, sem tubérculos, com uma projeção pequena com cerdas curtas em vista lateral, vista dorsal com um par de com duas projeções pequenas laterobasal e ápice bífido. Falo curto e largo, ápice em vista lateral arredondado com dois pares de escleritos fálicos, em vista lateral um na região ventroapical e o outro na região dorsomediana, externamente com vários processos papilares digitiformes (Figs. 34C, D), ápice dividido ventralmente em dois lobos membranosos (Fig. 34E).

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Presidente Figueiredo, pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça, 02°00'52" S 60°01'43" O, 31.v.2000, A. M. O. Pes leg., 1 macho [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas).

Etimologia: O nome vem do latim (*digitus*) que significa “dedos” e (*formis*) forma, do qual a genitália masculina dessa espécie possui várias estruturas com formato de dedos.

Bionomia: Esta espécie foi coletada com armadilha de luz em próxima a igarapé de 4^a ordem com 12 a 20 m de largura e profundidade entre 0,15 a 1,5 m de profundidade, com fundo rochoso, areia, seixos, raízes e troncos da vegetação marginal, área de dossel aberto porem, com vegetação marginal parcial.

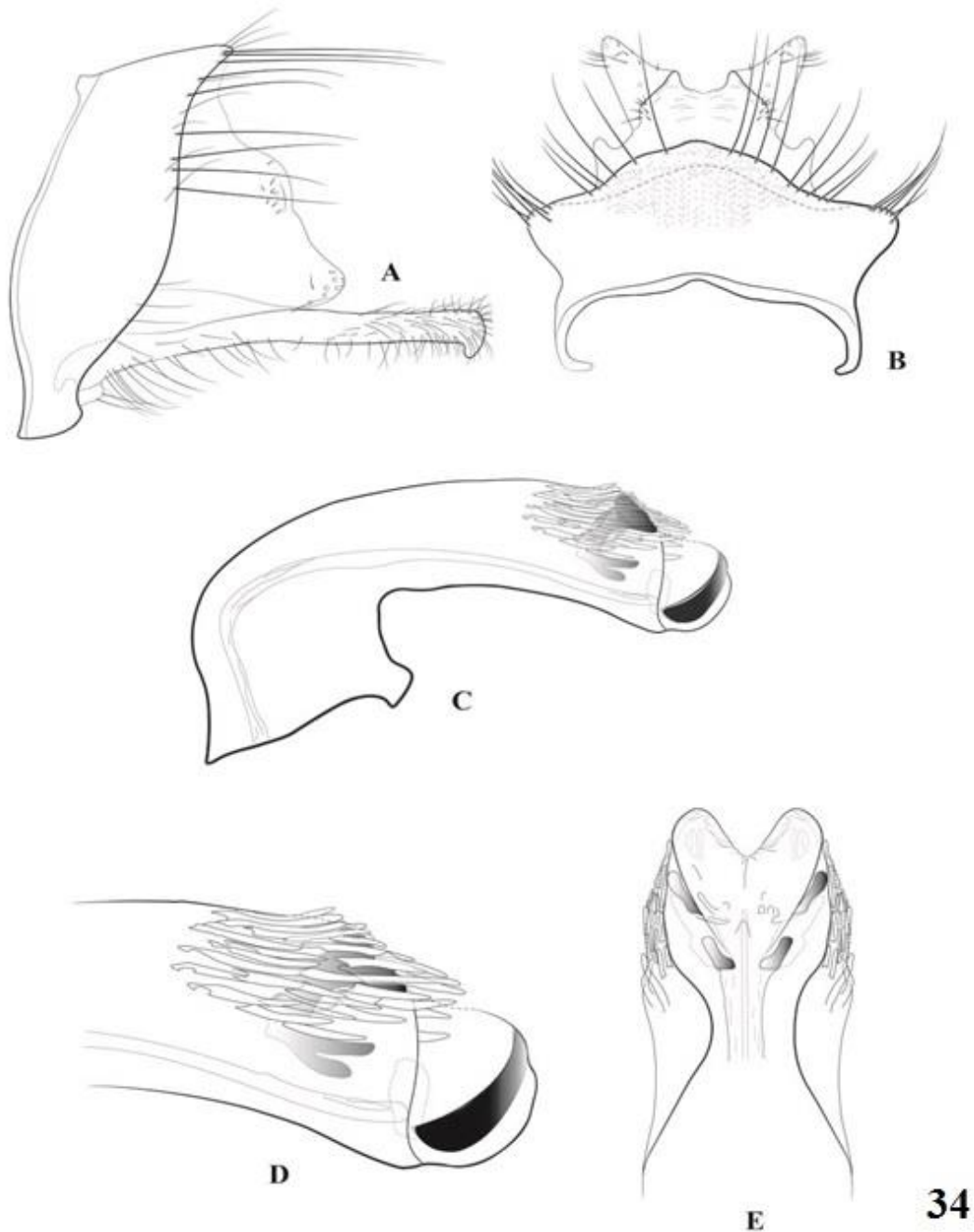


Figura 34: Genitália masculina *Macronema digitiformis* sp. nov.. A: Genitália – vista lateral. B: Genitália – vista dorsal. C: Falo – vista lateral. D: Ápice do falo – vista lateral. E: Ápice do falo – vista ventral.

***Macronema duckensis* sp. nov.**

(Figs. 35 – 39)

Diagnose: Adulto – *Macronema duckensis* sp. nov. difere das demais por apresentar falo em vista ventral com duas pequenas projeções laterais e dois pares de escleritos, um par curvo e fino laterais e um par triangular central, é similar a *M. burmeisteri* na forma do falo, mas difere por apresentar um esclerito ventro-apical em vista lateral, ausente em *M. burmeisteri*, margem dorsal mediana do IX tergito com triangular que em *M. burmeisteri* é côncava (Fig. 35).

Larva – *Macronema duckensis* sp. nov. é semelhante a *M. pennyi*, por possuir o mesmo padrão de coloração e distribuição das marcas de inserções musculares marrom escuras em vista dorsal da cabeça, diferem pelo número de cerdas na margem do fêmur da perna anterior enquanto *Macronema duckensis* sp. nov. possui quatro cerdas curtas e grossas e quatro cerdas espatuladas, *M. pennyi* tem seis cerdas curtas e grossas e três cerdas espatuladas.



Figura 35: *Macronema duckensis* sp. nov.. Asas anteriores do macho – vista dorsal.

Descrição: Adulto – Macho, comprimento da asa anterior de 9 – 10 mm (n = 5). Asas anteriores 2/3 marrom escuras, 1/3 com faixa transversal marrom clara, região posterior marrom escura, região mediana dorsal amarela (Fig. 35). Cabeça com olhos compostos pretos, recoberta por cerdas brancas, e cerdas pretas na base das antenas. **Genitália masculina:** Tergito IX com margem triangular e projeção de cada lado, com 7 cerdas longas e 3 curtas em cada projeção lateral (Fig. 37A). Tergito X curto, ápice bífido com uma forte depressão na região mediana com um lóbulo com cerdas em cada lado e cada projeção longa e estreita, em vista dorsal (Fig. 37B). Apêndice inferior longo e fino, ápice arredondado (Fig. 37A). Falo longo, com o ápice dilatado e arredondado em vista lateral (Figs. 37C, E); ventralmente com

dois lóbulos curtos laterais; três pares de escleritos falotremal, um par lateral em forma de seta no ápice, um central circular e outro par com formato retangular em vista ventral (Fig. 37D).

Larva – Comprimento 14-19 mm (n = 4), escleritos e pernas amarelos; manchas das inserções musculares de cor marrom na cabeça e tórax; corpo revestido por poucas cerdas (Fig. 38A). **Cabeça:** sub-retangular, levemente mais longa que larga; dorsalmente com coloração marrom-clara com algumas manchas das inserções musculares de cor marrom-escuro. Cutícula com cerdas de comprimentos e espessuras variáveis; cerdas nas posições 1, 2, 3, 14, 15 e 16 presentes; cerdas curtas e grossas na região mediana e látero-dorsal; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo com uma reentrância mediana na margem anterior, um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 38F). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração marrom-clara; manchas das inserções musculares mais escuras na região póstero-lateral; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 38G). Gena em vista lateral com uma série de cerdas a partir dos estemas até a região mediana posterior (Fig. 38H). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna da mandíbula direita com um pequeno dente truncado; mandíbulas com região apical pontiaguda (Fig. 38D). Labro curto, duas vezes mais largo que longo; margem mediana da região anterior com uma forte reentrância, margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 38C). **Tórax:** pronoto amarelo na metade anterior; região anterior com margem reta; linha de cerdas médias curtas e cerdas finas esparsas até a região mediana; região mediana com uma constrição transversal; região posterior de coloração marrom-clara, manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região posterior; sem cerdas (Fig. 38B). Mesonoto com cerdas curtas esparsas desde a região anterior até a região mediana, intercaladas por muitas cerdas curtas e finas; região posterior com algumas cerdas finas e curtas; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior (Fig. 38B). Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região posterior; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior (Fig. 38B); região ventral com dois pares de brânquias. Prosternito em vista ventral de coloração marrom; margem anterior com uma protuberância central curta, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente; bordas laterais estreitas; placa prosternal triangular com uma

protuberância central estreita e curta (Fig. 38E). Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim longo, região apical arredondada; margem dorsal variando de nenhuma a uma cerda grossa (espiniforme) (Fig. 39A). Coxa curta e larga, com várias cerdas curtas e grossas, intercaladas por cerdas finas; margem dorsal tendo 3-4 cerdas (Fig. 39A). Trocânter com algumas cerdas espatuladas longas e estreitas. Fêmur estreito, longo e levemente curvado em vista dorsal (Fig. 39C); margem dorsal com três cerdas, uma dorso-posterior, uma dorso-mediana e uma apico-distal (Figs. 39B, C); margem ventrolateral com variação de 2-3 cerdas espatuladas curtas agrupadas na região distal; região com variação de 4-5 cerdas curtas (Figs. 39B, D, F). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis (Fig. 39E). **Abdômen:** de coloração lilás; com poucas cerdas longas e finas espaçadas; brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 38A), grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas longas e finas; escleritos ventrais claros, com muitas cerdas longas e finas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas na base (Fig. 38A). Distribuição das brânquias somente na região ventro-lateral (Fig.36).

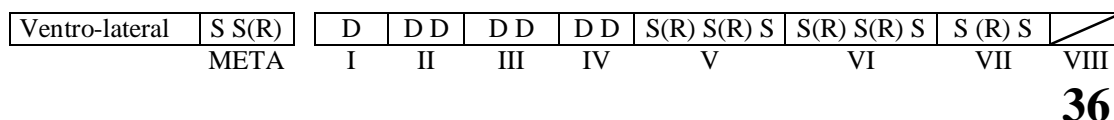


Figura 36: *Macronema duckensis* sp. nov.. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do mesonoto, metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

Notas.; *Macronema duckensis* sp. nov. não associou a nenhuma larva utilizada nas reconstruções filogenéticas realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, mas associou macho com fêmea com um suporte alto, sendo confirma com a morfologia utilizando as asas anteriores dos dois sexos. *Macronema bilobata* sp. nov. posicionou-se próxima de *Macronema digitiformis* sp. nov. e *Macronema* sp. nov. 7 (Paprocki 2008) mas com um suporte baixo, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *Macronema bilobata* sp. nov. e *Macronema* sp. nov. 7 (Paprocki 2008) e *Macronema bilobata*

sp. nov. e *Macronema digitiformis* sp. nov., não teve relevância, pois as distâncias entre essas três espécies manteve na média com a distância interespecífica das outras espécies.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus: Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" O, 29.vii.2010, C. B. de Souza leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados exceto 16.iii.2010, C. B. de Souza leg., 1 adulto [álcool]; mesmos dados exceto Igarapé 31 Acará, 02°56'41,1" S 59°57'22,0" O, 28.vii.2012, T.A.S. Vidovix leg. 3 larvas [álcool]; mesmos dados exceto, Igarapé 13 afluente do Igarapé Acará, 02°56'56,0" S 59°56'56,09" O, 02.viii.2010, C. B. de Souza leg., 1 larva [álcool]; mesmos dados exceto, 03.viii.2010, 4 larvas [álcool]; mesmos dados exceto, 24.i.2012, T. A. S. Vidovix, leg. 1 larva [álcool]; Igarapé Bolívia , 02°55'81,0" S 59°59'42,6", 05.viii.2010, C. B. de Souza leg., 1 larva [álcool]; Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça, 02°00'52" S 60°01'43" O, 06.i.2010, A. M. O. Pes e V. Souza leg., 1 larva [álcool]; mesmos dados exceto T.A.S. Vidovix e P. Barcelos leg., 2 larvas [álcool]; Barcelos, Igarapé da Anta, 22.vii.2009, 00°48'03,3" N 63°29'22,7" O; A. M. O. Pes leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados exceto Com. Ucuqui, prop. Sr. Miranda, Rio Jaurí, 23-24.vii.2009, A. M. O. Pes leg., 1 macho [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas).

Etimologia: O nome específico *duckensis* é baseado na localidade tipo Reserva Ducke.

Bionomia: As larvas foram encontradas raízes localizadas nas margens de igarapés de 1ª 2ª e 3ª ordem, localizados em áreas de mata fechada (terra firme). Adultos foram coletados próximos a estes locais com armadilha de luz.

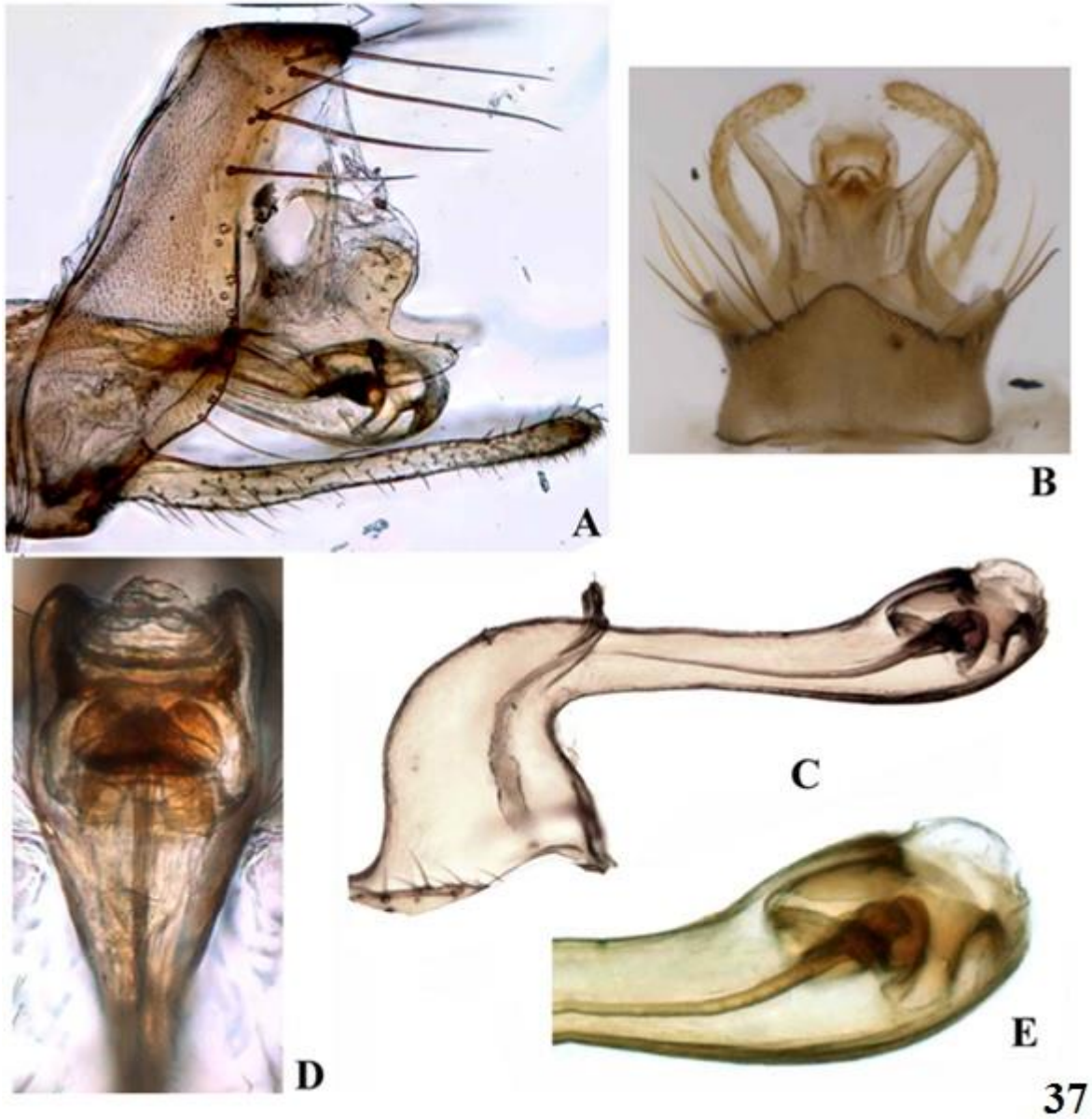


Figura 37: Genitália masculina *Macronema duckensis* sp. nov.. A: Genitália – vista lateral. B: Genitália – vista dorsal. C: Falo – vista lateral. D: Ápice do falo – vista ventral. E: Ápice do falo – vista lateral.



38

Figura 38: Larva *Macronema duckensis* sp. nov.. A: Corpo – vista lateral. B: Tórax – vista dorsal. C: Labro – vista dorsal. D: Mandíbulas – vista ventral. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral.

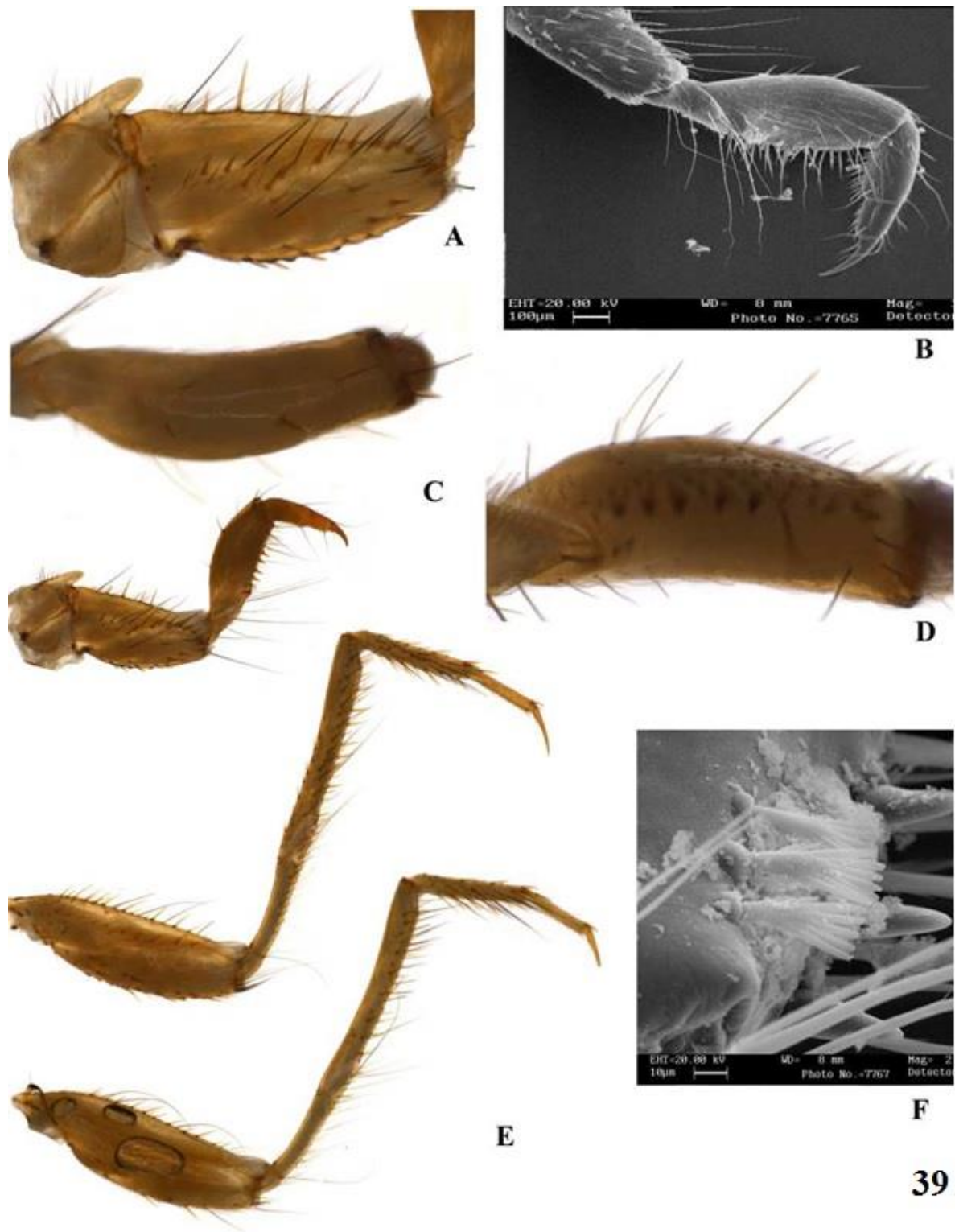


Figura 39: Larva *Macronema duckensis* sp. nov.. A: Trocântim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.

Macronema sp. nov. 3

(Paprocki 2008: ilustração e descrição)

(Figs. 40-43)

Paprocki 2008 [Macho, asas e distribuição].

Diagnose: Larva – *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) difere das demais espécies por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior uma variação de 2-3 cerdas espatuladas e três cerdas simples; cabeça marrom-escura mais longa do que larga. Possui um corpo geralmente lilás com muitas cerdas longas distribuídas, escleritos amarelos.

Adulto – *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) difere-se das demais espécies por possuir o ápice do falo globoso. O segmento IX possui uma projeção central em vista dorsal facilmente distinguida das demais espécies, mas assemelha a *M. muelleri*. As asas anteriores estreitas com diversas máculas claras por toda a asa com diversas cerdas de coloração marrom (Fig. 40).



Figura 40: *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008). Asa anterior do macho – vista dorsal.

Descrição: Larva – Comprimento 24-26 mm (n = 3), escleritos e pernas amarelo-claros; manchas das inserções musculares de cor amarela na cabeça e marrom no tórax; corpo revestido por muitas cerdas longas e finas (Fig. 42A). **Cabeça:** retangular, mais longa que larga; dorsalmente com coloração marrom-escura, com algumas manchas das inserções musculares de cor amarela. Cutícula com cerdas finas de comprimentos variáveis; cerdas nas posições 1, 2, 3, 12, 15 presentes; cerdas ausentes; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo com uma reentrância mediana na margem anterior, um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 42D). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração marrom; manchas das inserções musculares mais claras na região póstero-lateral; sutura de ecdise ventral visível

somente de um lado (Fig. 42E). Gena em vista lateral com uma série de cerdas finas de comprimentos variáveis a partir dos estemas até a região mediana posterior, cerdas ausentes (Fig. 42F). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna da mandíbula direita com um pequeno dente truncado, com região apical pontiaguda. Labro curto, duas vezes mais largo que longo; margem mediana da região anterior com uma leve reentrância, margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 42B). **Tórax:** pronoto amarelo; região anterior com margem levemente côncava; algumas cerdas e cerdas finas de comprimentos variáveis esparsas até a região mediana; região mediana sem constrição transversal; região posterior sem cerdas (Fig. 42B). Mesonoto com cerdas curtas nas laterais da margem anterior, intercaladas por muitas cerdas finas de tamanhos variáveis; manchas das inserções musculares mais claras na região mediana e posterior; cutícula com muitas cerdas finas e longas. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana; manchas das inserções musculares mais claras na região mediana e posterior (Fig. 42B); região ventral com um par de brânquias simples. Prosternito em vista ventral de coloração amarelo; margem anterior com uma protuberância central curta, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente; bordas laterais estreitas; placa prosternal triangular com uma protuberância central larga e curta. Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto; região apical pontiaguda, margem dorsal tendo 1-2 cerdas grossas (Fig. 43A). Coxa curta e larga, com algumas cerdas curtas e grossas na margem ventral; várias cerdas finas de comprimentos variáveis esparsas; margem dorsal sem cerdas (Fig. 43A). Trocânter com algumas cerdas espatuladas longas e estreitas. Fêmur estreito, longo e curvado em vista dorsal (Figs. 43D); margem dorsal com uma cerda espiniforme apico-distal (Figs. 43C, D); margem ventrolateral com duas cerdas espatuladas curtas e finas, três cerdas de comprimentos variáveis agrupadas na região distal (Figs. 43 D, F). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis; terceiro par de pernas com coxas alongadas (Fig. 43E). Um par de brânquias torácicas simples presentes ventrais no metanoto. **Abdômen:** Coloração da cutícula lilás, com muitas cerdas longas e finas espaçadas; brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Figs. 42A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas finas e longas, escleritos ventrais claros, com muitas cerdas finas e longas. Papilas

anais presentes, curtas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas na base (Fig. 42A). Distribuição das brânquias somente na região ventro-lateral (Fig.41).

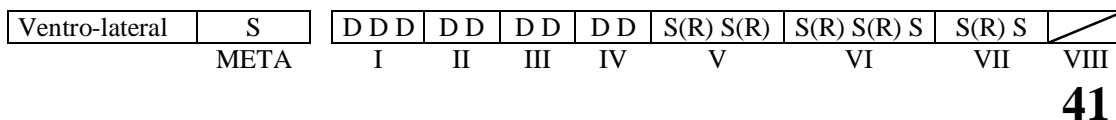


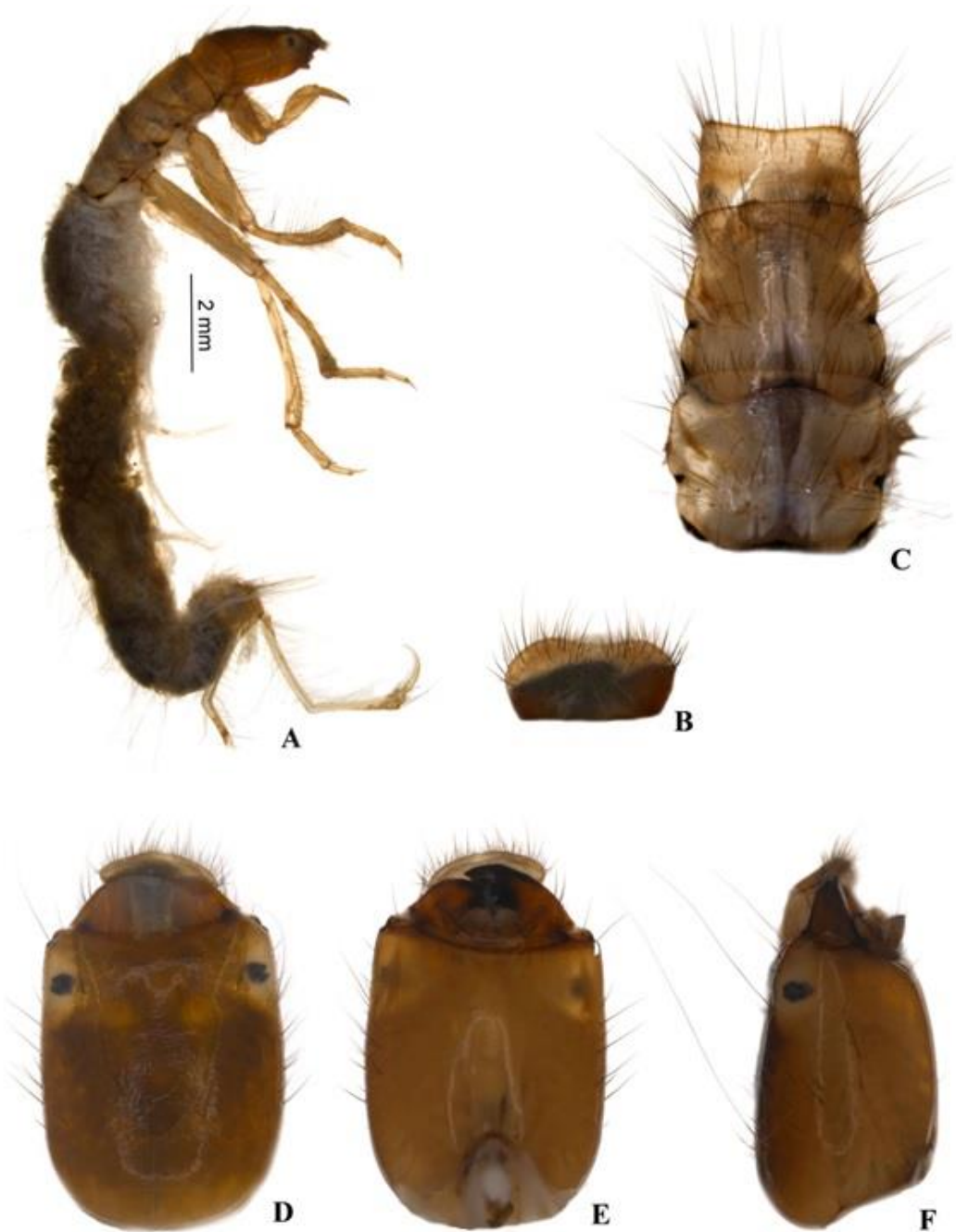
Figura 41: *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008). Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do mesonoto, metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. Onde S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

Notas. *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) se assemelha a *Macronema* sp. L3 por possuírem um corpo alongado, cabeça mais longa que larga, por terem três cerdas de diferentes tamanhos, mas diferem no número de cerdas espatuladas enquanto *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) possui duas cerdas *Macronema* sp. L3 possui quatro cerdas na mesma região. Na reconstrução filogenética realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) posicionou-se próxima da espécie *Macronema* sp. L3, mas com um suporte fraco, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) e *Macronema* sp. L3 foi de 15,39%, uma distância alta, não tendo relevância entre as duas espécies comparada com as outras espécies. A distribuição de brânquias de *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) é muito similar a *M. bifidum*, diferindo apenas no I segmento abdominal, onde *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) possui três pares de filamentos simples ramificados originados de uma mesma base comum, já *M. bifidum* possui somente um par no mesmo segmento.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus: Reserva Ducke, Igarapé Acará 02°56'05" S 59°57'16" O, 24.i.2012, T.A.S. Vidovix leg., 1 larva [álcool]; Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" O, data, C.B. de Souza leg., 1 larva [álcool]; mesmos dados exceto, 28.vii-03.viii.2012, T.A.S. Vidovix leg., 1 macho [álcool]; Presidente Figueiredo, Pousada Sossego da Pantera, Igarapé da Onça, 02°00'52" S 60°01'43" O, 14-16.vii.2012, A.M.O. Pes leg., 1 fêmea [álcool].

Distribuição geográfica: Venezuela e Brasil (Amazonas) novo registro.

Bionomia: Esta espécie foi coletada em igarapé de 4ª ordem com 12 a 20 m de largura e profundidade entre 0,15 a 1,5 m de profundidade, com fundo rochoso, areia, seixos, raízes e troncos da vegetação marginal, área de dossel aberto, porem com vegetação marginal parcial, bem como em igarapés de 2ª ordem em área de mata fechada com substrato de folhas e raízes e fundo de areia.



42

Figura 42: Larva *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008). A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Tórax – vista dorsal. D: Cabeça – vista dorsal. E: Cabeça – vista ventral. F: Cabeça – vista lateral.

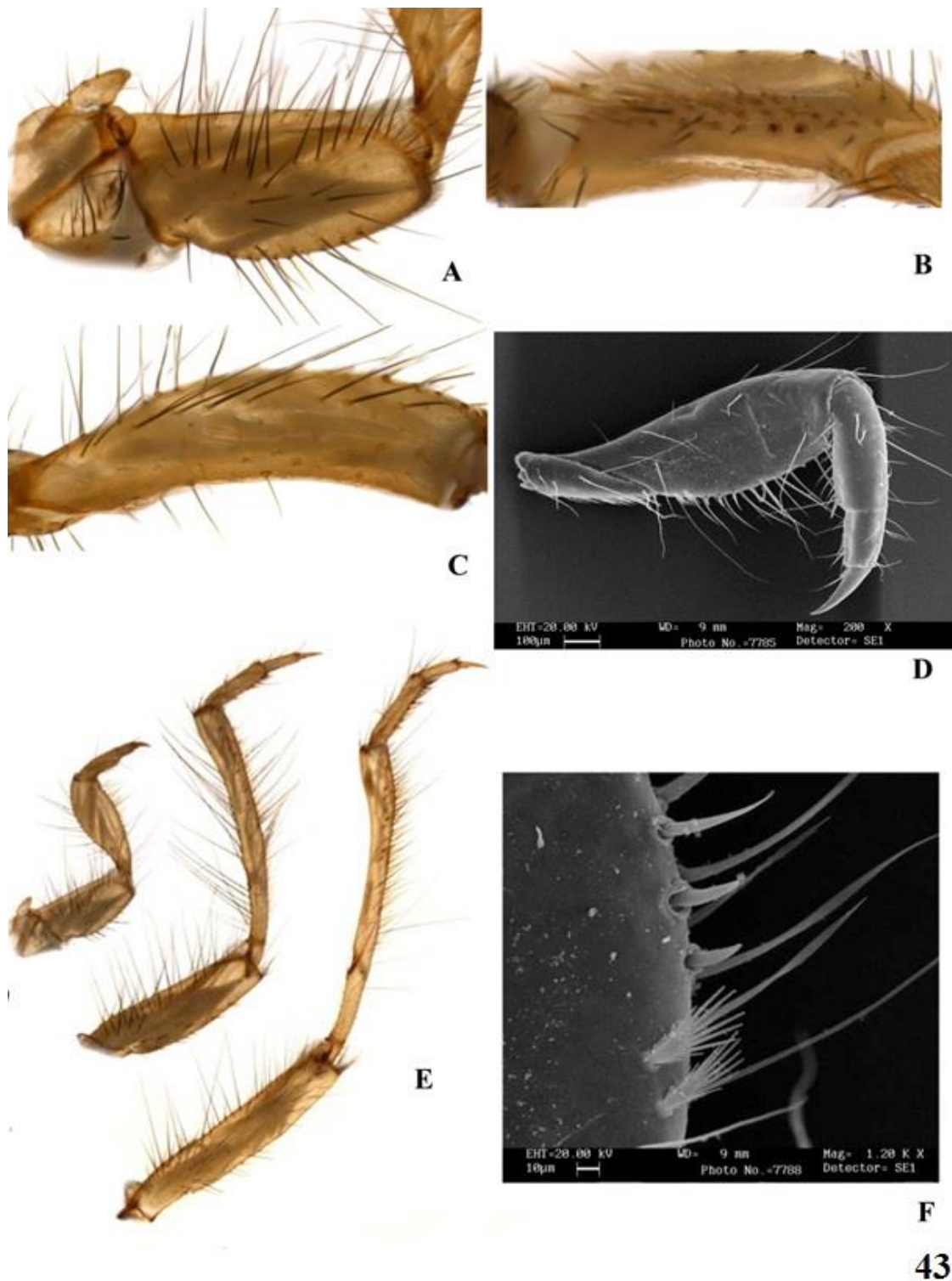


Figura 43: Larva *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008). A: Trocantim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista ventral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.

***Macronema* sp. nov. 8**

(Paprocki 2008: ilustração e descrição)

(Fig. 44)

Paprocki 2008 [Macho, asas e distribuição].

Diagnose: Adulto – *Macronema* sp. nov. 8 (Paprocki 2008) se distingue das outras espécies por possuir um falo curto e largo semelhante a *M. exophthalmum* e *M. pennyi*, o ápice do falo é facilmente distinto das demais espécies em vista lateral. Possui três processos, dois dorsais e um ventral. As asas anteriores possuem diversas cerdas de coloração verdes na parte média anterior e algumas máculas brancas com cerdas de coloração marrom na região posterior semelhante a *M. hageni*; em álcool as asas perdem a sua coloração e fica com cerdas marrons (Fig. 44).



44

Figura 44: *Macronema* sp. nov. 8 (Paprocki 2008). Asa anterior do macho – vista dorsal.

Notas. *Macronema* sp. nov. 8 (Paprocki 2008) não associou a nenhuma larva utilizada nas reconstruções filogenéticas realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, sendo usada apenas um espécime mecho para as análises. *Macronema* sp. nov. 8 (Paprocki 2008) posicionou-se próxima de *Macronema bilobata* sp. nov. e *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008), mas com um suporte baixo, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *Macronema* sp. nov. 8 (Paprocki 2008) e *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008) e *Macronema* sp. nov. 8 (Paprocki 2008) com *Macronema bilobata* sp. nov., não teve relevância, pois as distâncias entre essas três espécies manteve na média com a distância interespecífica das outras espécies.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus: Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" W, 16.iii.2010, C.B. de Souza leg., 1 macho [álcool]; mesmos dados, exceto 29.vii.2010 C.B. de Souza leg., 1 macho [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas).

***Macronema* sp. nov. 9**

(Paprocki 2008: ilustração e descrição)

(Fig. 45 – 48)

Paprocki 2008 [Macho, asas e distribuição].

Diagnose: Larva – *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008) difere das demais espécies principalmente por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior uma variação de 25-31 cerdas espatuladas formando um tufo, ausência de cerdas; cabeça marrom escura delimitada com marcas de inserções musculares amarelas. Possui um corpo geralmente amarelados, escleritos amarelos.

Adulto – *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008) possui uma genitália muito diferenciada das demais espécies, seu falo é dilatado na base estreito na região mediana e no ápice possui três projeções uma central larga e duas estreitas laterais em vista ventral. As asas anteriores possuem cerdas e escamas de coloração esverdeadas na região anterior, região médio posterior possui uma larga faixa com várias máculas de cor branca e região posterior possui cerdas e escamas de coloração marrom; já em álcool as asas ficam com uma coloração preta mas a faixa com máculas brancas permanece (Fig. 45).



Figura 45: *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008). Asas anteriores do macho – vista dorsal [álcool].

Descrição: Larva – Comprimento 15-18 mm (n = 3), escleritos e pernas marrons com algumas marcas de inserções musculares escuras na cabeça e tórax, numerosas cerdas longas e finas na parte anterior do corpo (Fig. 47A). **Cabeça:** sub-retangular, mais longa que larga; marrom, dorsalmente com coloração marrom-escuro, com algumas manchas das inserções musculares de cor marrom-escuro, mais escuras que a cutícula. Cutícula com cerdas de comprimentos e espessuras variáveis; cerdas nas posições 1, 4, 7, 11 e 12 presentes; cerdas curtas e grossas na região mediana e látero-dorsal; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo reto, sem reentrância mediana na margem anterior; um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 47F). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração marrom-escuro; manchas das inserções musculares mais escuras na região póstero-lateral; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 47G). Gena em vista lateral com uma série de cerdas a partir dos estemas até a região mediana posterior (Fig. 47H). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; mandíbula direita com três dentes no ápice e um pequeno dente truncado mediano; mandíbulas com região apical pontiaguda (Fig. 47C). Labro curto, duas vezes mais largo que longo; margem mediana da região anterior com uma leve reentrância, margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 47B). **Tórax:** pronoto marrom, região anterior com margem reta; linha de cerdas médias e cerdas finas esparsas até a região mediana; região mediana sem constrição transversal; região posterior de coloração marrom; sem cerdas; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior (Fig. 47D). Mesonoto com cerdas curtas esparsas desde a região anterior até a região mediana, intercaladas por muitas cerdas curtas e finas; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior (Fig. 47D); região ventral com um par de brânquias simples. Prosternito em vista ventral de coloração marrom-claro; margem anterior com uma protuberância central curta, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente; bordas laterais largas; placa prosternal triangular com uma protuberância central larga e curta (Fig. 47E). Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto; região apical arredondada; margem dorsal tendo 3-4 cerdas grossas (Fig. 48A). Coxa curta e larga, com várias cerdas curtas e

médias grossas, intercaladas por cerdas finas; margem dorsal tendo 3-4 cerdas (Fig. 48A). Trocânter com várias cerdas espatuladas longas e estreitas. . Fêmur estreito, longo e levemente curvado em vista dorsal (Fig. 48B, D); margem dorsal com uma cerda espiniforme apico-distal (Figs. 48B, C); margem ventrolateral com variação de 25-32 cerdas espatuladas franjadas longas e finas agrupadas na região distal; sem cerdas (Figs. 48B, D, F). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis (Fig. 48E). **Abdômen:** amarelado; com poucas cerdas longas e finas espaçadas; brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 47A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas longas e finas; escleritos ventrais claros, com muitas cerdas longas e finas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas na base (Fig. 47A). Distribuição das brânquias somente ventro-lateral (Fig. 46).

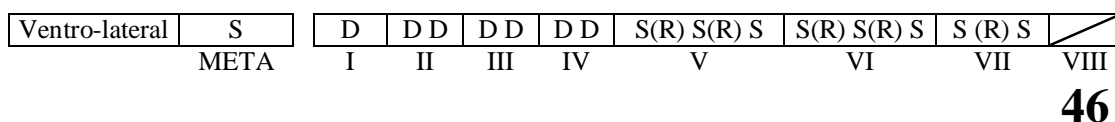


Figura 46: *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008). Diagrama da posição e tipo de brânquias do meso, metanoto e segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento simples, sem ramificações laterais. S(R) = um filamento simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

Notas. Foram utilizado dois espécimes adultos (fêmea) de *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008) onde ocorreu a associação a larva através das reconstruções filogenéticas realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial. Não foi possível utilizar o macho para as análises devido a quantidade de DNA insuficiente para o sequenciamento. *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008) posicionou-se próxima de *Macronema bilobata* sp. nov. mas com um suporte baixo, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008) e *Macronema bilobata* sp. nov. não teve relevância, pois as distâncias entre essas duas espécies manteve na média com a distância interespecífica das demais espécies.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Acará 013, 02°56'05" S 59°57'16" O, 25.i.2012, Malaise, T.A.S. Vidovix leg., 1 macho, 2 fêmeas

[álcool]; mesmo dados exceto, Igarapé 13 afluente do Igarapé Bolívia, 01.ii.2012, T.A.S. Vidovix, 1 larva [álcool].

Distribuição geográfica: Bolívia, Brasil (Amazonas) e Peru.

Bionomia: As larvas foram encontradas próximas a corredeiras em raízes localizadas nas margens de igarapés de 2ª e 3ª ordem, localizados em áreas de mata fechada (terra firme). Adultos foram coletados próximos a estes locais com armadilha de luz.



47

Figura 47: Larva *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008). A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Tórax – vista dorsal. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral.

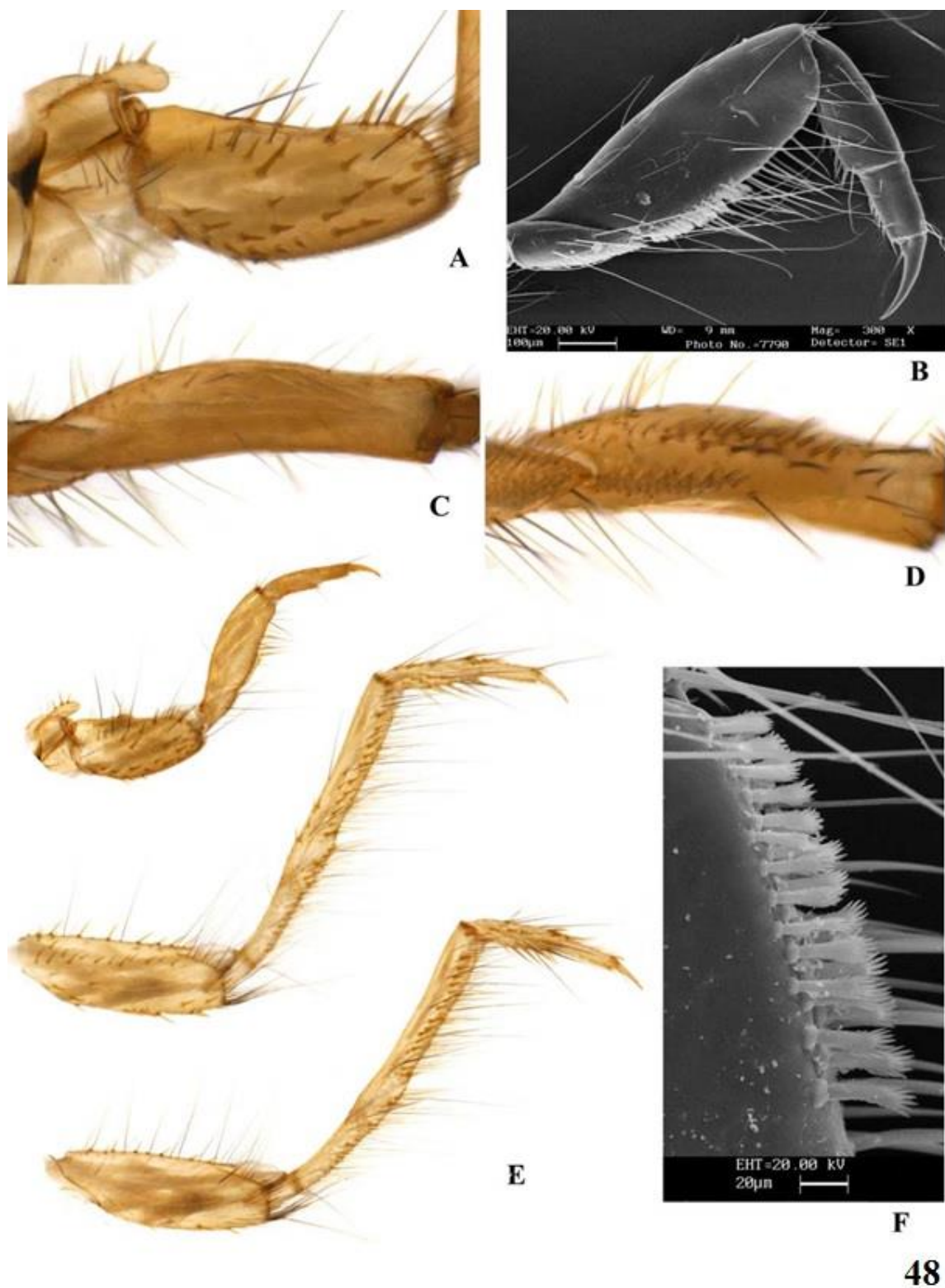


Figura 48: Larva *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008). A: Trocantim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.

***Macronema* sp. nov. 10**

(Paprocki 2008: ilustração e descrição)

Paprocki 2008 [Macho, asas e distribuição].

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Presidente Figueiredo, Igarapé do Sr. José Souza, Ramal do km 24, AM 240, 02°01'06" S 59°49'27" O, 31.v.2000, A. M. O. Pes leg., 1 macho [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas).

Bionomia: Esta espécie foi coletada com armadilha de luz, próxima a igarapé 3ª ordem, com fundo rochoso em área de mata fechada.

***Macronema* sp. L1**

(Fig. 49 – 51)

Diagnose: Larva – *Macronema* sp. L1 difere das demais espécies principalmente por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior uma série de cerdas espatuladas com variação de 10-12, ausência de cerdas; cabeça marrom delimitada com manchas das inserções musculares de coloração marrom-escura. Possui um corpo geralmente amarelado, escleritos amarelos.

Descrição: Larva – Comprimento 19 – 20 mm (n = 2), escleritos e pernas marrom-claros; manchas das inserções musculares de cor marrom na cabeça e tórax; corpo revestido por poucas cerdas (Fig. 50A). **Cabeça:** sub-retangular, levemente mais longa que larga; dorsalmente com coloração marrom-escura, com algumas manchas das inserções musculares de cor marrom-escura, mais escuras que a cutícula. com cerdas de comprimentos e espessuras variáveis; cerdas nas posições 1, 2, 3, 7, 14 presentes; cerdas curtas e grossas na região mediana e látero-dorsal; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo com uma reentrância mediana na margem anterior, um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 50F). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração marrom; manchas das inserções musculares mais escuras na região póstero-lateral; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 50G). Gena em vista lateral com uma série de cerdas a partir dos estemas até a região mediana posterior (Fig. 50H). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda

triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna da mandíbula direita com um pequeno dente truncado; região apical pontiaguda nas duas mandíbulas (Fig. 50C). Labro curto, mais largo que longo; margem mediana da região anterior com uma reentrância, margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 50D). **Tórax:** pronoto amarelo na metade anterior; região anterior com margem reta; linha de cerdas médias e cerdas finas esparsas até a região mediana; região mediana com constrição transversal; região posterior de coloração marrom, manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior; sem cerdas (Fig. 50B). Mesonoto com cerdas curtas esparsas desde a região anterior até a região mediana, intercaladas por muitas cerdas curtas e finas; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana; manchas das inserções musculares de coloração marrom-escuro na região mediana e posterior (Fig. 50B); região ventral com um par de brânquias simples. Prosternito em vista ventral de coloração marrom; margem anterior com uma protuberância central curta, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente; bordas laterais estreitas; placa prosternal triangular com uma protuberância central larga e curta (Fig. 50E). Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto; região apical arredondada; margem dorsal tendo 3-4 cerdas grossas. Coxa curta e larga, com várias cerdas curtas e grossas, intercaladas por cerdas finas; margem dorsal tendo 3-4 cerdas (Fig. 51A). Trocânter com algumas cerdas espatuladas longas e estreitas. Fêmur estreito, longo e levemente curvado em vista dorsal (Fig. 51B); margem dorsal com duas cerdas, uma dorso-mediana e uma apico-distal (Figs. 51B, C); margem ventrolateral com variação de 10-12 cerdas espatuladas franjadas curtas e arredondadas, sem cerdas (Figs. 51D, E). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis (Fig. 51E). **Abdômen:** amarelado, com poucas cerdas longas e finas espaçadas; brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 50A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas longas e finas; escleritos ventrais claros, com muitas cerdas longas e finas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas na base (Fig. 50A). Distribuição das brânquias somente na região ventro-lateral (Fig. 49).



49

Figura 49: *Macronema* sp. L1. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central fino simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

Notas. *Macronema* sp. L1 se assemelha a *Macronema bifidum* e *M. variipenne*, pela ausência de cerdas curtas e grossas na margem ventrolateral do fêmur e pela presença de uma série contínua de cerdas espatuladas curtas. A margem ventrolateral do fêmur da perna anterior de *Macronema* sp. L1 possui de 10 a 12 cerdas, enquanto que *M. bifidum* possui entre 10 a 11 cerdas e *M. variipenne* possui 8 cerdas espatuladas. Na reconstrução filogenética realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, *Macronema* sp. L1 posicionou-se próxima de *M. bifidum*, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança, deduzindo assim a proximidade dessas duas espécies. A distância interespecífica entre *Macronema* sp. L1 e *M. bifidum* e foi de 6,76%, uma distância pequena comparada com as outras espécies. A coloração da cabeça e a disposição das marcas de inserções musculares também são dois outros caracteres que separam as espécies neste estágio. *Macronema* sp. L1 possui uma cabeça mais escura de coloração marrom, e algumas manchas das inserções musculares de coloração marrom escuro enquanto *M. bifidum* possui uma cabeça de coloração amarelo-claro, com diversas manchas das inserções musculares de coloração marrom. *Macronema* sp. L1 se assemelha a *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008), por possuírem uma cabeça marrom-escura, mas diferem no número de cerdas da margem ventrolateral do fêmur sendo que *Macronema* sp. L1 possui 10 cerdas espatuladas enquanto *Macronema* sp. nov. 9 (Paprocki 2008) possui uma variação de 25-32 cerdas espatuladas em 3 fileiras.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus, Reserva Ducke, Igarapé 31 afluente Igarapé Acará, 02°56'41,1" S 59°57'22,0" S, 12.ii.2012, 4 larvas [álcool].

Bionomia: as larvas foram encontradas próximas a corredeiras em raízes localizadas nas margens de igarapés de 2ª ordem, com fundo de areia e muitas raízes marginais localizados em áreas de mata fechada (terra firme).

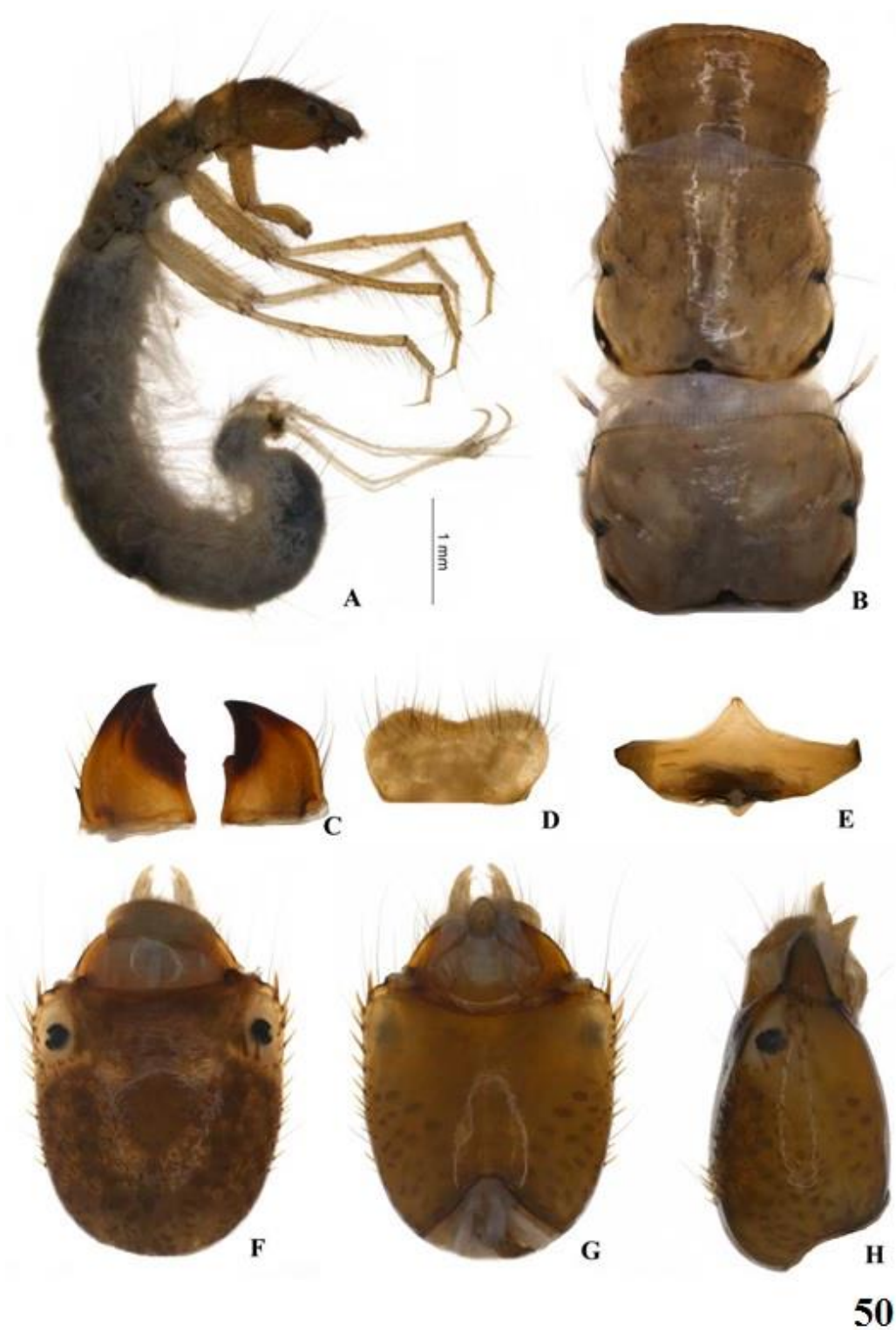
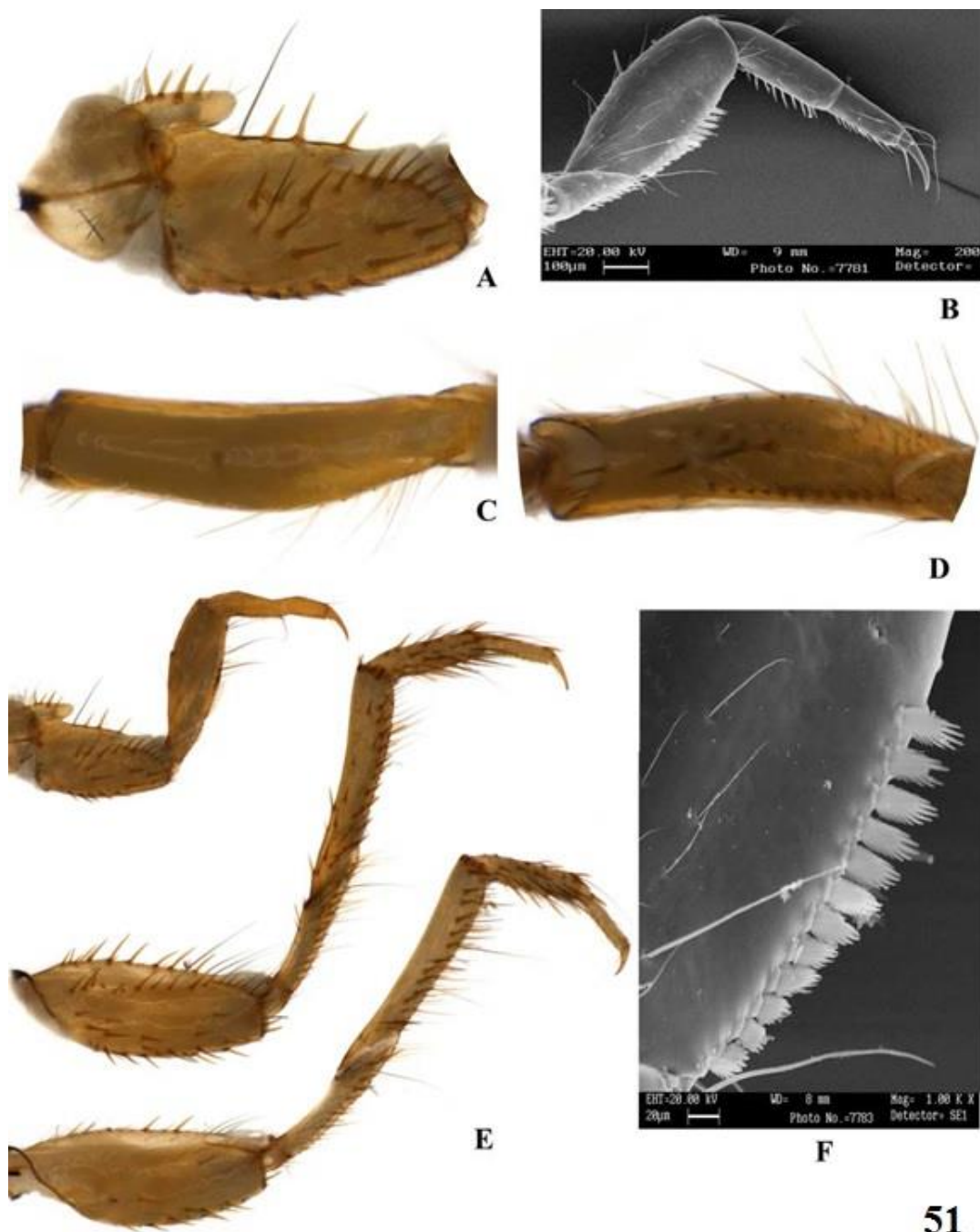


Figura 50: Larva *Macronema* sp. L1. A: Corpo - vista lateral. B: Tórax - vista dorsal. C: Mandíbulas - vista ventral. D: Labro - vista dorsal. E: Prosternito - vista ventral. F: Cabeça - vista dorsal. G: Cabeça - vista ventral. H: Cabeça - vista lateral.



51

Figura 51: Larva *Macronema* sp. L1. A: Trocantim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista dorsolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.

***Macronema* sp. L2**

(Fig. 52 – 54)

Diagnose: Larva – *Macronema* sp. L2 difere das demais espécies principalmente por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior sete cerdas e duas cerdas espatuladas; cabeça semicircular de coloração marrom-claro delimitada com marcas de inserções musculares amarelas. Possui um corpo geralmente lilás, escleritos amarelos.

Descrição: Larva – Comprimento 14-17 mm (n = 3), escleritos e pernas amarelos; manchas das inserções musculares de cor marrom na cabeça e tórax; corpo revestido por poucas cerdas (Fig. 53A). **Cabeça:** sub-retangular, levemente mais longa que larga; dorsalmente com coloração amarela, com algumas manchas das inserções musculares de cor marrom. Cutícula com cerdas de comprimentos e espessuras variáveis; cerdas nas posições 1, 2, 12, 15, 16 presentes; cerdas curtas e grossas na região mediana e látero-dorsal; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo com uma reentrância mediana na margem anterior, um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 53E). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração amarela; algumas manchas das inserções musculares mais claras na região pósterolateral; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 53F). Gena em vista lateral com uma série de cerdas a partir dos estemas até a região mediana posterior (Fig. 53G). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna da mandíbula direita com um pequeno dente truncado, região apical pontiaguda nas duas mandíbulas (Fig. 53C). Labro curto, reto, mais largo que longo; margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 53B). **Tórax:** pronoto amarelo na metade anterior; região anterior com margem reta; linha de cerdas médias e cerdas finas esparsas até a região mediana; região mediana sem constrição transversal; região posterior de coloração marrom-claro, manchas das inserções musculares de coloração marrom; sem cerdas (Fig. 53D). Mesonoto com cerdas curtas esparsas desde a região anterior até a região mediana, intercaladas por muitas cerdas curtas e finas; manchas das inserções musculares de coloração marrom na região mediana e posterior. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana; manchas das inserções musculares de coloração marrom na região mediana e posterior (Fig. 53D); região ventral

com um par de brânquias simples. Prosternito em vista ventral de coloração marrom; margem anterior com uma protuberância central curta, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente, região escurecida; bordas laterais estreitas; placa prosternal triangular com uma protuberância central larga e curta. Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto; região apical arredondada; margem dorsal tendo nenhuma ou uma cerda grossa (espiniforme) (Fig. 54A). Coxa curta e larga, com várias cerdas curtas e grossas, intercaladas por cerdas finas; margem dorsal tendo 1-2 cerdas (Fig. 54A). Trocânter com várias cerdas espatuladas longas e estreitas. Fêmur estreito, longo e levemente curvado em vista dorsal (Figs. 54B, D); margem dorsal com duas cerdas, uma dorso-mediana e uma apico-distal (Figs. 54B, C); margem ventrolateral com duas cerdas espatuladas alongadas agrupadas na região distal; região com sete cerdas curtas e grossas (Figs. 54B, D, E). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis. **Abdômen:** lilás, com poucas cerdas longas e finas espaçadas; brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 53A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas longas e finas; escleritos ventrais claros, com muitas cerdas finas e longas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas, finas e curvadas, com muitas cerdas longas e finas (Fig. 53A). Distribuição das brânquias somente na região ventro-lateral (Fig. 52).

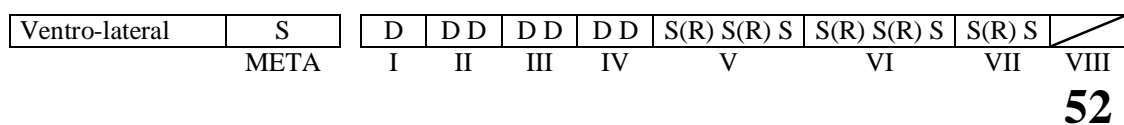


Figura 52: *Macronema* sp. L2. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central afilado simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

Notas. *Macronema* sp. L2 se semelhante à *M. fragile* por possuir o fêmur da perna anterior largo e globoso, mas *Macronema* sp. L2 difere por possuir quatro cerdas curtas e grossas e quatro cerdas espatuladas enquanto *M. fragile* possui 5-7 cerdas e ausência de cerdas espatuladas na margem ventrolateral. Na reconstrução filogenética realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, foi utilizada somente uma larva devido à falta de espécimes; *Macronema* sp. L2 posicionou-se próxima *M. fragile*, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança,

mas o suporte foi baixo para todas as árvores. A distância interespecífica entre *Macronema* sp. L2 e *M. fragile* e foi de 15,06%, uma distância alta e basicamente a mesma comparada com as outras espécies. A distribuição das brânquias das duas espécies difere em quase todos os segmentos abdominais exceto nos segmentos I e VII, a disposição das brânquias de *Macronema* sp. L2 é a mesma da larva *Macronema* sp. L3, mas estas duas espécies dividem só este caráter.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco, 02°55'46,7" S 59°58'22,00" O, 23.xi.2011, T.A.S. Vidovix leg., 1 larva [álcool].

Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas).

Bionomia: as larvas foram encontradas próximas a corredeiras em raízes localizadas nas margens de igarapés de 2ª ordem, com fundo de areia e muitas raízes marginais localizados em áreas de mata fechada (terra firme).



53

Figura 53: Larva *Macronema* sp. L2. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Tórax – vista dorsal. E: Cabeça – vista dorsal. F: Cabeça – vista ventral. G: Cabeça – vista lateral.

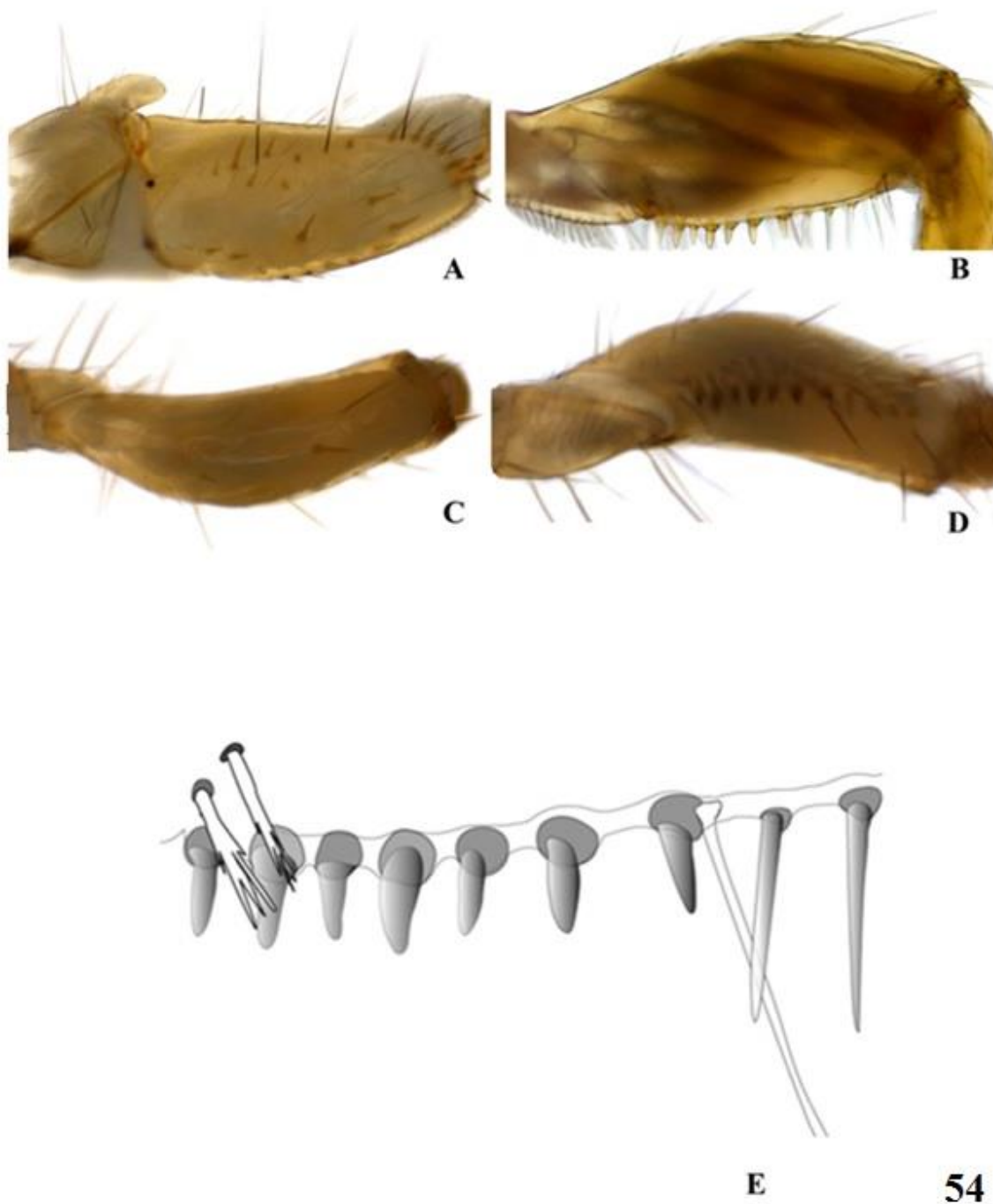


Figura 54: Larva *Macronema* sp. L2. A: Trocantim e coxa da perna anterior - vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista ventrolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventral. E: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.

Macronema sp. L3

(Fig. 55 – 57)

Diagnose: Larva – *Macronema* sp. L3 difere das demais espécies principalmente por possuir na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior três cerdas e quatro cerdas espatuladas; cabeça mais longa que larga de coloração laranja, sem cerdas em vista dorsal. Possui um corpo geralmente esbranquiçado, escleritos amarelos.

Descrição: Larva – Comprimento 21-25 mm (n = 4), escleritos e pernas amarelos; manchas das inserções musculares de cor amarela na cabeça e marrom no tórax; corpo revestido por algumas cerdas longas e finas (Fig. 56A). **Cabeça:** retangular, mais longa que larga; dorsalmente com coloração marrom alaranjado, com algumas manchas das inserções musculares mais claras. Cutícula com cerdas finas de comprimentos variáveis; cerdas nas posições 1, 4, 7, 11, 12 presentes; com algumas cerdas; sutura coronal longa, cerca de 1/3 do comprimento da cabeça. Frontoclípeo retos, sem reentrância mediana na margem anterior, um par de manchas das inserções musculares levemente mais clara na região mediana (Fig. 56F). Gena ventral com algumas cerdas diminutas na região anterior; coloração marrom; manchas das inserções musculares mais claras na região póstero-lateral; sutura de ecdise ventral visível somente de um lado (Fig. 56G). Gena em vista lateral com uma série de cerdas finas de comprimentos variáveis a partir dos estemas até a região mediana posterior, cerdas ausentes (Fig. 56H). Mandíbulas, em vista dorsal, assimétricas (esquerda triangular e direita trapezoidal); linha lateral da margem externa convexa com cerdas finas; coloração amarela com a margem interna e o ápice marrom-escuro; margem interna da mandíbula direita com um pequeno dente truncado, com região apical pontiaguda (Fig. 56C). Labro curto, duas vezes mais largo que longo; margem mediana da região anterior com uma leve reentrância, margens laterais arredondadas; região anterior recoberta por diversas cerdas de comprimentos e espessuras variáveis (Fig. 56B). **Tórax:** pronoto amarelo; região anterior com margem reta; algumas cerdas e cerdas finas de comprimentos variáveis esparsas até a região mediana; região mediana com constrição transversal; região posterior com manchas das inserções musculares escuras na região mediana e posterior; sem cerdas (Fig. 56D). Mesonoto com cerdas curtas nas laterais da margem anterior, intercaladas por muitas cerdas finas de tamanhos variáveis; manchas das inserções musculares escuras na região mediana e claras na região posterior; cutícula com muitas cerdas finas e longas. Metanoto mais largo que longo; margem da região anterior com linha de cerdas finas, distribuídas até a região mediana;

manchas das inserções musculares escuras na região mediana e posterior (Fig. 56D); região ventral com um par de brânquias simples. Prosternito em vista ventral de coloração amarelo; margem anterior com uma protuberância central curta, formando um ângulo agudo; invaginação mediana presente; bordas laterais largas; placa prosternal triangular com uma protuberância central estreita e longa (Fig. 56E). Primeiro par de pernas com várias cerdas curtas de comprimento e espessuras variáveis. Trocântim curto; região apical pontiaguda, margem dorsal tendo 1-2 cerdas grossas (Fig. 57A). Coxa curta e larga, com algumas cerdas curtas e grossas na margem ventral; várias cerdas finas de comprimentos variáveis esparsas; margem dorsal sem cerdas (Fig. 57A). Trocânter com algumas cerdas espatuladas longas e estreitas. Fêmur largo, longo e levemente curvado em vista dorsal (Figs. 57B, C); margem dorsal com uma cerda espiniforme apico-distal (Figs. 57B, C); margem ventrolateral com quatro cerdas espatuladas curtas e finas agrupadas na região distal; região com três cerdas de comprimentos variáveis (Figs. 57D, F). Segundo e terceiro par de pernas similares, longas e finas; recobertas por várias cerdas e por cerdas de comprimento e espessuras variáveis; terceiro par de pernas com coxas alongadas (Fig. 57E). Um par de brânquias ventrais torácicas simples, presentes no metanoto. **Abdômen:** Coloração amarelado, com algumas cerdas longas e finas espaçadas; brânquias com muitos filamentos dispostos simetricamente (Fig. 56A); grupo de cerdas laterais finas e longas em cada segmento. Região ventral dos segmentos abdominais VIII e IX com tufo de cerdas finas e longas, escleritos ventrais claros, com muitas cerdas finas e longas. Papilas anais retraídas. Garras das falsas pernas anais, longas e finas, curvadas, com muitas cerdas longas e finas na base (Fig. 56A). Distribuição das brânquias somente na região ventro-lateral (Fig. 55).



55

Figura 55: *Macronema* sp. L3. Diagrama das bifurcações e posição das brânquias do metanoto e dos segmentos abdominais I-VIII. S = um filamento central afilado simples, sem filamentos finos laterais. S(R) = um filamento central simples, com ramificações laterais. D = dois filamentos simples ramificados (S(R)), de uma mesma base comum.

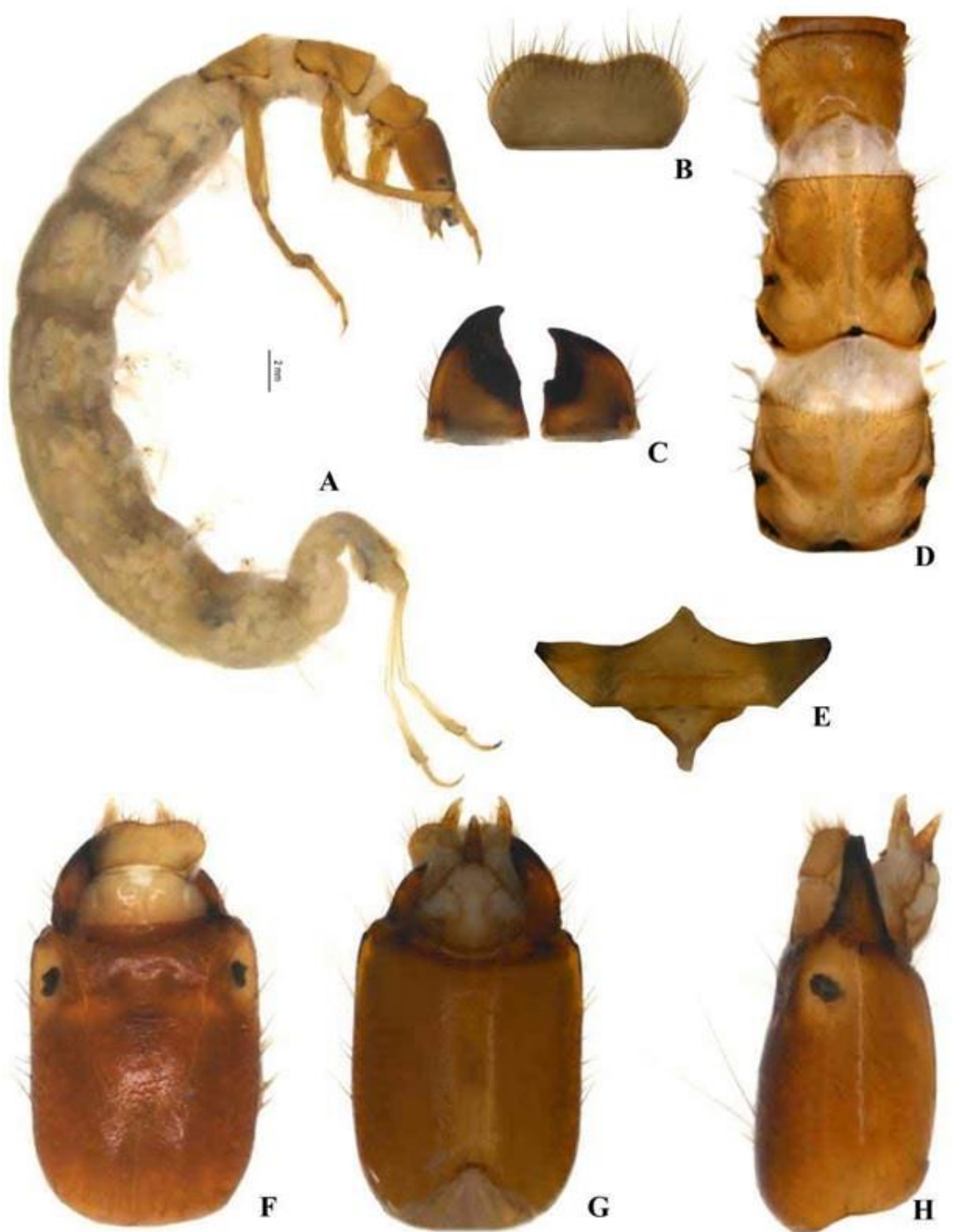
Notas. *Macronema* sp. L3 se assemelha a *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) por possuírem um corpo alongado, cabeça mais longa que larga, por terem três cerdas de diferentes tamanhos, mas diferem no número de cerdas espatuladas enquanto *Macronema* sp. L3 possui quatro cerdas e *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) possui duas cerdas na

mesma região. Na reconstrução filogenética realizada com sequências do COI do DNA mitocondrial, *Macronema* sp. L3 posicionou-se próxima da espécie *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008), mas com um suporte fraco, tendo esta relação para as árvores geradas pelos três métodos: *neighbor-joining*, máxima parcimônia e máxima verossimilhança. A distância interespecífica entre *Macronema* sp. L3 e *Macronema* sp. nov. 3 (Paprocki 2008) foi de 15,39%, uma distância alta, não tendo relevância entre as duas espécies comparada com as outras espécies. A distribuição de brânquias de *Macronema* sp. L3 é igual da larva *Macronema* sp. L2, mas estas duas espécies dividem só este caráter.

Material examinado: BRASIL: Amazonas: Manaus, Reserva Ducke, Igarapé 13 afluente do Igarapé Bolívia, PT. 05, 15.iv.2002, rede D, Azevedo e A. M. O. Pes leg., 1 larva [álcool]; mesmos dados exceto Igarapé 12 afluente do Igarapé Bolívia, 02°59'19,6" S 59°56'48,3" O, 15.x.2009, U.G. Neiss leg., 1 larva [álcool].

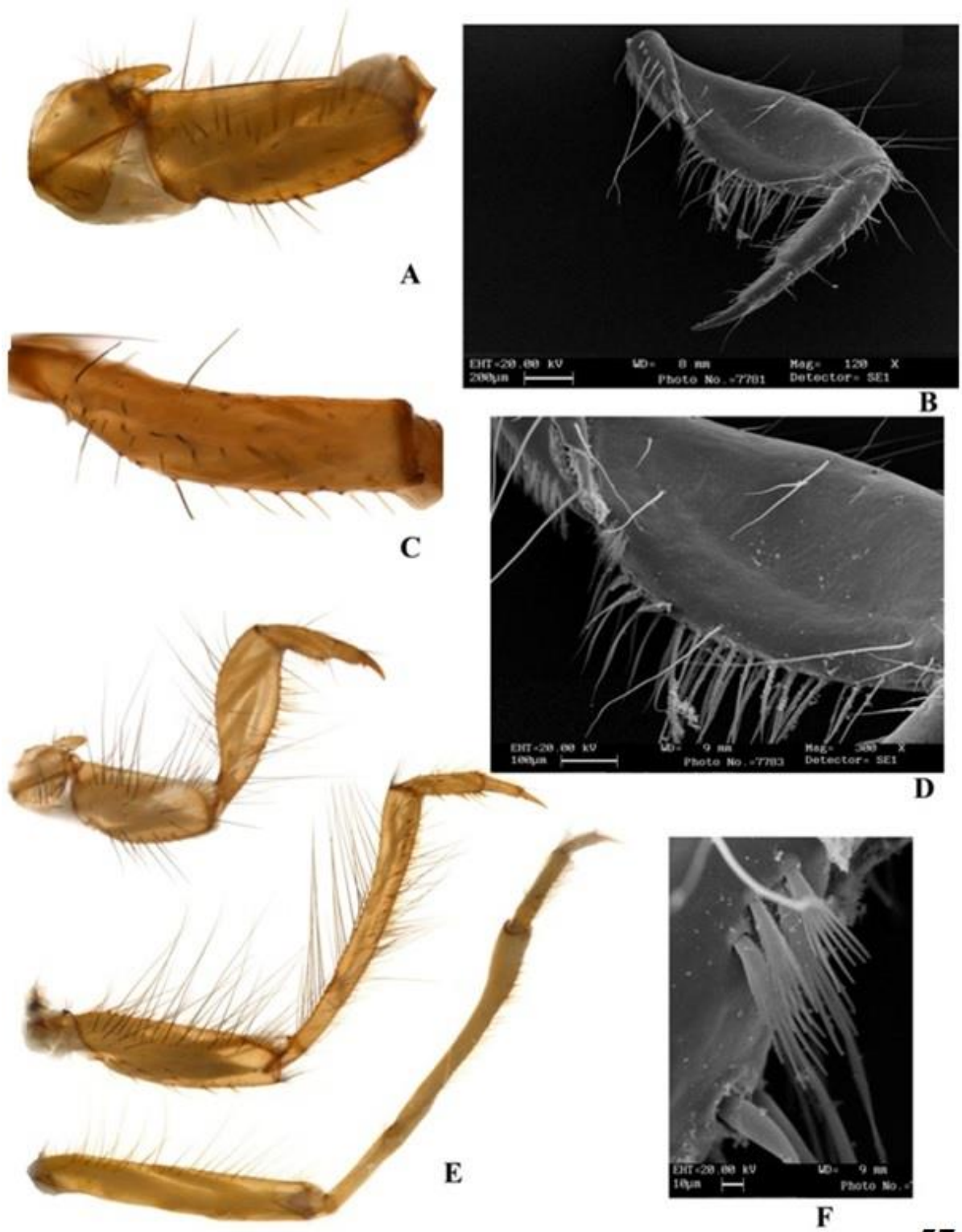
Distribuição geográfica: Brasil (Amazonas).

Bionomia: As larvas foram encontradas raízes localizadas nas margens de igarapés de 1ª ordem, localizados em áreas de mata fechada (terra firme).



56

Figura 56: Larva *Macronema* sp. L3. A: Corpo – vista lateral. B: Labro – vista dorsal. C: Mandíbulas – vista ventral. D: Tórax – vista dorsal. E: Prosternito – vista ventral. F: Cabeça – vista dorsal. G: Cabeça – vista ventral. H: Cabeça – vista lateral.



57

Figura 57: Larva *Macronema* sp. L3. A: Trocantim e coxa da perna anterior – vista dorsolateral. B: Fêmur da perna anterior – vista ventrolateral. C: Fêmur da perna anterior – vista dorsal. D: Fêmur da perna anterior – vista ventrolateral. E: Pernas anterior, mediana e posterior – vista dorsolateral. F: Cerdas espatuladas e distribuídas na margem ventrolateral do fêmur da perna anterior – vista lateral.

6. Conclusões

Este trabalho mostra que a união entre a observação morfológica e ferramentas moleculares, neste caso utilizando o DNA Barcode, pode ser muito construtivo para a associação de larvas e adultos e na descrição de novas espécies do gênero *Macronema*. Nosso estudo é o primeiro a utilizar sequências de DNA do gene COI para associar lavas e adultos e descrever novas espécies de Trichoptera na região Amazônica.

Mostrando a importância dessa união da morfologia e molecular o método metamorfótipo foi de suma importância para a confirmação das associações realizadas com a técnica molecular, pois este deu suporte com duas espécies já associadas *M. exophthalmum* e *M. bifidum* do qual também foram associadas com a técnica molecular, dando assim maior robustez para as análises. Além disso, foi possível atualizar a distribuição para 2 espécies (*M. bifidum* e *M. fraternum*) para o estado do Amazonas. Também foi descrito o macho de três novas espécies de *Macronema* (*M. bilobata* sp. nov., *M. digitiformis* sp. nov. e *M. duckensis* sp. nov.).

7. Referências bibliográficas

- Albino, J.L.D.; Pes, A.M.; Hamada, N. 2011. *Smicridea* (Trichoptera, Hydropsychidae) from 3 Brazilian Amazonian States: New species, larval taxonomy and bionomics. *Zootaxa*, 3113: 1-35.
- Angrisano, E.B. 1998. Trichoptera. In: Morrone, J.J.; Coscarón, S. (Eds). *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos: una Perspectiva Biotaxonomica*. Ediciones Sur, La Plata, Argentina. p. 374-384.
- Angrisano, E.B. 1995. Insecta Trichoptera. In: Lopretto, E.C.; Tell, G. (Eds). *Ecosistemas de Aguas Continentales: metodologias para su estudio*. Vol. 3. Ediciones Sur, La Plata, Argentina. p. 1199-1237.
- Ansorge, J.A. 2003. Upper Liassic Amphiesmenopterans (Trichoptera + Lepidoptera) from Germany – a review. *Acta Zoologica Cracoviensia*, 46: 285-290.
- Antunes, A.; Ramos, M.J. 2005. Discovery of a large number of previously unrecognized mitochondrial pseudogenes in fish genomes. *Genomics*, 86: 708-717.
- Baccaro, F.B.; Drucker, D.P.; Vale, J.; Oliveira, M.L.; Magalhães, C.; Lepsch-Cunha, N.; Magnusson, W.E. 2008. A Reserva Ducke. In: Oliveira, M.L.; Baccaro, F.B.; Braganeto, R.; Magnusson, W.E. (Eds). *Reserva Ducke: A biodiversidade através de uma grade*. Áttema Design Editorial, Manaus, Amazonas. p. 21-30.
- Barcellos, E.A.; Lima, M.H.M.R. 2002. Mineração e desflorestamento na Amazônia Legal, CETEM, 56-66 (<http://www.cetem.gov.br/publicacao/CTs/CT2002-016-00.pdf>). Acesso: 22/01/2013.
- Banks, N. 1910. New South American neuropteroid insects. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 12: 146-160.
- Banks, N. 1915. New neuropteroid insects, native and exotic. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 66: 608-632.
- Banks, N. 1924. Description of new neuropteroid insects. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College*, 65: 421-455.

- Begerow, D.; Nilsson, H.; Unterseher, M.; Maier, W. 2010. Current state and perspectives of fungal DNA barcoding and rapid identification procedures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87: 99-108.
- Blaxter, M.L. 2004. The promise of a DNA taxonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 359: 669-679.
- Botosaneanu, L.; Flint, O.S.Jr. 1982. On some Trichoptera from northern Venezuela and Ecuador (Insecta). *Beaufortia*, 32(2): 13-26.
- Brasil. Departamento Nacional da Produção Mineral. 1978. *Projeto RADAMBRASIL: Folha SA. 20 Manaus; geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação e uso potencial da terra*. Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 628 pp.
- Burmeister, E. 1988. Der Lectotypus von *Macronema maculatum* (Perty, 1833) (Trichoptera, Hydropsychidae). *Spixiana*, 11: 259-262.
- Burns, J.M.; Janzen, D.H.; Hajibabaei, M.; Hallwachs, W.; Hebert, P.D.N. 2007. Dna barcodes of closely related (but morphologically and ecologically distinct) species of skipper butterflies (Hesperiidae) can differ by only one to three nucleotides. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 61(3): 138-153.
- Calor, A.R. 2007. Trichoptera. In: Guia on-line: Identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo. (<http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/guiaonline>). Acesso: 28/10/2011.
- Camargos, L.M. 2012. *Taxonomia e distribuição de Odontoceridae (Insecta, Trichoptera) no Brasil*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 116pp.
- Caterino, M.S.; Cho, S.; Sperling, F.A.H. 2000. The current state of insect molecular systematics: a thriving Tower of Babel. *Annual Review of Entomology*, 45: 1-54.
- Chase, M.W.; Fay, M.F. 2009. Barcoding of Plants and Fungi. *Science*, 325: 682-683.
- Clare, E.L.; Lim, B.K.; Fenton, M.B.; Hebert, P.D.N. 2011. Neotropical bats: estimating species diversity with DNA barcodes. *Public Library of Science One*, 6(7): 1-14.

- Consortium for the Barcode of Life, 2009. Data Standards for Barcode records in INSDC (BRIs) (http://barcoding.si.edu/PDF/DWG_data_standards-Final.pdf). Acesso: 04/12/2012.
- Couceiro, S.R.M.; Hamada, N.; Forsberg, B.R.; Pimentel, T.P.; Luz, S.L.B. 2012. A macroinvertebrate multimetric index to evaluate the biological condition of streams in the Central Amazon region of Brazil, *Ecological Indicators*, 18: 118-125.
- Decaëns, T.; Rougerie, R. 2008. Descriptions of two new species of Hemileucinae (Lepidoptera: Saturniidae) from the region of Muzo in Colombia — evidence from morphology and DNA barcodes. *Zootaxa*, 1944: 34-52.
- Ekrem, T.; Willassen, E.; Stur, E. 2007. A comprehensive DNA sequence library is essential for identification with DNA barcodes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2): 530-542.
- Felsenstein, J. 1981. A likelihood approach to character weighting and what it tells us about parsimony and compatibility. *Biological Journal of the Linnean Society*, 16: 183-96.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791.
- Ferrari, F.; Procopiak, L.K.; Alencar, Y.B.; Alvim, T.; Ludwig, V. 1997. Eunotiaceae (Bacillariophyceae) em igarapés da Amazônia Central, Manaus e Presidente Figueiredo, Brasil. *Acta Amazonica*, 37(1): 1-16.
- Flint, O.S.Jr. 1964. The Caddisflies (Trichoptera) of Puerto Rico. *University of Puerto Rico, Agricultural Experiment Station, Technical Paper*, 40: 1-80.
- Flint, O.S.Jr. 1966. Studies of Neotropical Caddis Flies, III: Types of some species described by Ulmer and Brauer. *Proceedings of the United States National Museum*, 120(3559): 1-20.
- Flint, O.S.Jr. 1968. Bredin-Archbold-Smithsonian Biological Survey of Dominica, 9. The Trichoptera (Caddisflies) of the Lesser Antilles. *Proceedings of the United States National Museum*, 125: 1-86.

- Flint, O.S.Jr. 1972. Studies of Neotropical caddisflies, XIV: On a collection from Northern Argentina. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 85(17): 223-248.
- Flint, O.S.Jr. 1974. The Trichoptera of Surinam. *Studies on the Fauna of Suriname and other Guyanas*, 14(55): 1-151.
- Flint, O.S.Jr. 1978. Studies of Neotropical Caddisflies, XXII: Hydropsychidae of the Amazon Basin (Trichoptera). *Amazoniana*, 6(3): 373-421.
- Flint, O.S.Jr. 1982. Trichoptera of the Area Platense. *Biología Acuática*, 2: 1-70.
- Flint, O.S.Jr. 1983a. Studies of Neotropical caddisflies, XXXIII: new species from austral South America (Trichoptera). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 377: 1-100.
- Flint, O.S.Jr. 1983b. Studies of Neotropical caddisflies, XXXIV: The genus *Plectromacronema* (Trichoptera: Hydropsychidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 96(2): 225-237.
- Flint, O.S.Jr. 1991. Studies of Neotropical Caddisflies, XLV: The taxonomy, Phenology, and faunistics of the Trichoptera of Antioquia, Colombia. *Smithsonian contributions to Zoology*, 520: 1-113.
- Flint, O.S.Jr.; Bueno-Soria, J. 1979. Studies of Neotropical Caddisflies, XXIV. The genus *Macronema* in Mesoamerica (Trichoptera: Hydropsychidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 81: 522-535.
- Flint, O.S.Jr.; Bueno-Soria, J. 1982. Studies of Neotropical Caddisflies, XXXII: The immature stages of *Macronema viriipenne* Flint & Bueno, with the division *Macronema* by the resurrection of *Macrostemum* (Trichoptera: Hydropsychidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 95: 358-370.
- Flint, O.S.Jr.; Holzenthal, R.W.; Harris, S.C. 1999. *Catalog of the Neotropical Caddisflies (Trichoptera)*. Ohio Biological Survey, Columbus, Ohio, USA. 239pp.
- Folmer, O.; Black, M.; Hoeh, W.; Lutz, R.; Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294-297.

- Frost, S.W. 1957. The Pennsylvania insect light trap. *Journal of Economic Entomology*, 50: 287-292.
- Geraci, C.J.; Kjer, K.M.; Morse, J.C.; Blahnik, R. 2005. Phylogenetic relationships of Hydropsychidae subfamilies based on morphology and DNA sequence data. In: Tanida, K.; Rossiter, A. (Eds.). *Proceedings of the 11th International Symposium on Trichoptera*. Tokai University Press, Japan. p. 131-136.
- Geraci, C.J.; Al-Saffar, M.A.; Zhou, X. 2011. DNA barcoding facilitates description of unknown faunas: a case study on Trichoptera in the headwaters of the Tigris River, Iraq. *Journal of the North American Benthological Society*, 30: 163-173.
- Graf, W.; Lubini, V.; Pauls, S. 2005. Larval description of *Drusus muelleri* McLachlan, 1868 (Trichoptera: Limnephilidae) with some notes on its ecology and systematic position within the genus *Drusus*. *Annales de Limnologie*, 41: 93-98.
- Graf, W.; Waringer, J.; Pauls, S.U. 2009. The larva of *Rhyacophila ferox* Graf, 2006 (Trichoptera: Rhyacophilidae) from the Eastern Alps (Carinthia, Austria). *Aquatic Insects*, 31(2): 111-117.
- Grimaldi, D.A.; Engel, M.S. 2005. *Evolution of the Insects*. Cambridge University Press, New York, NY, USA. 772pp.
- Hadley, A. 2010. CombineZP (<http://www.hadleyweb.pwp.blueyonder.co.uk>). Acesso: 14/04/2012.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- Hausmann, A.; Hebert, P.D.N.; Mitchell, A.; Rougerie, R.; Sommerer, M.; Edwards, T.; Young, C.J. 2009. Revision of the Australian *Oenochroma vinaria* Guenée, 1858 species-complex (Lepidoptera: Geometridae, Oenochrominae): DNA barcoding reveals cryptic diversity and assesses status of type specimen without dissection. *Zootaxa*, 2239: 1-21.
- Hebert, P.D.N.; Cywinska, A.; Ball, S.; de Waard, J.R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 270: 313-321.

- Hebert, P.D.N.; Ratnasingham, S.; deWaard, J.R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 270: 596-599.
- Hebert, P.D.N.; Penton, E.H.J.; Burns, M.; Janzen, D.H.; Hallwachs, W. 2004a. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(41): 14812-14817.
- Hebert, P.D.N.; Stoeckle, M.Y.; Zemplak, T.S.; Francis, C.M. 2004b. Identification of birds through DNA barcodes. *Public Library of Science Biology*, 2(10): 1657-1663.
- Hebert, P.D.N.; Gregory, T.R. 2005. The Promise of DNA Barcoding for Taxonomy. *Systematic Biology*, 54(5): 852-859.
- Holzenthal, R.W.; Pes, A. M. O. 2004. A new genus of long-horned caddisfly from the Amazon basin (Trichoptera: Leptoceridae: Grumichellini). *Zootaxa*, 621: 1-16.
- Holzenthal, R.W.; Blahnik, R.J.; Prather, A.L.; Kjer, K.M. 2007. Order Trichoptera Kirby, 1813 (Insecta), Caddisflies. *Zootaxa*, 1668: 639-698.
- Huamantincó, A.A.; Nessimian, J.L. 1999. Estrutura e distribuição espacial da comunidade de larvas de Trichoptera (Insecta) em um tributário de primeira ordem do Rio Paquequer, Teresópolis, RJ. *Acta Limnológica Brasiliensis*, 11: 1-16.
- Johanson, K.A. 2007. Association and description of males, females and larvae of two New Caledonian *Xanthochorema* species (Trichoptera: Hydrobiosidae) based on mitochondrial 16S and COI sequences. *Entomological Science*, 10: 179-199.
- Junqueira, L.C.; Carneiro, J. 1997. *Biologia Celular e Molecular*. 6ª edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 299pp.
- Kaila, L.; Stahls, G. 2006. DNA barcodes: Evaluating the potential of COI to differentiate closely related species of *Elachista* (Lepidoptera: Gelechioidea: Elachistidae) from Australia. *Zootaxa*, 1170: 1-26.

- Kelly, L.J.; Hollingsworth, P.M.; Coppins, B.J.; Ellis, C.J.; Harrold, P.; Tosh, J.; Yahr, R. 2011. DNA barcoding of lichenized fungi demonstrates high identification success in a floristic context. *New Phytologist*, 191: 288-300.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16, 111-120.
- Krishnamurthy, K.P.; Francis, R.A. 2012. A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation. *Biodiversity and Conservation*, 21: 1901-1919.
- Ladoukakis, E.D.; Zouros, E. 2001. Direct evidence for homologous recombination in mussel (*Mytilus galloprovincialis*) mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 18(7): 1168-1175.
- Lang, B.F., Gray, M.W.; Burger, G. 1999. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Annual Review of Genetics*, 33: 351-97.
- Lenat, D.R. 1993. A biotic index for the southeastern United States: derivation and list of tolerance values, with criteria for assigning water-quality ratings. *Journal of the North American Benthological Society*, 12: 279-290
- Li, H.Q.; Chen, J.Y.; Wang, S.; Xiong, S.Z. 2012. Evaluation of six candidate DNA barcoding loci in *Ficus* (Moraceae) of China. *Molecular Ecology Resources*, 12: 783-790.
- Liu, Q.N.; Zhu, B.J.; Dai, L.S.; Wei, G.Q.; Liu, C.L. 2012. The complete mitochondrial genome of the wild silkworm moth, *Actias selene*. *Gene*, 505(2): 291-9.
- Matz, M.V.; Nielsen, R. 2005. A likelihood ratio test for species membership based on DNA sequence data. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 360: 1969-1974.
- Mendonça, F.P.; Magnussom, W.E.; Zuanon, J. 2005. Relationships between habitat characteristics and fish assemblages in small streams of Central Amazonia. *Coupeia* (4): 751-764.
- Meyer, C.P.; Paulay, G. 2005. DNA barcoding : Error Rates Based on Comprehensive Sampling. *Public Library of Science Biology*, 3(12): 2229-2238.

- Miller, K.B.; Alarie, Y.; Wolfe, W.; Whiting, M.F. 2005. Association of insect life stages using DNA sequences: the larvae of *Philodytes umbrinus* (Motschulsky) (Coleoptera: Dytiscidae). *Systematic Entomology*, 30: 499-509.
- Miller, K.B.; Alarie, Y.; Whiting, M.F. 2007. Description of the larva of *Notaticus fasciatus* (Coleoptera: Dytiscidae) associated with adults using DNA sequence data. *Annals of the Entomological Society of America*, 100(6): 787-797.
- Milne, M. 1938. The "metamorphotype method" in Trichoptera. *Journal of the New York Entomological Society*, 46: 435-437.
- Miyaki, C.Y.; Russo, C.A. de M.; Pereira, S.L. 2001. Reconstrução Filogenética: Introdução e o Método da Máxima Parcimônia. In: Matioli, S.R. (Eds). *Biologia Molecular e Evolução*. Holos, Ribeirão Preto, São Paulo. p. 97-107.
- Monaghan, M.T.; Balke, M.; Pons, J.; Vogler, A.P. 2006. Beyond barcodes : complex DNA taxonomy of a South Pacific Island radiation. *Proceedings of the Royal Society Serie B*, 273: 887-893.
- Morse, J.C. 1997. Phylogeny of Trichoptera. *Annual review of entomology*, 42: 427-50.
- Morse, J.C., 2013. Trichoptera World Checklist. (Ed.). (<http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm>). Acesso: 16/10/2011.
- Moulton, M.J.; Song, H.; Whiting, M.F. 2010. Assessing the effects of primer specificity on eliminating numt coamplification in DNA barcoding: a case study from Orthoptera (Arthropoda: Insecta). *Molecular Ecology Resources*, 10: 615-627.
- NCBI BLAST, 2013. (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Acesso: 12/01/2013.
- Neboiss, A. 1991. Trichoptera. In: Nauman, I.D.; Carne, P.B.; Laurence, J.F.; Nielsen, E.S.; Spradbury, J.P. (Eds). *The Insects of Australia: A Textbook for Students and Researchs Workers*. Vol. 2. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA. p. 787-816.
- Nogueira, A; Sarges, R. 2001. Characterization and genesis of waterfalls of the Presidente Figueiredo region, northeast State of Amazonas, Brazil. *Anais Academia Brasileira de Ciências*, 73(2): 287-301.

- Oliveira, L.G. 2006. Trichoptera. In: Costa, C.; Ide, S.; Simonka, C.E.(Eds). *Insetos Imaturos: Metamorfose e Identificação*. Editora Holos, Ribeirão Preto, São Paulo. p. 161-174.
- Paprocki, H. 2008. *A Taxonomic revision of Macronema (Trichoptera: Hydropsychidae) and selected studies of Neotropical Trichoptera*. Tese de Doutorado, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, Estados Unidos. 407pp.
- Paprocki, H.; Holzenthal, R.W. 2002. A review of the Brazilian genus *Barypenthus* Burmeister (Trichoptera: Odontoceridae). *Nova Supplementa Entomologica*, 15: 223-230.
- Pauls, S.U.; Theissing, K.; Ujvarosi, L.; Balint, M.; Haase, P. 2009. Patterns of population structure in two closely related, partially sympatric caddisflies in Eastern Europe: historic introgression, limited dispersal, and cryptic diversity. *Journal of the North American Benthological Society*, 28(3): 517-536.
- Pauls, S.U.; Blahnik, J.R.; Zhou, X.; Wardwell, C.T; Holzenthal, R.W. 2010. DNA barcode data confirm new species and reveal cryptic diversity in Chilean *Smicridea* (*Smicridea*) (Trichoptera: Hydropsychidae). *Journal of the North American Benthological Society*, 29: 1058-1074.
- Pes, A.M.O. 2001. *Taxonomia e Estrutura de Comunidade de Trichoptera (Insecta) no Município de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 164pp.
- Pes, A.M.O. 2005. *Taxonomia, estrutura e riqueza das assembléias de larvas e pupas de Trichoptera (Insecta), em igarapés na Amazônia Central*. Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 188pp.
- Pes, A.M.O.; Hamada, N. 2003. The occurrence of *Taraxitrichia* Flint & Harris, 1992 (Trichoptera: Hydroptilidae) in Brazil, with description of the final larval stage. *Zootaxa*, 328: 1-7.
- Pes, A.M.O.; Hamada, N. 2004. *Ceratotrichia* Flint, 1992 (Trichoptera: Hydroptilidae) larval and pupal description and new genus records for Brazil. *Entomotropica*, 19(1): 31-37.

- Pes, A.M.O.; Hamada, N.; Nessimian, J.L. 2005. Chaves de identificação de larvas para famílias e gêneros de Trichoptera (Insecta) da Amazônia Central, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 49: 181-204.
- Pes, A.M.O.; Hamada, N.; Soares, C.C. 2008. Description of the last-instar larva and pupa and the bionomics of *Smicridea* (*Smicridea*) *truncata* Flint (Trichoptera: Hydropsychidae) in Central Amazonia, Brazil. *Zootaxa*, 1732: 54-60.
- Rafael, J.A.; Gorayeb, I.S. 1982. Tabanidae (Diptera) da Amazônia. I. Uma nova armadilha suspensa e primeiros registros de mutucas de copas de árvores na Amazônia. *Acta Amazonica*, 12(1): 232-236.
- Ribeiro, J.E.L.S.; Hopkins, M.J.G.; Vicentini, A.; Sothers, C.A.; Costa, M.A.S.; Brito, J.M.; Souza, M.A.D.; Martins, L.H.P.; Lohmann, L.G.; Assunção, P.A.C.L.; Pereira, E.C.; Silva, C.F.; Mesquita, M.R.; Procópio, L.C. 1999. *Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra-firme na Amazônia Central*. Editora INPA, Manaus, AM, Brasil. 793 pp.
- Rueda-Martín, P.A. 2006. Colecta, cría y asociación en *Atopsyche* (Banks) (Trichoptera: Hydrobiosidae). *Nectopsyche-Neotropical Trichoptera Newsletter*, 3: 5-7.
- Ruiter, D.E.; Boyle, E.E.; Zhou, X. 2013. DNA barcoding facilitates associations and diagnoses for Trichoptera larvae of the Churchill (Manitoba, Canada) area. *BMC ecology*, 13(5): 1-56.
- Saccone, C.; De Giorgi, C.; Gissi, C.; Pesole, G.; Reyes, A. 1999. Evolutionary genomics in Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system. *Gene*, 238: 195-209.
- Saitou N.; Nei, M. 1987. The Neighbor-Joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406-425.
- Sambrook, J.; Russel, D.W. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, NY, USA. 2344 pp.
- Santos, G.M.; Oliveira, A.B.Jr. 1999. A pesca no reservatório da hidrelétrica de Balbina (Amazonas, Brasil). *Acta Amazonica*, 29(1): 145-163.

- Santos, A.P.M; Dumas, L.L; Jardim, G.A; Nessimian, J.L., 2013. Brazilian Caddisflies: Checklists and Bibliography, (<https://sites.google.com/site/braziliancaddisflies>). Acesso: 02/11/2011.
- Savolainen, V.; Cowan, R.S.; Vogler, A.P.; Roderick, G.K.; Lane, R. 2005. Towards writing the encyclopedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 360: 1805-1811.
- Scheffer, P.W. 1996. Phylogenetic relationships among subfamily groups in the Hydropsychidae (Trichoptera) with diagnoses of the Smicrideinae, new status, and the Hydropsychinae. *Journal of the North American Benthological Society*, 15: 615-633.
- Scheffer, P.W. 2005. Reevaluation of genera in the subfamily Hydropsychinae (Trichoptera: Hydropsychidae). *Aquatic Insects*, 27: 133-154.
- Schneider, H. 2007. Métodos de análise filogenética: um guia prático. Editora Holos e Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, SP, Brasil. 200pp.
- Sheffield, N.C.; Song, H.; Cameron, S.L.; Whiting, M.F. 2008. A comparative analysis of mitochondrial genomes in Coleoptera (Arthropoda: Insecta) and genome descriptions of six new beetles. *Molecular Biology and Evolution*, 25(11): 2499-2509.
- Shan, L., Yang, L.; Sun, C. 2004a. DNA-based identification of ecologically important caddisfly larvae (Trichoptera: Hydrobiosidae). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 29: 434-439.
- Shan, L., Yang, L.; Wang, B. 2004b. The association of larval and adult stages of ecologically important caddisfly (Insecta: Trichoptera) using mitochondrial DNA sequences. *Zoological Research*, 25(4): 351-355.
- Smith, J.M.; Smith, N.H. 2002. Recombination in Animal Mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 19(12): 2330-2332.
- Smith, M.A.; Fisher, B.L.; Hebert, P.D.N. 2005. DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 360: 1825-1834.

- Song, H.; Buhay, J.E.; Whiting, M.F.; Crandall, K.A. 2008. Many species in one: DNA barcoding overestimates the number of species when nuclear mitochondrial pseudogenes are coamplified. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(36): 13486-13491.
- Sutou, M.; Kato, T.; Ito, M. 2011. Recent discoveries of armyworms in Japan and their species identification using DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 11(6): 992-1001.
- Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M.; Kumar, S. 2011. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
- Tautz, D.; Arctander, P.; Minelli, A.; Thomas, R.H.; Vogler, A.P. 2003. A plea for DNA taxonomy. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(2): 70-74.
- Taylor, R.W.; Turnbull, D.M. 2005. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Reviews Genetics*, 6(5): 389-402.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G.; Gibson, T.J. 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.
- Trichoptera Barcode of Life. 2013. Barcode sequence library for caddisflies. (<http://trichopterabol.org/>). Acesso: 15/02/2013.
- Ulmer, G. 1905. Neue und wenig bekannte Trichopteren der Museen zu Brussel und Paris. *Annales de la Société Entomologique de Belgique*, 49: 17-42.
- Vogler, A.M.; Monaghan, M.T. 2006. Recent advances in DNA taxonomy. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 45: 1-10.
- Zhou, X.; Kjer, K.M.; Morse, J.C. 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. 2009. The larvae of Chinese Hydropsychidae (Insecta: Trichoptera), part I: *Arctopsyche shimianensis*, *Parapsyche* sp. A, and *Diplectrona obscura*. *Zootaxa*, 2174: 1-17.
- Zhou, X.; Adamowicz, S.J.; Jacobus, L.M.; Dewalt, R.E.; Hebert, P.D.N. 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., Robinson, J.L.; Geraci, C.J.; Parker, C.R.; Flint, O.S. Jr.; Etnier, D.A.; Ruiter, D.R.; DeWalt, E.; Jacobus, L.M.; Hebert, P.D.N. 2011. Accelerated construction of a regional DNA barcode reference library: caddisflies (Trichoptera) in the Great Smoky Mountains National Park. *Journal of the North American Benthological Society*, 30(1): 131-162.
- Waringer, J.; Graf, W.; Pauls, S.U.; Vicentini, H.; Lubini, V. 2008. DNA based association and description of the larval stage of *Drusus melanchaetes* McLachlan, 1876 (Trichoptera: Limnephilidae: Drusinae) with notes on ecology and zoogeography. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, 38: 34-42.
- Webb, J.M.; Jacobus, L.M.; Funk, D.H.; Zhou, X.; Kondratieff, B.; Geraci, C.J.; DeWalt, R.E.; Baird, D.J.; Richard, B.; Phillips, I.; Hebert, P.D.N. 2012. A DNA barcode library for North American Ephemeroptera: Progress and Prospects. *Public Library of Science One*, 7(5): 1-6.
- Wiemers, M.; Fiedler, K. 2007. Does the DNA barcoding gap exist? – a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Frontiers in zoology*, 4(8): 1-16.
- Williams, N.E.; Wiggins, G.B. 1981. A proposed setal nomenclature and homology for larval Trichoptera. *Proceedings of the third International Symposium on Trichoptera, Series Entomologica*, 20: 421-429.
- Wilson, K.; Cahill, V.; Ballment, E.; Benzie, J. 2000. The Complete Sequence of the Mitochondrial Genome of the Crustacean *Penaeus monodon*: Are Malacostracan Crustaceans More Closely Related to Insects than to Branchiopods? *Molecular Biology and Evolution*, 17(6): 863-874.
- Wiggins, G.B. 1996a. *Larvae of the North American Caddisfly genera (Trichoptera)*. 2nd ed. University of Toronto Press, Toronto, CA, USA. 457pp.

Wiggins, G.B. 1996b. Trichoptera families. *In*: Merritt, R.W.; Cummins, K.W. (Eds). *An Introduction to the aquatic insects of North America*. 3rd ed. Dubuque, Kendall Hunt, Publishing Company, USA. p. 309-385.

Wiggins, G.B. 2004. *Caddisflies: the underwater architects*. University of Toronto Press Incorporated, Toronto, CA, USA. 292pp.