# Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA

Programa de Pós-Graduação em Entomologia – PPG-ENT

Taxonomia e filogenia do gênero Neotropical *Synoestropsis* Ulmer, 1905 (Trichoptera: Hydropsychidae)

Patrik Barcelos e Silva

Manaus, AM

Março de 2014

# Patrik Barcelos e Silva

# Taxonomia e filogenia do gênero Neotropical *Synoestropsis* Ulmer, 1905 (Trichoptera: Hydropsychidae)

Orientadora: Ana Maria Oliveira Pes

Coorientador: Ralph W. Holzenthal

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Entomologia do INPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia.

Manaus, AM

Março de 2014

S586 Silva, Patrik Barcelos e Taxonomia e filogenia do gênero Neotropical Synoestropsis Ulmer, 1905 (Trichoptera: Hydropsychidae) / Patrik Barcelos e Silva. --- Manaus: [s.n], 2014. xvii, 141 f. : il. color.
Dissertação (Mestrado) --- INPA, Manaus, 2014. Orientador : Ana Maria Oliveira Pes. Coorientador : Ralph Holzenthal. Área de concentração : Entomologia.
1. Polymorphanisini. 2. Sistemática. 3. Synoestropsis. I. COI.
CDD 595.745

**Sinopse**: Foram estudados caracteres morfológicos e moleculares do gênero Neotropical *Synoestropsis* a fim de verificar o status taxonômico das espécies que compõem o grupo, além de redescrevê-las e associar aos estágios imaturos. Os dados morfológicos também foram utilizados para estabelecer a relação filogenética entre as espécies.

Palavras-chave: Polymorphanisini; Sistemática; Synoestropsis; COI.

Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.

Charles Chaplin

Aos meus pais Simone e Paulo e avós Nilson e Maria das Graças por me guiarem por bons caminhos e pelos ensinamentos que me tornaram hoje o que sou!

#### AGRADECIMENTOS

Mais um ciclo se fecha e com certeza todo esse trabalho não seria possível sem a colaboração e auxílio de muitas pessoas que estiveram comigo durante estes dois anos de trabalho duro. Quero expressar minha gratidão a todos os contribuíram de forma direta ou indireta para que eu pudesse concretizar mais essa etapa.

Primeiramente gostaria de agradecer imensamente a minha orientadora Dra. Ana Maria Pes por todo auxilio, todos os ensinamentos, conselhos e dicas dados a mim neste período. Ana, muito obrigado por não medir esforços para que este trabalho pudesse ser realizado e por toda dedicação mesmo quando estava atribulada. Muito obrigado também pela confiança e, principalmente, por saber a hora certa de me alertar nos meus momentos de dispersão. Além de tudo isso, quero agradecer por toda paciência que teve com esse "bebê" tão teimoso e cabeça dura. Além de orientadora e amiga ganhei uma grande mãe desde que cheguei a Manaus! Muito obrigado por tudo!

Ao meu coorientador Dr. Ralph Holzenthal por todos os conselhos e dicas durante a realização deste trabalho. Obrigado também pelo auxilio com material de fora do Brasil que foi imprescindível para tomada de decisões importantes.

À Dra. Neusa Hamada por toda contribuição dada para a realização do trabalho. Desde as coletas de material, que foram fundamentais para o andamento da dissertação, aos vários conselhos e dicas. Muito obrigado também pela oportunidade de participar dos projetos de popularização e levar a ciência às pessoas de uma forma mais leve.

À Dra. Vanderly Andrade por todo suporte na parte molecular deste trabalho. Van muito obrigado por toda sua disponibilidade e dedicação em me ajudar desde o início das minhas extrações até a interpretação dos resultados que tivemos. Pela sua paciência em sanar todas as minhas milhares de dúvidas moleculares. Sua ajuda foi fundamental. Muito obrigado!

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia pela oportunidade de cursar o mestrado e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

À Coordenação de Pós Graduação em Entomologia, através do Dr. José Wellington de Moraes.

Aos seguintes projetos que permitiram a realização desta dissertação: Ao CNPq com o projeto Biologia e taxonomia de Trichoptera na Amazônia Central. Ao INPA/ MCTI/PPI com o projeto "Sistemática Integrada de Insetos Aquáticos com ênfase em Simuliidae (Diptera: Nematocera) da América do Sul". Ao Projeto "Insetos aquáticos: biodiversidade, ferramentas ambientais e a popularização da ciência para melhoria da qualidade de vida humana no Estado do Amazonas", financiado no âmbito do Programa de apoio a núcleos de excelência (PRONEX) - CNPq/FAPEAM.

Um agradecimento especial a minha melhor amiga. Jê, como eu sempre digo, não sei o que seria da minha vida sem você! Obrigado por todos esses anos de amizade e por compartilhar comigo praticamente todos os bons e maus momentos que eu tive desde que nos conhecimentos (sinceramente não sei como você ainda me atura rs!). Obrigado por me conceder tudo que uma grande amizade possui; risos, choros, conselhos, puxões de orelha e por sempre estar disposta a me ouvir. Também por todas as discussões científicas que foram primordiais para construção do meu trabalho. Quero te dizer que as pessoas iluminadas são como um trem no túnel, e assim é você, pois é possível ver seu sucesso brilhando desde muito longe. Saiba que sua dedicação e amor ao trabalho me inspiram! Cabeção espero que a nossa amizade continue sempre tendendo ao infinito e que ainda nos aturemos por muitos e muitos anos. Amo muito você, muito obrigado por tudo!

Ao meu grande irmão mais novo Marlon. Mano obrigado pela grande amizade e companheirismo nesses anos em que compartilhamos as aventuras de trabalhar com os Amphiesmenoptera! Obrigado pelos conselhos (muitas vezes de irmão mais velho), pelas conversas e por compartilhar comigo tantos bons momentos durante esses anos. Sinto como se nos conhecêssemos há muitos anos e que por "mero acidente geográfico" não tivemos a oportunidade de aproveitar esse laço fraterno desde mais cedo. Que a nossa amizade continue sempre e cresça cada vez mais. Muito obrigado manobrow!

Ao meu grande amigo Rafael Sovano por todos os momentos que compartilhamos. Agradeço muito a oportunidade de te conhecer mesmo não gostando de você no primeiro dia de aula (e sei que a recíproca é verdadeira rs!). Mas foi só no primeiro dia mesmo, pois sua amizade é mais que importante para mim. Muito obrigado por todas as conversas e toda confiança. E principalmente por compartilhar comigo de momentos de "Síndrome de Peter Pan" e não me deixar sozinho nas viagens à infância! Muito obrigado pela sua amizade mano! Aos grandes amigos e companheiros de casa Karine Schoeninger e Pedro Reck por dividir tantos bons momentos de convivência domiciliar. Obrigado pela amizade de vocês e por toda paciência em me aturar durantes esses dois anos, pois sei que não deve ter sido fácil!

Aos amigos da turma de mestrado de 2012. Simplesmente a melhor turma de mestrado que o INPA já viu! Muito obrigado a todos pelos momentos em que estivemos juntos, desde as aulas e madrugadas de desenhos e identificações, as traumáticas horas de terror na Ducke, até os churrascos e momentos de descontração.

Aos companheiros de laboratório pela convivência e pelo dia-a-dia. Obrigado pelos bons momentos que muitas vezes tornaram o trabalho mais leve e divertido.

Aos grandes amigos do INPA que tive oportunidade de conhecer e compartilhar ótimos momentos ao longo do mestrado. Em especial aos grandes amigos Alexandre Somavilla (além de tudo por coletar material para mim) e ao Breno e o Samuel, pelos (vários) minutos de procrastinação durante o café da tarde.

Ao grande amigo e parceiro de trabalho Lucas Marques! Lukinhas muito obrigado pelo apoio e por todas as dicas e discussões no laboratório. Obrigado também pela grande ajuda com o texto final da dissertação! Em breve nos vemos em Minessota rs!

Ao amigo e parceiro de laboratório Rafael Boldrini pela grande ajuda não só na parte molecular deste trabalho como também pelas varias dicas taxonômicas. Obrigado também pela parceria e por me ajudar muito desde que cheguei a Manaus.

À Dra. Julieta Sganga da Universidade de Beunos Aires, por todo carinho e dedicação ao me receber nos dias em que estive em seu laboratório. Obrigado pelo auxílio e por todos os conselhos. Estendo meus agradecimentos aos seus familiares que foram tão receptivos e companheiros. Também a Dra. Elisa Angrisano, por intermediar minha visita ao laboratório e pela disponibilidade em ajudar com o material.

Ao Dr. Arturo Roig Alsina pela disponibilidade em me receber no Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", e por ceder os exemplares do museu para empréstimo. A Jean Legrand e Tomasz Huflejt pelo auxilio com material-tipo.

Aos amigos do Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Insetos da Universidade Federal do Espírito Santo pelo auxilio com material coletado no Espírito Santo que foram de grande importância para os resultados moleculares deste trabalho. Em especial ao Dr. Frederico Falcão Salles, meu orientador durante a graduação, pela concessão deste material. Não só por isso, mas também serei eternamente grato por você ser o responsável por despertar em mim a vontade de seguir o caminho da pesquisa científica.

Ao Dr. Charles Morphy dos Santos pelas inúmeras dicas e pela grande ajuda com as análises filogenéticas. Também pela grande amizade e por compartilhar bons momentos mesmo que por poucos dias em Manaus. Pelos conselhos que caíram bem (como uma praga), mas que no fundo serviram de lição para as próximas etapas.

À Jolanda Huisman e a Tatiane Becker pelo grande auxilio com as traduções de artigos em alemão.

Aos amigos do Grupo de Capoeira Matumbé. Vocês foram fundamentais principalmente na reta final do mestrado. Obrigado pelos excelentes momentos de descontração e relaxamento que foram essenciais para os dias seguintes aos treinos serem produtivos. Em especial à Lívia Naman que em pouco tempo de convivência conseguiu fazer dos meus últimos meses de correria do mestrado muito mais leves e divertidos. Obrigado por todo carinho e apoio!

Aos meus familiares que foram mais que necessários nos momentos de dificuldade, me dando força e coragem para continuar quando as coisas pareciam não dar certo. Muito obrigado aos meus pais, avós e tios, amo vocês!

#### RESUMO

Com cerca de 1500 espécies Hydropsychidae é a terceira maior família de Trichoptera. O grupo se divide em cinco subfamílias, das quais se destaca Macronematinae englobando as tribos Macronematini e Polymorphanisini. Synoestropsis é o único gênero Neotropical pertencente à Polymorphanisini, possui 10 espécies descritas podendo ser encontrados desde o nordeste da Argentina até o sul do México. Dentre os problemas taxonômicos em Synoestropsis, destaca-se a ausência de descrições padronizadas e a falta de caracteres diagnósticos que permitam a diferenciação segura das espécies. Além disso, há pouco conhecimento acerca dos estágios imaturos em nível específico. Dentre os métodos de criação e associação de larvas e adultos tradicionais, podemos encontrar algumas limitações e a utilização de ferramentas moleculares tais como "DNA barcoding", pode auxiliar a minimizar a dificuldade de associação entre os estágios de vida. Ainda, esses dados podem ser utilizados para separação e delimitação de espécies. A escolha dos pontos de coleta destinou-se a abranger toda ocorrência geográfica do gênero. Aliado ao material coletado, as amostras de várias instituições foram examinadas. Larvas maduras foram criadas para obtenção dos adultos e associação morfológica. As extrações foram realizadas com DNeasy® Blood & Tissue kit e após a realização das PCRs e sequenciamento os dados foram analisados no programa MEGA utilizando os seguintes métodos: Máxima Parcimônia, Máxima Verossimilhança e Neighbor-joining. A confecção da matriz de dados foi baseada na morfologia externa dos adultos. As análises filogenéticas foram conduzidas no programa TNT com base no princípio da Máxima Parcimônia, sendo os caracteres tratados como não ordenados. Foram realizadas análises com pesagem uniforme e pesagem diferencial. Quatro associações larvas/adultos e cinco associações sexuais foram obtidas com dados moleculares. As topologias mostraram resultados semelhantes entre os métodos, com suporte significativo para as associações, bem como para delimitação das espécies. Entretanto os suportes dos clados que definem a relação entre as espécies não foram significativos. Uma nova espécie foi descrita e associada à sua respectiva larva. Ainda, foram descritas as larvas de S. pedicillata, S. grisoli e um morfótipo não associado. O resultado da codificação gerou uma matriz com 24 caracteres baseado na morfologia do adulto. As análises corroboraram com o monofiletismo de Synoestropsis e uma hipótese de relacionamento entre as espécies é proposta.

#### ABSTRACT

With nearly 1500 species Hydropsychidae is the third largest family of Trichoptera. The group is divided into five subfamilies, in which stands out Macronematinae encompassing the Macronematini and Polymorphanisini tribes. Synoestropsis is the only Neotropical genus belonging to Polymorphanisini with 10 described species ranging from northeastern Argentina to southern México. Some of Synoestropsis taxonomic problems are the absence of standardized descriptions and lack of diagnostic characters to enable reliable species differentiation. There is still few information about the immature stages in species level. There are some limitations among the traditional methods for rearing and associating larvae and adults, and the use of molecular tools such as "DNA barcoding", can help to minimize the difficulty of associating life stages. Still, these data can be used for species separation and delimitation. The choice of collecting points aimed to encompass the genus geographical range. Along with the collected material, specimens from various institutions were examined. Larvae that were considered mature were reared to obtain the adults, thus aiding in morphological association. The extractions were performed with DNeasy ® Blood & Tissue kit, and after the completion of PCR and sequencing, the data was analyzed using the MEGA program with the following methods: Maximum Parsimony, Maximum Likelihood and Neighbor-joining. The confection of the data matrix was based on the external morphology of adults. Phylogenetic analysis were conducted with the TNT program based on the principle of maximum parsimony, with characters treated as unordered. Analysis with uniform weighting and differential weighing were performed. Four larvae/adult and five sex associations were obtained with molecular data. The topologies showed similar results between methods, with high support for larvae/adult and sex associations as well as species delimitation. However, support of clades regarding the relationship between species was not significant. A new species was described and associated with its respective larva and the larvae of S. pedicillata, S. grisoli and one unassociated larva morphotype were described. The result of codification produced a matrix with 24 characters based on adult morphology. The analysis corroborates the monophyly of *Synoestropsis* and a hypothesis of relationship among species is proposed.

# SUMÁRIO

| 1. | INTRODU     | JÇÃO   |    |
|----|-------------|--|----|
|    | 1.1.Aspec   | tos gerais da ordem Trichoptera                                  |    |
|    | 1.2.Famíli  | a Hydropsychidae e a subfamília Macronematinae                   |    |
|    | 1.3.Gêner   | o Synoestropsis  |    |
|    | 1.4.Identif | ficação de imaturos e associação em nível específico             |    |
|    | 1.5.Uso de  | e ferramentas moleculares em estudos taxonômicos                 |    |
| 2. | OBJETIV     | OS   | 25 |
|    | 2.1.Objeti  | vo geral   | 25 |
|    | 2.2.Objeti  | vos específicos  |    |
| 3. | MATERIA     | AL E MÉTODOS   |    |
|    | 3.1.Amost   | tragem dos táxons  |    |
|    | 3.1.1.      | Coleta dos indivíduos  |    |
|    | 3.1.2.      | Empréstimos  |    |
|    | 3.2.Materi  | al examinado   |    |
|    | 3.2.1.      | Morfotipagem e identificação                                     |    |
|    | 3.2.2.      | Métodos de associação por criação dos imaturos                   |    |
|    | 3.2.3.      | Descrições, redescrições e confecção das chaves de identificação |    |
|    | 3.2.4.      | Confecção dos mapas de distribuição geográfica                   |    |
|    | 3.2.5.      | Morfologia geral de Synoestropsis                                |    |
|    | 3.3.Anális  | es moleculares   |    |
|    | 3.3.1.      | Extração de DNA  |    |
|    | 3.3.2.      | Reações em cadeia da polimerase (PCR)                            |    |
|    | 3.3.3.      | Eletroforese dos produtos amplificados                           | 41 |
|    | 3.3.4.      | Edição e alinhamento das sequências                              | 41 |
|    | 3.3.5.      | Métodos de análise dos dados moleculares                         |    |
|    | 3.4.Anális  | es filogenéticas   |    |
|    | 3.4.1.      | Seleção do grupo externo   |    |
|    | 3.4.2.      | Montagem da matriz de dados morfológicos                         |    |
|    | 3.4.3.      | Opções analíticas  |    |
| 4. | RESULTA     | ADOS E DISCUSSÃO   |    |
|    | 4.1.Associ  | iação de larvas e adultos e associação sexual através de COI     |    |
|    | 4.2.Taxon   | omia   |    |

| Synoestropsis Ulmer, 190554  |
|--|
| Synoestropsis sp. nov  |
| Synoestropsis pedicillata Ulmer, 190566  |
| Synoestropsis obliqua Ulmer, 190575  |
| Synoestropsis punctipennis Ulmer, 190581                                       |
| Synoestropsis grisoli Navás, 1924  |
| Synoestropsis stictonota Navás, 193299   |
| Synoestropsis euryphlebia Navás, 193499  |
| Synoestropsis furcata Flint, 1974100   |
| Synoestropsis sp.1   |
| Chave de identificação para adultos e larvas das espécies de Synoestropsis 117 |
| 4.3.Filogenia  |
| 4.3.1. Lista de caracteres e matriz morfológica                                |
| 4.3.2. Hipótese de relacionamento entre as espécies de Synoestropsis           |
| CONCLUSÕES   |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS   |

5. 6.

## LISTA DE TABELAS

| Tabela 1 Localidades de procedência do material examinado  |
|--|
| <b>Tabela 2.</b> Coleções científicas de origem do material concedido para empréstimo                                    |
| Tabela 3. Espécimes dos quais foram obtidas as sequências parciais da Subunidade I do gene                               |
| Citocromo Oxidase (COI)  |
| Tabela 4. Espécimes dos quais as sequências parciais da Subunidade I do gene Citocromo                                   |
| Oxidase (COI) foram obtidas através do GenBank   |
| <b>Tabela 5.</b> Programa utilizado nas reações em cadeia da polimerase       40   |
| <b>Tabela 6.</b> Sequencia dos iniciadores utilizados nas PCRs para amplificação das sequências de         COI.       40 |
| <b>Tabela 7.</b> Valores médios de distância genética intraespecífica  |
| <b>Tabela 8.</b> Valores médios de distância genética interespecífica  |
| Tabela 9. Valores de distâncias genéticas absolutas entre pares de sequências dos indivíduos                             |
| estudados  |
| Tabela 10. Matriz de táxons por caracteres morfológicos, com seus respectivos estados,                                   |
| usados para as análises filogenéticas  |

### LISTA DE FIGURAS

| Figura 1. Mapa parcial da região Neotropical com a distribuição dos pontos de coleta do         material examinado   |
|--|
| <b>Figura 2.</b> Morfologia geral dos adultos. A, hábito dorsal do adulto; B, detalhe da cabeça, vista frontal; C, detalhe da cabeça, vista dorsal; D, tórax, vista dorsal   |
| <b>Figura 3.</b> Morfologia geral dos adultos. A, asa anterior; B, asa posterior, C, detalhe das pernas anterior, mediana e posterior do adulto  |
| <b>Figura 4.</b> Morfologia geral dos adultos, genitália. A - C, segmentos IX e X do macho; A, vista lateral; B, vista dorsal; C, vista ventral; D - E, detalhe do ápice do falo; D, vista lateral; E, vista ventral; F, genitália da fêmea, segmentos VIII, IX e X, vista ventral |
| <b>Figura 5.</b> Morfologia geral das larvas. A, hábito lateral; B, detalhe da cabeça, vistas dorsal e ventral; C, mesoesternito   |
| <b>Figura 6.</b> Gel de agarose 1% mostrando os produtos amplificados pela PCR do gene COI das amostras analisadas. Primeira linha corresponde ao marcador PRC Markers   |
| <b>Figura 7.</b> Árvore resultante do método da Máxima Parcimônia com adultos e larvas.<br>Consenso resultante das 1000 réplicas da medida de suporte de <i>Bootstrap</i> 51   |
| <b>Figura 8.</b> Árvore resultante do método da Máxima Verossimilhança com adultos e larvas.<br>Consenso resultante das 1000 réplicas da medida de suporte de <i>Bootstrap</i>   |
| <b>Figura 9.</b> Árvore resultante do método de <i>Neighbor-joining</i> com adultos e larvas. Consenso resultante das 1000 réplicas da medida de suporte de <i>Bootstrap</i>   |
| <b>Figura 10.</b> <i>Synoestropsis</i> sp. nov., asas: A, Padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea 59   |
| <b>Figura 11.</b> <i>Synoestropsis</i> sp. nov., genitália. A - C, segmentos IX e X do macho, A, vista lateral; B, vista dorsal; C, vista ventral; D - E, detalhe do ápice do falo, D, vista lateral; E,   |

**Figura 12.** *Synoestropsis* sp. nov., larva. A, cabeça e tórax, vista dorsal; B - C, trocantim anterior, B, face externa; C, face interna; D, mesoesterno, vista ventral; E – J, detalhe das

vista ventral; F, genitália da fêmea, segmentos VIII, IX e X, vista ventral......60

**Figura 15.** *Synoestropsis pedicillata,* asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea ..... 68

**Figura 18.** *Synoestropsis pedicillata*, larva. A, hábito, vista lateral; B - D, detalhe da cabeça, B, vista dorsal; C, vista ventral; D, vista lateral; E – F, detalhe das peças bucais; E, labro, vista dorsal; F, labro, vista ventral; G, mandíbulas, vista dorsal; H, fórmula branquial......72

Figura 19. Distribuição geográfica conhecida de Synoestropsis pedicillata......74

**Figura 20.** *Synoestropsis obliqua*, asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea .....77

**Figura 23.** *Synoestropsis punctipennis*, asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea ..... 83

**Figura 26.** *Synoestropsis grisoli*, asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea ..... 89

**Figura 34.** *Synoestropsis furcata*, larva. A, cabeça e tórax, vista dorsal; B - C, trocantim anterior, B, face externa; C, face interna; D, mesoesterno, vista ventral; E – J, detalhe das

## 1. INTRODUÇÃO

#### 1.1. Aspectos gerais da ordem Trichoptera

A ordem Trichoptera Kirby, 1813 é composta por cerca de 14.500 espécies alocadas em 49 famílias em todo o mundo (Morse 2014), sendo considerada a maior ordem entre os insetos estritamente aquáticos (Nebbois 1991). São insetos holometábolos e possuem ampla distribuição podendo ser encontrados em todas as regiões biogeográficas, com exceção apenas da Antártica (Wiggins 2004). Em sua maioria são insetos dulçaquícolas (Holzenthal *et al.* 2007a, b), embora algumas espécies da família Chathamiidae, encontradas na Nova Zelândia e na Austrália, colonizem o ambiente marinho (Nebbois 1991). O registro do surgimento dos Trichoptera data do Triássico há cerca de 250 milhões de anos (Resh e Solem 1996) e seu posicionamento filogenético é bem definido como grupo-irmão de Lepidoptera formando o clado monofilético Amphiesmenoptera (Whiting 2002; Kjer 2004; Holzenthal *et al.* 2007b; Calor 2009).

Os estágios imaturos são aquáticos e ocupam tanto ambientes lóticos com diferentes velocidades de correnteza, quanto ambientes lênticos. Podem ser encontrados nos mais diversos tipos de substratos tanto orgânicos como folhas, raízes e troncos caídos, quanto inorgânicos como areia, cascalhos e lajes. As larvas possuem peças bucais bem desenvolvidas e glândulas salivares modificadas para a produção de seda, utilizadas na construção de abrigos, casas e redes de captura de alimento. A porção final do abdome é dotada de um par de falsas pernas dotadas ganchos, que auxilia na locomoção. As pupas são do tipo exarada e se desenvolvem em um casulo de seda. Possuem fortes mandíbulas que auxiliam na abertura do casulo na hora da emergência do adulto e pernas torácicas com uma densa camada de cerdas hidrofóbicas que a ajudam na saída da água. Possuem também uma série de placas de ganchos na região dorsal dos segmentos abdominais, que a auxiliam na fixação dentro do casulo e ajudam no processo de ventilação (Holzenthal *et al.* 2007b). Outra característica notável na morfologia do casulo da pupa é a semipermeabilidade da seda, a qual permitiu que a Ordem fosse a primeira dentre os Holometabola a possuir estágio pupal aquático (Calor 2009).

Os adultos são terrestres e variam em tamanho de 1,5 mm até 4,5 cm. Podem ser encontrados voando próximos aos corpos d'água e pousados em pedras ou sobre a vegetação. São semelhantes a pequenas mariposas e sua coloração pode variar em tons de preto, cinza, marrom e amarelo, embora algumas espécies possam exibir cores bem chamativas em vermelho, laranja, verde, prata e azul. Possuem dois pares de asas membranosas cobertos por cerdas ou escamas. As peças bucais são reduzidas, as mandíbulas são atrofiadas e normalmente apenas os palpos são desenvolvidos. A principal estrutura é o haustelo, um tipo de probóscide formada pela fusão da porção apical do lábio (pré-lábio) com a hipofaringe que pode ser utilizado para absorção de água e líquidos açucarados (Holzenthal *et al.* 2007b).

Tradicionalmente, Trichoptera tem sido dividida em três subordens coincidentes às características comportamentais de construção das larvas e de pupação. Annulipalpia que forma um grupo composto por dez famílias cujas larvas são construtoras de abrigos fixos ao substrato. Estas larvas abandonam o abrigo e constroem um invólucro onde empupam. Integripalpia, composto por 34 famílias, forma um grupo cujo monofiletismo é sustentado pelo hábito das larvas, as quais constroem abrigos móveis e que, geralmente, empupam dentro deste abrigo. Spicipalpia que é composta por cinco famílias de posicionamento controverso, apresentam características intermediárias para estes comportamentos e devido a isso tem seu monofiletismo muitas vezes contestado (Weaver 1984; Frania & Wiggins 1997; Kjer *et al.* 2001, 2002; Ivanov 2002; Malm *et al.* 2013). Atualmente, Holzenthal *et al.* (2011) dividem Trichoptera em duas subordens: Annulipalpia e Integripalpia. As famílias pertencentes à subordem "Spicipalpia" foram inseridas em Integripalpia da seguinte forma: Glossosomatidae na superfamília Glossosomatoidea; Hydroptilidae e Ptilocolepidae na superfamília Hydropililoidea; Hydrophilidae e Rhyachophilidae na superfamília Rhyachophiloidea.

#### 1.2. Família Hydropsychidae e a subfamília Macronematinae

Com cerca de 1.500 espécies descritas a família Hydropsychidae Curtis, 1835 é considerada a terceira maior família da ordem Trichoptera e a família mais diversa da subordem Annulipalpia (Holzenthal *et al.* 2007b). As larvas possuem a região dorsal do tórax totalmente recoberta por placas fortemente esclerosadas e brânquias abdominais ventrais e ventrolaterais. Os adultos são dotados de um mesoescutelo grande, ocupando quase a metade do mesoescuto, as verrugas de cerdas estão ausentes no mesoescuto e o último artículo dos palpos maxilar e labial é (quando presente) alongado com estriações transversais (Angrisano 1995).

Dentre os Trichoptera, Hydropsychidae se destaca não só pelo número de espécies, mas também pela abundância com que ocorrem nos ambientes aquáticos e pela quantidade de nichos ocupados pelas larvas (Angrisano 1995). Essas características são especialmente importantes na dinâmica dos nutrientes dos corpos d'água (Holzenthal *et al.* 2007b), pois a família está inserida em diversos níveis tróficos atuando grandemente na disponibilização e transferência desses nutrientes (Wiggins 1996). Além disso, servem como fonte de alimento para diversas espécies de organismos aquáticos e terrestres (Angrisano 2001).

Esta família pode ser encontrada em todas as regiões biogeográficas onde a ordem está presente. São reconhecidas atualmente cinco subfamílias para Hydropsychidae: Arctopsychinae, Diplectroninae, Hydropsychinae, Macronematinae e Smicrideinae. Diferentes análises filogenéticas baseadas em dados morfológicos e moleculares confirmam o monofiletismo destas subfamílias, entretanto, ainda não foi estabelecida uma classificação estável a cerca do posicionamento das mesmas (Schefter 1996, 2005; Geraci *et al.* 2005; Holzenthal *et al.* 2007b).

A subfamília Macronematinae Ulmer, 1907 tem um complexo histórico taxonômico. Brauer (1868) propôs uma primeira divisão para Hydropsychidae onde Oestropsidae foi eregida para alocar *Oestropsis* Brauer, 1868 e *Polymorphanisus* Walker, 1852, pela ausencia dos palpos maxilar e labial. Posteriormente, os gêneros *Amphipsyche* McLachlan, 1872 e *Aethaloptera* Brauer, 1875 foram inseridos por Brauer (1875) em Oestropsidae. McLachlan (1878) propôs uma segunda divisão de Hydrosychidae em cinco seções, das quais Oestropsidae correspondia à seção I. Em revisão realizada por Ulmer (1907) as seções I (Oestropsidae) e II (contendo *Blepharopus* Kolenati, 1859 e *Macronema* Picet, 1836) de McLachlan foram unificadas, propondo a formação de Macronematinae. Atualmente, a subfamília contém 17 gêneros divididos em duas tribos criadas por Lestage (1936), Polymorphanisini Lestage, 1936 no qual os palpos maxilares e labiais estão ausentes e Macronematini Ulmer, 1905 no qual os palpos são bem desenvolvidos.

#### 1.3. Gênero Synoestropsis

*Synoestropsis* Ulmer, 1905 é o único gênero Neotropical inserido na tribo Polymorphanisini. Também fazem parte da tribo os gêneros *Aethaloptera* restrito à Indomalasia, *Polymorphanisus* com distribuição Afrotropical e *Oestropsyche* amplamente distribuído na região Afrotropical, na porção sul da zona Palaeartica até o norte da Austrália. De forma geral os membros desta tribo são muito semelhantes aos outros componentes da subfamília, mas podem ser facilmente distinguidos dos demais pela ausência dos palpos maxilares e labiais na fase adulta (Flint 1978). Os registros de *Synoestropsis* vão desde o nordeste da Argentina até o sul do México (Flint *et al.* 1999b).

Atualmente são descritas 10 espécies válidas para o gênero. Ulmer designou o gênero tendo como espécie-tipo *Synoestropsis pedicillata* Ulmer, 1905, quando também foram descritas *Synoestropsis obliqua* Ulmer, 1905 e *Synoestropsis punctipennis* Ulmer, 1905, sendo as duas primeiras para o Brasil e a última para Colômbia. Entre os anos de 1920 e 1934 Navás publicou uma série de trabalhos com a descrição de outras seis espécies para o gênero. Primeiramente foram descritas as espécies *Synoestropsis eclíptica* (Navás, 1920), *Synoestropsis manicata* (Navás, 1920) para a Argentina, estas inicialmente foram descritas no gênero *Chiasmoda* Navás, 1920 que posteriormente foi sinonimizadas com *Synoestropsis* (Flint *et al.* 1999a); neste mesmo ano foi descrita *Synoestropsis vitrea* Navás, 1920 também para a Argentina; *Synoestropsis grisoli* Navás, 1924 foi descrita para Venezuela; *Synoestropsis stictonota* Navás, 1932, descrita para o Brasil e *Synoestropsis euryphlebia* Navás, 1934, descrita para Guiana Francesa. A espécie mais recente do gênero a ser descrita foi *Synoestropsis furcata* Flint, 1974, coletada na Guiana (Flint *et al.* 1999b).

Os membros da tribo Polymorphanisini se diferenciam de Macronematini pela ausência dos palpos maxilares e labiais e pelo fato de *Synoestropsis* ser o único representante neotropical desta tribo, essa característica pode ser utilizada para separá-lo dos demais gêneros de Hydropsychidae que ocorrem nas Américas (Flint *et al.* 1999b). *Synoestropsis* pode ser diferenciado dos demais gêneros de Polymorphanisini, além da distribuição geográfica, pela presença de uma conexão entre a veia Rs com a veia M que pode ser estabelecida por uma veia transversal (Barnard 1980) ou por uma breve região fusionada (Flint *et al.* 1999a).

Embora *Synoestropsis* seja facilmente distinguido dentro de Macronematinae existem grandes problemas taxonômicos envolvendo as espécies do gênero, principalmente em relação à falta de clareza nas descrições e à ausência de caracteres diagnósticos para separá-las. Além disso, a maioria das descrições não utilizou caracteres comparáveis entre si e essa falta de padronização dificulta a comparação entre as espécies. Muitos caracteres utilizados para definição de algumas espécies são ao mesmo tempo bastante variáveis em outras (Flint 1974, 1978). Esses aspectos deixam dúvidas se todos os táxons descritos e válidos atualmente para o gênero formam unidades biológicas ou apenas variações dentro de uma mesma espécie como citado por Flint (1978) e Flint *et al.* (1999a).

Outro fator que contribui para os problemas do grupo é o número de espécies cujos tipos foram perdidos (Flint *et al.* 1999b) ou destruídos (Weidner 1964). Das 10 espécies descritas, cinco não possuem qualquer material de referência, além da descrição original, que auxilie no reconhecimento das mesmas. Além do fato da maioria das descrições serem pouco informativas, muitas dessas espécies não possuem nenhum registro posterior de coleta, além dos espécimes utilizados para descrição original.

As larvas do gênero também são taxonomicamente problemáticas, além de terem aspectos biológicos pouco conhecidos. A larva de *Synoestropsis* foi descrita primeiramente por Roback (1966) como Hydropsychidae sp. 1. Elas podem ser diferenciadas dos demais gêneros Neotropicais pelo alongamento da cabeça e tórax e pela modificação das pernas anteriores que contém o fêmur expandido e formando uma quela com a tíbia e o tarso (Pes *et al.* 2005). Atualmente, a única espécie que possui o estágio larval descrito é *S. furcata* (Calor 2008), entretanto essa associação foi realizada de forma indireta através de espécimes coletados na mesma localidade. Segundo Flint *et al.* (1999b), larvas de *Synoestropsis* são encontradas preferencialmente em corpos d'água de médio a grande porte e vivem entre e sob pedras encontradas no leito. São larvas de vida livre que se alimentam de outros insetos aquáticos como Chironomidae (Diptera) e Leptophlebiidae (Ephemeroptera) (Bentes *et al.* 2008). Esse hábito predador é especialmente importante nas regiões tropicais, onde essas espécies podem atuar no controle de larvas de outros dípteros que são vetores de parasitas que causam doenças, tais como a oncocercose (Wiggins 2004).

As larvas são frequentemente mais coletadas que os adultos e intensamente utilizadas em trabalhos de cunho ecológico e de biomonitoramento. Além disso, ocupam diversos níveis na cadeia trófica (Wiggns 2004). Dessa forma, o reconhecimento das mesmas em níveis específicos é importante, pois esses dados podem trazer mais robustez e confiabilidade a trabalhos aplicados. Entretanto, os métodos convencionais de associação desses estágios são muitas vezes dificultados, de maneira geral, pela dificuldade de criação das larvas e pupas, o que interfere no reconhecimento das espécies com base nos estágios imaturos.

### 1.4. Identificação de imaturos e associação em nível específico

A maioria dos estudos taxonômicos é baseada no estágio adulto uma vez que os mesmos normalmente contêm caracteres relevantes para diferenciar espécies, principalmente quando se analisa a morfologia da genitália que, de forma geral, é um importante mecanismo de isolamento reprodutivo, logo, de separação de espécies (Shapiro & Porter 1989; Oláh & Johanson 2008). Devido a isso, muitas vezes a identificação dos estágios imaturos é posto de lado principalmente pela dificuldade de conseguir associá-los aos adultos das respectivas espécies.

Atualmente tem sido dada mais atenção à identificação das larvas devido ao extensivo uso destas em trabalhos mais aplicados como, por exemplo, estudos ecológicos e de biomonitoramento. Entretanto, estudos que utilizam categorias taxonômicas superiores, como gêneros ou famílias, podem gerar interpretações equivocadas nos resultados ou respostas não tão precisas nos estudos que tratam da ecologia desses grupos. Isso porque existe uma variação ampla mesmo dentro destas categorias para dados ecológicos, como por exemplo, preferência de hábitat e hábitos alimentares (Guerold 2000; Boyero *et al.* 2009).

O principal método para associação de estágios é a criação dos imaturos para obtenção do adulto, permitindo a identificação em nível específico. Quando não é possível a obtenção do adulto pode-se aplicar o método do metamorfótipo que consiste na utilização do adulto farado, da exuvia pupal e dos escleritos da larva que ficam retidos no casulo pupal (Rueda-Martin 2006). No entanto, existem alguns problemas associados à criação de imaturos em laboratório, principalmente no que diz respeito a insetos com estágio larval aquático. Entre estes problemas, podem ser citados, por exemplo, a dificuldade de reprodução em laboratório, do ambiente em que as larvas vivem; o tempo de criação que pode ser muito longo, podendo chegar a mais de um ano; e a falta de conhecimento sobre os aspectos biológicos das larvas, o que dificulta a aplicação de métodos eficazes de criação.

#### 1.5. Uso de ferramentas moleculares em estudos taxonômicos

Uma forma de minimizar as dificuldades acima citadas e acelerar os processos de associação adulto/larva, bem como associação sexual, é a utilização de ferramentas moleculares para estudos com tal finalidade. Cada vez mais marcadores moleculares vêm sendo utilizados para minimizar estes problemas e facilitar a associação de diferentes estágios de desenvolvimento de uma mesma espécie (Zhou *et al*.2007; 2009; 2010; 2011). Além disso, a utilização de dados moleculares vem sendo uma ferramenta cada vez mais informativa na delimitação de espécies, onde a morfologia muitas vezes não é suficiente, principalmente no caso de espécies crípticas e de difícil reconhecimento (Pauls *et al*. 2009; 2010; Anderson *et al*. 2013).

Dentre os diversos tipos de marcadores moleculares o DNA mitocondrial tem sido bastante empregado para resolução desses tipos de problemas, principalmente em níveis inter e intraespecíficos, uma vez que em relação aos genes nucleares, estes possuem aceleradas taxas evolutivas além de não apresentarem mecanismos de reparo de mutações (Saccone *et al.* 1999) permitindo a visualização de respostas mais recentes no tempo evolutivo.

Uma dessas ferramentas é o "*DNA barcoding*" o qual vem ganhando cada vez mais espaço em estudos de sistemática molecular. O método consiste na utilização da sequência parcial da subunidade I do gene Citocromo Oxidase do DNA mitocondrial de forma padronizada (análogo a um código de barras) para identificação e delimitação de espécies animais (Hebert *et al.* 2003). Este método vem sendo aplicado com sucesso em diferentes espécies de metazoários e sua utilização em diferentes grupos de insetos vem ganhando cada vez força (*e.g.* Pestano *et al.* 2002; Hebert *et al.* 2004; Kaila & Stahls 2006; Meier *et al.* 2006). Dentre os Trichoptera, os trabalhos de Zhou *et al.* (2007), (2009), (2010) e (2011) e Pauls *et al.* (2009) e (2010) são pioneiros na utilização do "*DNA barcoding*" tanto para associação adulto/larva quanto para associação sexual.

#### 2. OBJETIVOS

#### 2.1. Objetivo geral

Estudar a taxonomia do gênero *Synoestropsis* investigando caracteres morfológicos e moleculares, além de realizar estudos filogenéticos para testar o monofiletismo do gênero e a relação entre as espécies que o compõe.

## 2.2. Objetivos específicos

- Redescrever, de forma padronizada, as espécies do gênero *Synoestropsis* adicionando novos caracteres morfológicos;
- ✓ Descrever uma nova espécie para o gênero;
- ✓ Associar os estágios imaturos e adultos das espécies utilizando ferramentas morfológicas e moleculares;
- ✓ Realizar associação sexual por meio de ferramentas moleculares;
- Confeccionar uma chave de identificação taxonômica ilustradas para imaturos e adultos (machos e fêmeas) das espécies de *Synoestropsis*;
- ✓ Testar a monofiletismo do gênero com base em análises filogenéticas, a partir de caracteres morfológicos;
- ✓ Propor uma hipótese de relacionamento filogenético entre as espécies de Synoestropsis, a partir de caracteres morfológicos.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Amostragem dos táxons

#### 3.1.1. Coleta de indivíduos

Parte do material utilizado nas análises do presente estudo foi proveniente de coletas realizadas em diversos estados brasileiros e em outros países da região Neotropical pela equipe do Laboratório de Citotaxonomia e Insetos Aquáticos (LACIA) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Outra parte do material foi obtida a partir de coletas complementares as quais foram realizadas priorizando pontos com registros prévios sobre a distribuição das espécies descritos na literatura (Tabela 1; Figura 1).

| PAÍS | ESTADO     | CIDADE          | LOCALIDADE       | COORDENADAS                 |
|------|------------|-----------------|------------------|-----------------------------|
|      |            |                 |                  | GEOGRÁFICAS                 |
| AR   | Missiones  | Salto Encantado | Arroyo Azul      | 27°00'47"S/54°57'04,9"O**   |
| AR   | Missiones  | Salto Encantado | Arroyo Cuña-Pirú | 27°05'15,2"S/54°5711,4"O**  |
|      |            |                 | (Balneário)      |                             |
| AR   | Missiones  | Salto Encantado | Arroyo Moreno    | 26°54'24,9"S/54°54'49,5"O** |
| AR   | Missiones  | Salto Encantado | Arroyo Tamanduá  | 27°02'43,6"S/55°00'12,7"O** |
| AR   | Missiones  | Salto Encantado | Arroyo Tateto    | 27°06'36,6"S/54°58'52,1"O** |
| AR   | Missiones  | Caraguatay      | -                | 26°37'00"S/54°46'00"O* **   |
| AR   | Sant Fe    | Santa Fe        | -                | 31°38'06"S/60°41'56"O* **   |
| AR   | Entre Rios | La Paz          | -                | 30°45'35"S/59°38'21"O* **   |
| BR   | Acre       | Cruzeiro do Sul | -                | 08°02'01"S/72°48'09"O*      |
| BR   | Amapá      | Serra do Navio  | Rio Cachaço,     | 00°53'18.8"N/52°01'22.9"O   |
|      | _          |                 | Cachoeira do     |                             |
|      |            |                 | Fernando         |                             |
| BR   | Amapá      | Oiapoque        | Balneário do rio | 03°47'54" N/51°48'05"O      |
|      |            |                 | Pantanahy        |                             |
|      |            |                 | (Pantanari)      |                             |
| BR   | Amapá      | Oiapoque        | Rio Oiapoque,    | 03°48'13"N/51°52'31"O       |
|      | -          |                 | Cachoeira Grande |                             |
| BR   | Amapá      | Tartarugalzinho | Igarapé no Ramal | 01°14'42"N/51°00'59"O       |
|      | -          | -               | do Cedro         |                             |
| BR   | Amapá      | Tartarugalzinho | Rio Tracajatuba  | 01°02'20"N/51°52'31"O       |
| BR   | Amazonas   | Barcelos        | Comunidade       | 00°30'18"N/63°03'30"O       |
|      |            |                 | Ararinha, Rio    |                             |
|      |            |                 | Padauari         |                             |
|      |            |                 |                  |                             |

**Tabela 1.** Localidades de procedência do material examinado, incluindo o país, estado, cidade, localidade no município e as coordenadas geográficas referentes ao ponto.

| Tabela   | a 1. Commuuşt     | <i>iU</i>                   |  |                                 |
|----------|-------------------|-----------------------------|--|---------------------------------|
| BR       | Amazonas          | Barcelos                    | Rio Demene, depois<br>da Comunidade                        | 00°20'42.6"N/62°47'25.8"O       |
|          |                   |                             | Samarina   |                                 |
| BR       | Amazonas          | Barcelos                    | Serrinha, Rio Aracá  | 00°24'39"N/63°29'12"O           |
| BR       | Amazonas          | Carauarí                    | Gupuaí   | 05°05'31"S/67°10'03"O           |
| BR       | Amazonas          | Ipixuna                     | Comunidade Estirão   | 07°21'46.7"S/71°52'07.1"O       |
| 211      |                   | -P                          | da Negra, Rio<br>Liberdade                                 | 07 21 1017 2711 02 0711 0       |
| BR       | Amazonas          | Ipixuna                     | Comunidade Lago<br>Grande, Rio<br>Gregório                 | 07°10'11.7"S/70°49'10.3"O       |
| BR       | Amazonas          | Maués                       | Rio Abacaxis   | 05° 15' 09" S/58° 41' 52" O     |
| BR       | Amazonas          | Novo Airão                  | Rio Araras (Fim do   | 02°37'37"\$/60°57'00"O          |
|          |                   |                             | Ramal)   |                                 |
| BR       | Amazonas          | Presidente<br>Figueiredo    | Fazenda Maripuanã  | 02°03'17.3"S/60°06'19.6"W       |
| BR       | Amazonas          | Presidente<br>Figueiredo    | Corredeiras Santo<br>Amaro, Igarapé da<br>Onca             | 02°02'21"S/59°50'44"O           |
| BR       | Amazonas          | Presidente<br>Figueiredo    | Balneário Sossego<br>da Pantera                            | 02°05'57"S/60°01'02"O           |
| BR       | Amazonas          | Presidente<br>Figueiredo    | Igarapé da Pantera,<br>Km 10 AM 240                        | 02°02'00"S/50°50'00"O           |
| BR       | Amazonas          | São Gabriel da<br>Cachoeira | Igarapé Ira  | 00°10'00"N/68°15'00"O           |
| BR       | Amazonas          | São Gabriel da<br>Cachoeira | Querari (Pelotão)  | 01°04'60"N/69°50'59"O           |
| BR       | Bahia             | Luis Eduardo<br>Magalhães   | Rio de Janeiro<br>(ponte), estrada de<br>Biachão das Navas | 11°53'53.2"S/45°36'38.3"O       |
| BR       | Bahia             | Correntina                  | Rio Correntina, Vila                                       | 13°31'08.6"\$/45°21'02.4.3"O    |
| BR       | Espírito<br>Santo | São Mateus                  | Santa Maria,<br>Propriedade dos<br>GAMA                    | 18°37'41.1"S/40°06'41.6"O**     |
| BR       | Espírito<br>Santo | Sooretama                   | Rio São José   | 19°07'33.1"S/40°14'26.1"O       |
| BR       | Goiás             | Jataí                       | Fazenda Nova<br>Orleans                                    | 17°53'21"S/51°46'03"O*          |
| BR       | Mato Grosso       | Araguaiana                  | Fazenda Ouro Fino,<br>Rio Araguaia                         | 15°43'01"S/51°50'59"O*          |
| BR       | Mato Grosso       | Nova<br>Xavantina           | Pindaíba   | 14°59'06"S/52°20'29"O**         |
| BR       | Mato Grosso       | Arinuanã                    | _  | <u>09°58'60''8/59°17'59''0*</u> |
| BD<br>DI | Mato              | Arinuana                    | -<br>Recerve Humbolt                                       | 10°11'00"\$/50°48'00"           |
| DK       | Grosso            | Alipualia                   | NUSTIVA MUIIDOIL   | 10 11 00 3/37 40 00 U           |
| BR       | Mato              | Nova Xavantina              | Rio Antártico  | 14°49'02 1"\$/52°29'20"O        |
| DI       | Grosso            | 10 m 2 xu milililu          | 2007 munito  |                                 |
| RP       | Mato              | Nova Vavantina              | Rio das Mortes   | 12°31'06"\$/50°58'46"0          |
| DK       | Grosso            |                             | NIU UAS WIULIUS  | 12 31 00 5/30 3040 O            |
| BR       | Minas<br>Gerais   | Cardeal Mota                | Serra do Cipó, Rio<br>Cipó                                 | 19°20'33"S/43°38'31"O**         |
|          | Ceruis            |                             | ~1P~   |                                 |

| Tabela | 1. | Continu | ıação |
|--------|----|---------|-------|
|--------|----|---------|-------|

| Taben | i 1. Commung         | uv                    |  |                              |
|-------|----------------------|-----------------------|--|------------------------------|
| BR    | Minas                | Santana do            | Rio Paraúna 3Km                                  | 15°30'43"S/43°44'29"O**      |
|       | Gerais               | Riacho                | ao 5   |                              |
| BR    | Minas                | Januário              | Pandeiros, Rio                                   | 15°30'43"S/44°30'15"O**      |
|       | Gerais               |                       | Pandeiros 50Km W                                 |                              |
| BR    | Minas<br>Gerais      | Januário              | Rio São Francisco,<br>BR 135.8 km                | 15°35'49.3"\$/44°23'23.7"O** |
| BD    | Minas                | Conceição do          | Pio Santo Antônio                                | 10°08'08"5//2°21'15"0**      |
| DK    | Gerais               | Maro Dentro           | abaixo de Morro do<br>Pilar                      | 19 08 08 3/43 21 15 0        |
| BR    | Minas                | Santo Antônio do      | Confluência entre                                | 19°17'31"\$/43°15'21"O**     |
| DR    | Gerais               | Itambé                | Rio Preto do Itambé<br>e Rio Peixe               | 17 17 51 5745 1521 0         |
| BR    | Minas                | São Goncalo do        | Parque Estadual do                               | 18°07'09"S/43°20'27"O**      |
| BI    | Gerais               | Rio Preto             | Rio Preto Rio Preto                              | 10 07 07 57 15 20 27 0       |
| חח    | Dená                 |                       | Cash a sing da Crim                              | 04005125 5119 (55000107 7110 |
| BK    | Para                 | Ruropolis             | Cachoeira do Grim                                | 04 05 35.5 8/55 00 27.7 0    |
| BR    | Pará                 | Itaituba              | Vila do Penedo, Rio<br>Tapajós                   | 05°55'17"S/57°36'16"O**      |
| BR    | Rio de<br>Janeiro    | Angra dos Reis        | Fazenda Japuyba                                  | 22°58'05"S/44°16'03"O* **    |
| BR    | Rio Grande<br>do Sul | Arroio do Tigre       | Rio Carijinho                                    | 29°20'32"S/53°09'58"O**      |
| BR    | Rio Grande           | Ibarama               | Lajeado da Gringa                                | 29°22'57''S/53°12'08''O**    |
| BR    | Rio Grande           | Bossoroca             | Rio Piratini                                     | 28°33'30"S/54°55'44"O        |
| BR    | Santa<br>Santa       | Planalto Alegre       | -  | 27°05'00"S/52°53'00"O* **    |
| BR    | Rondônia             | Colorado do           | Rio Cabixi                                       | 13°15'31.8''S/60°20'04.8''O  |
| BR    | Rondônia             | Nova Londrina         | Rio Urupá  | 11°02'05.8"S/62°08'34.1"O    |
| BR    | Rondônia             | Candeias do<br>Jamari | Rio Preto (ponte)                                | 08°52'40"S/63°38'02.2"O      |
| BR    | Rondônia             | Candeias do<br>Iamari | Balneário na cidade,<br>Rio Candeias             | 08°47'30.2"S/63°42'20.3"O    |
| BR    | Rondônia             | Guajará-Mirim         | Pacaás Novas -<br>Afluente direto do             | 11°13'00"S/64°55'00"O        |
| BR    | Roraima              | Alto Alegre           | Rio Urariquera –<br>Ilha de Maracá               | 02°53'45"N/61°29'51"O        |
| BR    | Roraima              | Amajari               | Pacaraima, Fazenda<br>São Sebastião, Rio<br>Ereu | 04°02'02,9"N/61°23'09.5"O    |
| BR    | Roraima              | Boa Vista             | Rio Cauamé                                       | 02°52'07"N/60°44'22"O        |
| BR    | Roraima              | Bonfim                | Rio Arraia                                       | 03°21'04"N/59°54'13"O        |
| BR    | Roraima              | Caracaraí             | Rio Branco                                       | 01°57'44"N/61°00'08"O        |
| DI    | Rotainia             | Caracarai             | Cacheira Bem<br>Ouerer                           | 01 57 ++ 1001 0000 0         |
| BR    | Roraima              | Urimutã               | Rio Cotingo, Ponto<br>2                          | 04°20'22.3"N/60°29'12.6"O    |
| BR    | São Paulo            | Castilho              | Rio Jupiá, Margem<br>Paulista                    | 20°54'54"S/51°33'28"O* **    |

| Tabela 1. Continuação |           |                 |                    |                         |
|-----------------------|-----------|-----------------|--------------------|-------------------------|
| CR                    | Heredia   | Puerto Viejo de | Estación Biológica | 10°26'24"N/84°00'43"O** |
|                       |           | Sarapiqui       | La Selva – Rio     |                         |
|                       |           |                 | Puerto Viejo       |                         |
| SU                    | Marowijne | Benzdorp        | Rio Lawa           | 03°26'28"N/54°01'08"O** |
| VE                    | Guarico   | Calabolo        | Hato Masaguarai,   | 08°34'12"S/67°34'48"O** |
|                       |           |                 | 45Km S Calabolo    |                         |

Legenda: \*Coordenadas retiradas do GeoLoc. \*\*Material de empréstimo. AR = Argentina; BR = Brasil; CR = Costa Rica; SU = Suriname; VE = Venezuela.



**Figura 1.** Mapa parcial da região Neotropical com a distribuição geográfica dos pontos de procedência do material examinado neste estudo.

Os estágios imaturos foram coletados através de busca ativa em substratos como pedras e raízes submersos nos corpos d'água ou com o auxílio de redes entomológicas aquáticas (Rede D ou Rapiché). Algumas larvas de quinto estádio e pupas foram separadas e individualizadas para criação a fim de se obter seus respectivos adultos. Para a coleta dos adultos foram utilizadas armadilhas do tipo Malaise estilo Townes (Townes 1972), que funciona na captura pela interceptação de voo, além de armadilhas luminosas, como Pennsylvania com luz branca (Frost 1952) ou luz negra e lençol branco iluminado com luz mista.

Parte do material coletado foi fixado e acondicionado em álcool etílico a 80%, outra parte foi fixado em álcool etílico absoluto a 99,5% e mantido em freezer a -20°C para utilização em estudos moleculares. Alguns espécimes adultos foram montados em alfinetes entomológicos e secos em estufa de luz por 12 horas, a uma temperatura aproximada de 35-40°C.

Todo material coletado e utilizado durante as análises foi depositado na Coleção de Invertebrados do INPA.

#### 3.1.2. Empréstimos

Uma parte do material utilizado nas análises foi proveniente de empréstimos de instituições nacionais e internacionais, conforme consta na Tabela 2. Este material foi solicitado a fim de aumentar a abrangência geográfica (Tabela 1) e o número de indivíduos analisados. Dentre o material solicitado como empréstimo, encontram-se os lectótipos das espécies *Synoestropsis pedicillata* e *Synoestropsis obliqua*, para auxiliar na identificação e servirem como referência.

**Tabela 2.** Coleções científicas de origem do material concedido para empréstimo. Para cada coleção é apresentado o nome da coleção e sua instituição, o acrônimo da coleção e a localização.

| NOME/INSTITUIÇÃO                                 | ACRÔNIMO  | LOCALIZAÇÃO          |
|--|-----------|----------------------|
| Coleção Zoológica Norte Capixaba - Universidade  | CZNC/UFES | Espírito Santo – BRA |
| Federal do Espírito Santo                        |           |                      |
| Coleção de Invertebrados - Instituto Nacional de | INPA      | Amazonas – BRA       |
| Pesquisas da Amazônia                            |           |                      |

| Tabela 2. Continuação                             |        |                    |
|---|--------|--------------------|
| Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino | MACN   | Buenos Aires – ARG |
| Rivadavia"  |        |                    |
| Museu de Zoologia - Universidade de São Paulo     | MZUSP  | São Paulo – BRA    |
| Polish Academic of Science                        | PAN    | Varsóvia – POL     |
| University of Minnesota, Insect Collection        | UMSP   | Minessota – EUA    |
| Universidade de Buenos Aires                      | UBA    | Buenos Aires – ARG |
| Universidade do Estado do Mato Grosso             | UNEMAT | Mato Grosso – BRA  |
|   |        |                    |

Legenda: ARG = Argentina; BRA = Brasil; EUA = Estados Unidos; POL = Polônia.

## 3.2. Material examinado

#### 3.2.1. Morfotipagem e identificação

Todos os espécimes do gênero incluindo larvas e adultos de ambos os sexos foram inicialmente separados em morfótipos. Cada morfótipo foi identificado utilizando-se a chave de identificação proposta por Flint (1978) para as espécies com registro na Amazônia e posteriormente comparadas com a descrição original correspondente. Os morfótipos que não foram possíveis de identificar com base na chave taxonômica foram comparados às descrições originais.

As principais estruturas utilizadas nos adultos para a identificação das espécies encontram-se no do padrão de venação das asas anterior e posterior e principalmente nas genitálias do macho e da fêmea. Para visualização das estruturas da genitália, alguns espécimes de cada morfótipo tiveram o abdome retirado e clarificado com KOH 10% a 100 °C por cerca de 30 a 60 minutos, segundo protocolo proposto por Blahnik e Holzenthal (2004). Para a identificação das larvas as principais características utilizadas foram a morfologia do trocantim e o formato da perna anterior. A terminologia das estruturas da genitália foi baseada em Flint *et al.* (1974; 1987) e para a morfologia dos estágios imaturos em Flint & Bueno (1982).

Para cada espécie de *Synoestropsis* como definidas no presente trabalho, é apresentado um cabeçalho taxonômico, uma diagnose comparativa, a descrição ou redescrição da espécie, a distribuição geográfica conhecida, a lista com o material examinado, comentários acerca da biologia e outras particularidades da espécie quando conveniente, além de ilustrações e fotografias das estruturas de interesse taxonômico.

Os processos de identificação e observação dos espécimes foram realizados sob microscópio estereoscópico binocular Zeiss Stemi 2000. Para observação de estruturas menores e de difícil visualização, foi utilizado um microscópio óptico Zeiss Axiostar plus. As fotografias foram obtidas em microscópio esteroscópio Leica M165C com câmera fotográfica Leica DFC420 acoplada e Software de Processamento de Imagem Digital Leica Application Suite V3.6., a fim de garantir a qualidade das imagens. Algumas imagens foram obtidas a partir de microscópio óptico Olympus BX51 com câmera fotográfica Olympus DP72 acoplada, posteriormente as imagens foram montadas no programa Combine ZP. As ilustrações foram realizadas a partir das fotografias e vetorizadas e editadas nos software Adobe Illustrator CS5 e Adobe Photoshop CS5.

#### 3.2.2. Métodos de associação por criação dos imaturos

Larvas de quinto ínstar e pupas coletadas durante as campanhas foram trazidas para o Laboratório de Criação do INPA e individualizadas em caixas de isopor de 250 g contendo areia e folhas cobertas com cerca três centímetros de água obtidos de igarapés da Reserva Ducke em Manaus e do município de Presidente Figueiredo, onde foram realizadas coletas com maior frequência.

As larvas eram alimentadas três vezes na semana, com larvas de Chironomidae (Diptera) dos próprios cursos d'água ou dos criadouros artificiais no Campus II do INPA. As caixas foram mantidas em salas com temperatura entre 23 e 25°C, a água das caixas eram trocadas uma vez por semana.

Após a emergência, a exúvia da pupa e os escleritos da larva foram fixados em álcool etílico a 80%. O adulto teve o abdome destacado e preservado juntamente com o espécime em microtubo com glicerina.

Nos casos em que não foi possível a emergência completa do adulto foi aplicado o método de associação utilizando o metamorfótipo, uma vez que as estruturas necessárias para a identificação das espécies já se encontram formadas no adulto farado.

#### 3.2.3. Descrições, redescrições e confecção da chave de identificação

Após a observação dos espécimes foi criada uma lista com os caracteres estudados para os adultos e imaturos, que posteriormente foram utilizados para as descrições e chaves de identificação. Nesta lista estão contidos caracteres previamente observados e citados nas descrições originais, os quais foram reavaliados. Ainda são propostos novos caracteres que se mostraram úteis para reconhecimento das diferentes espécies durante este estudo.

Foi elaborado um modelo de descrição para as espécies do gênero, a fim de tornar as descrições padronizadas e com os caracteres comparáveis entre as espécies. Uma nova descrição foi proposta para o gênero, tanto para adultos como para os imaturos. Foram considerados caracteres já citados como diagnósticos do gênero, além de novos caracteres que foram observados e se mostraram importantes para separá-lo dos demais gêneros da tribo Polymorphanisini bem como da subfamília Macronematinae.

Na elaboração da chave de identificação, foram selecionados caracteres diagnósticos de fácil visualização \com o objetivo de simplificar os processos de identificação. As chaves foram criadas no modelo dicotômico e cada passo acompanhado de ilustrações.

#### 3.2.4. Confecção dos mapas de distribuição geográfica

As coordenadas geográficas referentes aos pontos onde cada espécie foi coletada foram primeiramente convertidas para graus decimais. Algumas coordenadas não disponíveis nas etiquetas foram extraídas do banco de dados disponíveis no *SpeciesLink* (http://splink.cria.org.br/) através da ferramenta GeoLoc. Esses dados foram utilizados para a confecção do mapa geral contendo os pontos de procedência do material examinado (Figura 1) e para os mapas de distribuição geográfica referente a cada espécie. Os mapas foram confeccionados no programa Diva-Gis 5.2.0. (Hijmans et al. 2004).

### 3.2.5. Morfologia geral de Synoestropsis

A seguir é apresentado um glossário morfológico (Figuras 2-5) com as principais estruturas utilizadas no presente trabalho para descrição e identificação das espécies de *Synoestropsis*.



**Figura 2.** Morfologia geral do adulto de *Synoestropsis*, cabeça e tórax. A, vista dorsal do adulto; B, detalhe da cabeça, vista frontal; C, detalhe da cabeça, vista dorsal; D, tórax, vista dorsal.



**Figura 3.** Morfologia geral do adulto de *Synoestropsis*, asas e pernas. A, asa anterior; B, asa posterior, C, detalhe das pernas anterior, mediana e posterior do adulto. Abreviações: C = costa; Sc = subcosta; Rs = setor radial; R = radiais; Ma = mediana anterior; Mp = mediana posterior; M = medianas; Cu = cubitais; A = anais; CD = célula discal; CM = célula medial; CT = célula tiridial; Cx = coxa; Tc = trocânter; Fm = fêmur; Tb = tíbia; Ts = Tarso.


**Figura 4.** Morfologia geral do adulto de *Synoestropsis*, genitália. A - C, segmentos IX e X do macho; A, vista lateral; B, vista dorsal; C, vista ventral; D - E, detalhe do ápice do falo; D, vista lateral; E, vista ventral; F, genitália da fêmea, segmentos VIII, IX e X, vista ventral.



**Figura 5.** Morfologia geral da larva de *Synoestropsis*. A, hábito lateral; B, detalhe da cabeça, vistas dorsal e ventral; C, mesoesternito. Abreviações: Cx = coxa; Tr = trocânter; Fm = fêmur; Tb = tíbia; Ts = tarso.

# 3.3. Análises moleculares

# 3.3.1. Extração de DNA

No total foram selecionados 46 espécimes (Tabela 3) entre larvas e adultos de ambos os sexos para realização das extrações de DNA genômico. Três pernas torácicas e uma perna anal foram utilizadas das larvas, enquanto nos adultos, metade do tórax foi removido junto com as pernas devido a grande quantidade de músculos da região. Deste modo pelo menos uma metade do espécime foi mantida intacta e preservada como *voucher*. As extrações foram realizadas com o conjunto de reagentes do *DNeasy*® *Blood & Tissue kit* (Qiagen®), usando o protocolo recomendado pelo fabricante, modificado apenas pelo aumento do período de incubação durante o processo de lise tecidual para aproximadamente quatro horas. O DNA genômico resultante dos processos de extração foram armazenados sob refrigeração a -20°C para utilização nas reações em cadeia da polimerase (PCR).

| CÓDIGO | ESPÉCIE                    | ESTÁGIO/SEXO           | LOCALIDADE         |
|--------|----------------------------|------------------------|--------------------|
| Syn01  | Synoestropsis punctipennis | Adulto (♂)             | São Mateus – ES    |
| Syn02  | Synoestropsis obliqua      | Adulto (♀)             | Bossoroca – RS     |
| Syn03  | Synoestropsis obliqua      | Adulto (♀)             | Bossoroca – RS     |
| Syn04  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♀)             | Bossoroca – RS     |
| Syn06  | Synoestropsis pedicillata  | Adulto (♀)             | Bossoroca – RS     |
| Syn07  | Synoestropsis pedicillata  | Adulto (♀)             | Bossoroca – RS     |
| Syn08  | Synoestropsis pedicillata  | Adulto $(\mathcal{Z})$ | Bossoroca – RS     |
| Syn09  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♂)             | Bossoroca – RS     |
| Syn10  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♀)             | Sooretama – ES     |
| Syn11  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (🖒)             | L.E Magalhães – BA |
| Syn12  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♂)             | L.E Magalhães – BA |
| Syn13  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♂)             | Correntina – BA    |
| Syn14  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♀)             | L.E Magalhães – BA |
| Syn15  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♀)             | L.E Magalhães – BA |
| Syn16  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♀)             | L.E Magalhães – BA |
| Syn17  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♀)             | C. do Jamari – RO  |
| Syn18  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♂)             | N. Xavantina – MT  |
| Syn19  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♂)             | C. do Jamari – RO  |
| Syn20  | Synoestropsis grisoli      | Adulto (♂)             | N. Xavantina – MT  |
| Syn21  | Synoestropsis furcata      | Adulto (♀)             | N. Xavantina – MT  |
| Syn22  | Synoestropsis furcata      | Adulto (♂)             | Nova Londrina – RO |
| Syn23  | Synoestropsis grisoli      | Adulto $(\bigcirc)$    | Oiapoque – AP      |

**Tabela 3.** Espécimes dos quais foram obtidas as sequências parciais do gene Citocromo Oxidase Subunidade I (COI). Para cada espécime é apresentado o código atribuído ao espécime, a espécie, o estágio de desenvolvimento e o sexo e a localidade.

| Tabela 3. Continuação |                           |                     |                      |  |
|-----------------------|---------------------------|---------------------|----------------------|--|
| Syn24                 | Synoestropsis grisoli     | Adulto $(\bigcirc)$ | Oiapoque – AP        |  |
| Syn25                 | Synoestropsis grisoli     | Adulto $(\bigcirc)$ | Manaus – AM          |  |
| Syn27                 | Synoestropsis sp. nov.    | Adulto (🖒)          | Ipixuna – AM         |  |
| Syn28                 | Synoestropsis sp. nov.    | Adulto (🖒)          | Ipixuna – AM         |  |
| Syn30                 | Synoestropsis sp. nov.    | Adulto $(\bigcirc)$ | Ipixuna – AM         |  |
| Syn31                 | Synoestropsis furcata     | Adulto $(\bigcirc)$ | Caracaraí – RR       |  |
| Syn34                 | Synoestropsis furcata     | Adulto (♂)          | Boa vista – RR       |  |
| Syn35                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | Bossoroca – RS       |  |
| Syn36                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | Bossoroca – RS       |  |
| Syn37                 | Synoestropsis pedicillata | Larva               | Bossoroca – RS       |  |
| Syn38                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | Bossoroca – RS       |  |
| Syn39                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | Sooretama – ES       |  |
| Syn40                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | L.E Magalhães – BA   |  |
| Syn41                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | N. Xavantina – MT    |  |
| Syn42                 | Synoestropsis furcata     | Larva               | N. Xavantina – MT    |  |
| Syn43                 | Synoestropsis sp. nov.    | Larva               | Araguaiana – MT      |  |
| Syn44                 | Synoestropsis sp. nov.    | Larva               | Nova Londrina – MT   |  |
| Syn45                 | Synoestropsis sp. nov.    | Larva               | Colorado do W – RO   |  |
| Syn46                 | Synoestropsis furcata     | Larva               | Nova Londrina – RO   |  |
| Syn47                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | Colorado do W – RO   |  |
| Syn48                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | Tartarugalzinho - AP |  |
| Syn49                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | Boa Vista – RR       |  |
| Syn51                 | Synoestropsis grisoli     | Larva               | Barcelos – AM        |  |
| Syn52                 | Synoestropsis sp. nov.    | Larva               | Barcelos – AM        |  |

Seis sequências foram extraídas do banco de dados do GenBank (Tabela 4). Três espécimes de *Synoestropsis*, além de outros três espécimes pertencentes a dois gêneros próximos, que foram adicionados às análises como grupo externo.

| espécime é apresentado o número de acesso, a espécie e o trabalho de origem dos dados. |         |            |  |
|--|---------|------------|--|
| N° DE  | ESPÉCIE | REFERÊNCIA |  |

**Tabela 4.** Espécimes dos quais as sequências de COI foram obtidas do GenBank. Para cada espécime é apresentado o número de acesso, a espécie e o trabalho de origem dos dados.

| ACESSO   |                             |                          |  |
|----------|-----------------------------|--------------------------|--|
| FN179078 | Synoestropsis grisoli       | Johanson & Espeland 2010 |  |
| JQ935666 | Synoestropsis nr. grisoli   | Geraci et al. 2012       |  |
| AF436565 | Synoestropsis punctipennis  | Kjer et al. 2001         |  |
| JQ935649 | Oestropsyche vitrina        | Geraci et al. 2012       |  |
| JQ935650 | Polymorphanisus bipunctatus | Geraci et al. 2012       |  |
| FN179088 | Polymorphanisus similis     | Johanson & Espeland 2010 |  |
|          |                             |                          |  |

## 3.3.2. Reações em cadeia da polimerase (PCR)

As reações em cadeia da polimerase foram feitas com volume final de 25  $\mu$ L, contendo 3  $\mu$ L de DNA juntamente com 2,5  $\mu$ L de tampão de carregamento (TP), 2,5  $\mu$ L de dNTPs (Invitrogen<sup>TM</sup> Life Technologies<sup>TM</sup>) e 0,3  $\mu$ L da enzima *taq polímerase* (GoTaq® DNA Polymerase – PROMEGA). O volume de MgCl<sub>2</sub> foi alterado de 3,0  $\mu$ L para 3,3  $\mu$ L e o volume de cada iniciador (direto e reverso) (Folmer *et al.* 1994) (Tabela 6) foi alterado de 1,2  $\mu$ L para 1,0  $\mu$ L, pois essas modificações tornaram mais eficazes a amplificação dos fragmentos para as espécies do grupo. Para complementar o volume total da solução foram adicionados 10,4  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O ultrapura. Os produtos da PCR foram armazenados sob refrigeração a -20°C.

As reações foram realizadas em termocicladores automáticos Swift Maxi Thermal Cycler (ESCO) e TC-512 (Techine) do Laboratório de Bioprospecção de Bioativos de Insetos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. As etapas do programa da PCR são detalhadas na tabela 5.

**Tabela 5.** Programa utilizado nas reações em cadeia da polimerase. Para cada fase é apresentado o número de ciclos, a temperatura no qual ocorre o processo e o tempo em que ocorre a respectiva fase.

| ЕТАРА                      | N° DE CICLOS | TEMPERATURA | TEMPO |
|----------------------------|--------------|-------------|-------|
| Desnaturação inicial       | 1            | 94 °C       | 3 min |
| Desnaturação               |              | 94 °C       | 1 min |
| Anelamento dos iniciadores | 36           | 45 °C       | 1 min |
| Extensão                   |              | 72 °C       | 2 min |
| Extensão final             | 1            | 72 °C       | 5 min |

**Tabela 6.** Sequencia dos iniciadores utilizados nas PCRs para amplificação das sequências de COI. Para cada iniciador é apresentado o nome, a sequencia de bases correspondente, o sentido da fita e a referência.

| NOME    | SEQUÊNCIA                                 | FITA    | REFERÊNCIA         |
|---------|---|---------|--------------------|
| LCO1490 | 5'- GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'  | Direta  | Folmer et al. 1994 |
| HC02198 | 5'- TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3' | Reversa | Folmer et al. 1994 |

# 3.3.3. Eletroforese dos produtos amplificados

Para cada PCR foi realizada eletroforese em gel de agarose 1%, utilizando-se 3 µL da solução resultante coradas com GelRed<sup>TM</sup> para confirmar a amplificação do fragmento desejado além de estimar o comprimento, tomando como base o marcador *Markers* (Promega<sup>TM</sup>). Cada eletroforese foi realizada em cuba contendo o gel de agarose, com as amostras, submerso em tampão TBE 0,5X (Sambrook & Russell 2001) com uma carga de 74V por cerca de 50 minutos. Para a visualização dos produtos amplificados foi utilizado um fotodocumentador com luz ultravioleta (UV).

Os produtos de PCR com bandas positivas (Figura 6) foram enviados para purificação e sequenciamento na empresa Macrogen Inc. com sede em Seoul, Coreia do Sul.



**Figura 6.** Perfil eletroforético dos produtos amplificados por PCR do gene COI de diferentes espécies de *Synoestropsis* em gel de agarose 1% corados com gelRed. As bandas escuras marcadas com (+) representam os fragmentos de DNA amplificados. Os espaços marcados com (-) representam as amostras onde os fragmentos não foram amplificados. A primeira coluna apresenta o marcador *Markers* com o pesos moleculares, em pares de bases (pb), prédefinidos para estimar o valor dos fragmentos amplificados.

### 3.3.4. Edição e alinhamento das sequências

A qualidade das sequências foi verificada com base na análise do eletroferograma. A edição e alinhamento das sequências foi realizada no software *BioEdit Sequence Alignment* utilizando a opção *Accessory Application – Clustal W Multiple Alignment*. Primeiramente, para cada espécime sequenciado foi criada uma sequência consenso a partir do alinhamento das fitas direta e reversa (*reverse complement*). As sequências consensos de todos os

espécimes foram alinhadas posteriormente de modo que regiões homólogas do fragmento pudessem ser comparadas durante as análises.

### 3.3.5. Métodos de análise dos dados moleculares

As sequências devidamente alinhadas foram analisadas no *software* MEGA 5.2. (Tamura *et al.* 2011). As distâncias genéticas entre os espécimes foram calculadas através da opção *Compute Pairwise distances*. Os espécimes analisados foram divididos em grupos correspondentes as espécies e dessa forma foi possível calcular também as distâncias intraespecíficas (*Compute Within Group Mean Distance*) e interespecíficas (*Compute Between Group Mean Distance*) separadamente. Todos os cálculos de distância genética foram realizados com base no modelo evolutivo Kimura 2-Parâmetros (Kimura 1980).

Foram utilizadas três diferentes métodos para a análise das sequências. A Máxima Parcimônia que minimiza o número de passos evolutivos na busca pela árvore mais parcimoniosa, considerando que se uma característica é compartilhada por dois ou mais táxons esta foi herdada do último ancestral comum a eles. A Máxima Verossimilhança utiliza modelos probabilísticos de evolução considerando cada sítio indistintamente (Schneider 2007). Diferentemente dos outros métodos, *Neighbor-joining* trabalha com dados de distância genética entre os indivíduos de modo a minimizar o comprimento total das árvores (Saitou & Nei 1987). Para os métodos de reconstrução que trabalham com modelos de evolução prédeterminados foi utilizado o Kimura 2-Parâmetros (Kimura 1980).

Para todos os métodos foi calculada a medida de suporte de *Bootstrap* a fim de se verificar a robustez dos ramos formados. A partir da árvore gerada inicialmente por cada método foram rodadas 1000 réplicas e os valores em percentual de quantas vezes cada ramo foi recuperado são mostrados na base de cada nó interno. A significância dos ramos resultantes do teste de suporte (*Bootstrap*) foi considerada da seguinte forma: valores fracos (51-69%), valores moderados (70-94%) e valores significativos (95-100%) (Hillis & Bull 1993; Schneider 2007).

Para o estabelecimento das associações entre os diferentes estágios testados além da associação sexual, foram adotados dois parâmetros: os valores de *Bootstrap* precisam ser considerados significativos, ou seja, maiores que 95% e o os indivíduos devem estar inseridos num clado considerado monoespecífico (Zhou *et al.* 2007).

# 3.4. Análises filogenéticas

#### 3.4.1. Seleção do grupo externo

Dentro de Macronematinae a divisão entre Macronematini e Polymorphanisini é corroborada por análises filogenéticas morfológicas e moleculares (Geraci *et al.* 2005; Kjer *et al.* 2001). Com o objetivo de verificar o monofiletismo de *Synoestropsis* dentro da tribo Polymorphanisini, foram selecionados espécies dos diferentes gêneros que pertencem ao grupo. As espécies foram *Oestropsyche vitrina* (Hagen, 1859), *Aethaloptera sexpuncatata* (Kolenati, 1859) e *Polymorphanisus fuscus* (Ulmer, 1905).

#### 3.4.2. Montagem da matriz de dados morfológicos

A codificação dos caracteres foi baseada apenas em indivíduos adultos e incluiu sete espécies compondo o grupo interno. A escolha dos caracteres foi realizada respeitando-se os seguintes princípios: os caracteres devem ser independentes, devem ser herdáveis e devem ser homólogos. A partir da codificação de caracteres foram propostas as hipóteses de homologia primária (DePinna 1991) para serem testadas durante as análises.

Não foram utilizados caracteres larvais nas análises filogenéticas, uma vez que não há dados de todas as espécies disponíveis. Pelo fato da matriz de dados ser relativamente pequena e com poucos táxons terminais, a adição de muitos caracteres perdidos (*missing data*) incluiria muitos ruídos nos resultados.

A matriz de caracteres morfológicos foi montada no programa Winclada 1.8 (Nixon 2002) contendo caracteres binários e multiestados, todos tratados como não ordenados. No caso de estado não aplicável foi adotada a simbologia (-).

# 3.4.3. Opções analíticas

As análises foram conduzidas utilizando-se o princípio da Máxima Parcimônia. Foram realizadas buscas heurísticas com os caracteres sendo tratados de duas formas: inicialmente com pesagem uniforme e posteriormente utilizando pesagem implícita com valor de concavidade (k) variando entre 1 e 10 (Goloboff 1993).

As análises foram realizadas no programa *Tree Analysis Using New Technology* (TNT) com a opção de busca *Tree Bisection and Reconnection* (TBR) (Goloboff *et al.* 2003). Para cada análise foram realizadas 1000 réplicas salvando 10 árvores por réplica com espaço na memória para 10000 árvores.

No caso de caracteres com distribuição ambígua foi escolhida a opção de optimização *Fast Optimization*. Para todas as árvores resultantes das análises foram calculados como medida de suporte o índice de decaimento de Bremer considerando árvores subótimas com até 10 passos a mais que a árvore mais parcimoniosa. Também foi estabelecida a Diferença de Frequência (CG) dos ramos através de uma busca heurística realizando 1000 réplicas com reamostragens simétricas (p=33).

# 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1. Associação de larvas e adultos e associação sexual através do COI

Foram analisadas 54 sequências sendo 49 compondo o grupo interno e cinco como grupo externo No total foram utilizados 635 pares de bases após o alinhamento final das sequências, dos quais 311 foram variáveis e destes 261 foram informativos para parcimônia. A composição média de nucleotídeos mostrou uma frequência significativa das bases adenina (41,9%) e timina (36%) o que segundo Wilson *et al.* (2000) é comum com para o genoma mitocondrial de artrópodes em geral.

Como resultado das análises, foi possível a associação de quatro morfótipos de larvas com seus respectivos estágios adultos, *Synoestropsis pedicillata*, *Synoestropsis grisoli*, *Synoestropsis furcata* e *Synoestropsis* sp. nov.. Além disso, foram obtidas associações entre machos e fêmeas de cinco espécies, sendo as quatro citadas anteriormente e *Synoestropsis punctipennis*. Obteve-se a formação de clados monoespecíficos em todos os métodos de reconstrução, com exceção de *S. grisoli* que apesar de formar um grande clado, não apresentou resultados significativos de suporte.

As tabelas 7 e 8 apresentam, respectivamente, os valores médios de distâncias intraespecíficas e interespecíficas. As distâncias genéticas foram calculadas entre pares de sequências e são apresentadas na Tabela 9. A maior média de distância genética

intraespecífica foi apresentada por *S. grisoli* (10,25%  $\pm$  0,93). A menor média de distância interespecífica foi apresentada entre *S. grisoli* e *S. pedicillata* (15,4%  $\pm$  1,7).

| Espécie         | Distância média (%) | Desvio-padrão |
|-----------------|---------------------|---------------|
| S. pedicillata  | 0,00                | 0,00          |
| S obliqua       | 1,49%               | $\pm 0,05$    |
| S. punctipennis | 7,90%               | $\pm 1,41$    |
| S. grisoli      | 10,25%              | ±0,93         |
| S. furcata      | 2,22%               | $\pm 0,05$    |
| S. sp. nov.     | 9,52%               | $\pm 1,02$    |

**Tabela 7.** Valores médios de distância genética intraespecífica para espécies do gênero *Synoestropsis*. Para cada espécie é apresentada a distância junto com o desvio-padrão.

**Tabela 8.** Valores médios de distância genética interespecífica para espécies do gênero *Synoestropsis*. Para cada espécie é apresentada a distância (abaixo da diagonal) junto com o desvio-padrão (acima da diagonal).

| Espécie        | S. pedicillata | S       | S. punctipennis | <i>S</i> . | S. furcata   | S. sp. nov. |  |
|----------------|----------------|---------|-----------------|------------|--------------|-------------|--|
|                |                | obliqua |                 | grisoli    |              |             |  |
| S. pedicillata | -              | ± 2,20  | $\pm 2,40$      | $\pm 1,70$ | $\pm 2,80$   | $\pm 2,20$  |  |
| S obliqua      | 17,60%         | -       | $\pm 2,30$      | $\pm 1,90$ | $\pm 2,\!40$ | $\pm 2,30$  |  |
| <i>S</i> .     | 21,50%         | 21,80%  | -               | $\pm 1,90$ | $\pm 2,30$   | $\pm 2,30$  |  |
| punctipennis   |                |         |                 |            |              |             |  |
| S. grisoli     | 15,40%         | 18,80%  | 21,00%          | -          | $\pm 2,20$   | $\pm 1,70$  |  |
| S. furcata     | 26,90%         | 21,00%  | 22,80%          | 22,70%     | -            | $\pm 2,30$  |  |
| S. sp. nov.    | 19,30%         | 20,20%  | 22,60%          | 17,80%     | 21,80%       | -           |  |

Devido a grande divergência dos valores de distância genética entre os indivíduos, o estabelecimento de um corte entre valores intra e interespecíficos tornou-se uma tarefa complicada. Assumir um valor arbitrário entre esses limites pode acarretar em uma interpretação errônea sobre a diversidade das espécies, visto que para cada grupo, eles podem apresentar variações (Wiemers & Fiedler 2007; Zhou *et al.* 2007). Esses dados devem ser analisados com cautela nos diferentes táxons e a interpretação dos limites deve ser proposta para cada grupo.

Entre os valores médios de distância (Tabela 7 e 8) é possível verificar que existe um intervalo definido onde o máximo intraespecífico é de cerca de 10% e o mínimo de interespecífico esta em cerca de 15%. Entretanto quando os valores de distâncias entre os

pares de sequências são analisados é possível verificar a ocorrência de sobreposição em determinados momentos. Temos como exemplo os espécimes *Syn09* e *Syn17* ambos interpretados como pertencentes a *S. grisoli* com distância de 15,4%. Outro exemplo ocorre entre os espécimes *Syn08* (*S. pedicillata*) e *Syn17* (*S. grisoli*) que mesmo pertencendo a diferentes espécies apresentam distância genética de 14,8% (Tabela 9). Devido a esses casos, optou-se por propor um intervalo de segurança (entre 10 e 17%) onde pode ocorrer sobreposição. Dessa forma valores abaixo de 10%, estão dentro do limite intraespecífico aceito para o gênero, enquanto valores acima de 17% foram assumidos como interespecíficos.

Os três métodos de reconstrução apresentaram resultados congruentes quanto a associações adulto/larva e também para a associação sexual (Figuras 7-9). Além disso, os clados formados por indivíduos da mesma espécie foram mantidos em todos os métodos, com valores de suporte significativos, com exceção para *S. grisoli* (discutido a seguir). As maiores divergências entre os métodos foram encontradas no posicionamento das espécies. Na Máxima Parcimônia (Figuras 7 e 10) *S. furcata* e *S. punctipennis* ficaram mais próximos entre si, enquanto *S. obliqua* ficou posicionada como próxima a *S. pedicillata*. Entre os métodos da Máxima Verossimilhança (Figuras 8 e 11) e *Neighbor-joining* (Figuras 9 e 12) as divergências ficaram apenas entre a posição de *S. furcata* e *S. punctipennis* mais externamente as outras espécies. Embora diferentes topologias foram construídas entre os métodos os valores de suporte destas relações ficaram aquém do considerado significativo.

Nas árvores apresentadas, os espécimes identificados como *Synoestropsis furcata* formaram um clado monofilético contendo larvas, machos e fêmeas de diferentes localidades (MT, RO e RR). Estes resultados foram corroborados com os métodos de associação morfológica a partir da criação de larvas do estado de Roraima. Os dados confirmam a associação realizada indiretamente por Calor (2008) com larvas e adultos coletados na mesma localidade do estado do Mato Grosso.

Tabela 9. Valores de distâncias genéticas absolutas entre pares de sequências dos indivíduos estudados.

| Espécimes                        | 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30  |
|----------------------------------|---|
| (1) Syn01_Spuctipennis_ES_Mc     |   |
| (2) Syn02_Sobliqua_RS_Fm         | 0,200   |
| (3) Syn03 S. obliqua RS Fm       | 0.210 0.015   |
| (4) Syn04_Sgrisoli_RS_Fm         | 0,182 0,189 0,198   |
| (5) Syn06_Spedicillata_RS_Fm     | 0,210 0,169 0,185 0,161   |
| (6) Syn07_Spedicillata_RS_Fm     | 0,210 0,169 0,185 0,161 0,000   |
| (7) Syn08_Spedicillata_RS_Mc     | 0,210 0,169 0,185 0,161 0,000 0,000   |
| (8) Syn09_Sgrisoli_RS_Mc         | 0,182 0,189 0,198 0,000 0,161 0,161 0,161   |
| (9)Syn10_Sgrisoli_ES_Fm          | 0,204 0,165 0,174 0,136 0,142 0,142 0,142 0,136   |
| (10) Syn11_Sgrisoli_BA_Mc        | 0,191 0,179 0,188 0,033 0,151 0,151 0,151 0,033 0,128   |
| (11) Syn12_Sgrisoli_BA_Mc        | 0,191 0,179 0,188 0,033 0,151 0,151 0,151 0,033 0,128 0,000   |
| (12) Syn13_Sgrisoli_BA_Mc        | 0,195 0,186 0,195 0,038 0,151 0,151 0,151 0,038 0,128 0,013 0,013   |
| (13) Syn14_Sgrisoli_BA_Fm        | 0,191 0,179 0,188 0,033 0,151 0,151 0,151 0,033 0,128 0,000 0,000 0,013   |
| (14) Syn15_Sgrisoli_BA_Fm        | 0,191 0,179 0,188 0,033 0,151 0,151 0,151 0,033 0,128 0,000 0,000 0,013 0,000   |
| (15) Syn16_Sgrisoli_BA_Fm        | 0,191 0,179 0,188 0,033 0,151 0,151 0,151 0,033 0,128 0,000 0,000 0,013 0,000 0,000   |
| (16) Syn17_Sgrisoli_RO_Fm        | 0,181 0,188 0,204 0,157 0,148 0,148 0,148 0,157 0,121 0,148 0,157 0,148 0,148 0,148 0,148 0,148   |
| (17) Syn18_Sgrisoli_MT_Mc        | 0,191 0,182 0,192 0,030 0,151 0,151 0,151 0,030 0,128 0,007 0,007 0,015 0,007 0,007 0,007 0,051   |
| (18) Syn19_Sgrisoli_RO_Mc        | 0,201 0,215 0,211 0,146 0,166 0,166 0,166 0,146 0,134 0,143 0,143 0,155 0,143 0,143 0,143 0,146 0,143   |
| (19) Syn20_Sgrisoli_MT_Mc        | 0,204 0,181 0,187 0,133 0,157 0,157 0,157 0,133 0,041 0,130 0,130 0,137 0,130 0,130 0,130 0,130 0,130 0,130 0,124   |
| (20) Syn21_Sfurcata_MT_Fm        | 0,225 0,207 0,222 0,275 0,275 0,275 0,275 0,222 0,244 0,232 0,232 0,236 0,232 0,232 0,232 0,235 0,255   |
| (21) Syn22_Sfurcata_RO_Mc        | 0,221 0,207 0,213 0,215 0,275 0,275 0,275 0,215 0,237 0,225 0,225 0,225 0,225 0,225 0,225 0,236 0,225 0,231 0,244 0,015   |
| (22) Syn23_Sgrisoli_AP_Fm        | 0,197 0,215 0,232 0,162 0,161 0,161 0,161 0,162 0,131 0,148 0,148 0,148 0,148 0,148 0,125 0,151 0,149 0,134 0,250 0,243   |
| (23) Syn24_Sgrisoli_AP_Fm        | 0,201 0,218 0,235 0,165 0,164 0,164 0,165 0,134 0,151 0,151 0,151 0,151 0,151 0,151 0,151 0,152 0,137 0,254 0,254 0,256 0,002   |
| (24) Syn25_Sgrisoli_AM_Fm        | 0,205 0,189 0,192 0,154 0,167 0,167 0,167 0,154 0,149 0,138 0,144 0,138 0,138 0,138 0,170 0,165 0,224 0,224 0,224 0,158 0,161   |
| (25) Syn2/_SspnovAM_Mc           | 0,211 0,197 0,203 0,184 0,192 0,192 0,184 0,142 0,183 0,183 0,193 0,183 0,183 0,183 0,170 0,190 0,180 0,145 0,222 0,215 0,183 0,186 0,179   |
| (26) Syn28_SspnovAM_Mc           | 0,211 0,197 0,203 0,184 0,192 0,192 0,192 0,184 0,142 0,183 0,183 0,193 0,183 0,183 0,170 0,190 0,180 0,145 0,222 0,215 0,183 0,179 0,000   |
| (27) Syn30_SspnovAM_Fm           |   |
| (28) Syn31_SIurcata_KK_FIII      | 0,221 0,207 0,220 0,250 0,250 0,250 0,2219 0,229 0,229 0,229 0,229 0,229 0,229 0,229 0,229 0,229 0,221 0,211 0,026 0,025 0,250 0,259 0,227 0,211 0,218  |
| (29) Syn34_STurcata_KK_INC       |   |
| (31) Syn36 S grisoli PS Ly       |   |
| (32) Syn37 S pedicillata RS Ly   |   |
| (32) Syn38 S grisoli RS Ly       |   |
| (34) Syn39 S. grisoli ES Ly      |   |
| (35) Syn40 S. grisoli BA Ly      | 0.188 0.182 0.191 0.036 0.148 0.148 0.148 0.036 0.125 0.002 0.002 0.015 0.002 0.002 0.015 1 0.010 0.146 0.128 0.236 0.228 0.151 0.154 0.141 0.186 0.186 0.186 0.232 0.228 0.038   |
| (36) Syn41 S. grisoli MT Lv      | 0.211 0.208 0.210 0.121 0.160 0.160 0.160 0.121 0.112 0.121 0.121 0.121 0.121 0.121 0.121 0.121 0.121 0.121 0.118 0.098 0.228 0.217 0.161 0.164 0.148 0.160 0.160 0.160 0.211 0.214 0.118   |
| (37) Syn42 S. furcata MT Ly      | 0.228 0.204 0.217 0.226 0.271 0.271 0.271 0.271 0.226 0.234 0.229 0.229 0.240 0.229 0.229 0.229 0.229 0.228 0.236 0.242 0.237 0.018 0.018 0.243 0.246 0.238 0.208 0.208 0.208 0.031 0.033 0.229   |
| (38) Syn43 S. sp. nov. MT Lv     | 0.227 0.210 0.213 0.195 0.205 0.205 0.205 0.205 0.195 0.170 0.189 0.189 0.189 0.189 0.189 0.179 0.189 0.179 0.154 0.214 0.221 0.192 0.196 0.185 0.090 0.090 0.090 0.225 0.228 0.192   |
| (39) Syn44_SspnovMT_Lv           | 0,221 0,207 0,210 0,202 0,199 0,199 0,199 0,202 0,170 0,195 0,195 0,195 0,195 0,195 0,195 0,175 0,175 0,175 0,154 0,218 0,225 0,179 0,183 0,192 0,084 0,084 0,084 0,229 0,232 0,199   |
| (40) Syn45_SspnovRO_Lv           | 0,210 0,200 0,197 0,202 0,192 0,192 0,192 0,202 0,163 0,188 0,188 0,192 0,188 0,188 0,188 0,188 0,173 0,195 0,175 0,157 0,218 0,218 0,218 0,179 0,183 0,185 0,084 0,084 0,084 0,029 0,232 0,199   |
| (41) Syn46_Sfurcata_RO_Lv        | 0,221 0,204 0,210 0,215 0,275 0,275 0,275 0,275 0,215 0,237 0,225 0,225 0,225 0,225 0,225 0,225 0,225 0,226 0,225 0,226 0,228 0,244 0,018 0,002 0,243 0,246 0,227 0,215 0,215 0,215 0,025 0,028 0,219   |
| (42) Syn47_Sgrisoli_RO_Lv        | 0,175 0,175 0,184 0,143 0,142 0,142 0,142 0,142 0,143 0,104 0,134 0,134 0,134 0,134 0,134 0,134 0,115 0,134 0,044 0,119 0,214 0,211 0,146 0,149 0,114 0,170 0,170 0,170 0,211 0,214 0,140   |
| (43) Syn48_Sgrisoli_AP_Lv        | 0,191 0,179 0,188 0,033 0,151 0,151 0,151 0,033 0,128 0,000 0,000 0,013 0,000 0,000 0,000 0,148 0,007 0,143 0,130 0,232 0,225 0,148 0,151 0,138 0,183 0,183 0,183 0,229 0,225 0,036   |
| (44) Syn49_Sgrisoli_RR_Lv        | 0,198 0,185 0,195 0,030 0,157 0,157 0,157 0,030 0,127 0,010 0,010 0,018 0,010 0,010 0,010 0,154 0,010 0,152 0,139 0,236 0,228 0,158 0,161 0,144 0,196 0,196 0,196 0,232 0,228 0,033   |
| (45) Syn51_Sgrisoli_AM_Lv        | 0,205 0,189 0,192 0,154 0,167 0,167 0,167 0,154 0,149 0,138 0,138 0,144 0,138 0,138 0,138 0,170 0,141 0,119 0,165 0,224 0,224 0,224 0,158 0,161 0,000 0,179 0,179 0,179 0,227 0,231 0,151   |
| (46) Syn52_SspnovLv              | 0,210 0,194 0,200 0,195 0,185 0,185 0,185 0,185 0,195 0,160 0,195 0,195 0,195 0,195 0,195 0,195 0,196 0,170 0,189 0,172 0,157 0,214 0,214 0,176 0,179 0,182 0,087 0,087 0,087 0,218 0,221 0,192   |
| (47) Oestropsyche_vitrina        | 0,240 0,206 0,219 0,243 0,253 0,253 0,253 0,253 0,243 0,243 0,243 0,243 0,243 0,243 0,243 0,243 0,243 0,257 0,246 0,250 0,243 0,266 0,258 0,260 0,264 0,264 0,264 0,206 0,206 0,204 0,240 0,243 0,245 0,246 0 |
| (48) Polymorphanisus_bipunctatus | 0,226 0,243 0,253 0,233 0,229 0,229 0,229 0,229 0,223 0,246 0,233 0,233 0,233 0,233 0,233 0,233 0,240 0,237 0,246 0,264 0,230 0,267 0,271 0,257 0,250 0,250 0,250 0,250 0,220 0,233 0,233   |
| (49) Polymorphanisus_similis     | 0,254 0,327 0,320 0,298 0,316 0,316 0,316 0,298 0,313 0,303 0,303 0,303 0,314 0,303 0,303 0,303 0,309 0,299 0,313 0,333 0,327 0,319 0,305 0,309 0,286 0,321 0,321 0,321 0,306 0,303 0,298   |
| (50) Snr_grisoli                 | 0,212 0,193 0,195 0,148 0,174 0,174 0,174 0,174 0,148 0,156 0,145 0,145 0,145 0,145 0,145 0,145 0,145 0,145 0,125 0,165 0,228 0,224 0,165 0,168 0,010 0,180 0,180 0,180 0,228 0,231 0,145 0 |
| (51) Spunctipennis               | 0,079 0,230 0,233 0,222 0,221 0,221 0,222 0,220 0,232 0,232 0,232 0,232 0,232 0,232 0,239 0,220 0,239 0,220 0,246 0,225 0,235 0,235 0,235 0,231 0,222   |
| (52) Sgrisoli                    | 0,184 0,162 0,165 0,124 0,142 0,142 0,142 0,142 0,124 0,121 0,121 0,121 0,121 0,121 0,110 0,115 0,113 0,049 0,238 0,224 0,110 0,113 0,140 0,145 0,145 0,145 0,224 0,220 0,121 0 |
| (53) Macronema_exophytalmum      | 0,236 0,193 0,206 0,242 0,214 0,214 0,214 0,242 0,193 0,235 0,231 0,235 0,235 0,235 0,235 0,235 0,241 0,213 0,248 0,241 0,254 0,258 0,246 0,213 0 |
| (54) Macrostemum_ulmeri          | 0,240 0,195 0,196 0,256 0,211 0,211 0,216 0,196 0,243 0,243 0,243 0,243 0,243 0,243 0,243 0,243 0,247 0,244 0,219 0,262 0,244 0,250 0,254 0,227 0,210 0 |
| (55) Ext0/3b_Sgrisoli_AM_Fm      | 0,151 0,159 0,162 0,127 0,139 0,139 0,127 0,041 0,118 0,118 0,118 0,118 0,118 0,118 0,118 0,116 0,052 0,254 0,220 0,107 0,110 0,137 0,142 0,142 0,142 0,217 0,124   |
| (50) EXHOUID_Sgrisoli_AM_MC      | 0,181 0,193 0,102 0,127 0,139 0,139 0,139 0,127 0,041 0,118 0,118 0,118 0,118 0,118 0,118 0,118 0,116 0,052 0,254 0,220 0,107 0,110 0,137 0,142 0,142 0,142 0,220 0,217 0,124   |

47

0.161 0,000 0,161 0,136 0,142 0,136 0.036 0.148 0.036 0.125 0,121 0,160 0,121 0,112 0,124 0,226 0,271 0,226 0,234 0,232 0,228 0,195 0,205 0,195 0,170 0,192 0,157 0,214 0,202 0,199 0,202 0,170 0,198 0,163 0,218 0,010  $0,202 \ \ 0,192 \ \ 0,202 \ \ 0,163 \ \ 0,192 \ \ 0,163 \ \ 0,218 \ \ 0,020 \ \ 0,010$ 0,215 0,275 0,215 0,237 0,228 0,221 0,020 0,221 0,225 0,218 0,143 0,142 0,143 0,104 0,137 0,115 0,228 0,183 0,179 0,166 0,207 0,033 0,151 0,033 0,128 0,002 0,121 0,229 0,189 0,195 0,188 0,225 0,134 0,030 0,157 0,030 0,127 0,012 0,127 0,239 0,199 0,205 0,202 0,228 0,140 0,010 0,154 0,167 0,154 0,149 0,141 0,148 0,238 0,185 0,192 0,185 0,227 0,114 0,138 0,144 0,195 0,185 0,195 0,160 0,199 0,159 0,221 0,030 0,020 0,020 0,214 0,163 0,195 0,199 0,182 0,243 0,253 0,243 0,226 0,246 0,257 0,251 0,233 0,223 0,223 0,262 0,223 0,243 0,250 0,264 0,219 0,233 0,229 0,233 0,246 0,237 0,257 0,237 0,281 0,274 0,267 0,230 0,219 0,233 0,237 0,257 0,271 0,236 0,298 0,316 0,298 0,313 0,299 0,312 0,327 0,333 0,333 0,324 0,319 0,294 0,303 0,306 0,286 0,325 0,323 0,264 0,148 0,174 0,148 0,156 0,148 0,146 0,238 0,182 0,188 0,188 0,228 0,123 0,145 0,148 0,010 0,176 0,271 0,268 0,289 0,222 0,221 0,222 0,220 0,229 0,245 0,235 0,249 0,242 0,238 0,235 0,217 0,232 0,239 0,246 0,238 0,253 0,223 0,272 0,253  $0,124 \hspace{0.1cm} 0,142 \hspace{0.1cm} 0,124 \hspace{0.1cm} 0,044 \hspace{0.1cm} 0,124 \hspace{0.1cm} 0,104 \hspace{0.1cm} 0,227 \hspace{0.1cm} 0,154 \hspace{0.1cm} 0,148 \hspace{0.1cm} 0,224 \hspace{0.1cm} 0,090 \hspace{0.1cm} 0,121 \hspace{0.1cm} 0,121 \hspace{0.1cm} 0,140 \hspace{0.1cm} 0,145 \hspace{0.1cm} 0,229 \hspace{0.1cm} 0,250 \hspace{0.1cm} 0,305 \hspace{0.1cm} 0,140 \hspace{0.1cm} 0,220 \hspace{0.1cm} 0,20$ 0,242 0,214 0,242 0,193 0,238 0,217 0,241 0,234 0,234 0,234 0,241 0,217 0,235 0,238 0,246 0,234 0,223 0,200 0,277 0,249 0,229 0,187 0,236 0,211 0,236 0,196 0,247 0,226 0,251 0,237 0,234 0,220 0,244 0,203 0,243 0,247 0,227 0,223 0,206 0,246 0,309 0,227 0,247 0,197 0,200 0,127 0,139 0,127 0,041 0,121 0,107 0,224 0,157 0,157 0,157 0,145 0,220 0,087 0,118 0,121 0,137 0,148 0,226 0,246 0,301 0,143 0,217 0,002 0,184 0,193 0,127 0,139 0,127 0,041 0,121 0,107 0,224 0,157 0,157 0,157 0,145 0,220 0,087 0,118 0,121 0,137 0,148 0,226 0,246 0,301 0,143 0,217 0,002 0,184 0,193 0,000

39 42 43 47 49 50 53 31 32 33 34 35 36 37 38 40 41 44 45 46 48 51 52 54 55

Tabela 9. Continuação...

Os adultos identificados como *Synoestropsis* sp. nov. foram previamente tomados como *Synoestropsis* cf. *grisoli*. As análises mostraram que esses indivíduos compunham uma espécie diferente, que foi associada a larvas de diferentes localidades com a formação de um grande clado monofilético com suporte significativo. A espécie em questão foi comparada às descrições originais, no entanto foi possível encaixá-la em nenhuma espécie já descrita para o grupo, portanto será descrita aqui como um novo táxon para o gênero.

Os indivíduos identificados como *Synoestropsis pedicillata* foram agrupados em um clado monofilético com suporte significativo contendo uma larva e fêmeas e machos coletados na mesma região. Este grupo não apresentou divergência genética entre os indivíduos.

*Synoestropsis punctipennis* é uma espécie morfologicamente muito distinta das outras. Os indivíduos analisados são provenientes de localidades muito distantes (uma fêmea da Costa Rica e um macho do estado do Espírito Santo). Ambos permaneceram agrupados em um clado monofilético para todas as análises sendo possível a associação sexual que permitiu a descrição do macho da espécie, até então, não descrito.

Os indivíduos identificados como *Synoestrospis grisoli* formaram um grande clado, porém os valores de suporte correspondentes a este clado ficaram muito abaixo de um valor considerado significativo. Entretanto pequenos clados monofiléticos e bem suportados foram formados internamente a este grande ramo. De maneira geral, alguns destes grupos parecem representar populações geneticamente distantes, embora para alguns casos o grau de proximidade genética não esteja diretamente relacionado à distância geográfica. Dessa forma, não foi possível observar um padrão definido que permita afirmar que os grupos formados sejam populações isoladas.

Estes grupos mostraram valores de distância genética expressivos, valores que para outros grupos são muito superiores ao limite intraespecífico (Hebert *et al.* 2003; Pauls *et al.* 2010). Entretanto trabalhos que utilizaram as mesmas ferramentas moleculares em diferentes grupos de Trichoptera encontram valores de distância genética elevados como Zhou *et al.* (2007), Zhou *et al.* (2011) e Pauls *et al.* (2010) que consideram variações intraespecíficas próximas a 12%.

Estas características populacionais apresentadas entre os espécimes de *S. grisoli* podem ser indício de uma subestruturação genética dentro da espécie. Entretanto, para que se possa confirmar esta hipótese é necessário a realização de um estudo minuncisos sobre a estrutura das diferentes populações que compõem a espécie.

Hebert *et al.* (2003) afirmam que avaliar a relação entre táxons intimamente relacionados com base apenas distância genética de um único gene pode não proporcionar robustez suficiente para diferenciar tais grupos com segurança. Isso é especialmente válido para *S. grisoli* que, diferentemente das outras espécies, apresentou valores muito expressivos de distância. A utilização de outros marcadores poderia ser uma alternativa para estabelecer com mais segurança as relações internas para os clados formados por *S. grisoli* e desta espécie com as outras.

A utilização do *DNA Barcode* se mostrou uma ferramenta válida tanto para associação de indivíduos de diferentes estágios da mesma espécie, bem como para separação das espécies. Contudo, o estabelecimento das relações filogenéticas somente com base no COI foram muito frágeis como já observado por Kjer *et al.* (2001). Isso pode ser observado principalmente pelas diferenças do posicionamento dos grandes clados entre os três métodos de reconstrução. Além dos valores de confiabilidade dos clados que demonstram a relação entre as espécies se apresentarem extremamente baixos. Uma alternativa para minimizar este problema seria a utilização de outros marcadores moleculares mais conservados em conjunto com o COI o que provavelmente traria mais robustez e confiabilidade no estabelecimento de hipóteses de relações entre as espécies através dos dados moleculares.



**Figura 7.** Árvore resultante do método da Máxima Parcimônia com adultos e larvas. Consenso resultante das 1000 réplicas da medida de suporte de *Bootstrap*. Os valores apresentados na base dos clados representam a porcentagem de vezes em que o clado foi recuperado durante as réplicas. Legenda: Lv = larva; Mc = macho; Fm = fêmea.



**Figura 8.** Árvore resultante do método da Máxima Verossimilhança com adultos e larvas. Consenso resultante das 1000 réplicas da medida de suporte de *Bootstrap*. Os valores apresentados na base dos clados representam a porcentagem de vezes em que o clado foi recuperado durante as réplicas. Legenda: Lv = larva; Mc = macho; Fm = fêmea.



**Figura 9.** Árvore resultante do método de *Neighbor-joining* com adultos e larvas. Consenso resultante das 1000 réplicas da medida de suporte de *Bootstrap*. Os valores apresentados na base dos clados representam a porcentagem de vezes em que o clado foi recuperado durante as réplicas. Legenda: Lv = larva; Mc = macho; Fm = fêmea.

# 4.2.Taxonomia

Nesta seção são apresentados os resultados da revisão taxonômica das espécies. Primeiramente são apresentadas as descrições e redescrições dos táxons que estão acompanhadas de comentários a cerca dos principais caracteres reavaliados e dos novos caracteres utilizados descobertos ao longo da realização do trabalho bem como as modificações taxonômicas. Por fim é proposta uma chave de identificação taxonômica para adultos e larvas das espécies.

## Synoestropsis Ulmer, 1905

*Chiasmoda* Navás, 1920b: 40 [Espécie-tipo: *Chiasmoda ecliptica* Navás, 1920b designação original]; Fischer, 1963: 211 [catálogo]; Flint, 1999a: 75 [sinonimizado com *Synoestropsis*].

## Redescrição

*Adulto: Cabeça:* amarela a marrom; antena muito longa, mais de duas vezes maior que o comprimento do corpo; escapo desenvolvido, bulboso, menor nas fêmeas; pedicelo pequeno; dorsalmente com dois pares de verrugas de cerdas, uma posterior e uma posteroventral, reduzida nas fêmeas; verruga de cerdas posterior subquadrangular; tubérculo mediano alongado longitudinalmente, com região anterior levemente pontiaguda. *Tórax:* amarelo a marrom; padrão de manchas variável (pode ou não apresentar manchas); protórax muito curto, porção dorsal dividida em dois lobos arredondados; mesotórax com máculas anterolaterais enegrecidas; fórmula tibial 0,2,0 ou 1,2,2; pernas anterior e mediana achatadas, expandidas lateralmente, nas fêmeas mais expandidas; perna posterior cilíndrica, simples; asa anterior arredondada no ápice; sem veias transversais entre C e Sc; veias Sc e R1 separadas desde a base da asa; célula discal presente; R4 e R5 separadas desde a base; Rs e M conectadas por uma veia transversal ou fusionadas por um curto espaço; asa posterior com R1 cruzando-se com Sc; R2 e R3 separadas; célula discal presente, grande, subtriangular; Cu1 podendo ser ou não bifurcada no ápice.

*Larva: Cabeça:* alongada, cerca de duas a três vezes mais longa que larga, achatada dorsoventralmente; coloração geral de castanho-amarelada a marrom-escura, com um anel amarelado em torno dos estemas; margem anterior do frontoclípeo levemente côncava; gena,

ventralmente, sem estruturas de estridulação; mandíbulas alongadas, subtriangulares, assimétricas; mandíbula esquerda com seis dentes, sendo dois apicais; mandíbula direita com quatro dentes, sendo um apical; palpo maxilar, cilíndrico, com três escleritos pequenos; mento arredondado, esclerosado, com uma constrição mediana; esclerito submental retangular; cardo subtriangular, com um par de cerdas na margem anterior; apódema ventral em forma de "V", com margem anterior côncava, braço lateral longo e estreito, arredondado no ápice, fortemente esclerosado; ápice da sutura ecdisial mediana voltada para direita, acompanhando a margem ventral do apódema. Tórax: alongado, cerca de duas a três vezes mais longo que largo; coloração geral de amarelo-alaranjado a marrom, com padrão de manchas em marromescuro por toda superfície do noto; noto expandido lateralmente, pro- e mesonoto cobrindo toda área da pleura, metanoto cobrindo apenas a metade dorsal da pleura; margem anterolateral dos segmentos torácicos levemente arredondadas, cobertos por uma fileira de pequenas cerdas, com quatro a seis cerdas longas; região posterolateral do protórax com uma mancha enegrecida; meso- e metatórax com uma mancha enegrecida posteromediana; mesotórax com uma mancha enegrecida na base da inserção da coxa; metatórax com as margens anterior e lateral enegrecidas; trocantim anterior e propreura desenvolvidos; proesterno esclerosado, margem anterior côncava, margem posterior reta; mesoesterno com uma par de brânquias posteriores simples; metaesterno com um par de brânquias posteriores filamentosas; perna anterior modificada, fêmur formando uma quela com a tíbia e o tarso, fêmur expandido longitudinalmente, coberto por cerdas na margem interna, com uma fileira de cerdas pequenas na margem ventral; tíbia e tarso anteriores com uma fileira de cerdas pequenas na margem ventral; garra tarsal anterior simples, pontiaguda apicalmente; pernas mediana e posterior muito semelhantes em tamanho e forma; margem ventral dos fêmures cobertos por uma fileira de cerdas pequenas, com três a cinco cerdas longas; tíbias com uma fileira de cerdas pequenas na margem posterior, com três cerdas pequenas e grossas na região apical; garras tarsais duplas. Abdome: segmentos abdominais tão largos quanto longos; linha lateral de cerdas totalmente ausente; arranjo branquial incluindo brânquias, laterodorsais, lateroventrais e ventrais; brânquias laterodorsais posteriores presentes do segmento I ao VII, uma ou duas no segmento I e um par nos segmentos II a VII; brânquias lateroventrais presentes do segmento I ao VIII, um par nos segmentos I e VIII e dois pares, sendo um anterior e um posterior nos segmentos II a VII; brânquias ventrais posteriores presentes do segmento I ao VI; segmento IX com cerdas agrupadas nas margens ventral e lateral; esclerito

da garra anal bem desenvolvido, com longas cerdas, com quatro a cinco cerdas longas apicais; garra anal simples.

**Pupa:** Cabeça: mandíbulas (Figura 40B) alongadas, pontiaguda apicalmente, com dentes dispostos na região mediana, terço apical com margem interna serrilhada, com um tufo de cerdas longas na base; mandíbula direita com três dentes; mandíbula esquerda com quatro dentes; labro (Figura 40A) pequeno, trapezoidal, com um grupo de cinco a sete cerdas na margem lateral externa. *Tórax:* região anterolateral do mesotórax com um grupo de cerdas longas; pernas anterior e mediana fortemente achatadas, com cerdas longas na margem interna da coxa e trocânter. *Abdome:* brânquias posterodorsais, laterodorsais e ventrolaterias presentes do segmento II ao VIII; tergitos abdominais com pares de placas de ganhos (Figura 40 C-D) presente do segmento III ao VIII, sendo dois no segmento III, um na margem anterior e outro na margem posterior, um ou dois no segmento IV e um anterior nos segmentos V ao VIII.

**Comentários:** Ao propor a separação de *Synoestropsis* em um gênero diferente de *Oestropsis* (= Polymorphanisus), Ulmer (1905) utilizou principalmente a conexão entre as veias Rs e M das asas anteriores como um caráter diagnóstico. Navás (1920a, b; 1932; 1934) utilizou a forma da conexão dessas veias como uma característica diagnóstica para descrever diferentes espécies. De fato existe uma grande variação na forma como essas veias podem se conectar, entretanto foi observado que essas variações ocorrem dentro da mesma espécie como citado por Flint et al. (1999a). Aparentemente, existe um intervalo entre a presença de uma veia transversal e uma região de fusão entre elas, no qual há um contínuo de diferentes níveis. Outros caracteres discutíveis são a junção da base da bifurcação de R2 e R3 da asa posterior e a posição da veia *m*-cu da asa posterior que também se mostraram variáveis entre indivíduos da mesma espécie. Em análise de caracteres de asas entre as espécies foi possível notar algumas pequenas diferenças entre machos e fêmeas, como por exemplo, o formato da asa, mais arredondado nas fêmeas e as veias radiais e medianas das asas que são mais curvadas nos machos do que nas fêmeas. Outra questão importante é o fato de que as variações citadas para estes caracteres são apresentadas em maiores níveis nas fêmeas, enquanto nos machos algumas destas características se mantiveram mais constantes. A grande maioria das espécies descritas por Navás foi com base em fêmeas com pouquíssimos indivíduos analisados, o que pôde ter gerado interpretações equivocadas das variações acima citadas.

Caracteres relacionados ao padrão de coloração foram reavaliados com cautela. As principais áreas que apresentam diferenças de pigmentação são a margem posterior da cabeça, meso e metatórax, pernas e asas. Observou-se que os padrões de pigmentação podem variar entre algumas espécies. No entanto, parece haver um tempo de fixação das manchas após a emergência do adulto fazendo com que possam ocorrer diferentes graus de pigmentação dependendo do tempo em que o indivíduo fora fixado após emergir. Os caracteres de genitália são discutidos e comentados para cada espécie. Entretanto, vale ressaltar que diferentemente de outros gêneros de Hydropsychidae, as estruturas fálicas apresentam pouca variação entre as espécies.

Em relação às larvas, alguns caracteres descritos por Calor (2008) como diagnósticos para *S. furcata* se mostraram invariáveis entre as diferentes larvas descritas. De forma geral as larvas apresentam diferenças conspícuas entre as espécies, com exceção para *S. pedicillata* e *S. grisoli* que não demonstraram diferenças seguras para distingui-las, além da coloração das larvas e do formato da margem anterior do labro.

### Synoestropsis sp. nov.

# **Figuras 10 - 15**

**Diagnose:** *Synoestropsis* sp. nov. se assemelha a *S. grisoli* e *S pedicillata* uma vez que os adultos são muito semelhantes, quase indistinguíveis em seu padrão geral. Os machos podem ser diferenciados pelo formato do tergito IX que, em vista dorsal, possui a região mediana levemente abaulada, enquanto que nas outras espécies essa estrutura é levemente escavada. As fêmeas podem ser diferenciadas pelo formato da porção apicomediana do tergito X que *Synoestropsis* sp. nov. possui um leve escavação, enquanto que em *S. grisoli* e *S. pedicillata* esta estrutura é fortemente escavada. As larvas dessas espécies são facilmente distinguíveis pela morfologia do trocantim anterior, em *Synoestropsis* sp. nov. a região apicoventral é norta de cerdas enfileiradas, enquanto nas outras espécies a região apicoventral do trocantim é truncada terminando em um tufo de cerdas.

## Descrição

*Adulto:* Comprimento da asa anterior 3 1,6 – 1,9 cm (n=3); 2 1,3 – 1,5 cm (n=3); coloração geral amarelo-clara. *Cabeça:* Amarela; antena com escapo e pedicelo amarelos, flagelômeros

amarelos, com a base castanho-escura; região posteromediana com manchas enegrecidas ou lavada com amarelo-escuro; verruga de cerdas posteroventral elíptica, alongada transversalmente; fronte alongada longitudinalmente, margens laterais com uma leve constrição mediana, nas fêmeas menos alongada, quase tão larga quanto longa, margens laterais quase retas, margem dorsal levemente pontiaguda. Tórax: Amarelo, pigmentação torácica normalmente presente, com manchas presentes no contorno da metade anterior do mesoescutelo e na região anterolateral do metaescuto; fórmula tibial 1,2,2; pernas amarelas, metade basal das garras tarsais esbranquiçadas; perna anterior com tíbia e tarso amareloescuros, terco apical da tíbia e dos tarsômeros III e IV enegrecidos; perna mediana com o terço apical do tarsômero IV enegrecido; asa anterior amarela, levemente sombreada de castanho em torno das veias; veias castanho-amareladas; pigmentação normalmente presente, formada por grandes máculas (Figura 10A); célula discal triangular, pequena, quase tão larga quanto longa; veia s quase reta (Figuras 10 B-D); asa posterior (Figura 10 C-E) com veia mcu normalmente se originando antes da bifurcação de M4+5 ou na bifurcação; Cu1 sem bifurcação no ápice, forquilha V ausente. Genitália do macho: 10-13 cerdas laterais no segmento IX (Figura 11A); segmento IX, em vista dorsal, com região mediana levemente abaulada (Figura 11B), sem depressão longitudinal mediana; margem posterior do esternito IX arredondada (Figura 11C); segmento X com tubérculo mediano curto; artículo basal do apêndice inferior estreito, levemente alargado no ápice; falo tubular, base tão larga quanto longa, região apicoventral reta, porção mediana projetada (Figura 11D) em vista lateral; membrama falotremal levemente arredondada em vista ventral (Figura 11E); esclerito falotremal alongado. Genitália da fêmea: Placa ventral do esternito VIII subovalar, margem interna levemente arredondada, coberta por poucas cerdas; região apicomediana do tergito X com uma leve reentrância; esclerito interno anterior com anel central redondo e margens laterais pontiagudas alargadas (Figura 11F).





**Figura 10.** *Synoestropsis* sp. nov., asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea.



**Figura 11.** *Synoestropsis* sp. nov., genitália. A - C, segmentos IX e X do macho, A, vista lateral; B, vista dorsal; C, vista ventral; D - E, detalhe do ápice do falo, D, vista lateral; E, vista ventral; F, genitália da fêmea, segmentos VIII, IX e X, vista ventral.

*Larva:* Comprimento do corpo 1,4 – 1,6 cm (n=4) (Figura 13A). *Cabeça* (Figuras 13 B-D): Comprimento cerca de duas vezes a largura; coloração geral castanho-clara a castanhoalaranjada; labro com uma mancha castanho-escura na porção basal, região lateromediana angulada, margem anterior reta, mais de seis cerdas longas e escuras e cerdas menores distribuídas por toda metade apical (Figuras 13 E-F). Tórax (Figura 12A): Protórax castanhoalaranjado; trocantim anterior (Figuras 12 A-B) bem desenvolvido, subretangular, com ápice quase tão amplo quanto a base; margem dorsal quase reta, com três cerdas, duas basais longas, primeira com o dobro do comprimento da segunda e uma cerda fina e longa préapical; região apicoventral terminando em uma projeção pontiaguda, com uma fileira de aproximadamente treze cerdas longas na margem anterior; face interna com uma linha fortemente esclerosada acima da porção mediana, alargando em direção ao ápice, com cerca de cinco cerdas finas, somente acima da linha esclerosada; mesotórax castanho-claro; mesoesterno (Figura 12D) sem cerdas distribuídas na metade anterior, apenas um pequeno tufo entre a inserção das coxas, brânquia filamentosa longa, ultrapassando a metade do comprimento do protórax; metatórax castanho-claro; coxa anterior (Figuras 12 E-H) subquadrangular, quase tão longa quanto larga, com muitas (cerca de 12) cerdas na porção basodorsal, com uma cerda curta mediodorsal, com duas cerdas medioventrais na face externa, uma apical e outra mediana, face externa com reentrância dorsoapical fortemente côncava, formando um ângulo menor que 90°, face interna com região dorsoapical reta; base do fêmur com mais da metade da largura do ápice, margem interna coberta por cerdas; poucas cerdas longas e escuras restritas a metade dorsal; com poucas cerdas medias e claras restritas a região apical; região ventral coberta por uma fileira de cerdas longas, médias e curtas; região apical com um ângulo reto entre a porção mediana e ventral; região apicoventral quase reta; margem dorsal da coxa mediana (Figuras 12 F-I) com cerca de duas a três cerdas curtas e duas longas e escuras, uma apical e uma pré-apical, porção ventral com cerdas curtas e médias; margem dorsal da coxa posterior (Figuras 12 G-J) com cerca de uma ou duas cerdas longas. Abdome: Fórmula branquial (Figura 12H) como descrito para o gênero, com duas brânquias laterodosais posteriores no segmento I; segmento IX com cerca de 15 a 20 cerdas agrupadas na região ventral, cinco a sete cerdas na região ventrolateral, duas cerdas longas e duas cerdas pequenas ramificadas na região dorsolateral; garra anal com ângulo menor que 90°.

### Pupa: Desconhecida.



**Figura 12.** *Synoestropsis* sp. nov., larva. A, cabeça e tórax, vista dorsal; B - C, trocantim anterior, B, face externa; C, face interna; D, mesoesterno, vista ventral; E – J, detalhe das pernas torácicas; E, perna anterior, face externa; F, perna mediana, face externa; G, perna posterior, face externa; H, perna anterior face interna; I, perna posterior face interna.



**Figura 13.** *Synoestropsis* sp. nov., larva. A, hábito, vista lateral; B - D, detalhe da cabeça, B, vista dorsal; C, vista ventral; D, vista lateral; E – F, detalhe das peças bucais; E, labro, vista dorsal; F, labro, vista ventral; G, mandíbulas, vista dorsal; H, fórmula branquial. Legenda da posição das brânquias: pvs, posteroventral simples; pv, posteroventral; ld, laterodorsal; lvp, lateroventral posterior; lva; lateroventral anterior. O número indica a quantidade de brânquias em cada posição.

**Distribuição geográfica conhecida**: BRASIL (Amazonas, Mato Grosso e Rondônia) (Figura 14).

# Material examinado

Holótipo: 1 BRASIL, **Amazonas**, *Ipixuna*, Comunidade Estirão da Negra, 07°21'46.7"S/71°52'07.1"W, 13.v.2011, A. Somavilla, armadilha luminosa, [álcool], (INPA)

Parátipos:  $3 \triangleleft 2 \subsetneq$  Mesmos dados do holótipo.

Material adicional: BRASIL, Amazonas, Barcelos, Rio Demene, depois da Comunidade Samarina, 00°20'42.6"S/62°47'25.8"W, 09.viii.2009, Col. N. Hamada e equipe, 1L [álcool], (INPA); BRASIL, Amazonas, Ipixuna, Comunidade Lago Grande. 07°10'11.7"S/70°49'10.3"W, 11.v.2011, A. Somavilla, armadilha luminosa com luz negra, 1 🖑 1 Q, [álcool], (INPA); Mato Grosso, Araguaiana, Fazenda Ouro Fino, Rio Araguaia, 15°43'01"S/51°50'59"W, 11.vii.2012, Col. A. Fernandes, J.M.C. Nascimento, N. Hamada, R. Boldrini, 1L [álcool], (INPA); Nova Xavantina, Pindaíba, 14°59'06"S/52°20'29"W, 23.ix.2003, Col. D. Nogueira-Silva, 3L [álcool], (UNEMAT); Rondônia, Colorado do Oeste, Rio Cabixi, 13°15'31.8"S/60°20'04.8"W, 06.ix.2012, Col. J.M.C. Nascimento, N. Hamada, 1L, [álcool], (INPA); Nova Londrina, Rio Urupá, 11º02'05.8"S/62º08'34.1"W, 02.ix.2012, Col. J.M.C. Nascimento, N. Hamada, 2L, [álcool], (INPA).

**Comentários:** Os adultos identificados como *Synoestropsis* sp. nov. foram previamente tomados como *Synoestropsis* cf. *grisoli*. O padrão geral de ambos os morfótipos é muito similar, embora algumas características de genitália dos machos foram suficientes para separá-los como um outro morfótipo. As análises moleculares corroboraram *Synoestropsis* sp. nov. como uma espécie distinta, embora não condizendo com nenhum outro táxon previamente descrito.



Figura 14. Distribuição geográfica conhecida de Synoestropsis sp. nov.

# Synoestropsis pedicillata Ulmer, 1905

### **Figuras 15 - 19**

Synoestropsis pedicillata Ulmer, 1905a: 43 [designação original]; Ulmer, 1907c: 26-27 [chave, ilustração das asas]; Ulmer, 1913: 392 [distribuição]; Jorgensen, 1919: 396 [distribuição]; Tomaszewski, 1961: 5 [material depositado na PAN]; Fischer, 1963: 210 [catálogo]; Flint, 1966a: 8, 17, 22 [designação do lectótipo, ilustração da genitália do  $\delta$  e asas]; Flint, 1972: 235 [distribuição]; Flint, 1978: 396 [distribuição, foto das asas]; Flint, 1982: 33 [distribuição]; Flint, 1999b: 81 [catálogo]; Paprocki *et al.* 2004: 10 [distribuição]; Blahnik *et al.* 2004: 4 [distribuição].

**Diagnose**: *S. pedicillata* se assemelha a *S. grisoli* e *Synoestropsis* sp. nov., mas podem ser distinguidos por características da genitália. Os machos de *S. pedicillata* possuem a margem posterior do esternito IX arredondada o que os diferenciam de *S. grisoli* no qual esta estrutura é curvada nas laterais com a porção mediana quase reta e a porção apicomediana do tergito IX escavado que o diferencia de *Synoestropsis* sp. nov. que possui esta estrutura levemente abaulada. As fêmeas são distinguíveis pelo formato do esclerito interno que em *S. pedicillata* possui dois lobos arredondados nas margens laterais, enquanto que nas outras espécies as margens laterais do esclerito são pontiagudas. As larvas de *S. pedicillata* e *S. grisoli* são muito similares em seu padrão geral com pouca diferença em seu padrão de coloração e pelo formato da margem anterior do labro que em *S. pedicillata* é arredondada enquanto, que em *S. grisoli* essa estrutura é quase reta. A região apicoventral do trocantim trucanda pode distinguila facilmente de *Synoestropsis* sp. nov. que possui esta estrutura apontiaguda.

# Redescrição

*Adulto:* Comprimento da asa anterior 3 1,9 – 2,1 cm (n=4); 2 1,7 – 1,9 cm (n=6); coloração geral amarela a amarelo-alaranjada. *Cabeça:* Amarela; antena com escapo e pedicelo amarelos, flagelômeros amarelos, com a base castanho-escura; região posteromediana lavada de amarelo-escuro; verruga de cerdas posteroventral elíptica, alongada transversalmente; fronte alongada longitudinalmente, margens laterais quase retas, nas fêmeas, menos alongada, quase tão larga quanto longa, com uma pequena constrição na região mediana, margem dorsal levemente arredondada. *Tórax:* Amarelo, pigmentação torácica normalmente ausente, quando presente restrito a uma pequena área escurecida no ápice do mesoescutelo; fórmula tibial

1,2,2; pernas amarelas, metade basal das garras tarsais enegrecidas, mais evidente nas fêmeas; perna anterior com tíbia e tarso amarelo-escuros, terço apical da tíbia e dos tarsômeros III e IV enegrecidos; perna mediana com o terço apical do tarsômero IV enegrecido; asa anterior amarela, levemente sombreada de castanho em torno das veias; veias castanho-claras; pigmentação formada por pequenas máculas, na base das veias M, Cu2 e A2 e nas veias transversais cu2-a1, cu1-cu2 e m3+4-cu1 (Figura 15A); célula discal triangular, pequena, quase tão larga quanto longa; veia s quase reta (Figuras 15 B-D); asa posterior (Figura 15 C-E) com veia *m-cu* normalmente se originando antes da bifurcação de M4+5 ou na bifurcação; Cu1 sem bifurcação no ápice, forquilha V ausente. Genitália do macho: 18 -21 cerdas laterais no segmento XI (Figura 16A); segmento IX, em vista dorsal, com região posterolateral arredondada, escavado medianamente, sem depressão longitudinal mediana (Figura 16B); margem posterior do esternito IX arredondada (Figura 16C); segmento X com tubérculo mediano curto; inferior estreito, levemente alargado no ápice, falo tubular, base tão larga quanto longa, região apicoventral curvada, porção mediana levemente projetada (Figura 16D) em vista lateral; membrana falotremal levemente arredondada em vista ventral (Figura 16E); esclerito falotremal em forma de gota, pontiagudo apicalmente. Genitália da fêmea: Placa ventral do esternito VIII subovalar, margem interna levemente arredondada, coberta por cerdas; região apicomediana do tergito X com uma reentrância evidente; esclerito interno anterior com anel central alongado e margens laterais com protuberância arredondada (Figura 16F).





**Figura 15.** *Synoestropsis pedicillata,* asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea.



**Figura 16.** *Synoestropsis pedicillata,* genitália. A - C, segmentos IX e X do macho, A, vista lateral; B, vista dorsal; C, vista ventral; D - E, detalhe do ápice do falo, D, vista lateral; E, vista ventral; F, genitália da fêmea, segmentos VIII, IX e X, vista ventral.

Larva: Comprimento do corpo 1,9 – 2,3 cm (n=6) (Figura 18A). Cabeça (Figuras 18 B-D): Comprimento cerca de duas vezes e meia a largura; coloração geral castanho-alaranjada a castanho-escura; labro sem mancha na porção basal, região lateromediana arredondada, margem anterior arredondada, com pelo menos seis cerdas longas e escuras e cerdas menores distribuídas por toda metade apical (Figuras 18 E-F). Tórax (Figura 17A): Protórax castanhoalaranjado; trocantim anterior (Figuras 17 A-B) bem desenvolvido, subquadrangular, com ápice mais estreito que a base; margem dorsal fortemente arredondada, com quatro a seis cerdas, quatro basais, partindo da base primeira cerda maior que as demais, as vezes com uma ou duas cerdas medianas curtas e grossas e uma cerda fina e longa pré-apical; região apicoventral terminando em um tufo de aproximadamente dez cerdas longas; face interna com uma linha levemente esclerosada na porção mediana, alargando em direção ao ápice, com cerca de treze cerdas finas, somente acima da linha esclerosada; mesotórax castanhoalaranjado; mesoesterno (Figura 17D) com poucas cerdas distribuídas na metade anterior e um pequeno tufo entre a inserção das coxas, brânquia filamentosa média, atingindo no máximo a metade do comprimento do protórax; metatórax castanho-alaranjado; coxa anterior (Figuras 17 E-H) subquadrangular, quase tão longa quanto larga, com muitas (cerca de 13) cerdas longas na porção basodorsal, com uma cerda curta basodorsal, sem cerda longa mediodorsal, com duas cerdas medioventrais na face externa, uma apical e outra subapical, face externa com reentrância dorsoapical levemente côncava, formando um ângulo maior que 90°, face interna com região dorsoapical reta; base do fêmur com mais da metade da largura do ápice, margem interna coberta por cerdas; muitas cerdas longas e escuras distribuídas por toda margem interna; com poucas cerdas medias e claras, restritas a região apical; região ventral coberta por uma fileira de cerdas longas, médias e curtas; região apical com um ângulo reto entre a porção mediana e ventral; região apicoventral quase reta; margem dorsal da coxa mediana (Figuras 17 F-I) com cerca de três a cinco cerdas curtas e duas longas e escuras (uma apical e uma mediana), porção ventral com cerdas curtas e médias; margem dorsal da coxa posterior (Figuras 17 G-J) com cerca de três a cinco cerdas longas. Abdome: Fórmula branquial (Figura 18H) como descrito para o gênero, com uma brânquia laterodosal posterior no segmento I; segmento IX com cerca de 10 a 15 cerdas agrupadas na região ventral, cinco a sete cerdas na região ventrolateral, duas cerdas longas e duas cerdas pequenas ramificadas na região dorsolateral; garra anal com ângulo de cerca de 90°.

Pupa: Desconhecida.








**Figura 18.** *Synoestropsis pedicillata*, larva. A, hábito, vista lateral; B - D, detalhe da cabeça, B, vista dorsal; C, vista ventral; D, vista lateral; E – F, detalhe das peças bucais; E, labro, vista dorsal; F, labro, vista ventral; G, mandíbulas, vista dorsal; H, fórmula branquial. Legenda da posição das brânquias: *pvs*, posteroventral simples; *pv*, posteroventral; *ld*, laterodorsal; *lvp*, lateroventral posterior; *lva*; lateroventral anterior. O número indica a quantidade de brânquias em cada posição.

**Distribuição geográfica conhecida**: ARGENTINA, GUIANA, PERU, SURINAME, VENEZUELA, BRASIL (Amapá, Amazonas, Goiás, Minas Gerais, Pará, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Rondônia, Santa Catarina, São Paulo) (Figura 19).

Material examinado: ARGENTINA, Missiones, Caraguatay, 26°37'00"S/54°46'00"W, i.1960, B. Trotta, 1 $\bigcirc$ , [seco], (UBA); *Iguazu*, 30.i.1985, Col. J.E. Barrige, 1 $\bigcirc$  1 $\bigcirc$ , [seco], (UBA); Salto Encantado, Arroyo Tamanduá, 27°02'43,6"S/55°00'12,7"W, 06-11.xii.2004, Col. E. Angrisano, Bravo,  $1^{\circ}$ , [seco], (UBA); 08-14.i.2006,  $2^{\circ}$ , [seco], (UBA); BRAZIL, Goís, Jataí, Fazenda Nova Orlandia, 1964, 17°53'21"S/51°46'03"W, Col. Martins, Morgaute, Silva, 2Å 3, [álcool], (MZUSP); Minas Gerais, Cardeal Mota, Serra do Cipó, Rio Cipó, 19°20'33"S/43°38'31"W, 10-15.ii.1998, Col. R. Holzenthal; H. Paprocki, Huisnan, 2♀ [seco], (UMSP); Rio Capivara, 19°20'33"N/43°38'31"W, 18.xii.1964, Col. C.G. Froehleich, 1♀ [álcool], (MZUSP); Santana do Riacho, Rio Paraúna 3Km ao S, 15°30'43"S/43°44'29"W, 17.v.1998, Col. R. Holzenthal; R.J. Blahnik; H. Paprocki, Amarante, 8<sup>o</sup> [seco], (UMSP); Januário, Pandeiros, Rio Pandeiros 50Km W, 15°30'43"S/44°30'15"W, 17.xi.2001, Col. R. Holzenthal, Amarante,  $2^{\bigcirc}$  [seco], (UMSP); Rio São Franciso, BR 135 8 km, 15°35'49.3"S/44°23'23.7"W, 15.xi.2001, Col. R.J. Blahnik; H. Paprocki, Amarante 1♀ [seco], (UMSP); Pará, Itaituba, Vila do Penedo, Rio Tapajós, 05°55'17"S/57°36'16"W, 20.vii.2013, Col. J.B. Mendonça Jr., 3L [álcool], (MZUSP); São Paulo, Castilho, Rio Jupiá, Margem Paulista, 20°54'54"S/51°33'28"W, 16.xi.1962, Col. Vauzollini, 1<sup>Q</sup>, [álcool], (MZUSP); **Rio** de Janeiro, Angra dos Reis, Fazenda Japuyba,  $22^{\circ}58'05''S/44^{\circ}16'03''W$ , 22.ix.1945,  $1^{\circ}$ , [álcool], (MZUSP); Rio Grande do Sul, Bossoroca, Barra do Angico, Rio Piritinin, 28°33'30"S/54°55'44"W, 23.24.xii.2008, Col. A.M.O. Pes, 1♂ 9♀ [álcool absoluto], (INPA); 08-09.viii.2012, 2L, [álcool absoluto], (INPA); VENEZUELA, Guarico, Calabolo, Hato Masaguarai, 45Km S Calabolo, 08°34'12"S/67°34'48"W, 18.v.1989, Col. M. Epstein, R. Blahnik,  $3^{\circ}_{\downarrow}$  [seco], (MZUSP); 06-08.v.1988,  $1^{\circ}_{\downarrow}$  [seco], (UMSP); 13-16.v.1988,  $1^{\circ}_{\downarrow}$  [seco], (UMSP).

**Comentários:** Embora com poucos indivíduos coletados *S. pedicillata* possui uma ampla distribuição geográfica registrada em literatura e é uma das únicas espécies que foi coletada em locais de elevada altitude. Dentre os caracteres observados na espécie pode-se destacar a variação do formato da porção apicomediana do tergito. Em todos os indivíduos analisados esta região é escavada, no entanto essa escavação pode variar de leve a fortemente escavada o que demonstra certa plasticidade para esse caráter.



**Figura 19.** Distribuição geográfica conhecida de *Synoestropsis pedicillata*. Os quadrados representam registros retirados da literatura, onde não foram coletados indivíduos.

# Synoestropsis obliqua Ulmer, 1905

## **Figuras 20 - 22**

Synoestropsis obliqua Ulmer, 1905a: 45 [designação original]; Ulmer, 1907c: 26-27 [chave, ilustração das asas]; Ulmer 1913: 392 [distribuição]; Tomaszewski, 1961: 5 [material depositado na PAN]; Fischer, 1963: 210 [catálogo]; Flint, 1966: 8, 17, 22 [designação do lectótipo, ilustração da genitália do  $\mathcal{J}$  e asas]; Flint, 1999b: 81 [catálogo]; Paprocki *et al.* 2004: 10 [distribuição].

**Diagnose:** *S. obliqua* se assemelha a *S. furcata* pela presença da forquilha V da asa posterior. Elas podem ser distinguidas pelo padrão de coloração geral que em *S. obliqua* é em tons de marrom e em *S. furcata* é em tons de amarelo-claro. Os machos destas espécies podem ser distinguidos pelo formato do ápice do tergito IX que em *S. obliqua* é truncado com as laterais escavadas, enquanto que em *S. furcata* esta estrutura é fortemente arredondada. As fêmeas podem ser separadas pelo comprimento da placa ventral do esternito VIII que em *S. obliqua* é alongada longitudinalmente enquanto que em *S. furcata* esta estrutura é mais arredondada.

## Redescrição

*Adulto:* Comprimento da asa anterior 3, 1 - 3, 2 cm (n=2); 2, 1 - 1, 7 cm (n=4); coloração geral castanho-amarelada a marrom. *Cabeça:* Castanho-amarelada; antena com escapo e pedicelo castanho-claros, flagelômeros castanhos com a base marrom; sem mancha posteromediana; verruga de cerdas posteroventral pequena, arredondada, fronte alongada longitudinalmente com margens laterais quase retas, nas fêmeas quase tão alongada quanto a do macho. *Tórax:* Marrom; pigmentação torácica normalmente presente, com manchas na região anteromediana, lateromediana e na porção ventral do mesoescutelo; fórmula tibial 1,2,2; pernas castanhos, metade basal das garras tarsais enegrecidas; perna anterior com tíbia e tarso castanho-escuros, terço apical da tíbia e dos tarsômeros I, II e V enegrecidos; perna mediana com terço apical dos tarsômeros I, II e V enegrecidos; asa anterior castanha, fortemente sombreada de marrom em torno das veias; veias castanho-escuras; pigmentação ausente (Figura 20A); célula discal triangular, pequena, tão larga quanto longa; veia *s* fortemente oblíqua (Figuras 20 B-D); asa posterior (Figura 20 C-E) com veia *m-cu* normalmente se originando na bifurcação de M4+5 ou ligeiramente depois; Cu1 bifurcada no ápice, forquilha V presente. *Genitália do macho:* 19-22 cerdas laterais no segmento XI

(Figura 21A); segmento IX, em vista dorsal, quadrangular, truncado apicalmente, levemente escavado na região anterolateral, sem depressão longitudinal mediana (Figura 21B); margem posterior do esternito IX levemente curvada, com porção mediana quase reta; segmento X com tubérculo mediano curto; artículo basal do apêndice inferior largo; falo tubular, base mais longa que larga, região apicoventral levemente curvada, não projetada (Figura 21D), em vista lateral; membrana falotremal subquadrangular, alongada, com porção superior projetada (Figura 21E); esclerito falotremal pequeno, triangular. *Genitália da fêmea:* Placa ventral do esternito VIII alongada longitudinalmente, subquadrangular, margem interna arredondada, coberta por cerdas; região apicomediana do tergito X com uma leve reentrância; esclerito interno anterior com anel central alongado com finas projeções laterais (Figura 21F).

Larva: Desconhecida.

Pupa: Desconhecida.





**Figura 20.** *Synoestropsis obliqua*, asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea.



**Figura 21.** *Synoestropsis obliqua*, genitália. A - C, segmentos IX e X do macho, A, vista lateral; B, vista dorsal; C, vista ventral; D - E, detalhe do ápice do falo, D, vista lateral; E, vista ventral; F, genitália da fêmea, segmentos VIII, IX e X, vista ventral.

**Distribuição geográfica conhecida**: ARGENTINA, BRASIL (Rio Grande do Sul) (Figura 22).

Material examinado: ARGENTINA, Missiones, *Salto Encantado*, Arroyo Azul, 27°00'47"S/54°57'04,9"W, 06-11.xii.2004, 1 $\bigcirc$ , [álcool], (UBA); 28.x.2004, 1 $\bigcirc$ , [álcool], (UBA); Arroyo Tamanduá, 27°02'43,6"S/55°00'12,7"W, 08-14.i.2006, 11.iii.2008, Col. E. Angrisano, Bravo, armadilha de luz, 2 $\bigcirc$ , [seco] (UBA); *Concepción*, Santa Maria, ii.1943, Col. Viana, 2 $\bigcirc$ , [seco], (UBA); BRASIL, **Rio Grande do Sul**, *Bossoroca*, Barra do Angico, Rio Piritini, 28°33'30"S/54°55'44"W, 23.24.xii.2008, Col. A.M.O. Pes, 3 $\bigcirc$  [álcool absoluto], (INPA); 22. i.2009, Col. A.M.O. Pes, 2 $\bigcirc$  [álcool absoluto], (INPA); **Santa Catarina**, *Nova Teotônia*, Planalto Alegre, 27°05'00"S/52°53'00"W, 02.xii.1930, Col. Plaumann, 1 $\heartsuit$ , [seco], (UBA); 28.x.2004, Col. Plaumann, 1 $\heartsuit$ , [seco], (UBA).

**Comentários:** *S. obliqua* é a espécie com menor distribuição geográfica divergindo das demais espécies do gênero que são amplamente distribuídas. Diferentemente das outras espécies as quais apresentam a coloração em tons de amarelo, o padrão de coloração em *S. obliqua* é fortemente voltado para tons de marrom.



Figura 22. Distribuição geográfica conhecida de Synoestropsis obliqua.

# Synoestropsis punctipennis Ulmer, 1905

### **Figuras 23 - 25**

*Synoestropsis vitrea* Navás, 1920 Navás, 1920a: 133 [designação original]; Fischer, 1963: 210 [catálogo]; Flint, 1999b: 81 [catálogo]; **[novo sinônimo]**.

*Chiasmoda manicata* Navás, 1920b: 42 [designação original]; Fischer, 1963: 210 [catálogo]; Flint, 1999a: 76 [nova combinação: *Synoestropsis manicata*].

Synoestropsis manicata Flint, 1999b: 81 [catálogo]; [novo sinônimo].

*Chiasmoda manicata* Navás, 1920b: 42 [designação original]; Fischer, 1963: 210 [catálogo]; Flint, 1999a: 76 [nova combinação: *Synoestropsis manicata*];

Synoestropsis manicata Flint, 1999b: 81 [catálogo]; [novo sinônimo].

*Synoestropsis punctipennis* Ulmer, 1905a: 47 [designação original]; Ulmer, 1907c: 26-27 [chave, ilustração das asas]; Ulmer 1913: 392, [distribuição]; Fischer, 1963: 210 [catálogo]; Weidner, 1964: 99 [destruição do holótipo]; Flint, 1978: 397 [distribuição e foto das asas]; Bueno-Soria & Flint, 1978: 209 [distribuição]; Holzenthal, 1988 [distribuição]; Maes & Flint, 1988: 5 [distribuição]; Flint, 1996: 413 [distribuição]; Flint, 1999b: 81 [catálogo]; Muños-Quesada, 2000: 277 [distribuição]; Paprocki *et al.* 2004: 10 [distribuição]; Chamorro-Lacayo, 2007 [distribuição].

**Diagnose:** *S. punctipennis* possui características únicas que a diferenciam de todas as outras espécies do gênero como fronte fortemente convexa que nas outras espécies é plana e a fórmula tibial 0,2,0 que em todos os outros membros do gênero é 1,2,2.

## Redescrição

*Adulto:* Comprimento da asa anterior 3, 1 - 4, 1 cm (n=5); 9, 3, 0 - 3, 9 cm (n=7); coloração geral amarela a amarelo-escura; *Cabeça:* Amarela; antena com escapo e pedicelo amarelos, primeiros flagelômeros castanho-amarelados, com a base castanho-escura; região posteromediana sem manchas; verruga de cerdas posteroventral pequena, arredondada; fronte fortemente projetada anteriormente, arredondada, nas fêmeas muito semelhante a dos machos. *Tórax:* Amarelo; pigmentação torácica normalmente ausente; fórmula tibial 0,2,0; pernas amarelas, metade basal das garras tarsais enegrecidas; perna anterior com tíbia e tarsos

amarelo-escuros, terço apical da tíbia e dos tarsômeros I, II e V enegrecidos; perna mediana com o terço apical do tarsômero V enegrecido; asa anterior amarela, veias amarelas; pigmentação (Figura 23A) formada por muitas manchas concentradas na metade basal; célula discal triangular, grande, cerca de uma vez e meia mais longa que larga; veia s quase reta (Figuras 23 A-C); as posterior (Figura 23 B-D) com veia *m-cu* normalmente se originando após a bifurcação de M4+5; Cu1 sem bifurcação no ápice, forquilha V ausente. Genitália do macho: 15-18 cerdas laterais no segmento XI (Figura 24A); segmento IX, em vista dorsal, arredondado; com uma depressão longitudinal mediana (Figura 24B); margem posterior do esternito IX fortemente curvada, com porção mediana quase reta (Figura 24C); segmento X com tubérculo mediano longo; artículo basal do apêndice inferior estreito, com ápice levemente alargado; falo tubular, base mais longa que larga, região apicoventral levemente curvada, não projetada (Figura 24D) em vista lateral; membrana falotremal levemente arredondada (Figura 24E) em vista ventral; esclerito falotremal, triangular. Genitália da fêmea: Placa ventral do esternito VIII subovalar, margem interna arredondada, com uma reentrância subapical, densamente recoberto por cerdas; região apicomediana do tergito X com uma reentrância estreita; esclerito interno com anel central redondo com as margens laterais pontiagudas pouco alargadas (Figura 24F).

Larva: Desconhecida.

Pupa: Desconhecida.





**Figura 23.** *Synoestropsis punctipennis*, asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea.



**Figura 24.** *Synoestropsis punctipennis*, genitália. A - C, segmentos IX e X do macho, A, vista lateral; B, vista dorsal; C, vista ventral; D - E, detalhe do ápice do falo, D, vista lateral; E, vista ventral; F, genitália da fêmea, segmentos VIII, IX e X, vista ventral.

**Distribuição geográfica conhecida**: ARGENTINA, COLÔMBIA, COSTA RICA, EQUADOR, GUATEMALA, GUIANA, HONDURAS, MÉXICO, NICARÁGUA, PARAGUAI, PERU, BRASIL (Acre, Amazonas, Espirito Santo) (Figura 25).

# Material examinado:

Neotipo: 1♂, COSTA RICA, Heredia, Puerto Viejo de Sarapiqui, Estacion Biológica La Selva - Rio Puerto Viejo, 10°26′24″N/84°00′43″W, ix.1986, Col. M.M. Chavarria, [seco], (UMSP).

# Localidade-tipo: Colômbia.

ARGENTINA, Missiones. 23. [seco]. (MACN); Entre Rios. La Paz. 1♀, 30°45'35"S/59°38'21"W, ii.1930, 18 [seco], (MACN); Santa Fe. 31°38'06"S/60°41'56"W, 21.i.1927, Col. Bridarolli, 1<sup>Q</sup>, [seco], (UBA); 28.i.1929, Col. Piquete,  $1^{\circ}_{\pm}$ , [seco], (UBA); 12.i.1931, Col. Bridarolli,  $1^{\circ}_{\pm}$ , [seco], (UBA); BRAZIL, Acre, Cruzeiro do Sul, 08°02'01"S/72°48'09"W, 16.v.1981, Col. J.R. Arias e equipe, Armadilha de luz (15m), 1∂, [seco], (INPA); Amazonas, São Gabriel da Cachoeira, Igarapé Ira, 00°10'00"N/68°15'00"W, 31.v.1977, 13, [seco], (INPA); Espírito Santo, São Mateus, Santa Maria, Propriedade dos GAMA, 18°37'41.1"S/40°06'41.6"W, 05-06.ii.2013, Col. K.B. Angeli, M. Carvalho, Pennsylvania, 13, [álcool absuluto], (CEUNES); COSTA RICA, Heredia, Puerto Viejo de Sarapiqui, Estacion Biológica La Selva - Rio Puerto Viejo, 10°26'24"N/84°00'43"W, ix.1986, Col. M.M. Chavarria, 2Å, [seco], (UMSP); 10.ix.1986, Col. M.M. Chavarria,  $1 \stackrel{\frown}{_{\sim}} 2 \stackrel{\bigcirc}{_{\sim}}$ , [seco], (UMSP); PARAGUAI, Rio Paraná, ii.1920, Col. L. Navás,  $1^{\bigcirc}$ , [seco], (UMSP).

**Comentários:** É proposta a sinonimizção das espécies *S. vitrea*, *S. ecliptica* e *S. manicata* com *S. punctipennis*. As únicas características que distinguem estas espécies como entidades diferentes são distância de conexão entre a Rs e M, e a presença de manhas na asa anterior, entretanto estas características são extremamente variáveis dentro de indivíduos da mesma espécie, o que não permite seu uso para separação de espécies distintas.

*S. punctipennis* passa a ser a espécie que possui a maior distribuição geográfica dentre as espécies do gênero sendo encontrada desde o sul do México até o nordeste da Argentina. No Brasil possui registros isolados no norte e sudeste do país. *S. punctipennis* é provavelmente a maior espécie de *Synoestropsis* com registros de mais 4 cm de comprimento da asa. Além de grandes tamanhos as espécies de *Synoestropsis* (juntamente com outros gêneros de Polymorphanisini) possuem os mecanismos de acoplamento de asas mais eficientes dentre os Annulipalpia (Stocks 2010), o que os torna excelentes voadores. Essas características podem explicar a grande capacidade de dispersão dessa espécie bem como sua ampla distribuição. O padrão de pigmentação da asa de *S. punctipennis* (quando presente) é bem distinto das outras espécies. A conexão entre Rs e M se mostrou bastante variável entre uma pequena veia transversal e uma grande região de fusão.



**Figura 25.** Distribuição geográfica conhecida de *Synoestropsis punctipennis*. Os quadrados representam registros retirados da literatura, onde não foram coletados indivíduos.

# Synoestropsis grisoli Navás, 1924

#### Figuras 26 - 30, 40

Navás, 1924b: 252 [designação original]; Fischer, 1963: 210 [catálogo]; Flint, 1974 [ $\delta$ , distribuição, asas]; Flint, 1978 [ $\delta$ , distribuição, asas]; Botosaneanu & Flint, 1982 [genitália da Q]; Flint, 1996: 413 [distribuição]; Flint, 1999b: 81 [catálogo]; Paprocki *et al.* 2004: 10 [distribuição]; Blahnik *et al.* 2004: 4 [distribuição]; Nogueira & Cabetti, 2011: 351 [distribuição].

**Diagnose**: *S. grisoli* se assemelha a *S. pedicillata* e *Synoestropsis* sp. nov., pois os adultos são muito semelhantes em seu padrão geral, mas podem ser distinguidos por características da genitália. Os machos de *S. grisoli* possuem a margem posterior do esternito IX curvada nas laterais com a porção mediana quase reta o que os diferenciam de das outras espécies nos quais esta estrutura é arredondada. As fêmeas são distinguíveis pelo formato do esclerito interno que em *S. grisoli* as margens laterais do esclerito interno são pontiagudas o que a separa de *S. pedicillata* que possui esta estrutura com dois lobos arredondados nas margens laterais e pela região apicomediana do tergito X que em *S. grisoli* tem uma reentrância evidente enquanto em *S. sp.* nov esta estrutura possui apenas uma leve reentrância. As larvas de *S. grisoli* e *S. pedicillata* são muito similares em seu padrão geral com pouca diferença em seu padrão de coloração e pelo formato da margem anterior do labro que em *S. grisoli* é quase reta, enquanto que em *S. pedicillata* essa estrutura é arredondada. A região apicoventral do trocantim trucanda pode distingui-la de *Synoestropsis* sp nov. que possui esta estrutura pontiaguda.

## Descrição

*Adulto:* Comprimento da asa anterior 3 1,8 – 2,0 cm (n=3); 2 1,6 – 1,9 cm (n=5); coloração geral amarelo-clara à amarela. *Cabeça:* Amarela; antena com escapo e pedicelo amarelos, flagelômeros amarelos, com a base castanho-escura; região posteromediana com manchas enegrecidas ou lavada com amarelo-escuro; verruga de cerdas posteroventral elíptica, alongada transversalmente; fronte alongada longitudinalmente, margens laterais quase retas, nas fêmeas, menos alongada, quase tão larga quanto longa, margens laterais quase retas, margem dorsal levemente pontiaguda. *Tórax:* Amarelo, pigmentação torácica normalmente presente em diferentes níveis, com manchas na região posterolateral do mesoescuto, em todo mesoescutelo e na região anterolateral do metaescuto (padrões de manchas normalmente mais

forte nas fêmeas); fórmula tibial 1,2,2; pernas amarelas, metade basal das garras tarsais esbranquiçadas; perna anterior com tíbia e tarso amarelo-escuros, terço apical da tíbia e dos tarsômeros III e IV enegrecidos; perna mediana com o terço apical do tarsômero IV enegrecido; asa anterior amarela, levemente sombreada de castanho em torno das veias; veias castanhas; pigmentação normalmente presente (Figura 26A), formada por grandes máculas; célula discal triangular, pequena, tão larga quanto longa; veia s quase reta (Figuras 26 B-D); asa posterior (Figura 26 C-E) com veia m-cu normalmente se originando antes da bifurcação de M4+5 ou na bifurcação; Cu1 sem bifurcação no ápice, forquilha V ausente. Genitália do macho: 18-21 cerdas laterais no segmento XI (Figura 27A); segmento IX, em vista dorsal, com região posterolateral truncada, escavado medianamente, sem depressão longitudinal mediana (Figura 27B); margem posterior do esternito IX levemente curvado, com porção mediana quase reta (Figura 27C); segmento X com tubérculo mediano curto; artículo basal do apêndice inferior estreito, levemente alargado no ápice; falo tubular, base tão larga quanto longa, região apicoventral curvada, porção mediana levemente projetada (Figura 27D); levemente arredondada em vista ventral (Figura 27E); esclerito falotremal em forma de gota. Genitália da fêmea: Placa ventral do esternito VIII subovalar, margem interna levemente arredondada, coberta por cerdas; região apicomediana do tergito X com uma reentrância evidente; esclerito interno anterior com anel central redondo e margens laterais pontiagudas alargadas (Figura 27F).





**Figura 26.** *Synoestropsis grisoli*, asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea.



**Figura 27.** *Synoestropsis grisoli*, genitália. A - C, segmentos IX e X do macho, A, vista lateral; B, vista dorsal; C, vista ventral; D - E, detalhe do ápice do falo, D, vista lateral; E, vista ventral; F, genitália da fêmea, segmentos VIII, IX e X, vista ventral.

Larva: Comprimento do corpo 1,8 – 2,1 cm (n=6) (Figura 29A). Cabeça (Figuras 29 B-D): Comprimento cerca de duas vezes e meia a largura; coloração geral castanho-alaranjada a castanho-escura; labro sem mancha na porção basal, região lateromediana arredondada, margem anterior reta, com pelo menos seis cerdas longas e escuras e cerdas menores distribuídas por toda metade apical (Figuras 29 E-F). Tórax (Figura 28A): Protórax castanhoalaranjado a castanho-escuro; trocantim anterior (Figuras 28 B-C) bem desenvolvido, subquadrangular, com ápice mais estreito que a base; margem dorsal fortemente arredondada, com quatro a seis cerdas, quatro basais, partindo da base primeira cerda maior que as demais, com uma ou duas cerdas medianas curtas e grossas e uma cerda fina e longa pré-apical; região apicoventral terminando em um tufo de aproximadamente doze cerdas longas; face interna com uma linha levemente esclerosada na porção mediana, alargando em direção ao ápice, com cerca de treze cerdas finas, somente acima da linha esclerosada; mesotórax castanhoalaranjado a castanho-escuro; mesoesterno (Figura 28D) com poucas cerdas distribuídas na metade anterior e um pequeno tufo entre a inserção das coxas, brânquia filamentosa média, atingindo no máximo a metade do comprimento do protórax; metatórax castanho-alaranjado a castanho-escuro; coxa anterior (Figuras 28 E-H) subquadrangular, quase tão longa quanto larga, com muitas (cerca de 13) cerdas longas na porção basodorsal, com uma cerda curta basodorsal, sem cerda longa mediodorsal, com duas cerdas medioventrais na face externa, uma apical e outra subapical, face externa com reentrância dorsoapical levemente côncava, formando um ângulo maior que 90°, face interna com região dorsoapical reta; base do fêmur com mais da metade da largura do ápice, margem interna coberta por cerdas; muitas cerdas longas e escuras distribuídas por toda margem interna; com poucas cerdas medias e claras, restritas a região apical; região ventral coberta por uma fileira de cerdas longas, médias e curtas; região apical com um ângulo reto entre a porção mediana e ventral; região apicoventral quase reta; margem dorsal da coxa mediana (Figuras 28 F-I) com cerca de três a cinco cerdas curtas e duas longas e escuras (uma apical e uma mediana), porção ventral com cerdas curtas e médias; margem dorsal da coxa posterior (Figuras 28 G-J) com cerca de três a cinco cerdas longas. Abdome: Fórmula branquial (Figura 29H) como descrito para o gênero, com uma brânquia laterodosal posterior no segmento I; segmento IX com cerca de 10 a 15 cerdas agrupadas na região ventral, cinco a sete cerdas na região ventrolateral, duas cerdas longas e duas cerdas pequenas ramificadas na região dorsolateral; garra anal com ângulo de cerca de 90°.

*Pupa:* Como descrita para o gênero; tergito abdominal IV (Figura 40C) com dois pares de placas de ganchos sendo uma anterior e outra posterior; margem interna do ápice do segmento abdominal X (Figura 40E) com uma pequena projeção pontiaguda.



**Figura 28.** *Synoestropsis grisoli*, larva. A, cabeça e tórax, vista dorsal; B - C, trocantim anterior, B, face externa; C, face interna; D, mesoesterno, vista ventral; E – J, detalhe das pernas torácicas; E, perna anterior, face externa; F, perna mediana, face externa; G, perna posterior, face externa; H, perna anterior face interna; I, perna posterior face interna.





**Figura 29.** *Synoestropsis grisoli*, larva. A, hábito, vista lateral; B - D, detalhe da cabeça, B, vista dorsal; C, vista ventral; D, vista lateral; E – F, detalhe das peças bucais; E, labro, vista dorsal; F, labro, vista ventral; G, mandíbulas, vista dorsal; H, fórmula branquial. Legenda da posição das brânquias: pvs, posteroventral simples; pv, posteroventral; ld, laterodorsal; lvp, lateroventral posterior; lva; lateroventral anterior. O número indica a quantidade de brânquias em cada posição.

**Distribuição geográfica conhecida**: GUIANA, PERU, SURINAME, VENEZUELA BRASIL (Amapá, Amazonas, Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso, Minas Gerais, Pará, Rio Grande do Sul, Rondônia, Roraima) (Figura 30).

Material examinado: BRASIL, Amapá, Serra do Navio, Rio Cachaço; Cachoeria do Fernando, 00°53'18.8"N/52°01'22.9"W, 02.viii.2011, Col. A.M.O Pes, A. Fernades, P.V. Cruz, 1<sup>o</sup> 4L, [álcool absoluto], (INPA); Tartarugalzinho, Igarapé do Ramal do Cedro, 01°14'42"N/51°00'59"W, 11.viii.2011, Col. A.M.O. Pes, P.V. Cruz, A. Fernandes, N. Hamada, 2L, [álcool], (INPA); Rio Tracajatuba, 01°02'20"N/51°05'08"W, 11.viii.2011, 1L, [álcool], (INPA); Oiapoque, Rio Oiapoque, Cachoeira Grande, 03°48'13"N/51°52'31"W, 09.viii.2011, Col. A.M.O. Pes, P.V. Cruz, A. Fernandes, N. Hamada, 1L, [álcool], (INPA); Amazonas, *Barcelos*, Comunidade Ararinha, Rio Padauari,  $00^{\circ}30'18''N/63^{\circ}03'30''W$ , 1<sup>Q</sup>, [álcool], (INPA); Serrinha, Rio Aracá, 00°24'39"N/63°29'12"W, 03-06.viii.2009, 1∂ 1L, [álcool], (INPA); *Carauarí*, Gupuaí, 05°05'31"S/67°10'03"W, vii.2005, 2<sup>(7)</sup>, [álcool], (INPA); *Maués*, Rio Abacaxis, 05°15′09"S/58°41′52"W, Col. J.A. Rafael e equipe, 28.v.2008, 4<sup>♀</sup>, [seco], (INPA); Presidente Figueiredo, Fazenda Maripuanã,  $02^{\circ}03'17.3"$ S/60°06'19.6"W, 08.viii.2007, 1 $^{\circ}$  8 $^{\circ}$ , [álcool], (INPA); Corredeiras Santo Amaro, Igarapé da Onça, 02°02'21"S/59°50'44"W, 24-25.vii.2008, 6<sup>Q</sup>, [álcool], (INPA); Balneário Sossego da Pantera, 02°05'57"S/60°01'02"W, 04-05.ix.2000, 1 $\bigcirc$ , [álcool], (INPA); 26-28.ix.2000, Col. A.M.O. Pes, J.O. Silva, J. Bosco, 2 $\bigcirc$ , [álcool], (INPA); 08-11.x.2002, Col. A.M.O. Pes, C.A. Azevedo, D.L. Pereira,  $2\mathcal{Q}$ , [álcool], (INPA); 08.viii.2007,  $2^{\uparrow}_{\circ}$   $3^{\bigcirc}_{+}$ , [álcool], (INPA); Igarapé da Pantera, Km 20 Am 240, 02°02'00"S/50°50'00"W, Col. A.M.O. Pes, J. Bosco, Y.B. Alencar, L.C. Barbosa, 22.ii.2000, 1, [seco], (INPA); 05.ix.2000, 1♀, [seco], (INPA); 23-30.ix.2003,1♀, [seco], (INPA); São Gabriel da Cachoeira, Querari (Pelotão), 01°04'60"N/69°50'59"W, 09-10.v.1993, Col. C. Motta, R. Ferreira, J. Vital, B. Matteo,  $1^{\bigcirc}$ , [seco], (INPA); **Bahia**, *Barreias*, Rio das Velhas, 13°31'08.3"S 45°21'00.2"W, 20.vi.2009, Col. N. Hamada e equipe, 1L, [álcool], (INPA); Correntina, Rio Correntina, Vila de Treviso, 13°31'08.6"S/45°21'02.4.3"W, 31.x.2008, Col. N. Hamada, C.A.S. Azevêdo, R. Kikuchi, G. Fleck,  $4^{\uparrow}_{\circ}$ ,  $1^{\bigcirc}_{\circ}$ , [álcool], (INPA); Luis Eduardo Magalhães, Rio de Janeiro (ponte), estrada de Riachão das Neves, 11°53'53.2"S/45°36'38.3"W, 25-30.x.2008, Col. N. Hamada, C.A.S. Azevêdo, R. Kikuchi, G. Fleck,  $3^{\uparrow}_{\circ}$  10 $^{\circ}_{\circ}$ , [álcool], (INPA); Espírito Santo, Sooretama, Rio São José, 19°07'33.1"S/40°14'26.1"W, 26.viii.2011, Col. A.M.O Pes, F.F. Salles, P. Barcelos-Silva, 1<sup>(2)</sup> 21L, [álcool] (CEUNES); 18-19.vii.2012, Col. F.F. Salles, R. Boldrini, 2<sup>Q</sup>, [álcool] (INPA); Mato Grosso, Aripuanã, 09°58'60"S/59°17'59"O, 20.iv.1979, A. Soares, 1<sup>Q</sup>, [álcool] (INPA); Spezal, Rio Juína, ponte sobre Rio Juína,

13°47'41.0"S 59°27'16.3"W, 07.ix.2012, Col. N. Hamada, 1L, [álcool absoluto] (INPA); Nova Xavantina, Rio Pindaíba, 14°56'56"S/52°04'17"W, 02.x.2003, Col. D. Nogueira-Silva, 8L [álcool] (UNEMAT); Rio Antártico, 14°49'02.1"S/52°29'20"W, 06.vii.2012, Col. N. Hamada, 13L, [álcool absoluto] (INPA); Travessão das Facas, Rio das Mortes, 12°31'06"S/50°58'46"W, 07.vii.2012, Col. N. Hamada, Lençol, 3L, [álcool], (INPA); Minas Gerais, Cardeal Mota, Serra do Cipó, Rio Cipó, 19°20'33"S/43°38'31"W, 10.ix.2001, Col. R. Holzenthal, R.J. Blahnik, H. Paprocki, Amarante, 1<sup>Q</sup> [seco], (UMSP); Rio Capivara, 19°20'33"N/43°38'31"W, 11.ii.1998, Col. R. Holzenthal, H. Paprocki, 1♀ [seco], (UMSP); Conceição do Maro Dentro, Rio Santo Antônio, abaixo de Morro do Pilar, 19°08'08"S/43°21'15"W, 17.x.2000, Col. H. Paprocki, Ferreira, 6<sup>Q</sup>, [seco], (UMSP); Santo Antônio do Itambé, Confluencia entre Rio Preto do Itambé e Rio Peixe, 19°17'31"S/43°15'21"W, 04.ii.1998, Col. R. Holzenthal, H. Paprocki, 1♂ 1♀, [seco], (UMSP); São Gonçalo do Rio Preto, Parque Estadual do Rio Preto, Rio Preto, 18°07'09"S/43°20'27"W, 14.xi.2001, Col. R.J. Blahnik, Amarante, 5♀, [seco], (UMSP); 15.xi.2001, Col. R.J. Blahnik, H. Paprocki, Amarante, 1<sup>♀</sup>, [seco], (UMSP); Pará, Rurópolis, Cachoeira do Grim, 04°05'35.5"S/55°00'27.7"W, 24.x.2007, Col. N. N. Hamada, A.M.O. Pes, J.O. Silva, 1<sup>Q</sup> 1L [álcool], (INPA); **Rio Grande do Sul**, *Bossoroca*, Barra do Angico, Rio Piritini, 28°33'30"S/54°55'44"W, 23.24.xii.2008, Col. A.M.O. Pes, 3∂ 3♀ [álcool absoluto], (INPA); 08-09.viii.2012, 3L, [álcool absoluto], (INPA); Rondônia, *Candeias do Jamari*, Rio Preto (ponte), 08°52'40"S/63°38'02.2"W, 20.viii.2009, 2<sup>Q</sup> [seco], (INPA); Balneário na cidade, Rio Candeias, 08°47′30.2″S/63°42′20.3″W, 26.viii.2012, 2∂, [álcool], (INPA); Colorado do Oeste, Rio Cabixi, 13º15'31.8"S/60º20'04.8"W, 06.ix.2012, Col. J.M.C. Nascimento, N. Hamada, 6L, [álcool], (INPA); Guajará-Mirim, Pacaás Novas -Afluente direto do Pacaás Novas, 11°13'00"S/64°55'00"W, 08.ix.1999, Col. N. Hamada e equipe, 1<sup>Q</sup> [seco], (INPA); Nova Londrina, Rio Urupá, 11°02'05.8"S/62°08'34.1"W, 02.ix.2012, Col. N. Hamada, R. Boldrini, A.S. Fernandes, J.M.C. Nascimento, 2<sup>3</sup>/<sub>0</sub> 9L, [álcool], (INPA); *Ribeirão*, Rio Mamoré, 10°13'54.9"S/65°17'08.8"W, 07-08.vii.2012, 2<sup>Q</sup> [álcool], (INPA); Roraima, Alto Alegre, Rio Urariquera - Ilha de Maracá02°53'45"N/61°29'51"W, 21-30.xi.1987, Col. J.A. Rafael e equipe, Armadilha de Luz, 6♀, [seco], (INPA); 02-13.v.1987, Col. J.A. Rafael, L.S. Aquino, J.E.B. Brasil, Armadilha de Luz,  $2^{\circ}_{+}$ , [seco], (INPA); Boa Vista, Alto Alegre, Rio Cauamé, 02°52'07"N/60°44'22"W, 29.v.2009, Col. L. Fusari, A. Fernandes, 23L, [álcool], (INPA); Caracaraí, Rio Branco, Cachoeira Bem Querer, 01°57'44"N/61°00'08"W, 20.ii.2002, 1L [álcool], (INPA);

**Comentários:** *S. grisoli* possui muitas peculiaridades quando comparada às outras espécies. Apresenta a maior variação no padrão de coloração torácico encontrada em *Synoestropsis*. Esta variação pode ser observada em outras espécies relativamente próximas como, por exemplo, em *Polymorphanisus elisabethae* Navás, 1931 que possui diversas formas de manchas no mesoescutelo em diferentes populações distantes geograficamente (Barnard 1980). É a menor espécie, nunca ultrapassando 2,5 cm de comprimento. Diferentemente das outras espécies, *S. grisoli* demonstrou uma amplitude de habitat maior. Segundo Flint *et al.* (1999) as larvas de *Synoestropsis* são preferencialmente encontradas em grandes rios e em observação às características dos pontos amostrados durante a realização do trabalho, foi observada a presença de larvas em corpos d'água de menor porte. Nesses ambientes os únicos indivíduos coletados foram identificados como *S grisoli*. Os dados moleculares sugerem uma grande variação genética intraespecífica e a formação de populações distintas. Apesar disso, a morfologia não apresentou diferenças estáveis e ao mesmo tempo congruentes com os padrões de distância entre as populações sugeridas pelas análises moleculares.



**Figura 30.** Distribuição geográfica conhecida de *Synoestropsis grisoli*. Os quadrados representam registros retirados da literatura, onde não foram coletados indivíduos.

## Synoestropsis stictonota Navás, 1932 nomen dubium

Navás, 1932 83 [designação original]; Fischer, 1963: 210 [catálogo]; Flint, 1999b: 81 [catálogo].

As características propostas na descrição original não são suficientes para reconhecer *S. stictonota* como uma espécie diferenciada das demais. Estas são características generalizadas para a maioria das espécies do gênero. Além disso, não existe qualquer material de referência que possa servir de base de dados para reavaliação dos caracteres inicialmente propostos. Propomos aqui a invalidação de *S. stictonota* como uma espécie.

## Synoestropsis euryphlebia Navás, 1934

# Figura 31.

Navás, 1934 83 [designação original]; Fischer, 1963: 210 [catálogo]; Flint, 1999b: 81 [catálogo].

As características propostas na descrição original aparentemente são suficientes para reconhecer *S. euryphlebia* como uma espécie diferenciada das demais. Navás considera *S. euryphlebia* como similar a *S. obliqua* pelo formato da veia s da asa anterior (Figura 34) fortemente oblíqua e as diferencia pela ausência da forquilha V da asa posterior em *S. euryphlebia*. Nenhum espécime foi analisado, por isso hesitamos em incluí-la nas análises filogenéticas pela ausência de informações morfológicas disponíveis sobre o táxon, no entanto ela foi incluída na chave de identificação.

Uma vez que não há material coletado após a descrição da espécie, é aconselhável uma análise detalhada do material tipo para reavaliação do status de *S. euryphlebia*.

Distribuição geográfica conhecida: GUIANA FRANCESA.



Retirado de Navás, 1934

**Figura 31.** *Synoestropsis euryphlebia*. Ilustração da asa anterior realizada por Navás no ato da descrição original.

## Synoestropsis furcata Flint, 1974

## Figuras 32 – 36, 40.

Synoestropsis furcata Flint, 1974: 117 [designação original]; Flint, 1978: 396 [distribuição, ilustração da genitália do ♂ e foto das asas]; Botosaneanu & Flint, 1982: 16-17 [ilustração da genitália da ♀]; Flint, 1999b: 81 [catálogo]; Paprocki *et al.* 2004: 10 [distribuição]; Calor, 2008 [descrição da larva]; Nogueira & Cabetti, 2011: 351 [distribuição].

**Diagnose.** *S. furcata* se assemelha a *S. obliqua* pela presença da forquilha V na asa posterior, Elas podem ser distinguidas pelo padrão de coloração geral que em *S. furcata* é em tons de amarelo-claro e em *S. obliqua* é em tons de marrom. Os machos destas espécies podem ser distinguidos pelo formato do ápice do tergito IX que em *S. furcata* é fortemente arredondada, enquanto que em *S. obliqua* esta estrutura é truncada com as laterais escavadas. As fêmeas podem ser separadas pelo comprimento da placa ventral do esternito VIII que em *S. furcata* é mais arredondada enquanto que em *S. obliqua* esta estrutura é alongada longitudinalmente. A larva de *S. furcata* parece estar mais relacionada à larva de *Synoestropsis* sp.1, pois se assemelham pela proporção da coxa anterior e o formato do fêmur anterior, entretanto podem ser facilmente separadas pela morfologia do trocantim que em *S. furcata* a região apicoventral do trocantim é pontiaguda e não contém cerdas a região apicoventral enquanto que em *Synoestropsis* sp.1 esta estrutura é truncada, com uma fileira de cerdas longitudinal.

# Descrição

*Adulto:* Comprimento da asa anterior 3 1,8 – 2,2 cm (n=6); 2 1,9 – 2,4 cm (n=6); coloração geral amarela a bege. Cabeça: Amarela; antena com escapo e pedicelo amarelos, flagelômeros amarelos, com a base castanha; sem mancha posteromediana; verruga de cerdas posteroventral pequena, arredondada; fronte alongada longitudinalmente, com uma leve constrição mediana, nas fêmeas, menos alongada, constrição mediana mais acentuada, metade dorsal mais larga que a metade ventral. Tórax: Amarelo; pigmentação torácica normalmente ausente; fórmula tibial 1,2,2; pernas amarelas, metade basal das garras tarsais enegrecidas (mais evidente nas fêmeas); perna anterior com tíbia e tarsos amarelo-escuros, terço apical da tíbia e dos tarsômeros I e V enegrecidos; perna mediana com o terço apical dos tarsômeros I e V enegrecidos; asa anterior amarela, levemente sombreada de castanho-claro no ápice, veias amarelas; pigmentação (Figura 32A) formada por pequenas máculas (na base das veias Sc, Rs, M e Cu2 e nas veias transversais cu2-a1, cu1-cu2, r); célula discal triangular, pequena, quase tão larga quanto longa; veia s levemente oblíqua (Figuras 32 B-D); asa posterior (Figura 32 C-E) com veia *m-cu* normalmente se originando na bifurcação de M4+5 ou ligeiramente depois; Cu1 bifurcado no ápice (forquilha V presente). Genitália do macho: 12-13 cerdas laterais no segmento IX (Figura 33A); segmento IX, em vista dorsal, arredondado, pontiagudo apicalmente, sem depressão longitudinal mediana (Figura 33B); margem posterior esternito IX levemente curvada, reta na porção mediana (Figura 33C); segmento X sem tubérculo mediano; artículo basal do apêndice inferior estreito, com uma região alargada no ápice; falo tubular, base mais longa que larga, região apicoventral levemente curvada, não projetada (Figura 33D) em vista lateral; membrana falotremal subquadrangular, alargada (Figura 33E) em vista ventral; esclerito falotremal pequeno, triangular. Genitália da fêmea: Placa ventral do esternito VIII ovalada, margem interna arredondada, coberta por cerdas; região apicomediana do tergito X com uma leve reentrância; esclerito interno anterior com metade ventral evidente, com finas projeções laterais (Figura 33F).



**Figura 32.** *Synoestropsis furcata*, asas: A, padrão de pigmentação da asa anterior; B, asa anterior, macho; C, asa posterior, macho; D, asa anterior, fêmea; E, asa posterior, fêmea; F, asas anteriores, demonstrando a variação na conexão entre Rs e M.



**Figura 33.** *Synoestropsis furcata*, genitália. A - C, segmentos IX e X do macho, A, vista lateral; B, vista dorsal; C, vista ventral; D - E, detalhe do ápice do falo, D, vista lateral; E, vista ventral; F, genitália da fêmea, segmentos VIII, IX e X, vista ventral.

*Larva*: Comprimento do corpo 2,7 – 3,3 cm (n=12) (Figura 35A). *Cabeça* (Figuras 35 B-D): comprimento cerca de duas vezes e meia a largura; coloração geral castanho-amarelada a castanha; labro sem mancha na porção basal, região lateromediana arredondada, margem anterior arredondada, com pelo menos seis cerdas longas e escuras e cerdas menores distribuídas por toda metade apical (Figuras 35 E-F). Tórax (Figura 34A): Protórax amareloalaranjado a castanho; trocantim anterior (Figuras 37 B-C) bem desenvolvido, subtriangular, com ápice mais estreito que a base; margem dorsal fortemente arredondada, com três cerdas basais, cerdas curtas e grossas, todas do mesmo tamanho, com uma cerda curta e grossa mediana e uma cerda fina e longa pré-apical; região apicoventral terminando em uma projeção pontiaguda alongada, sem cerdas; com uma linha levemente esclerosada na porção mediana, alargando em direção ao ápice; com cerca de dezesseis cerdas finas, somente acima da linha esclerosada; mesotórax amarelo-alaranjado; mesoesterno (Figura 34D) com muitas cerdas concentradas na porção mediana da metade anterior e um pequeno tufo entre a inserção das coxas, brânquia filamentosa média, atingindo, no máximo, a metade do protórax; metatórax amarelo-alaranjado; coxa anterior (Figuras 34 E-H) subretangular, cerca de duas vezes mais longa que larga, com poucas (cerca de três a quatro) cerdas longas na porção basodorsal, sem cerda curta basodorsal, com uma cerda longa pré-apical, sem cerdas na porção mediana da face externa, face externa com reentrância dorsoapical fortemente côncava, formando um ângulo menor que 90°, face interna com região dorsoapical contendo uma projeção arredondada; base do fêmur anterior com cerca da metade da largura do ápice, margem interna coberto por cerdas; cerdas longas e escuras concentradas na porção dorsal; cerdas médias e claras concentradas na metade apical, região ventral com pequenas cerdas claras concentradas na metade basal e uma cerda escura pré-apical; margem ventral coberto por uma fileira de cerdas curtas e poucas cerdas longas; região apical com um ângulo obtuso entre a porção mediana e ventral; região apicoventral arredondada; margem dorsal da coxa mediana (Figuras 34 F-I) com cerca de oito a dez cerdas curtas e uma cerda apical longa e escura; porção ventral com cerdas pequenas e médias; margem dorsal da coxa posterior (Figuras 34 G-J) com cerca de quatro a cinco cerdas longas. Abdome: Fórmula branquial (Figura 35H) como descrito para o gênero, com uma brânquia laterodosal posterior no segmento I; segmento IX com cerca de 30 a 35 cerdas agrupadas na região ventral, sete a nove cerdas na região vetrolateral, duas cerdas longas e duas cerdas pequenas ramificadas na região dorsolateral; garra anal com ângulo de cerca de 90°.

*Pupa:* Como descrito para o gênero; tergito abdominal IV (Figura 43D) com apenas um par de placas de ganchos na margem anterior; margem interna do ápice do segmento abdominal X (Figura 43F) arredondada, sem projeção.



**Figura 34.** *Synoestropsis furcata*, larva. A, cabeça e tórax, vista dorsal; B - C, trocantim anterior, B, face externa; C, face interna; D, mesoesterno, vista ventral; E – J, detalhe das pernas torácicas; E, perna anterior, face externa; F, perna mediana, face externa; G, perna posterior, face externa; H, perna anterior face interna; I, perna posterior face interna.



**Figura 35.** *Synoestropsis furcata*, larva. A, hábito, vista lateral; B - D, detalhe da cabeça, B, vista dorsal; C, vista ventral; D, vista lateral; E – F, detalhe das peças bucais; E, labro, vista dorsal; F, labro, vista ventral; G, mandíbulas, vista dorsal; H, fórmula branquial. Legenda da posição das brânquias: pvs, posteroventral simples; pv, posteroventral; ld, laterodorsal; lvp, lateroventral posterior; lva; lateroventral anterior. O número indica a quantidade de brânquias em cada posição.
**Distribuição geográfica conhecida**: GUIANA, SURINAME, VENEZUELA, BRASIL (Amapá, Amazonas, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima) (Figura 36).

Material examinado: BRAZIL, Amapá, Oiapoque, Balneário do Rio Pantanahy, 23°47'54"N/51°48'05"W, 12-13.xii.1999, Col. A.M.O. Pes, P.V. Cruz, A. Fernandes, N. Hamada, 1Å, [álcool absoluto], (INPA); Amazonas, Novo Airão, Rio Araras (fim do ramal), 02°37'37"S/60°57'00"W, 08.viii.2011, Luz Mista, 12, [seco], (INPA); *Maués*, Rio Abacaxis, 05°15'09"S/58°41'52"W, 28.v.2008, Col. J.A. Rafael e equipe, Suspensa dossel 35m (com luz), 4 $\bigcirc$ , [seco], (INPA); Luz (no barco), 1 $\bigcirc$  2 $\bigcirc$  [seco], (INPA); Mato Grosso, Aripuanã, Reserva Humboldt, 10°11′00″S/59°48′00″W, 23.i.1976, Col. L.T. Albuquerque, 1♀, [seco], (INPA); 17.iii.1977, Col. N.D. Penny, Luz de mercúrio, 2♀, [seco], (INPA); 21.iii.1977, 1♀, [seco], (INPA); 14.vii.1977, 2∂, [seco], (INPA); Nova Xavantina, Rio Pindaíba, 02.x.2003, Col. D. Nogueira-Silva, 17L [álcool] (UNEMAT); Travessão das Facas, Rio das Mortes, 12°31'06"S/50°58'46"W, 07-08.vii.2012, Col. N. Hamada, Lençol, 1♀, [álcool], (INPA); Pará, Itaibuna, Parque Nacional Amazonia (63km à SO de Itaibuna), 04°38'45"S/56°22'05"W, 06.x.1977, Col. N.D. Penny, 1 12 [seco], (INPA); Rurópolis, Cachoeira do Grim, 04°05'35.5"S/55°00'27.7"W, 26.ix.2007, Col. N. Hamada e equipe, 1L [álcool], (INPA); Rondônia, Guajará-Mirim, Pacaás Novas - Afluente direto do Pacaás Novas, 11°13'00"S/64°55'00"W, 11.ix.1999, Col. N. Hamada e equipe, 1∂ 1♀ [seco], (INPA); 04.ix.1999, 5L [álcool], (INPA); Nova Londrina, Rio Urupá, 11°02'05"S/62°08'34"W, 02.ix.2012, Col. J.M.C. Nascimento, R. Boldrini, A. Fernandes, N. Hamada, Lençol, 1 7L [álcool absoluto], (INPA); Vilhena, Rio Hermes, estrada de barro à esquerda, Vilhena -Colorado (Eixo 0), 13°12'07.5"S/60°23'25.1"W, 07.vii.2012, Col. N. Hamada, 1L [álcool absoluto], (INPA); Roraima, Alto Alegre Rio Urariquera - Ilha de Maracá,  $02^{\circ}53'45''N/61^{\circ}29'51''W$ , 21-23.xi.1987, Col. J.A. Rafael e equipe, Armadilha de Luz,  $2^{\circ}_{+}$ , [seco], (INPA); 02-13.v.1987, Col. J.A. Rafael, L.S. Aquino, J.E.B. Brasil, Armadilha de Luz, 1 $\bigcirc$ , [seco], (INPA); 18-28.viii.1987, Col. J.A. Rafael, L.S. Aquino, J.F. Vidal, E. Binda, 2 $\bigcirc$ , [seco], (INPA); 21-23.xi.1987, Col. J.A. Rafael e equipe, Armadilha de Luz, 2♀, [seco], (INPA); Pacaraima, Fazenda São Sebastião, Rio Ereu, 04°02'02,9"N/61°23'09.5"W, 05.iii.2002, Col. N. Hamada, 1L, [álcool], (INPA); 23.iii.2002, 6L, [álcool], (INPA); 25.iii.2012, Col. N. Hamada, J.L. Nessimian, A.M.O. Pes, 42L, [álcool], (INPA); 26.iii.2012, 9L, [álcool], (INPA), Bomfim, Rio Arraia, 03°21'04"N/59°54'13"W, 04.ii.2007, Col. N. Hamada e equipe, Lençol, 1<sup>o</sup>, [álcool], (INPA); 21.iii.2002, 37L, [álcool], (INPA); Boa Vista, Alto Alegre, Rio Cauamé, 02°52'07"N/60°44'22"W, 20.iii.2002, Col. N. Hamada e equipe, 34L, [álcool], (INPA); 22.iii.2002, 13L, [álcool], (INPA); 23.iii.2002, 1L, [álcool], (INPA); 26.iii.2002, 31L, [álcool], (INPA); 23.iii.2003, Col. N. Hamada, S. Couceiro, R.L.M. Pereira, 41L, [álcool], (INPA); 28.iii.2003, Col. N. Hamada e equipe, Pennsylvania (Luz negra),  $1^{\circ}$  1L, [álcool], (INPA); 21.iii.2003, Col. N. Hamada e equipe, Lençol,  $1^{\circ}$ , [álcool], (INPA); 30.v.2009, Col. L.M. Fusari, Pennsylvavia,  $6^{\uparrow}_{\circ}$  19<sup> $\bigcirc$ </sup> [álcool absoluto], (INPA); 29.v.2009, 3 42 65L [álcool absoluto], (INPA); *Caracaraí*, Rio Branco, Cachoeira Bem Querer, 01°57'44"N/61°00'08"W, 08.ii.2002, Col. A.M.O. Pes, C. Rios, Lencol (Luz mista),  $1 \stackrel{\circ}{\bigcirc} 2 \stackrel{\circ}{\bigcirc}$ , [álcool], (INPA); 19.ii.2002, N. Hamada e equipe, Pennsylvavia,  $1 \stackrel{\circ}{\bigcirc} 2 \stackrel{\circ}{\bigcirc}$ , A.M.O. Pes, 37L, [álcool], (INPA); 20.ii.2002, 5L, [álcool], (INPA); 18-21.ii.2002, N. Hamada e equipe, Pennsylvavia,  $21 \stackrel{\circ}{_{\sim}} 21 \stackrel{\circ}{_{\sim}}$ , [álcool],  $3 \stackrel{\circ}{_{\sim}} 8 \stackrel{\circ}{_{\sim}}$  [seco] (INPA); 17.iii.2007, 1L, [álcool], (INPA); 18-21.ii.2011, A.M.O. Pes, Pennsylvavia, 18∂ 13♀, [álcool], (INPA); 07.iii.2012, 1L, [álcool], (INPA); 18-27.iii.2012, 12L, [álcool], (INPA); Urimutã, Rio Cotingo, Ponto 2, 04°20'22.3"N/60°29'12.6"W, 23.iii.2002, N. Hamada, A.M.O. Pes, C.A.S. Azevedo, R.L. Ferreira, J.L. Nessimina, 8L, [álcool], (INPA); 25.iii.2002, 40L, [álcool], (INPA). SURINAME, Marowijne, Benzdorp, Rio Lawa, 03°26'28"N/54°01'08"W, 07.x.1963, Col. B. Malkin, 8L, [álcool], (INPA).

**Comentários:** *S. furcata* possui o maior conjunto de características únicas do gênero, sendo a espécie mais facilmente distinguida das demais. A análise dos padrões de venação das asas, principalmente das fêmeas, permitiu verificar que alguns caracteres antes considerados diagnósticos, são apenas variações entre indivíduos. Essas variações já tinham sido apontadas por Flint *et al.* (1999). Bentes *et al.* (2008) descrevem o hábito predador das larvas e apontaram algumas características morfológicas que são adaptações para este hábito, estas características porém são compartilhadas em outras espécies, dessa forma é possível supor que o hábito predador seja uma característica genérica e não apenas desta espécie. Larvas de *S. furcata* foram coletadas por Pes (comunicação pessoal), em leito de rios secos no estado de Roraima, apenas com umidade retida através das pedras, demonstrando que esses organismos podem ser extremamente resistentes a condições adversas. Essa característica pôde ter sido fundamental no sucesso da criação, em laboratório, das larvas da espécie permitindo a associação de todos os estágios imaturos ao adulto. Pes (comunicação pessoal), ainda observou, em experimentos de criação, que o gênero *Synoestropsis* possui alta longevidade

nos estágios imaturos. Larvas coletadas no quarto instar levaram cerca de quatro meses até realizarem a muda para quinto instar, depois o último estádio resistiram por cerda de dez meses até chegarem a fase de pupa. Considerando-se que em regiões tropicais e mais quentes o desenvolvimento de muitos grupos é relativamente mais rápido que em áreas mais frias, as espécies encontradas em zonas mais frias podem possuir um tempo de vida na fase larval muito longo.



**Figura 36.** Distribuição geográfica conhecida de *Synoestropsis furcata*. Os quadrados representam registros retirados da literatura, onde não foram coletados indivíduos.

# Synoestropsis sp.1

#### Figuras 37 - 39.

**Diagnose:** A larva de *Synoestropsis* sp.1 se assemelha à larva de *S. furcata*, pela proporção da coxa anterior e o formato do fêmur anterior, entretanto podem ser facilmente separadas pela morfologia do trocantim *Synoestropsis* sp.1 a região apicoventral é truncada, com uma fileira de cerdas longitudinal, enquanto que em *S. furcata* esta estrutura é pontiaguda e não contém cerdas.

## Descrição

## Adulto: desconhecido.

Larva: Comprimento do corpo 3,3 – 3,6 cm (n=5) (Figura 38A). Cabeça (Figuras 38 B-D): comprimento cerca de três vezes a largura; coloração geral castanha a castanho-escura; labro sem mancha castanho-escura na porção basal, região lateromediana arredondada, margem anterior reta, sem cerdas longas e escuras, cerdas menores distribuídas por toda metade apical (Figuras 38 E-F). Tórax (Figura 37A): Protórax castanho-escuro; trocantim anterior (Figuras 38 B-C) bem desenvolvido, subquadrangular, com base quase tão ampla quanto o ápice; margem dorsal quase reta, com cinco cerdas basais, cerdas médias todas do mesmo tamanho, uma cerda curta e grossa mediana e uma cerda longa e fina pré-apical; região apicoventral truncada, com uma fileira de aproximadamente doze cerdas longas; face interna com uma linha fortemente esclerosada acima da porção mediana, afinando em direção ao ápice, com mais de vinte cerdas finas, acima e abaixo da linha esclerosada; mesotórax castanho; mesoesterno (Figura 37D) sem cerdas distribuídas na metade anterior, apenas um pequeno tufo entre a inserção das coxas, brânquia filamentosa curta, nunca ultrapassando o comprimento do mesotórax; metatórax castanho-claro; coxa anterior (Figuras 38 E-H) subretangular, cerca de duas vezes mais longa que larga, com poucas (entre três e quatro) cerdas na porção basodorsal, com uma cerdas curta basodorsal e uma cerda longa mediodorsal, com duas cerdas medioventrais na face externa, uma apical e outra mediana, face externa com reentrância dorsoapical fortemente côncava, formando um ângulo menor que 90°, face interna com região dorsoapical reta; base do fêmur cerca da metade da largura do ápice, margem interna coberta por cerdas; muitas cerdas longas e escuras restritas a metade dorsal; com poucas cerdas medias e claras restritas a metade ventral; região ventral coberta por uma fileira de cerdas longas, cerdas curtas restritas ao ápice; região apical com um ângulo obtuso entre a porção mediana e ventral; região apicoventral reta; margem dorsal da coxa mediana (Figuras 37 F-I) com cerca de sete a dez cerdas curtas e duas longas e escuras (uma apical e uma mediana), porção ventral com cerdas curtas e médias; margem dorsal da coxa posterior (Figuras 37 G-J) com cerca de três a quatro cerdas longas. *Abdome:* Fórmula branquial (Figura 38H) como descrito para o gênero, com uma brânquia laterodosal posterior no segmento I; segmento IX com cerca de 15 a 20 cerdas agrupadas na região ventral, cinco a sete cerdas na região ventrolateral, duas cerdas longas e duas cerdas pequenas ramificadas na região dorsolateral; garra anal com ângulo menor que 90°.

# Pupa: Desconhecida.

**Distribuição geográfica conhecida**: ARGENTINA; BRASIL (Rio Grande do Sul) (Figura 39).

Material examinado: ARGENTINA, Missiones, Salto Encantado, Arroyo Azul, 27°00'47"S/54°57'04,9"W, 26.i.2008, Col. J.V. Sganga, 4L, [forrmol 10%], (UBA); 13.iii.2008, 4L, [forrmol 10%], (UBA); Arroyo Cuña-Pirú (Balneário), 27°05'15,2"S/54°5711,4"W, 14.xi.2006, 2L, [forrmol 10%], (UBA); 28.i.2008, 7L, [forrmol 11.iii.2008, 10%], (UBA); 8L, [forrmol 10%], (UBA); Arroyo Moreno, 26°54'24,9"S/54°54'49,5"W, 04.iv.2006, 2L, [forrmol 10%], (UBA); 16.xi.2006, 1L, [forrmol 10%], (UBA); 01.i.2008, 1L, [forrmol 10%], (UBA); 12.iii.2008, 2L, [forrmol 10%], (UBA); Arroyo Tamanduá, 27°02'43,6"S/55°00'12,7"W, 26.i.2008, 3L, [forrmol 10%], (UBA); 11.iii.2008, 5L, [forrmol 10%], (UBA); Arroyo Tateto, 27°06'36,6"S/54°58'52,1"W, 02.iv.2006, 8L, [forrmol 10%], (UBA); 13.ix.2006, 1L, [forrmol 10%], (UBA); 27.i.2008, 3L, [forrmol 10%], (UBA); 13.iii.2008, 3L, [forrmol 10%], (UBA); BRASIL, Rio Grande do Sul, Arroio do Tigre, Rio Carijinho, 29°20'32"S/53°09'58"W, 24.iii.2002, Col. C.B. Kotzian, D.B. Neri, A.E. Siegloch, M.R. Spies, 1L, [álcool], (MZUSP); 10.ix.2001, 1L, [álcool], (MZUSP); Ibarama, Lajeado da Gringa, 29°22'57"S/53°12'08"W, vii.2001, 1L [álcool], (MZUSP); viii.2001, 1L [álcool], (MZUSP); 02.iii.2002, 1L [álcool], (MZUSP); 10.ix.2001, 1L [álcool], (MZUSP); 24.v.2002, 1L [álcool], (MZUSP).



**Figura 37.** *Synoestropsis* sp.1, larva. A, cabeça e tórax, vista dorsal; B - C, trocantim anterior, B, face externa; C, face interna; D, mesoesterno, vista ventral; E - J, detalhe das pernas torácicas; E, perna anterior, face externa; F, perna mediana, face externa; G, perna posterior, face externa; H, perna anterior, face interna; I, perna posterior, face interna; J, perna posterior, face interna.



**Figura 38.** *Synoestropsis* sp.1, larva. A, hábito, vista lateral; B - D, detalhe da cabeça, B, vista dorsal; C, vista ventral; D, vista lateral; E – F, detalhe das peças bucais; E, labro, vista dorsal; F, labro, vista ventral; G, mandíbulas, vista dorsal; H, fórmula branquial. Legenda da posição das brânquias: *pvs*, posteroventral simples; *pv*, posteroventral; *ld*, laterodorsal; *lvp*, lateroventral posterior; *lva*; lateroventral anterior. O número indica a quantidade de brânquias em cada posição.

**Comentários:** *Synoestropsis* sp., claramente é uma espécie distinta de todas os outros morfótipos encontrados. Entretanto, não pôde ser associada a nenhum adulto conhecido, uma vez que não foi possível obtenção de dados moleculares a partir dos espécimes analisados devido à forma de conservação e nenhum indivíduo foi coletado para realização de criação. Apesar disso, é possível observar algumas características que indicam que *S.* sp. poderia pertencer a *S. obliqua*. A análise da distribuição geográfica de ambas permite afirmar que elas ocorrem em simpatria, sendo que larvas deste morfótipo foram coletas junto com adultos de *S. obliqua* na mesma localidade na Argentina. No entanto, hesitamos em confirmar tal associação com base apenas em distribuição geográfica, devido o fato de nessas mesmas localidades ocorrerem outra espécie do gênero.



Figura 39. Distribuição geográfica conhecida de Synoestropsis sp.1.



**Figura 40.** Pupas. A, cabeça, vista frontal; B, detalhe das mandíbulas, vista dorsal; C - D, placas de ganhos abdominais; C, *Synoestropsis grisoli*; D, *Synoestropsis furcata*; E - F, X segmento abdominal, vista dorsal; E, *Synoestropsis grisoli*; F, *Synoestropsis furcata*.

# Chave de identificação para adultos e larvas das espécies de Synoestropsis

| 1. Adultos (machos e fêmeas) | 2 |
|------------------------------|---|
|                              |   |
| 1´.Larvas                    | 8 |

2(1). Fronte arredondada, projetada anteriormente (a); fórmula tibial 0,2,0 (b) .....



2'. Fronte plana, não projetada anteriormente (a); fórmula tibial 1,2,2 (b)......3









4'. Espécimes em tons de marrom; machos com tergito IX, em vista dorsal, com o ápice truncado (a); fêmeas com placa ventral do esternito VIII longa (quase duas vezes mais longa que larga) (b); fronte com margens laterais quase reta.....*Synoestropsis obliqua* 



5(3'). Veia *s* da asa anterior engrossada e fortemente oblíqua.....

......Synoestropsis euryphlebia



Retirado de Navás, 1934

5' Veia *s* da asa anterior não engrossada e quase reta......**6** 









7'.Espécimes normalmente pequenos; manchas torácicas normalmente presentes; machos com tergito IX, em vista ventral, levemente curvado, com porção mediana reta (a); fêmeas com garras tarsais esbranquiçadas; esclerito interno com laterais pontiagudas (b)*Synoestropsis grisoli* 



8(1'). Região apicoventral do trocantim anterior pontiaguda......9



8'. Região apicoventral do trocantim anterior truncada ......10









10'. Cerdas do trocantim anterior dispostas em tufo na região apicoventral (a); brânquias filamentosas do mesoesterno longas, podendo ultrapassar o comprimento do segmento (b)



11(10'). Margem anterior do labro arredondada ...... Synoestropsis pedicillata



11'. Margem anterior do labro quase reta.....Synoestropsis grisoli



# 4.3. Filogenia

## 4.3.1. Lista de caracteres e matriz

No total foram codificados 24 caracteres (Tabela 10) dos quais 20 binários e quatro multiestados. Deste total, 22 caracteres foram considerados informativos para parcimônia. A seguir serão apresentados todos os caracteres com seus respectivos estados contendo um breve comentário a cerca de cada um deles.

**Tabela 10.** Matriz de táxons por caracteres morfológicos com seus respectivos estados usados para as análises filogenéticas. As linhas representam os táxons terminais e as colunas os caracteres com seus respectivos estados.

|                            | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
|----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                            |   |   |   |   |   |   |   |   |   | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Oestropsyche vitrina       | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | 1 | 0 | 0 |
| Aethaloptera sexpunctata   | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | - | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 1 | 0 |
| Polymorphanisus fuscus     | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | 1 | 1 | 0 |
| Synoestropsis pedicillata  | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| Synoestropsis obliqua      | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Synoestropsis punctipennis | 2 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Synoestropsis grisoli      | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| Synestropsis furcata       | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 1 | 0 |
| Synoestropsis sp. nov.     | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 3 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |

(-) Estado de caráter não aplicável.

- 1. Verruga de cerdas posteroventral. [L = 3; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Ausente
  - (1) Projetada
  - (2) Não projetada e arredondada
  - (3) Não projetada e elíptica

Em *Synoestropsis* a presença da verruga de cerdas não projetada na porção posteroventral da cabeça é compartilhada por todas as espécies. O formato elíptico [estado 3] foi recuperado como sinapomórfico para o clado formado por *S. grisoli*, *S. pedicillata* e *S.* sp. nov.

- 2. Formato da fronte. [L = 2; Ci = 50; Ri = 0]
  - (0) Plana
  - (1) Convexa

O formato da fronte é uma característica bastante variável. Embora utilizado como uma característica diagnóstica em *S. punctipennis* o estado apomórfico [1] apresentou distribuição homoplástica, sugerindo convergência evolutiva nos diferentes grupos. Este caráter foi assim interpretado pelo fato de outras espécies de distintos gêneros e não incluídos na análise, apresentarem essa mesma característica.

- 3. Proporção comprimento x largura da fronte das fêmeas. [L = 2; Ci = 50; Ri = 66]
  - (0) Alongada, cerca de uma vez e meia mais longa que larga
  - (1) Não alongada, quase tão larga quanto longa

Apesar da distribuição homoplástica, o formato não alongado da fronte nas fêmeas [1] foi recuperada como uma sinapomorfia para o clado formado por *S. grisoli, S. pedicillata* e *S.* sp. nov.. Em observação do mesmo caráter para os machos não foi encontrada a mesma variações entre as espécies.

- 4. Máculas anterolaterais do mesonoto. [L = 1; Ci = 100; Ri = 66]
  - (0) Ausentes
  - (1) Presentes

Este caráter foi recuperado como uma sinapomorfia de *Synoestropsis*. As máculas anterolaterais estão, na maioria dos casos, presentes como grandes machas. Entretanto quando um indivíduo é coletado após emergência muito recentemente, essas manchas podem apresentar diferentes níveis ou até mesmo estar praticamente ausentes.

- 5. Formato da perna anterior. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Cilindrica, sem modificações
  - (1) Achatada, expandida lateralmente

O achatamento das pernas anteriores [1] foi recuperado aqui como uma sinapomorfia que une *Polymorphanisus* e *Synoestropsis*. Embora o achatamento da perna anterior, tenha sido um indicativo da proximidade entre esses gêneros o achatamento das pernas em alguns grupos de Macronematinae também é observado.

- 6. Fórmula tibial. [L = 3; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) 0,3,2
  - (1) 1,3,3
  - (2) 0,2,0
  - (3) 1,2,2

O número de esporões nas tíbias é muito variável dentre os membros de Polymorphanisini. O estado [3] foi recuperado como sinapomorfia para *Synoestropsis* com uma mudança autapomórfica ([3] para [2]) para *S. punctipennis*.

- 7. Veias transversais entre C e Sc da asa anterior. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Presente
  - (1) Ausente

Dentre os membros de Polymorphanisini a presença de veias entre as veias C e Sc é muito comum. A ausência dessas veias [1] foi recuperada como uma sinapomorfia de *Synoestropsis*.

- 8. Veias Sc e R1 da asa anterior. [L = 1; Não informativo]
  - (0) Fusionadas, separando-se no terço apical da asa
  - (1) Separadas desde a base da asa

O caráter não foi considerado informativo. Foi suficiente para separar apenas a raiz da árvore de todos os outros táxons analisados.

9. Conexão entre as veia Rs e M da asa anterior. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]

- (0) Ausente
- (1) Presente

O estado [1] foi recuperado como uma sinapomorfia para *Synoestropsis*. Como citado anteriormente, a conexão entre as veias Rs e M foi primeiramente proposta por Ulmer no ato da descrição do gênero e se manteve aqui como um caráter importante para o grupo.

- 10. Célula discal da asa anterior. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Ausente
  - (1) Presente

Dentre os caracteres de asa, a presença da célula discal [1] foi recuperada como uma sinapomorfia do clado que une *Polymorphanisus* e *Synoestropsis*. Entretanto quando se analisa outros grupos de Trichoptera é possível verificar que a presença dessa célula é compartilhada pela maior parte dos táxons. É provável que a presença da célula seja um caráter plesiomórfico num âmbito mais amplo e que a ausência nos diferentes grupos seja por perda secundária como acontece em *Oestropsyche* e *Aethaloptera*.

- Proporção comprimento x largura da célula discal da asa anterior. Aplicável apenas para os que possuem o estado (1) do caráter 10. [L = 2; Ci = 50; Ri = 50]
  - (0) Célula curta, quase tão larga quanto longa
  - (1) Célula alongada, cerca de uma vez e meia mais longa que larga

O alongamento da célula discal parece ter ocorrido independentemente nos grupos analisados. Apesar de apresentar distribuição homoplástica, dentro de *Synoestropsis* essa mudança ([0] para [1]) ocorreu apenas em *S. punctipennis*.

- 12. Veias Sc e R1 da asa posterior. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Fusionadas
  - (1) Separadas

O estado [1] foi mais um caráter recuperado como uma sinapomorfia do clado formado por *Polymorphanisus* e *Synoestropsis*.

- 13. Terminação da veia R1 da asa posterior. [L = 2; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Livre, terminando no ápice da asa
  - (1) Livre, terminando antes do ápice da asa
  - (2) Cruzando-se com Sc antes do ápice da asa

A terminação da veia R1 cruzando-se com a Sc antes do ápice da asa [2] foi recuperada como uma sinapomorfia de *Synoestropsis*.

14. Veias R2 e R3 da asa posterior. [L = 1; Não informativo]

- (0) Separadas
- (1) Fusionadas

O caráter não foi considerado informativo. A fusão de R2 e R3 da asa posterior [1] é uma autapomorfia de *Polymorphanisus*.

- 15. Forquilha V da asa posterior. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Presente
  - (1) Ausente

A bifurcação da veia Cu1 é comumente encontrada nos gêneros de Macronematinae. O estado [1] foi aqui recuperada como uma sinapomorfia do clado formado por *S. punctipennis*, *S. grisoli*, *S. pedicillata* e *S.* sp. nov.. Dessa forma, é possível supor que a presença [0] da bifurcação é um caráter plesiomórfico em *Synoestropsis* e que houve uma perda secundária nos táxons mais derivados.

16. Formato da região apicomediana do tergito IX dos machos. [L = 4; Ci = 75; Ri = 50]

- (0) Arredondado
- (1) Truncado
- (2) Escavado
- (3) Levemente lobada

O formato da região apicomediana do tergito IX é dos caracteres mais variáveis da genitália masculina. Os resultados sugerem que o formato arredondado [0] é plasiomórfico em relação demais. *S. obliqua* e *S.* sp. nov. possuem estados autapomórficos ([1] e [4] respectivamente) em relação a este caráter, enquanto que *S. pedicillata* e *S. grisoli* compartilham o mesmo estado [2].

- 17. Proporção comprimento x largura do tergito IX dos machos. [L = 2; Ci = 50; Ri = 66]
  - (0) Mais longo que largo
  - (1) Tão largo quanto longo

Apesar da distribuição homoplástica, o estado [1] foi recuperado como uma sinapomorfia para o clado formado por *S. grisoli*, *S. pedicillata* e *S.* sp. nov.

- 18. Depressão longitudinal do tergito IX dos machos. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Ausente
  - (1) Presente

O estado [1] deste caráter é uma autapomorfia para S. punctipennis.

- 19. Formato da margem posterior do esternito IX dos machos. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Curvado nas laterais com a região mediana quase reta
  - (1) Totalmente arredondado

O formato arredondado [1] foi recuperado como uma sinapomorfia que uniu *S. pedicillata* e *S.* sp. nov. como grupos-irmãos no clado formado por estas espécies junto com *S. grisoli*.

20. Tubérculo mediano no tergito X dos machos. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]

- (0) Ausente
- (1) Presente

A presença de um tubérculo membranoso na região mediana do tergito X dos machos [1] foi recuperada como uma sinapomorfia de todos os táxons de *Synoestropsis* com exceção de *S. furcata*.

- 21. Comprimento do tubérculo mediano do tergito X dos machos, em relação ao comprimento do tergito X. Aplicável apenas para os que possuem o estado (1) do caráter 20. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Curto, menor que o comprimento do tergito
  - (1) Longo, maior que o comprimento do tergito

Dentre os táxons que contém o tubérculo mediano do tergito X, *S. puntipennis* é o único no qual essa estrutura é alongada, ultrapassando o comprimento do tergito X. Logo, o estado [1] é uma autapomorfia desta espécie.

- 22. Proporção comprimento x largura da falobase. [L = 3; Ci = 33; Ri = 50]
  - (0) Comprimento com cerca do dobro da largura
  - (1) Comprimento semelhante a largura

Apesar da distribuição homoplástica este caráter também corrobora o clado formado por *S. grisoli, S. pedicillata* e *S.* sp. nov.

- 23. Largura da região mediana do falo. [L = 1; Não informativo]
  - (0) Largo, quase metade da largura da base
  - (1) Estreito, pelo menos 1/3 da largura da base

O caráter não foi considerado informativo. Foi suficiente para separar apenas a raiz da árvore de todos os outros táxons analisados.

- 24. Porção apicoventral do falo, vista lateral. [L = 1; Ci = 100; Ri = 100]
  - (0) Reta
  - (1) Projetada

A projeção da região apicoventral do falo [1] foi recuperada como uma sinapomorfia exclusiva do clado formado por *S. grisoli*, *S. pedicillata* e *S.* sp. nov.

#### 4.3.2. Hipótese de relacionamento filogenético entre as espécies de Synoestropsis

Como resultados da análise com pesagem uniforme dos caracteres apenas uma árvore mais parcimoniosa (Figura 44) foi encontrada com 38 passos (L), índice de consistência 81 e índice de retenção 83. Não houve diferenças topológicas entre a análise com pesagem uniforme e as análises com pesagem implícita com diferentes valores de concavidade (k).

Synoestropsis foi recuperado como um gênero monofilético bem suportado (Bremer = 5 / CG = 93) e sustentando por seis sinapomorfias das quais a presença de máculas anterolaterais (4 [1]), ausência de veias transversais entre C e Sc das asas anteriores (7 [1]), conexão entre as veias Rs e M das asas anteriores (9 [1]) e Veia R1 cruzando-se com a Sc antes do ápice da asa (13 [2]) são características compartilhadas por todas as espécies do gênero. Os caracteres 1 [2] e 6 [3] também representam sinapomorfias do gênero com mudanças internas.

O primeiro grande clado formado propõe *S. furcata* como grupo-irmão de todas as outras espécies unidas pela presença do tubérculo mediano no tergito X (20 [1]) como sinapomorfia.

O clado (*S. punctipennis*, (*S. grisoli*, (*S. pedicillata* e *S.* sp. nov))) é sustentando pela ausência da forquilha V na asa posterior (15 [1]). Isso sugere uma perda secundária da forquilha V da asa posterior nessas espécies uma vez que a presença desse caráter pode ser verificada desde os grupos externos mais afastados.

O clado (*S. grisoli*, (*S. pedicillata* e *S.* sp. nov.)) foi bem suportado (Bremer = 5 / CG = 99) sendo unido pelas seguintes sinapomorfias: verrugas de cerdas posteroventrais elípticas (1 [3]); formato da fronte das fêmeas (3 [1]); tergito IX tão largo quanto longo (17 [1]); projeção apicoventral do falo (29 [1]). A resolução entre essas espécies sugere *S. pedicillata* como grupo-irmão de *S.* sp. nov., sustentados pelo formato arredondado da margem posterior do esternito IX (19 [1]) e *S. grisoli* como grupo-irmão das duas espécies.



**Figura 44.** Árvore mais parcimoniosa encontrada com a análise dos caracteres morfológicos tanto com pesagem uniforme quanto com pesagem implícita com valor de concavidade (k) variando de 1 a 10. Os círculos pretos representam as sinapomorfias, os círculos brancos representam os caracteres com distribuição homoplástica. Os números acima dos círculos representam o caráter e abaixo o estado do caráter. Os valores acima dos ramos (em azul) representam os valores do índice de decaimento de Bremer e os valores abaixo dos ramos (em verde) representam os valores de diferença de frequência.

# 5. CONCLUSÃO

O número de larvas associadas aos adultos passou de uma para quatro, além de um morfótipo não associado ao adulto. Das quatro larvas associadas, duas (*S. furcata* e *S. grisoli*) tiveram as associações moleculares corroboradas pela associação através de criação de imaturos. Além disso, cinco espécies tiveram associação sexual realizada através das ferramentas moleculares.

Uma atenção especial deve ser dada a *S. grisoli*. Embora morfologicamente semelhantes, fato pelo qual foi considerado um único táxon, altos níveis de divergência genética foram encontrados entre os indivíduos. Essas características, aliadas a ausência de um padrão populacional definido, podem indicar um processo recente de especiação, considerando as peculiaridades apresentadas pela espécie. Novos marcadores poderiam ser utilizados a fim de confirmar se *S. grisoli* é uma única espécie com grande variação intraespecífica ou um potencial complexo de espécies crípticas.

A reavaliação dos caracteres previamente propostos nas descrições mostrou que alguns deles apresentam alto grau de plasticidade fenotípica, principalmente para as fêmeas. Muitos deles, antes considerados diagnósticos para diferentes espécies, se mostraram como variação até mesmo dentro de uma mesma população e também entre machos e fêmeas da mesma espécie. Características baseadas em diferenças de padrões de pigmentação entre as espécies devem ser utilizados com cautela, pois a presença ou ausência de machas não são caracteres diagnósticos.

Algumas espécies tiveram seu status reavaliado com base nas observações acima citadas sendo considerados sinônimos de outras espécies ou mesmo sendo considerado como uma espécie duvidosa. Uma nova espécie foi encontrada e descrita para o gênero com confirmação da análise com o COI.

Uma nova chave de identificação foram propostas com a utilização de caracteres diagnósticas e incluindo todas as espécies encontradas para o gênero tanto para adultos como para imaturos.

O gênero teve seu monofiletismo corroborado pelas análises filogenéticas com base na morfologia dos adultos. Pela primeira vez foi proposta uma hipótese de relacionamento filogenética para as espécies de *Synoestropsis*.

# 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson, A.M.; Stur, E.; Ekrem, T. 2013. Molecular and morphological methods reveal cryptic çdiversity and three new species of NearcticMicropsectra(Diptera:Chironomidae). Freshwater Science, 32(3): 892–921.

Angrisano, E.B. 1995. Trichoptera, p. 1199-1237 In: E.C. Lopretto, G. Tell (Eds.). *Ecosistemas de aguas continentales, metodologia para su estudio*. Tomo III. Ediciones Sur. La Plata, Argentina.

Barnard. P.C. A revision of the Old World Polymorphanisini (Trichoptera: Hydropsychidae). Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology, 41 (2):59–106.

Bentes, S.P.C.; Pes, A.M.O.; Hamada, N.; Keppler, R.L.M.F. 2008. Larvas de *Synoestropsis* sp. (Trichoptera: Hydropsychidae) são predadoras? *Acta Amazonica*, 38(3): 579–582.

Blahnik, R.J.; Holzenthal, R.W. 2004. Collection and curation of Trichoptera, with an emphasis on pinned material, p. 8-20 In: Chamorro-Lacayo, M.L. (Ed.). *Nectophyche Neotripical Trichoptera Newsletter*.1:26.

Boyero, L.; Ramirez, A.; Dudgeon, D.; Pearson, R.G. 2009. Are tropical streams realy different? *Journal of the North American Benthological Society*. 28(2): 397–403.

Calor, A.R. 2008. Description of the larvae of *Synoestropsis furcata* Flint, 1974 (Trichoptera: Hydropsychidae) from central-western region, Brazil. *Aquatic Insects*. 30(4): 319–325.

Calor, A.R. 2008. Description of the larvae of *Synoestropsis furcata* Flint, 1974 (Trichoptera: Hydropsychidae) from central-western region, Brazil. *Aquatic Insects*. 30(4): 319–325.

Calor, A.R. 2009. Considerações Acerca da Filogenia de Trichoptera Kirby 1813: da Análise dos Dados para as Hipóteses ou dos Cenários para os Dados. *EntomBrasilis*, 2(1): 01–10.

De Pinna, M.C.C. 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics*, 7: 367–394.

Flint, O.S. 1974. The Trichoptera of Suriname. *Studies on the Fauna of Suriname and ather Gyanas*. XIV, 55. 1–155.

Flint, O.S. 1978. Studies of Neotropical Caddisflies, XXII: Hydropsychidae of the Amazon Basin (Trichoptera). *Amazoniana*, 3(6): 373–421.

Flint, O.S.; McAlpine, F.; Ross, H.H. 1987. A revision of the genus *Leptonema* Guerin (Trichoptera: Hydropsychidae: Macronematinae). *Smithsonian Contribution to Zoology*, 450: 1–193.

Flint. O.S.; Buena-Soria, J. 1982. Studies of Neotropical caddisflies, XXXII: The immature stages of *Macronema variipenne* Flint & Bueno, with the division os *Macronema* by the resurrection of *Macrostemum* (Trichoptera: Hydropsychidae). *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 95(2): 358–370.

Flint, O.S.; Holzenthal, R.W.; Harris, S.C. 1999a. Nomenclatural and systematic changes in the Neotropical caddisflies (Insecta: Trichoptera). *Insecta Mundi*, 13: 73–84.

Flint, O.S.; Holzenthal, R.W.; Harris, S.C. 1999b. Catalog of the Neotropical Caddisflies (Insecta: Trichoptera). *Colombus, Ohio Biological Survey*. iv + 239p.

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.

Frania, H.E.; Wiggns, G.B. 1997. Analysis of morphological and behavioral evidence for the phylogeny and higher classification of Trichoptera (Insecta). *Royal Ontario Museum, Life Sciences Contributions*, 160:1–67.

Frost, S.W. 1952. Light traps for insect collection, survey and control. *Bulletin of the Pennsylvania State College, Agricultural Experiment Station*, 550: 32.

Geraci, C.J.; Kjer, K.M.; Morse, J.C.; Blahnik, R. 2005. Phylogenetic relationships of Hydropsychidae subfamilies based on morphology and DNA sequence data, p.131-136 In: Tanida, K.; Rossiter, A. (Eds.). *Proceedings of the 11th International Symposium on Trichoptera*. Tokai University Press, Japan.

Goloboff, P. 1993. Estimating caracter weights during tree search. *Cladistics*, 9: 83–91.

Goloboff, P.; Farris, J.S.; Nixon, K. 2003. TNT: Tree Analysis. Program and documentation available from the authors [www document]. URL http://www.zmuc.dk/public/phylogeny.

Guerold, F. 2000. Influence of taxonomic determination level on several community indices. *Water Research*, 34(2): 487–492.

Hebert P.D.N.; Cywinska, A.; Ball, S.; de Waard, J.R. 2003a. Biological identifications though DNA barcades. *Proceedings of the Royal Society of London, Serie B, Biological Science*, 270: 313–321.

Hijmans, R.; Guarino, C.; Bussink, P.; Mathur, M.; Cruz, I.; Barrantes, E.; Rojas. 2004. DIVA GIS Version 5.2: Sistema de información geográfica para el análisis de datos de distribución de especies. www.diva-gis.org.

Hillis, D.M.; Bull, J.J. 1993. An empirical test bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Sistematic Biology*, 42: 182–192.

Holzenthal, R.W.; Blahnik, R.J.; Prather, A.L.; Kjer, K.M. 2007a. An update on the phylogeny of caddisflies (Trichoptera), p. 143-153 In: Bueno-Soria, J.; Barba-Álvarez, R.; Armitage B. (Eds.). *Proceedings of the 12th International Symposium on Trichoptera*. The Caddis Press. 378p.

Holzenthal, R.W.; Blahnik, R.J.; Prather, A.L.; Kjer, K.M. 2007b. Order Trichoptera Kirby, 1813 (Insecta), Caddisflies. *Zootaxa*, 1668: 639–698.

Holzenthal, R.W.; Morse, J.C.; Kjer, K. 2011. Order Trichoptera Kirby, 1813 In: Z.Q. Zhang (Ed.). Animal biodiversity: An outline of higherlevel classification and survey of taxonomic richness. *Zootaxa*, 3148, 209–211.

Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates os base substitutions through comparative studies of nucleotide sequeces. *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111–120.

Kjer, K.M. 2004. Aligned 18S and insect phylogeny. Systematic Biology. 53: 506–514.

Kjer, K.M.; Blahnik, R.J.; Holzenthal, R.W. 2001. Phylogeny of Trichoptera (caddisflies): characterization of signal and noise within multiple datasets. *Systematic Biology*, 50: 781–816.

Kjer, K.M.; Blahnik, R.J.; Holzenthal, R.W. 2002. Phylogeny of caddisflies (Insecta, Trichoptera). *Zoologica Scripta*, 31: 83–91.

Morse,J.C.2012.TrichopteraWorldChecklist.(Ed.).(http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm).Último acesso em 08/02/2014.

Navás 1920a: Algunos insectos de Santa Fe recogidos per el P. Juan C. Muhn, S.J. *Estudios (Buenos Aires)*, 18: 133.

Navás 1920b: Insectos Sudamericanos (1a, 2a y 3a serie). Anales de la Sociedad Científica Argentina, 90: 41-42.

Navás 1924b: Qualques insectes de l'Ámérique Mériodionale. *Annales de la Société scientifique de Bruxellas, Documents et Comptes rendus*, 43: 252.

Navás 1932a: Décadas de insectos nuevos. Década 20.*Brotéria, Serie Ciências Naturais,* 1: 83.

Navás 1934b: Tricopteros nuevos e interessantes. Brotéria, Serie Ciências Naturais, 3: 90.

Neboiss, A. 1991. Trichoptera, p. 787-816 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. 2nd ed.* Volume 2. Ithaca: NY: Cornell Univ. Press.

Nixon, K.C. 2002. WINCLADA. Program and documentation distributed by the author. Cornell University, Ithaca, EUA.

Oláh, J.; Johanson, K.A. 2008. Reasoning appendicular and functional caddisfly genital terminology. *Braueria*, 35: 29–40.

Pes, A.M.O.; Hamada, N.; J.L. Nessimian. 2005. Chaves de identificação de larva para famílias e gêneros de Trichoptera (Insecta) da Amazônia Central, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 49(2): 181–204.

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, R.J.; 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(3): 1058–1074.

Resh, V.H.; Solem, J.O. 1996. Phylogenetic relationships and evolutionary adaptations of aquatic insects, p. 862 In: Merritt, R.W.; Cummins, K.W. (Eds.). *An Introduction to the Aquatic Insects of North America. 3rd ed.* Dubuque: Kendall/Hunt Publishing Company.

Roback, S.S. 1966. The Catherwood Foundation Peruvian-Amazon Expedition, XI - the Trichoptera larvae and pupae. *Monographs od the Academy of Natural Sciences os Philadelphia*, 14: 235–303.

Rueda-Martín, P.A. 2006. Colecta, cría y asociación en *Atopsyche* (Banks) (Trichoptera: Hydrobiosidae). *Nectopsyche-Neotropical Trichoptera Newsletter*, (3): 5–7.

Saccone, C.; De Giori, C.; Pesole, G.; Reyes, A. 1999. Evolutionary genomics in Metazoa: the mitocondrial 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. 3<sup>rd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, NY, USA. 2344p.

Schefter, P.W. 2005. Re-evaluation 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. 200p.

Shapiro. A.M.; Porter. A.H. 1989. The lock-and-key hypothesis: evolutionary and biosystematics interpretation of insect genitalia. *Ann. Rev. Entomol.*, 34: 32–345.

Stocks, I.C. 2010. Comparative and Functional Morphology of Wing Coupling Structure in Trichoptera: Annulipalpia. *Journal of Morphology*, 271: 152–168.

Tamura, K. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731–2739.

Townes, H.K. (1972) A light-weight Malaise trap. Entomological News, 83, 239–247.

Ulmer 1905: Zur kenntniss aussereuropäische Trichopteren. *Stettiner Entomologische Zeitung.*, 66: 43–47.

Weaver, J.S.; 1984. The evolution and classification of Trichoptera, part I: The groundplan of Trichoptera. pp. 413-419. In: Morse, J.C. (Ed.) *Proceedings of the 4th International Symposium on Trichoptera*. Junk, The Hague.

Weidner, H. 1964. Die entomologischen sammlungen des zoologischen staatisistituts und zoologischen museums Hamburg. *Mitteilungen aus dem Hanburgischen Zoologischen Museum und Institut*, 62: 55–100.

Wiemers, M.; Fieldler, K. 2007. Does barcoding gap exist? - a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Frontiers in Zoology*, 4(8): 1–16.

Wiggins, G.B. 1996. *Larvae of the North American Caddisfly (Trichoptera). 2nd. Ed.* Toronto: University of Toronto Press Incorporated. 457 p.

Wiggins, G.B. 2004. *Caddisflies: The underwater architects*. Toronto: University of Toronto Press Incorporated, 292 p.

Wiggns, G.B.; Wichard, W. 1989. Phylogeny of pupation in Trichoptera, with proposals on the origin and higherclassification of the order. *Journal of the North American Benthological Society*, 8: 260–276.

Whiting, M.F. 2002. Phylogeny of the holometabolous insect orders: Molecular evidence. *Zoological Scripta*, 31: 3–15.

Wilson, K.; Charill, V.; Ballment, E.; Benzie, J. 2000. The complete sequence of the mitochondrial genome of the crustacean *Penaeus monodon*: Are Malacostracean crustaceans more closely related to insects than to branquiopods? *Molecular Biology and Evolution*, 17(6): 863–874.

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. and *Diplectrona obscura*. *Zootaxa*, 2174: 1–17.

Zhou, X.; Robinson, J.L.; Geraci, C.J.; Parker, C.R.; Flint, O.S.; Etnier, D.A.; Ruiter, D.R.; DeWalt, E.; Jacobus, L.M.; Hebert, P.D.N. 2009. Towards a comprehensive barcode library for arctic life - Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera of Churchill, Manitoba, Canadá. *Frontiers in Zoology*, 6(30): 1–9.

Zhou, X.; Jacobus, L.M.; DeWalt, E Adamowicz, S.J.; Hebert, P.D.N. 2010. Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera fauna of Churchill (Manitoba, Canada): insights into biodiversity patterns from DNA barcoding. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(3): 814–837.

Zhou, X.; Robinson, J.L.; Geraci, C.J.; Parker, C.R.; Flint, O.S.; 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.