

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

Crescimento de *Thraulodes* sp. e evolução morfológica da cabeça e de peças bucais de
Leptophlebiidae (Ephemeroptera): uma abordagem morfométrica.

Sara Sanches Cortezzi

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas, como
parte das exigências para a obtenção do título
de Mestre em Ciências Biológicas – Área de
Zoologia

BOTUCATU – SP

2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

Crescimento de *Thraulodes* sp. e evolução morfológica da cabeça e de peças bucais de
Leptophlebiidae (Ephemeroptera): uma abordagem morfométrica.

Sara Sanches Cortezzi

Orientador: Dr. Pitágoras da Conceição Bispo

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas, como
parte das exigências para a obtenção do título
de Mestre em Ciências Biológicas – Área de
Zoologia

BOTUCATU – SP

2009

FICHA CATALOGRÁFICA

Cortezzi, Sara Sanches

Crescimento de *Thraulodes* sp. e evolução morfológica da cabeça e de peças bucais de Leptophlebiidae (Ephemeroptera): uma abordagem morfométrica. Botucatu, 2009.

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Zoologia.

Orientador: Bispo, Pitágoras da Conceição

1. Alimentação. 2. Crescimento. 3. Insetos aquáticos. 4. Morfometria.

Dedico a conclusão dessa dissertação a minha mãe Eny, que sempre torceu e confiou em mim, com extrema dedicação, apoio, companheirismo, sábios conselhos, transmitindo força e coragem para que eu pudesse continuar. Uma mulher que admiro muito, respeito e me espelho para guiar meu futuro.

Agradecimentos

Ao professor Pitágoras da Conceição Bispo, pela orientação, confiança, dedicação extrema, paciência, atenção, amizade e bom humor que sempre demonstrou no dia-a-dia do laboratório com todos os orientandos, inclusive comigo durante todo o tempo de execução do meu projeto de Mestrado.

Ao CNPq pelo apoio financeiro concedido durante a etapa final da dissertação de Mestrado. À FAPESP pelo apoio financeiro relacionado ao projeto “Ecologia e taxonomia de insetos aquáticos de riachos” processo (04/09711-8) que foi de fundamental importância para a execução das atividades do projeto de Mestrado.

Ao Departamento de Ciências Biológicas, UNESP de Assis, por proporcionarem a infraestrutura necessário para o desenvolvimento da parte prática do projeto.

Ao Dr. Elidiomar Ribeiro Da-Silva, pela ajuda na identificação de parte do material de *Thraulodes* sp.

Ao pesquisador do MZUSP (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo) Fábio Machado, pelo esforço e dedicação em contribuir para a execução de uma parte da dissertação através dos ensinamentos das técnicas morfométricas.

Ao meu pai Sylvio (in memoriam), pela dedicação e extremo cuidado que sempre demonstrou por mim, pelos anos maravilhosos que convivemos, sendo essencial na formação do meu caráter. Sempre presente nos meus pensamentos e no meu coração.

A minha avó Enid, pelo bom humor, simpatia, lições de vida, pelas rezas, velas acesas em momentos importantes e difíceis, por sempre torcer pelo meu sucesso.

A minha irmã Sylvia e meu cunhado Ronaldo, por passarem mensagens de otimismo, pelo carinho e por serem exemplos de dedicação e conseqüente sucesso.

As minhas tias avós, pela tranquilidade que transmitem, apoio, pensamentos positivos, atenção, pelas rezas e carinho que demonstram.

Aos amigos de Jaboticabal, em especial, Tatiane Iosimuta, Maria Angélica Chioda, Maria Carolina T. Ferro, Ricardo P. Carregari, Miramaya Jabur, Thiago Melício, Carlos Machado, Marco Antônio Varella e Couto Júnior, pelos momentos de descontração, amizade, companheirismo, apoio e carinho.

Aos amigos de Assis, em especial, Sarah Maldonado Porchia, Amana Marquesi, Danilo Feracini, Emanoela T. Arruda, Juliana Dedubiane, Germano Esteves e Carlos G. Barbosa, pelo companheirismo, conselhos, confiança, amizade e por estarem sempre presentes.

Ao grande amigo João Antônio Rocha Ferreira, pela presença constante, me apoiando, proporcionando momentos especiais, únicos e muito divertidos, com mensagens positivas e ajudando nas traduções em inglês. Aos seus pais, D. Jacyra, que sempre me convida e presenteia com refeições maravilhosas, demonstra um carinho enorme, apoio, confiança e abre as portas da sua casa, e Seu Aristides, que através de palavras sábias e um coração extremamente bondoso, transmite tranquilidade, otimismo e amor ao próximo.

Às amigas de Botucatu Luciana Carnier e Gisella Golfetti, por me hospedarem confortavelmente em sua casa durante as disciplinas do Mestrado; e Tamara Leite e Rosângela Zaganini por ajudarem a solucionar questões burocráticas na pós-graduação, pela amizade e apoio.

Aos amigos do LABIA (Laboratório de Biologia Aquática), que fazem do local de trabalho um espaço de descontração, alegria e amizade. Em especial, ao doutorando Gabriel de Paula Paciencia, pela grande e essencial ajuda, infinita dedicação, apoio, confiança e amizade, sempre disposto a ajudar e ensinar. E neste trabalho,

principalmente, pelos ensinamentos sobre técnicas em morfometria geométrica e na captura das imagens e ajuda nas análises dos dados, confecção de gráficos e em muitos outros detalhes. Aos pós-graduandos Ricardo Cardoso Leite e Gustavo Rincon Mazão (Goiano), pela paciência em repassar seus conhecimentos em informática, pelas conversas de apoio e descontração, e pelo exemplo de dedicação. Ao doutorando Cleto Kaveski Peres, prof. Dr. Ciro C. Z. Branco e amigo de graduação Rafael G. Emed (in memoriam) pela ajuda na identificação do conteúdo estomacal e pelo apoio. Aos companheiros de laboratório Thiago Vecchi (Espanta), Marcos Carneiro, Gabriel Cestari (Pesquisa) e Aurélio Fajar, pela confiança e amizade.

Às técnicas do laboratório, Vera Garcia e Raquel Ronqui, por organizar nosso espaço, pelo auxílio em diversas tarefas e no uso de equipamentos.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a conclusão deste trabalho e torceram pelo meu sucesso, o meu muito obrigada!

Sumário

Abstract.....	1
Resumo.....	2
Introdução Geral.....	3
Referências Bibliográficas.....	6
Capítulo 1: Crescimento das ninfas de <i>Thraulodes</i> sp. (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo.....	10
Abstract.....	10
Resumo.....	11
Introdução.....	12
Materiais e Métodos.....	14
Resultados.....	16
Discussão.....	17
Referências Bibliográficas.....	21
Figuras.....	26
Capítulo 2: Variação ontogenética da forma da cabeça e das peças bucais (mandíbula e maxila) de uma espécie de <i>Thraulodes</i> (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo.....	33
Abstract.....	33
Resumo.....	34
Introdução.....	35
Materiais e Métodos.....	36
Resultados.....	38
Discussão.....	40
Referências Bibliográficas.....	43
Tabela.....	45
Figuras.....	46

Capítulo 3: Variação da morfologia funcional da cabeça e das peças bucais (mandíbula e maxila) de ninfas de Leptophlebiidae (Ephemeroptera) utilizando uma abordagem geométrica.....	50
Abstract.....	50
Resumo.....	51
Introdução.....	52
Materiais e Métodos.....	53
Resultados.....	56
Discussão.....	58
Referências Bibliográficas.....	62
Tabela.....	64
Figuras.....	65
Conclusões Gerais.....	70

ABSTRACT

The present paper analyzed the morphological variation during the ontogeny of *Thraulodes* sp. and the functional morphology of the head and mouth parts of Leptophlebiidae using multivariate and geometric morphometrics. The data showed changes in the body proportions of *Thraulodes* sp. during the growth. The results indicate positive allometric growth of the mesothorax and abdomen, which can be respectively related to the development of its flying muscles and its reproductive structure in larger nymphs. The head, the mandible and maxilla presented variation of shape during the ontogeny. Fragments of vegetal and shapeless organic material were the main items of the stomach content in all three body size class that we analyzed. Therefore, it was not observed changes in the utilization of resources that could explain the ontogenetic variations of the head and of the mouth parts of *Thraulodes* sp. The shapes of the head, mandible and maxilla differed significantly among the genera of Leptophlebiidae. There was a significant relation between the stomach content and the shape of the head, which did not occur with the mandible and the maxilla. There was a significant relation between the phylogeny and the shape of the head and those of mouth parts. The results indicate that the variation of the shape of the head and mouth parts of Leptophlebiidae did not occur in an independent way, so the phylogenetic inertia overcame the effects of the stochastic adaptive pressures on the shape of these structures.

KEY WORDS: aquatic insects; ontogeny; comparative morphology; geometric morfometrics; multivariate morfometrics.

RESUMO

O presente estudo analisou a variação morfológica durante a ontogenia de *Thraulodes* sp. e a morfologia funcional da cabeça e de peças bucais de Leptophlebiidae usando morfometria multivariada e geométrica. Os dados mostraram mudanças nas proporções corpóreas de *Thraulodes* sp. durante o crescimento. Os resultados indicam crescimento alométrico positivo do mesotórax e do abdômen, o que pode ser relacionado respectivamente ao desenvolvimento da musculatura de vôo e de estruturas reprodutivas nas ninfas de maior porte. A cabeça, a mandíbula e a maxila apresentaram variação de forma durante a ontogenia. Fragmentos vegetais e matéria orgânica amorfa foram os principais itens alimentares do conteúdo estomacal em todas as três classes de tamanho analisadas. Portanto, não foram observadas mudanças na utilização de recursos que pudessem explicar as variações ontogenéticas da cabeça e das peças bucais de *Thraulodes* sp. As formas das cabeças, das mandíbulas e das maxilas diferiram significativamente entre os gêneros de Leptophlebiidae. Para a cabeça, houve uma relação significativa entre o conteúdo estomacal e sua forma, o que não ocorreu para a mandíbula e a maxila. Houve uma relação significativa entre a filogenia e a forma da cabeça e das peças bucais (mandíbula e a maxila). Os resultados indicam que a variação da forma da cabeça e das peças bucais em Leptophlebiidae não ocorreu de forma independente entre os gêneros, ou seja, a inércia filogenética sobrepôs aos efeitos de pressões adaptativas aleatórias sobre a forma destas estruturas.

PALAVRAS-CHAVE: insetos aquáticos; ontogenia; morfologia comparada; morfometria geométrica; morfometria multivariada.

Introdução Geral

Nos últimos anos, no Brasil, constata-se um crescimento no número de trabalhos sobre ecologia de macroinvertebrados aquáticos. Esses trabalhos têm fornecido importantes informações particularmente sobre a distribuição e ecologia de imaturos de insetos aquáticos (Oliveira *et al.*, 1997; Bispo & Oliveira, 1998; Galdean *et al.*, 2000, 2001; Melo & Froehlich 2001; Buss *et al.*, 2002; Roque *et al.*, 2003). Especificamente para Ephemeroptera podemos citar os trabalhos de Franscischetti *et al.* (2001, 2004), Melo *et al.* (2002, 2004), Goulart & Callisto (2005a; 2005b), Takebe (2005) e Siegloch (2006). Considerando a biologia de espécies individuais de Ephemeroptera, a maior parte dos trabalhos é referente a ambientes lênticos (Melo *et al.* 2002; Da Silva, 1997; Leal & Esteves, 2000). Como exemplos de trabalhos referentes a espécies de riachos (ambientes lóticos de baixas ordens) podemos citar Ferreira & Froehlich (1992) e Nolte *et al.* (1996, 1997).

As técnicas quantitativas de análise morfométrica têm se mostrado importantes ferramentas para a avaliação da variabilidade morfológica. Nesse sentido, Foottit & Sorensen (1992) apresentam vários exemplos, abordagens e aplicações dessas técnicas no estudo da morfologia, evolução e sistemática de insetos. Neste caso, estas técnicas têm sido freqüentemente utilizadas para a discriminação entre espécies, para avaliar adaptações morfológicas, crescimento, dimorfismo sexual, variação geográfica, isolamento de populações, entre outros (Foottit & Sorensen, 1992; Rodrigues *et al.*, 2005). No presente trabalho, estas técnicas foram utilizadas para avaliar o crescimento dos imaturos e a analisar a morfologia comparada de Leptophlebiidae.

A maior parte dos organismos não possui crescimento isométrico, ou seja, em geral diferentes partes do corpo possuem taxas diferentes de crescimento. Este crescimento diferencial das partes do corpo, alometria, leva a mudanças das proporções corpóreas durante a ontogenia. Diferentes abordagens morfométricas têm sido utilizadas para avaliar o crescimento em animais (Jolicoeur, 1963; Diniz-Filho *et al.*, 1994; Monteiro & Reis, 1999). As informações sobre as taxas de crescimento relativo de diferentes partes corpóreas podem nos dar subsídios para entender aspectos biológicos e funcionais dos diversos grupos.

A morfologia dos organismos é um reflexo de sua história evolutiva e de processos adaptativos. No caso da cabeça e das peças bucais, a variabilidade morfológica pode ser reflexo da estratégia alimentar. Neste sentido, um estudo comparativo considerando os efeitos do tipo de estratégia alimentar e da filogenia sobre a forma de estruturas ligadas à alimentação (cabeça, mandíbula e maxila) pode fornecer subsídios para entender a evolução e a biologia dos diferentes grupos.

A classificação de invertebrados aquáticos em grupos funcionais de alimentação proporciona um conveniente recurso para descrever a capacidade morfo-funcional desses organismos em consumir os diferentes itens alimentares disponíveis (Cummins & Klug, 1979). A maior parte dos insetos aquáticos pertence a espécies que se alimentam de detritos orgânicos (Hynes, 1970). Segundo Brittain (1982), a maioria das ninfas de Ephemeroptera é herbívora, alimenta-se de detritos e perifíton. Essas dividem-se em duas principais categorias: coletoras (filtradoras ou catadoras) e raspadoras, predadores e fragmentadores não são comuns.

Diante do exposto, a presente dissertação tem como objetivo estudar o crescimento das ninfas de *Thraulodes* sp. (Leptophlebiidae) utilizando as abordagens: análise multivariada tradicional e morfometria geométrica, e também estudar a variação

morfológica da cabeça e das peças bucais de Leptophlebiidae utilizando a abordagem da morfometria geométrica.

Os resultados efetivos da dissertação são apresentados na forma de manuscritos nos capítulos 1, 2 e 3, os quais foram intitulados:

Capítulo 1: Crescimento das ninfas de *Thraulodes* sp. (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo.

Capítulo 2: Variação ontogenética da forma da cabeça e das peças bucais (mandíbula e maxila) de uma espécie de *Thraulodes* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo.

Capítulo 3: Variação da morfologia funcional da cabeça e das peças bucais (mandíbula e maxila) de ninfas de Leptophlebiidae (Ephemeroptera) utilizando uma abordagem geométrica.

Referências Bibliográficas

- BISPO, P. C. & OLIVEIRA, L. G. 1998. Distribuição espacial de insetos aquáticos (Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera), em córregos de cerrado do Parque Ecológico de Goiânia, Estado de Goiás. *In*: Nessimian, J. L. & Carvalho, A. L. (eds.) Ecologia de insetos aquáticos. **Oecologia Brasiliensis V**. Rio de Janeiro, PPGE-UFRJ. 175-189 p.
- BRITTAIN, J. E. 1982. Biology of mayflies. **Annual Review of Entomology 27**: 119-147.
- BUSS, D. F.; BATISTA, D. F.; SILVEIRA, M. P.; NESSIMIAN, J. L. & DORVILLÉ, L. F. M. 2002. Influence of water chemistry and environmental degradation on macroinvertebrate assemblages in a river basin south-east Brazil. **Hydrobiologia 481**: 125-136.
- CUMMINS, K. W. & KLUG, M. J. 1979. Feeding ecology of stream invertebrates. **Annual Review of Ecology and Systematics 10**: 147-172.
- DA-SILVA, E. R. 1997. A alimentação de ninfas de *Callibaetis guttatus* Navás, 1915 (Ephemeroptera: Baetidae) em um brejo temporário do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Entomologia 41(1)**: 53-55.
- DINIZ-FILHO, J. A. F.; VON ZUBER, C. J.; FOWLER, H. G.; SCHLINDWEIN, M. N. & BUENO, O. C. 1994. Multivariate morphometrics and allometry in polymorphic ant. **Insectes Sociaux 41**: 153-163.
- FERREIRA, M. J. N. & FROELICH, C. G. 1992. Estudo da fauna de Ephemeroptera (Insecta) do Córrego do Pedregulho (Pedregulho, SP, Brasil) com aspectos da

- biologia de *Thraulodes schlingeri* Traver & Edmunds, 1967. **Revista Brasileira de Entomologia** **36 (3)**: 541-548.
- FOOTIT, R.G. & SORESEN, J. T. 1992. **Ordination in the Study of Morphology, Evolution and Systematics of Insects: Applications and Quantitative Genetic Rationales**, Elsevier, New York. 418 p.
- FRANCISCHETTI, C. N.; DA-SILVA, E. R. & SALLES, F. F. 2001. A alimentação de ninfas de *Caenis cuniana* Froelich, 1969 (Ephemeroptera: Caenidae) em um brejo temporário da Restinga de Maricá, Estado do Rio de Janeiro. **Boletim do Museu Nacional, Zoologia** **(446)**: 1-6.
- FRANCISCHETTI, C. N.; DA-SILVA, E. R.; SALLES, F. F. & NESSIMIAN, J. L. 2004. A efemeroterofauna (Insecta: Ephemeroptera) do trecho ritral inferior do Rio Campo Belo, Itatiaia, RJ: composição e mesodistribuição. **Lundiana** **5(1)**: 33-39.
- GALDEAN, N.; CALLISTO, M. & BARBOSA, F. A. R. 2000. Lotic ecosystems of Serra do Cipó, southeast Brazil: water quality and a tentative classification based on the benthic macroinvertebrate community. **Aquatic Ecosystem Health and Management** **3(4)**: 545-552.
- GALDEAN, N.; CALLISTO, M. & BARBOSA, F. A. R. 2001. Biodiversity assessment of benthic macroinvertebrates in altitudinal lotic ecosystems of Serra do Cipó (MG, Brazil). **Revista Brasileira de Biologia** **61(2)**: 239-248.
- GOULART, M. & CALLISTO, M. 2005a. Mayfly distribution along a longitudinal gradient in Serra do Cipó, southeastern Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, **17(1)**: 1-13.

- GOULART, M. & CALLISTO, M. 2005b. Mayfly diversity in the Brazilian tropical headwaters of Serra do Cipó. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, **48(6)**: 983-996.
- HYNES, H. B. N. 1970. **The ecology of Running Waters**. Liverpool University Press, 555 p.
- JOLICOEUR, P. 1963. The multivariate generalization of the allometry equation. **Biometrics** **19**: 497- 499.
- LEAL, J. J. F. & ESTEVES, F. A. 2000. Life cycle and production of *Campsurus notatus* (Ephemeroptera: Polymitarcyidae) in an Amazonian lake impacted by bauxite tailings (Pará, Brazil) **Hydrobiologia** **437**: 91-99.
- MELO, A. S. & FROEHLICH, C. G. 2001. Macroinvertebrates in neotropical streams: richness patterns along a catchment and assemblage structure between 2 seasons. **Journal of the North American Benthological Society** **20(1)**: 1-16.
- MELO, S. M.; TAKEDA, A. M. & MONKOLSKI, A. 2002. Seasonal dynamics of *Callibaetis willineri* (Ephemeroptera: Baetidae) associated with *Eichhornia azurea* (Pontedericeae) in Guaraná Lake of the Upper Paraná River, Brazil. **Hydrobiologia** **470**: 57-62.
- MELO, S. M.; TAKEDA, A. M.; GRZYBKOWSKA, M. & MONKOLSKI, A. 2004. Distribution of ephemeropteran nymphs associated with different stolon sections of *Eichhornia azurea* (Schwartz) in two floodplain lakes of the upper Paraná River (Brazil). **Polish Journal of Ecology** **52**: 369-376.
- MONTEIRO, L. R. & REIS, S. F. 1999. **Princípios de Morfometria Geométrica**. Holos editora. X + 188 p.

- NOLTE, U.; TIETBÖHLER, S. & McCAFFERTY, W. P. 1996. A mayfly from tropical Brazil capable of tolerating short-term dehydration. **Journal of the North American Benthological Society** **15**: 87–94.
- NOLTE, U.; OLIVEIRA, M. J. & STURS, E. 1997. Seasonal, discharge-driven patterns of mayfly assemblages in an intermittent neotropical stream. **Freshwater Biology** **37**: 333–343.
- OLIVEIRA, L. G.; BISPO, P. C. & SÁ, N. C. 1997. Ecologia de comunidades de insetos aquáticos (Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera), em córregos de cerrado do Parque Ecológico de Goiânia-GO, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** **14(4)**: 867-876.
- RODRIGUES, D.; SANFELICE, D.; MONTEIRO, L. R. & MOREIRA, G. R. P. 2005. Ontogenetic trajectories and hind tibia geometric morphometrics of *Holymenia clavigera* (Herbst) and *Anisoscelis foliacea marginella* (Dallas) (Hemiptera: Coreidae). **Neotropica Entomology** **34(5)**: 769-776.
- ROQUE, F. O.; TRIVINHO-STRIXINO, G.; AGOSTINHO, R. C. & FOGO, J. C. 2003. Benthic macroinvertebrate in streams of the Jaragua State Park (Southeast of Brazil) considering multiple spatial scales. **Journal of Insect Conservation** **7**: 63-72.
- SIEGLOCH, A. E. 2006. Comunidades de Ninfas de Ephemeroptera Haeckel, 1896 (Insecta), do Curso Médio do Rio Jacuí e Afluentes, Rio Grande do Sul, Brasil. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto. 76 p.
- TAKEBE, I. V. 2005. O efeito do mesohábitat sobre a distribuição de Ephemeroptera (Insecta) em riachos da Serra do Mar, Estado de São Paulo. **Trabalho de conclusão de curso**. UNESP, Faculdade de Ciências e Letras-Assis. 21 p.

Crescimento das ninfas de *Thraulodes* sp. (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo

ABSTRACT

Growth of a *Thraulodes* species (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) from Parque Estadual Intervales, São Paulo State. The present study collected data from the 23 morphometric measurements of *Thraulodes* sp. with the objective of evaluating the growth pattern of the species. The analyzed material was collected from 1999 to 2001 in the streams of “Parque Estadual Intervales”, São Paulo State. The growth of the nymphs was evaluated by multivariate allometric coefficient of Jolicoeur. The data showed changes in the body proportions of *Thraulodes* sp. during the growth. The growth of structures followed the next patterns: 1) the two studied legs present stretching in relation to generalized size during the ontogeny. On the other hand, it was a relative shortening in the tarsus during the ontogeny (allometric negative growth); 2) the head and mouth parts had a retraction in relation the generalized size; 3) the prothorax had an allometric negative growth of the length and the width maintained isometric; the mesothorax had an expansion in relation to generalized size in its length as much as in its width; the wing pad had a relative extension; 4) the abdomen presents a stretching in relation to generalized size during the ontogeny (allometric positive growth), the width of the tergo VII presents isometric growth. The results indicate positive allometric growth of the mesothorax and the abdomen, which can be respectively related to the development of its flying muscles and its reproductive structure in larger nymphs.

KEY WORDS: multivariate allometric coefficient; morfometrics; lotic environments; ontogeny.

RESUMO

O presente trabalho levantou dados referentes a 23 medidas corpóreas de *Thraulodes* sp. com o objetivo de avaliar o padrão de crescimento da espécie. O material analisado foi coletado entre 1999 e 2001 em riachos do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo. O crescimento das ninfas foi avaliado utilizando o Coeficiente Alométrico Multivariado de Jolicoeur. Os dados demonstraram mudanças das proporções corpóreas em *Thraulodes* sp. durante o crescimento. Neste sentido, as estruturas seguiram os seguintes padrões de mudança: 1) ambas as pernas estudadas tiveram um alongamento em relação ao tamanho generalizado durante a ontogenia. Por outro lado, o tarso teve um encurtamento relativo durante a ontogenia (crescimento alométrico negativo); 2) a cabeça e as peças bucais tiveram uma retração em relação ao tamanho generalizado durante a ontogenia (alometria negativa); 3) o protórax teve crescimento alométrico negativo do comprimento e sua largura continuou isométrica; o mesotórax teve uma expansão em relação ao tamanho generalizado tanto no comprimento quanto na largura; o broto alar teve uma extensão relativa; 4) o abdômen teve um alongamento em relação ao tamanho generalizado durante a ontogenia (crescimento alométrico positivo), a largura do tergo VII teve crescimento isométrico. Os resultados indicam crescimentos alométricos positivos do mesotórax e do abdômen, o que podem estar respectivamente relacionados ao desenvolvimento da musculatura de vôo e de estruturas reprodutivas nos estágios ninfais mais avançados.

PALAVRAS-CHAVE: coeficiente alométrico multivariado; morfometria; ambientes lóticos; ontogenia.

Introdução

A biologia de Ephemeroptera em regiões tropicais ainda é pouco estudada, no entanto, importantes contribuições sobre a fauna tropical de diferentes regiões do mundo têm sido realizadas (Campbell & Holt, 1984; Campbell *et al.*, 1990; Campbell, 1995; Jackson & Sweeney, 1995; Sweeney *et al.*, 1995; Dudgeon, 1996; Parnrong & Campbell, 2003; Salas & Dudgeon, 2003;). Entre os efemerópteros, a família Leptophlebiidae possui uma alta diversidade morfológica e funcional. A família tem ampla distribuição geográfica, com maior diversidade no hemisfério Sul (Da-Silva *et al.*, 2002). No Brasil, esta família é representada por 22 gêneros, sendo que informações sobre a biologia das espécies praticamente inexistem. *Thraulodes* Ulmer, 1920 (Ephemeroptera: Leptophlebiidae: Atalophlebiinae) possui distribuição pan-americana e sua maior diversidade é registrada na região Neotropical (Da-Silva, 2003). Com aproximadamente 45 espécies descritas, é um dos gêneros com maior número de espécies da família Leptophlebiidae, sendo comuns em riachos. Das 25 espécies registradas para a América do Sul, sete ocorrem no Brasil (Da-Silva, 2003). As espécies são características de corredeira (Crisci-Bispo *et al.*, 2007).

Entender os ajustes morfológicos e as mudanças de forma para a manutenção da função durante a ontogenia pode proporcionar importantes subsídios para o entendimento da biologia e evolução dos organismos (Cheverud, 1982a; Fenoglio & Malacarne, 2007). A mudança de forma durante o crescimento é comum em diversos organismos. Normalmente este fenômeno acontece porque diferentes partes do corpo possuem taxas distintas de crescimento. Esse crescimento diferencial das partes corpóreas de um organismo é chamado de alometria. O termo Alometria pode se referir a três fenômenos distintos (Cheverud, 1982b; Wu *et al.*, 2003): (i) alometria

ontogenética, a variação de um carácter em relação ao tamanho do corpo durante o desenvolvimento; (ii) alometria estática, a relação entre a variação de diferentes caracteres de indivíduos da mesma espécie após ter cessado o crescimento ou em uma fase específica de desenvolvimento; (iii) alometria evolutiva ou filogenética, o tamanho relativo de diferentes caracteres entre indivíduos de espécies diferentes, porém no mesmo estágio de desenvolvimento. Aqui daremos atenção à alometria ontogenética.

Diferentes abordagens morfométricas têm sido utilizadas para avaliar a variabilidade morfológica em insetos, desde abordagens bivariadas (Clifford, 1970; Fenoglio & Malacarne, 2007) até abordagens multivariadas (Diniz-Filho & Bini, 1994; Sarmiento, 2004; Diniz-Filho & Malaspina, 1995). Apesar da maior parte dos trabalhos utilizarem abordagens bivariadas, a análise da variação morfológica durante a ontogenia considerando uma abordagem multivariada tem a vantagem de permitir avaliar o crescimento de uma determinada estrutura em relação ao tamanho generalizado e não somente em relação a uma outra estrutura isolada (Jolicoeur, 1963; Diniz *et al.*, 1994; Monteiro & Reis, 1999). As análises do crescimento de insetos aquáticos utilizando abordagens bivariadas são comuns (Clifford, 1970; Campbell, 1991; Beer-Stiller & Zwick, 1995; Fenoglio & Malacarne, 2007), por outro lado, abordagens multivariadas são escassas (Klingenberg & Zimmermann, 1992).

As informações sobre as taxas de crescimento relativo de diferentes partes corpóreas podem nos dar subsídios para entender aspectos biológicos e funcionais durante a ontogenia. Neste sentido, dados referentes a 23 medidas corpóreas de *Thraulodes* sp. foram obtidos com o objetivo de avaliar o padrão de crescimento da espécie.

Material e Métodos

Material analisado

O material analisado (74 indivíduos de diferentes tamanhos) foi coletado por P. C. Bispo & V. L. Crisci-Bispo em riachos do Parque Estadual Intervales, situado na serra de Paranapiacaba, interior do Estado de São Paulo, entre os municípios de Ribeirão Grande, Eldorado, Guapiara, Iporanga e Sete Barras. O parque situa-se a 24°12'-24°25' de latitude sul e 48°03'-48°30' de longitude oeste, com altitude variando de 70 a 1000m. O material foi obtido utilizando amostrador de Surber e rede D, ambos com malhas de 0,250mm. A espécie de *Thraulodes* sp. coletada em Intervales não se encaixa em nenhuma ninfa conhecida do gênero (E. R. da Silva, informação pessoal). Material testemunha está depositado na Coleção de Insetos Aquáticos do Laboratório de Biologia Aquática da UNESP de Assis. Apenas indivíduos fêmeas de *Thraulodes* sp. foram analisados, pois os machos de Ephemeroptera apresentam um segundo par de olhos, o que causa uma deformação não relacionada com o crescimento e sim com o dimorfismo sexual.

Análise de dados

O crescimento das ninfas foi avaliado utilizando métodos multivariados. Para isso, foi utilizada a análise de Componentes Principais (Manly, 1994; Legendre & Legendre, 1998) e o Coeficiente Alométrico Multivariado de Jolicoeur (Perez-Neto *et al.*, 1995). Coeficientes alométricos maiores que 1 indicam alometria positiva, menores que 1 negativa, e iguais a 1 isometria. Uma alometria positiva significa que a estrutura cresce em uma taxa maior do que o tamanho generalizado (Primeiro Componente Principal), uma alometria negativa significa que a estrutura cresce em uma taxa menor

(Monteiro, 1997). Os intervalos de confiança das estimativas dos coeficientes alométricos multivariados foram obtidos utilizando o método Bootstrap. Para a análise morfométrica foram feitas 23 medidas referentes à cabeça (Figura 1), mandíbula (Figura 2), maxila (Figura 3), tórax (Figura 4), pernas (anterior e posterior, Figura 5) e abdômen (Figura 6) de ninfas de *Thraulodes* sp.

Cabeça (Figura 1) e peças bucais (Figura 2 e 3): distância da confluência da sutura coronal com a sutura pós-frontal e o clipeo (CSCC), distância entre os ocelos (DOC), distância entre os olhos (DOL), largura do clipeo (LC), comprimento do olho (CO), largura do lábio (LL), distância entre a extremidade ântero-molar e o côndilo lateral da mandíbula (EAMC), e distância entre as extremidades póstero-lateral e ântero-medial da maxila (EPLAM - distância entre a porção mais posterior do estipe até a região das cerdas dorsais da coluna média da maxila).

Tórax (Figura 4) e pernas (Figura 5): largura do protórax (LP), comprimento do protórax (CP), tamanho do broto alar (TBA), largura do metatórax (LM), comprimento do metatórax (CM), comprimento do fêmur anterior (CFA), largura do fêmur anterior (LFA), comprimento da tíbia anterior (CTIBA), comprimento do tarso anterior (CTA), comprimento do fêmur posterior (CFP), largura do fêmur posterior (LFP), comprimento da tíbia posterior (CTIBP) e comprimento do tarso posterior (CTP).

Abdômen (Figura 6): comprimento do abdômen (CA) e largura do tergo VII (LT).

As análises foram feitas utilizando o programa PAST (Hammer *et al.*, 2001).

Resultados

Os resultados da análise morfométrica mostram que a maior parte das variáveis morfométricas de *Thraulodes* sp. possui crescimento alométrico, ou seja, possuem coeficiente alométrico multivariado diferente de 1. Os coeficientes alométricos multivariados para cada variável com os seus respectivos intervalos de confiança (95%) são apresentados na Figura 7.

Apenas as larguras do protórax e do tergo VII tiveram crescimento isométrico (Figura 7). Já as larguras do fêmur anterior e posterior, do clípeo e do lábio, o comprimento do tarso anterior e posterior, do olho e do protórax, a distância entre a confluência das suturas coronal com a pós-frontal e o clípeo, as distâncias entre os ocelos, entre os olhos, entre as extremidades póstero-lateral e ântero-medial da maxila e entre a extremidade ântero-molar e a do côndilo lateral da mandíbula tiveram alometria negativa (Figura 7). Os comprimentos do fêmur e da tíbia anterior, do fêmur e da tíbia posterior, do mesotórax e do abdômen, a largura do mesotórax e o tamanho do broto alar tiveram alometria positiva (Figura 7).

Os dados demonstraram mudanças das proporções corpóreas em *Thraulodes* sp. durante o crescimento. Neste sentido, as estruturas seguiram os seguintes padrões de mudança durante a ontogenia:

- 1) a largura do fêmur teve crescimento alométrico negativo, o comprimento do fêmur e da tíbia tiveram crescimento alométrico positivo, tanto na perna anterior (Figura 8) quanto na posterior (Figura 9). Portanto, ambas as pernas tiveram um alongamento em relação ao tamanho generalizado durante a ontogenia. Por outro lado, o tarso teve um encurtamento relativo durante o crescimento (crescimento alométrico negativo);

- 2) a cabeça (Figura 10) e as peças bucais (Figura 11) tiveram uma retração em relação ao tamanho generalizado durante a ontogenia (alometria negativa);
- 3) tórax (Figura 12): o protórax teve crescimento alométrico negativo do comprimento e sua largura continuou isométrica; o mesotórax teve uma expansão em relação ao tamanho generalizado tanto no comprimento quanto na largura; o broto alar sofreu uma extensão relativa; portanto, o mesotórax se tornou mais robusto em relação ao tamanho generalizado durante a ontogenia.
- 4) O abdômen (Figura 13) teve um alongamento em relação ao tamanho generalizado durante a ontogenia (crescimento alométrico positivo), a largura do tergo VII teve crescimento continuou isométrico.

Discussão

A análise do crescimento relativo de diferentes organismos mostra que a maior parte das estruturas tem taxa de crescimento diferente da taxa de crescimento do corpo. Este fato gera mudanças na forma do corpo durante a ontogenia. No presente trabalho, foi observada a mudança de proporção entre diferentes partes do corpo de *Thraulodes* sp. durante o crescimento, ou seja, grande parte das estruturas mensuradas teve crescimento alométrico. Dos 23 caracteres mensurados, apenas as larguras do protórax e do tergo VII apresentaram crescimento isométrico. As mudanças de forma durante o crescimento envolvem diferentes processos e podem ser resultantes da herança evolutiva, de pressões adaptativas, e de ajustes fisiológicos ou morfológicos durante o crescimento.

A alometria negativa da cabeça em relação ao crescimento do restante do corpo tem sido um padrão encontrado para vários insetos (Klingenberg & Zimmerman, 1992; Rodrigues *et al.*, 2005), entre os quais Ephemeroptera (Clifford, 1970; Campbell, 1991). Neste sentido, Paciencia (2008), estudando o crescimento de *Massartella brieri* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) também de riachos do Parque Estadual Intervales, obteve resultados similares. Por outro lado, a análise do crescimento de *Anacroneuria flintorum* (Plecoptera: Perlidae) (Renó & Bispo, 2008) também do Parque Estadual Intervales, mostrou que a parte posterior da cabeça apresentou alometria negativa, enquanto a parte anterior apresentou alometria positiva. As peças bucais tiveram crescimento isométrico.

Durante a ontogenia, para a perna anterior de *Thraulodes* sp., foi observado uma alometria negativa na largura e um alongamento relativo no comprimento do fêmur, a tíbia também teve um alongamento relativo. Esse padrão de crescimento da perna anterior difere daquele de *Massartella brieri* e de *Anacroneuria flintorum*, nas quais os comprimentos do fêmur e da tíbia têm crescimento isométrico (Renó & Bispo, 2008; Paciencia, 2008). Na perna posterior observou-se um alongamento relativo durante a ontogenia, seguindo o mesmo padrão encontrado para *Massartella brieri* (Paciencia, 2008), porém diferente de *Anacroneuria flintorum*, a qual tem crescimento isométrico dos comprimentos do fêmur e da tíbia (Renó & Bispo, 2008). De uma forma geral, tanto a perna anterior quanto a posterior tiveram um alongamento em relação ao tamanho generalizado durante o crescimento de *Thraulodes* sp. Por outro lado, foi observado um encurtamento relativo do tarso tanto na perna anterior quanto posterior, fato que é comum em outros insetos (Paciencia, 2008; Renó & Bispo, 2008).

Durante o processo ontogenético, o tórax tornou-se mais robusto, já que a largura e o comprimento do mesotórax e o broto alar tiveram crescimento alométrico

positivo. O padrão de crescimento do tórax pode indicar o fortalecimento das estruturas relacionadas ao vôo (Clifford, 1970). Neste contexto, Campbell (1991) registrou alometria positiva para a largura e o comprimento do mesotórax de várias espécies de Ephemeroptera. Das medidas referentes ao protórax, a largura teve crescimento isométrico durante o crescimento, por outro lado, o comprimento do protórax teve alometria negativa. Este padrão para o comprimento do protórax poderia ser explicado pela compressão desta estrutura pelo crescimento alométrico positivo do mesotórax. O padrão do crescimento do tórax de *Thraulodes* sp. é similar ao de *Massartella brieri* (Paciencia, 2008). Por outro lado, *Anacroneuria flintorum* teve um alongamento relativo do tórax durante a ontogenia, já que foi observado um crescimento alométrico positivo do protórax e do mesotórax, e um crescimento isométrico da largura dessas estruturas.

Em geral, o abdômen torna-se proporcionalmente maior durante a ontogenia. Neste sentido, a análise morfométrica do abdômen de *Massartella brieri* e de *Anacroneuria flintorum* mostra que ambas as espécies possuem crescimento alométrico positivo do comprimento e da largura (Paciencia, 2008; Renó & Bispo, 2008). No caso de *Thraulodes* sp., constatou-se um alongamento relativo do abdômen durante a ontogenia. É importante salientar que a análise do crescimento foi baseada nas fêmeas e que pelo fato dos adultos de Ephemeroptera terem vida curta, a maior parte dos gametas femininos completa o desenvolvimento no último instar da ninfa antes de emergirem (Clifford, 1970). Neste sentido, o aumento proporcional do abdômen nas ninfas fêmeas durante o crescimento pode estar relacionado ao desenvolvimento dos gametas femininos (Gaino & Rebora, 2005; Taylor & Kennedy, 2006). Em resumo, os dados do presente trabalho mostram que grande parte das mudanças durante a ontogenia de *Thraulodes* sp. está relacionada a ajustes morfológicos relacionados à transição para a

vida adulta, entre as quais a preparação do tórax para o desenvolvimento das asas e do abdômen para o desenvolvimento de estruturas reprodutivas e gametas.

Referências bibliográficas

- BEER-STILLER, A. & ZWICK, P. 1995. Biometric studies of some stoneflies and a mayfly (Plecoptera and Ephemeroptera). **Hydrobiologia** **299**: 169-178.
- CAMPBELL, I. C. 1991. Size allometry in some Australian mayfly nymphs (Insecta: Ephemeroptera). **Aquatic Insects** **13(2)**:79-86.
- CAMPBELL, I. C. 1995. The life histories of three tropical species of *Jappa* Harker (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) in the Mitchell River System, Queensland, Australia. In L. D. Corkum and J. J. H. Ciborowski (eds). **Current directions in research on Ephemeroptera: Proceedings of the VII International Conference on Ephemeroptera**. Canada Scholars' Press Inc., Toronto. 197-206 p.
- CAMPBELL, I. C. & HOLT, M. K. 1984. The life history of *Kirrara procera* Harker (Ephemeroptera) in two southeastern Australian rivers. In: Landa, V. *et al.* (eds.) **Proceedings of the IVth International Conference on Ephemeroptera**. 199-305 p.
- CAMPBELL, I. C.; DUNCAN, M. J. & SWADLING, K. M. 1990. Life histories of some Ephemeroptera from Victoria, Australia. In: Campbell, I. C. (ed.) **Mayflies and Stoneflies**. 81-84 p.
- CHEVERUD, J. M. 1982a. Phenotypic, genetic and environmental morphological integration in the cranium. **Evolution** **36**: 499-516.
- CHEVERUD, J. M. 1982b. Relationships among ontogenetic, static, and evolutionary allometry. **American Journal of Physical Anthropology** **59**: 139-149.
- CLIFFORD, H. F. 1970. Analysis of a northern mayfly (Ephemeroptera) population, with special reference to allometry of size. **Canadian Journal of Zoology** **48**: 305-316.

- CRISCI-BISPO, V. L.; BISPO, P. C. & FROEHLICH, C. G. 2007. Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera assemblages in litter in a mountain stream of the Atlântica rainforest from southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia** **24** (3): 545-551.
- DA-SILVA, E. R.; SALLES, F. F. & BAPTISTA, M. S. 2002. As brânquias dos gêneros de Leptophlebiidae (Insecta: Ephemeroptera) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro **Biota Neotropica** **2**: 1-4.
- DA-SILVA, E. R. 2003. Ninfas de *Thraulodes* Ulmer, 1920 (Insecta: Ephemeroptera: Leptophlebiidae) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Biota Neotropica** **3**(2): 1-7.
- DINIZ-FILHO, J. A. F. & BINI, L. M. 1994. Space-free correlation between morphometric and climatic data: a multivariate analysis of africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Brazil. **Global Ecology And Biogeographycal Letters** **4**(6): 195-202.
- DINIZ-FILHO, J. A. F.; VON ZUBER, C. J.; FOWLER, H. G.; SCHLINDWEIN, M. N. & BUENO, O. C. 1994. Multivariate morphometrics and allometry in polymorphic ant. **Insectes Sociaux** **41**: 153-163.
- DINIZ-FILHO, J. A. F. & MALASPINA, O. 1995. Evolution and Population Structure of Africanized honey bees in Brazil: Evidence from spatial analysis of morphometric data. **Evolution** **49**(6): 1172-1179.
- DUDGEON, D. 1996. Life histories, secondary production, and microdistribution of heptageniid mayflies (Ephemeroptera) in a tropical forest stream. **Journal of Zoology** **240**: 341-361.
- FENOGLIO, S. & MALACARNE, B. T. 2007. Allometric growth in *Anacroneuria* nymphs (Plecoptera: Perlidae). **Tropical Zoology** **20**: 109-114.

- GAINO, E. & REBORA, M. 2005. Egg envelopes of *Baetis rhodani* and *Cloeon dipterum* (Ephemeroptera, Baetidae): a comparative analysis between an oviparous and an ovoviviparous species. **Acta Zoologica** **86**: 63-69.
- HAMMER, O.; HARPER, D. A. T. & RIAN, P. D. 2001. **Past: Palaeontological statistics software package for education and data analysis**. Version. 1.37. Disponível em: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm. [Acesso em: 12.10.2008].
- JACKSON, J. K. & SWEENEY, B. W. 1995. Research in tropical streams and rivers: introduction to a series of papers. **Journal of the North American Benthological Society** **14(1)**: 2-4.
- JOLICOEUR, P. 1963. The multivariate generalization of the allometry equation. **Biometrics** **19**: 497- 499.
- KLINGENBERG, C. P. & ZIMMERMANN, M. 1992. Static, Ontogenetic, and Evolutionary Allometry: A Multivariate Comparison in Nine Species of Water Striders. **The American Naturalists** **140(40)**: 601-620.
- LEGENDRE, P. & LEGENDRE, L. 1998. **Numerical Ecology**. 2nd. Developments in Environmental Modelling, 20, Elsevier. 853 p.
- MANLY, B. F. G. 1994. **A Primer of Multivariate Statistics**. London, Chapman & Hall. 179 p.
- MONTEIRO, L. R. 1997. Allometric growth and functional integration in the skull of black caiman *Melanosuchus niger* (Crocodyla: Alligatoridae). A jackknife Approach. **Revista Brasileira de Biologia** **57(1)**: 31-37.
- MONTEIRO, L. R. & REIS, S. F. 1999. **Princípios de Morfometria Geométrica**. Holos editora. X + 188 p.

- PACIENCIA, G. P. 2008. Ciclo de vida, produtividade secundária, distribuição, alimentação e crescimento de *Massartella brieri* (Lestage) (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) em riachos do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo. **Dissertação de Mestrado**, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo. 63 p.
- PARNRONG, S. & CAMPBELL, I.C. 2003. The effects of temperature on egg hatching of the mayfly *Austrophlebioides marchanti* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae). **Research Update on Ephemeroptera & Plecoptera**. E. Gaino (Ed.), University of Perugia, Perugia, Italy, 189-193 p.
- PERES-NETO, P. R.; VALENTIN, J. L. & FERNANDEZ, F. 1995. Tópicos em Tratamentos de Dados Biológicos. **Series Oecologia. Brasiliensis II**, Rio de Janeiro. XIII + 161 p.
- RENÓ, N. G. & BISPO, P. C. 2008. Crescimento de ninfas de *Anacroneuria flintorum* (Plecoptera: Perlidae) do Parque Estadual Intervales, São Paulo, Brasil. **Trabalho de conclusão de curso em Ciências Biológicas**. UNESP, Faculdade de Ciências e Letras de Assis. 24 p.
- RODRIGUES, D.; SANFELICE, D.; MONTEIRO, L. R. & MOREIRA, G. R. P. 2005. Ontogenetic Trajectories and Hind Tíbia Geometric Morphometrics of *Holymenia clavigera* (Herbst) and *Anisoscelis foliacea marginella* (Dallas) (Hemiptera: Coreidae). **Neotropica Entomology** **34(5)**: 769-776.
- SALAS, M. & DUDGEON, D. 2003. Life histories, production dynamics and resource utilisation of mayflies (Ephemeroptera) in two tropical Asian forest streams. **Freshwater Biology** **48**: 485-499.

- SARMIENTO, C. E. 2004. A test of adaptive hypotheses: mandibular traits, nest construction materials, and feeding habits in neotropical social wasps (Vespidae: Polistinae) **Insectes Sociaux** **51**: 387–391.
- SWEENEY, B. W.; JACKSON, J. K. & FUNK, D. H. 1995. Semivoltinism, seasonal emergence, and adult size variation in a tropical stream mayfly (*Euthyplocia hecuba*). **Journal of the North American Benthological Society** **14**: 131-146.
- TAYLOR, J. M. & KENNEDY, J. H. 2006. Life history and secondary production of *Caenis latipennis* (Ephemeroptera: Caenidae) in Honey Creek, Oklahoma. **Annals of the Entomological Society of America** **99**(5): 821-830.
- WU, R.; MA, C.; LOU, X. & CASELLA, G. 2003. Molecular dissection of allometry, ontogeny, and plasticity: a genomic view of developmental biology. **BioScience** 1041-1047 p.

Figuras

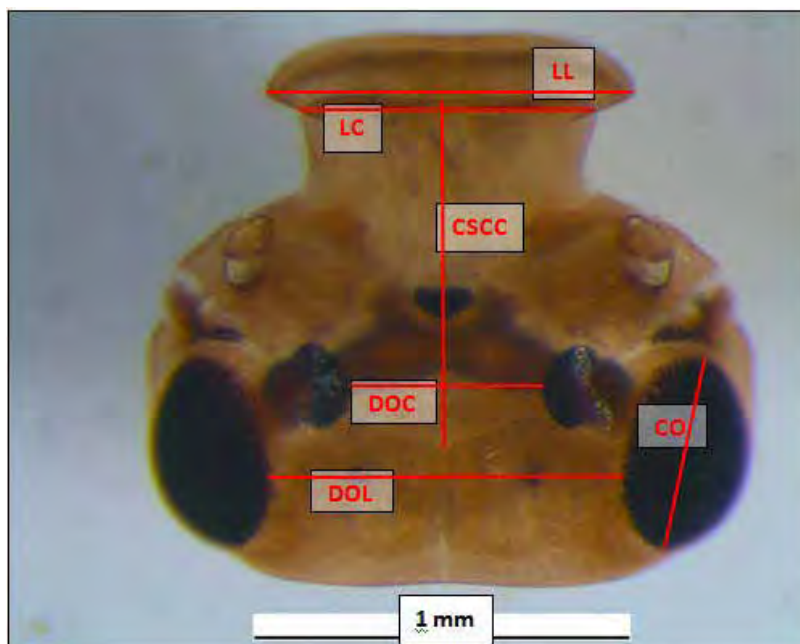


Figura 1) Variáveis morfométricas da cabeça de *Thraulodes* sp. LL - largura do lábio, CSCC - distância da confluência da sutura coronal com a sutura pós-frontal e o clípeo, DOC - distância entre ocelos, DOL - distância entre olhos, LC - largura clípeo, CO - comprimento do olho.

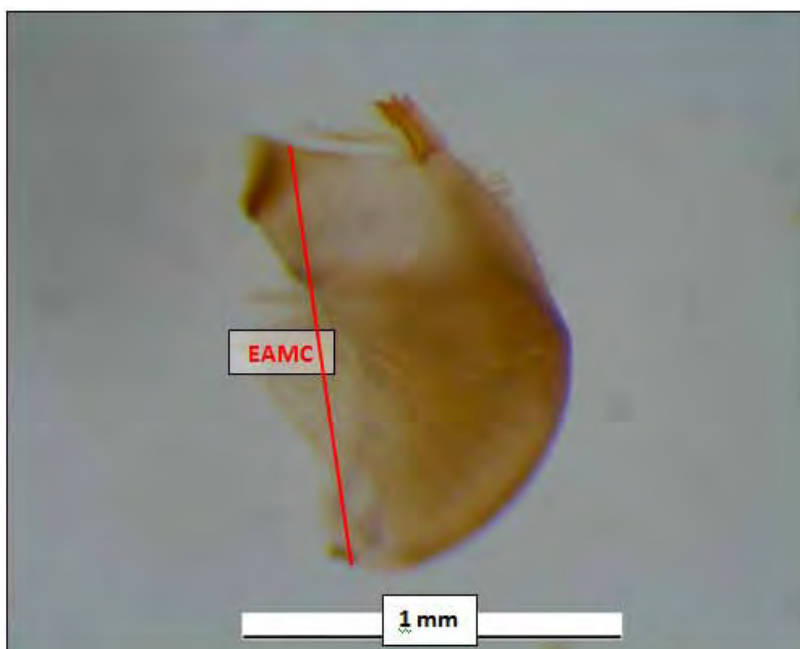


Figura 2) Variável morfométrica da mandíbula de *Thraulodes* sp. EAMC - distância entre a extremidade ântero-molar e o côndilo lateral da mandíbula.

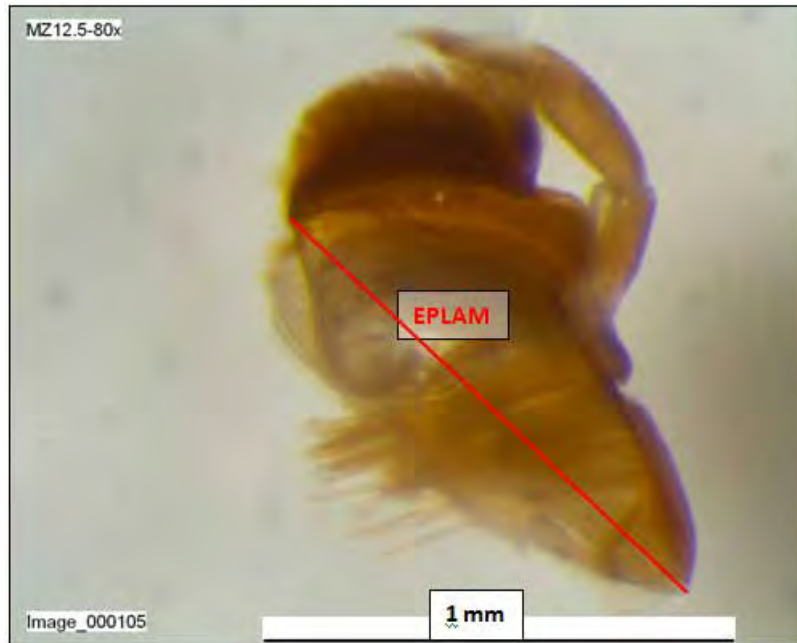


Figura 3) Variável morfométrica da maxila de *Thraulodes* sp. EPLAM - distância entre as extremidades póstero-lateral e a ântero-medial da maxila

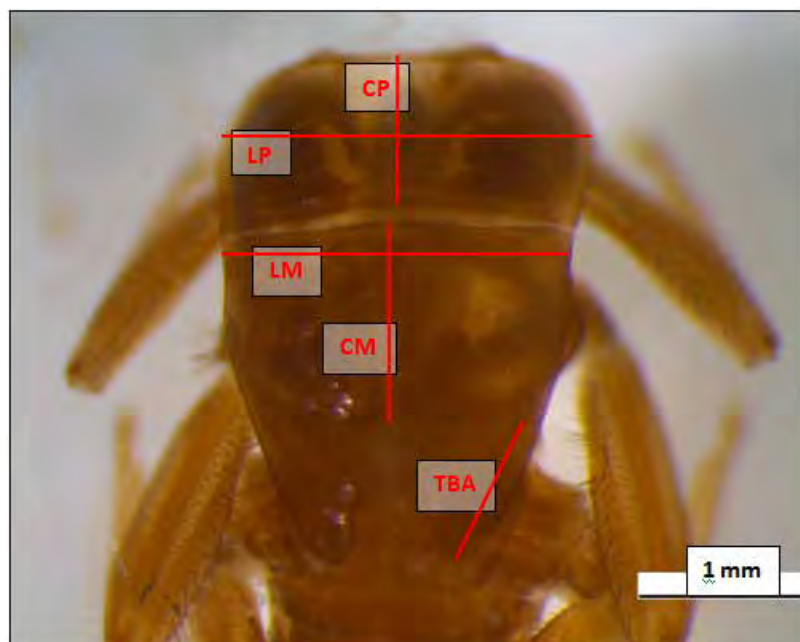


Figura 4) Variáveis morfométricas do tórax de *Thraulodes* sp. LP - largura do protórax, CP - comprimento do protórax, TBA - tamanho do broto alar, LM - largura do mesotórax, CM - comprimento do mesotórax.

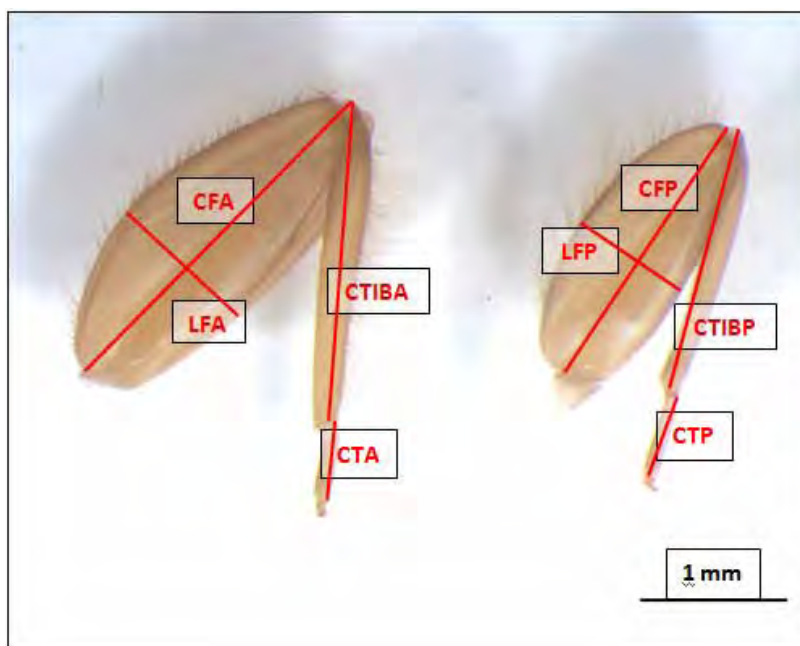


Figura 5) Variáveis morfométricas das pernas (anterior e posterior) de *Thraulodes* sp. CFA – comprimento do fêmur anterior, LFA - largura do fêmur anterior, CTIBA - comprimento da tíbia anterior, CTA - comprimento do tarso anterior, CFP – comprimento do fêmur posterior, LFP - largura do fêmur posterior, CTIBP - comprimento da tíbia posterior, CTP - comprimento do tarso posterior.

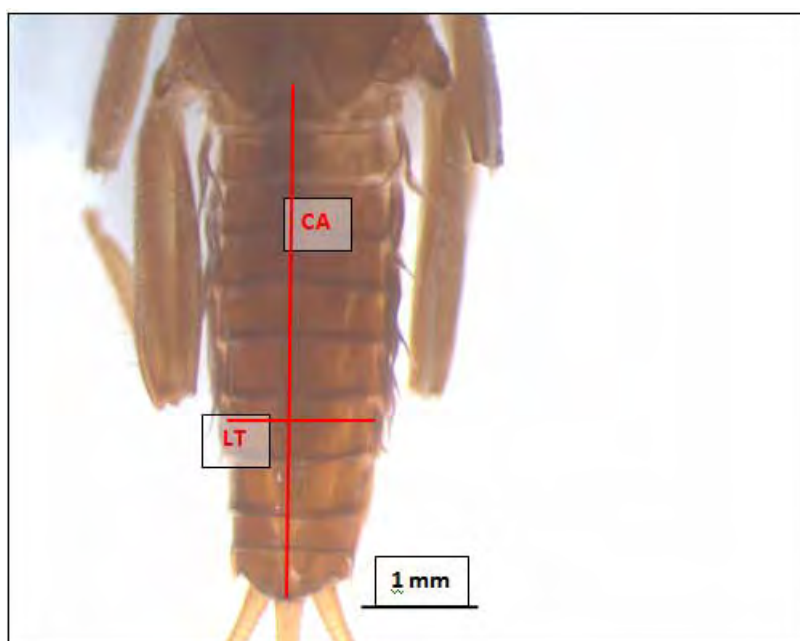


Figura 6) Variáveis morfométricas do abdômen de *Thraulodes* sp. CA - comprimento abdômen, CT - largura do tergo VII.

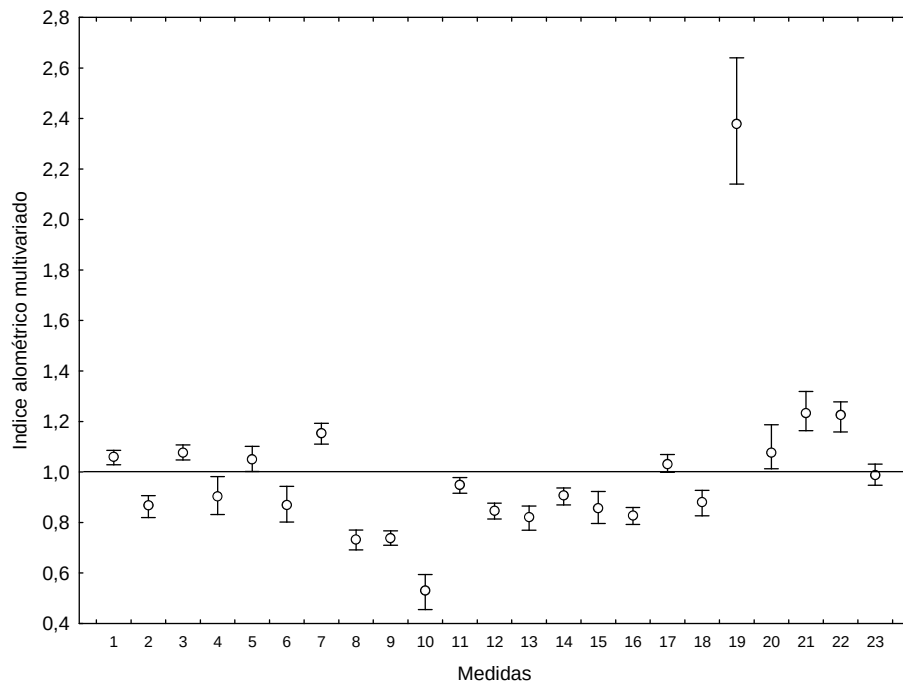


Figura 7) Variação do índice alométrico multivariado para 23 medidas corpóreas de *Thraulodes* sp. coletadas em riachos do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo. 1) comprimento do fêmur anterior, 2) largura do fêmur anterior, 3) comprimento da tíbia anterior, 4) comprimento do tarso anterior, 5) comprimento do fêmur posterior, 6) largura do fêmur posterior, 7) comprimento da tíbia posterior, 8) comprimento do tarso posterior, 9) distância da confluência da sutura coronal com a sutura pós-frontal e o clipeo, 10) distância entre ocelos, 11) distância entre olhos, 12) largura do clipeo, 13) comprimento do olho, 14) largura do lábio, 15) distância entre as extremidades póstero-lateral e ântero-medial da maxila, 16) distância entre a extremidade ântero-molar e o côndilo lateral da mandíbula, 17) largura do protórax, 18) comprimento do protórax, 19) tamanho do broto alar, 20) largura do mesotórax, 21) comprimento do mesotórax, 22) comprimento abdômen, 23) largura do tergo VII. Intervalo de confiança de 95% obtido pelo Bootstrap.

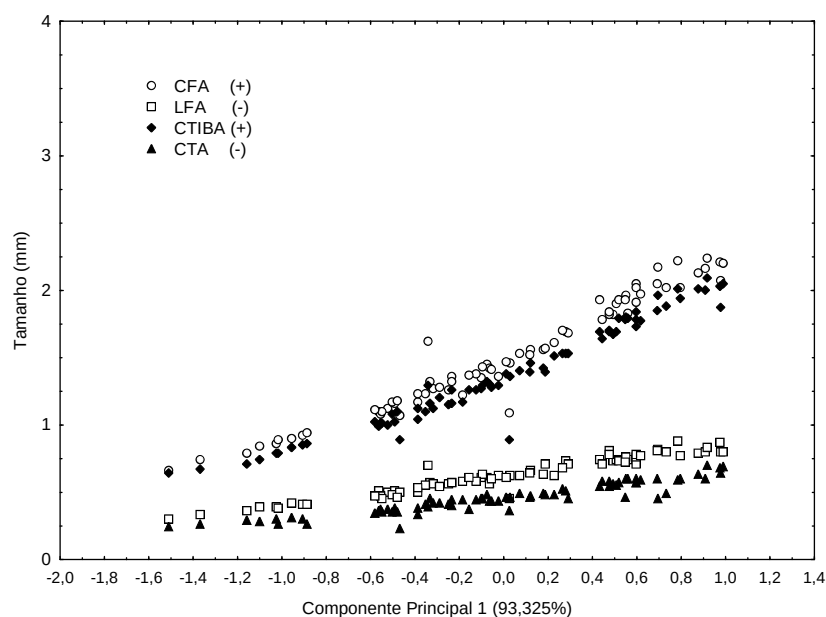


Figura 8) Variação do índice alométrico multivariado em 4 medidas das pernas anteriores direita de *Thraulodes* sp. CFA – comprimento do fêmur anterior, LFA - largura do fêmur anterior, CTIBA - comprimento da tíbia anterior, CTA - comprimento do tarso anterior. O sinal negativo representa alometria negativa, o sinal positivo alometria positiva e zero isometria.

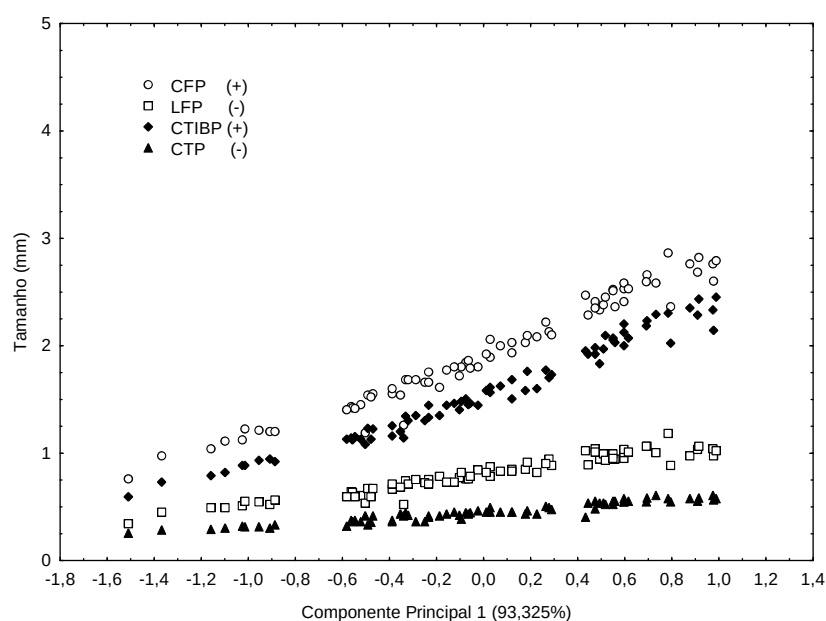


Figura 9) Variação do índice alométrico multivariado em 4 medidas das pernas posteriores direita de *Thraulodes* sp. CFP – comprimento do fêmur posterior, LFP - largura do fêmur posterior, CTIBP - comprimento da tíbia posterior, CTP - comprimento do tarso posterior. O sinal negativo representa alometria negativa, o sinal positivo alometria positiva e zero isometria.

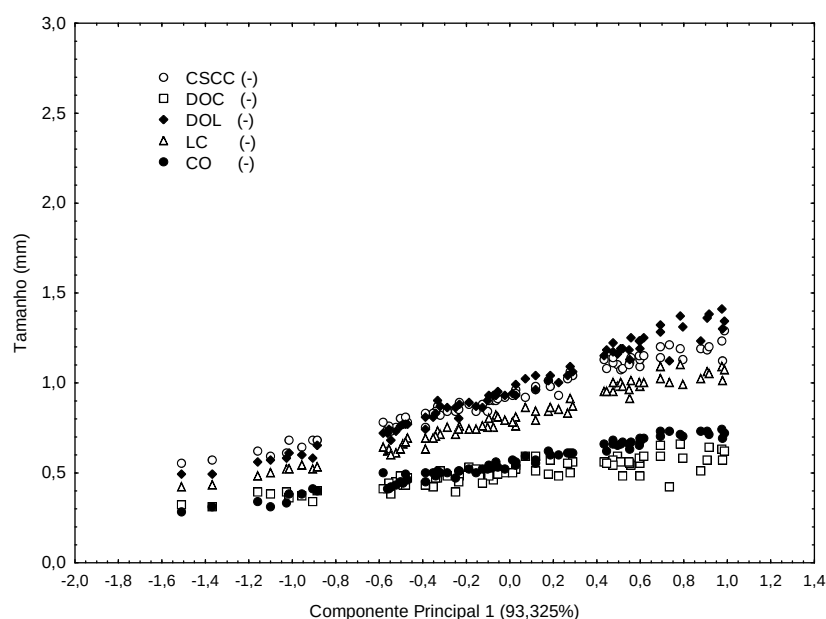


Figura 10) Variação do índice alométrico multivariado em 5 medidas da cabeça (vista dorsal) de *Thraulodes* sp. CSCC - distância da confluência da sutura coronal com a sutura pós-frontal e o clipeo, DOC - distância entre ocelos, DOL - distância entre olhos, LC - largura clipeo, CO - comprimento do olho. O sinal negativo representa alometria negativa, o sinal positivo alometria positiva e zero isometria.

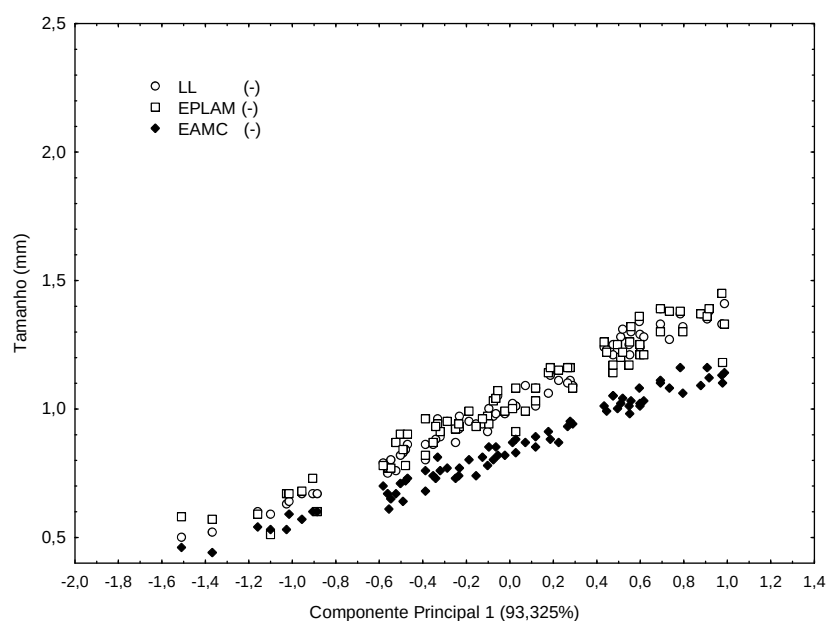


Figura 11) Variação do índice alométrico multivariado em 3 medidas das peças bucais (vista ventral) de *Thraulodes* sp. LL - largura do lábio, EPLAM - distância entre as extremidades póstero-lateral e a ântero-medial da maxila, EAMC - distância entre a extremidade ântero-molar e o côndilo lateral da mandíbula. O sinal negativo representa alometria negativa, o sinal positivo alometria positiva e zero isometria.

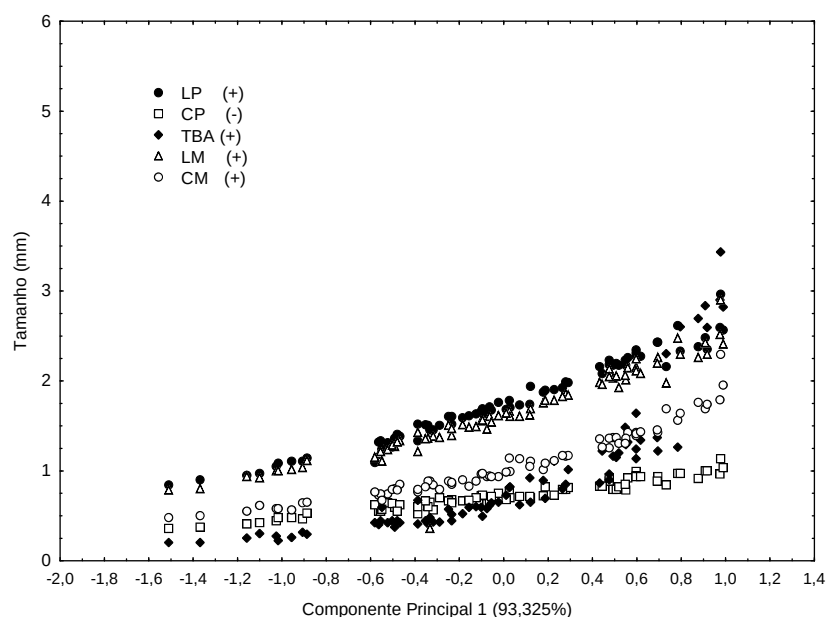


Figura 12) Variação do índice alométrico multivariado em 5 medidas corpóreas do tórax (vista dorsal) de *Thraulodes* sp. LP - largura do protórax, CP - comprimento do protórax, TBA - tamanho do broto alar, LM - largura do mesotórax, CM - comprimento do mesotórax. O sinal negativo representa alometria negativa, o sinal positivo alometria positiva e zero isometria.

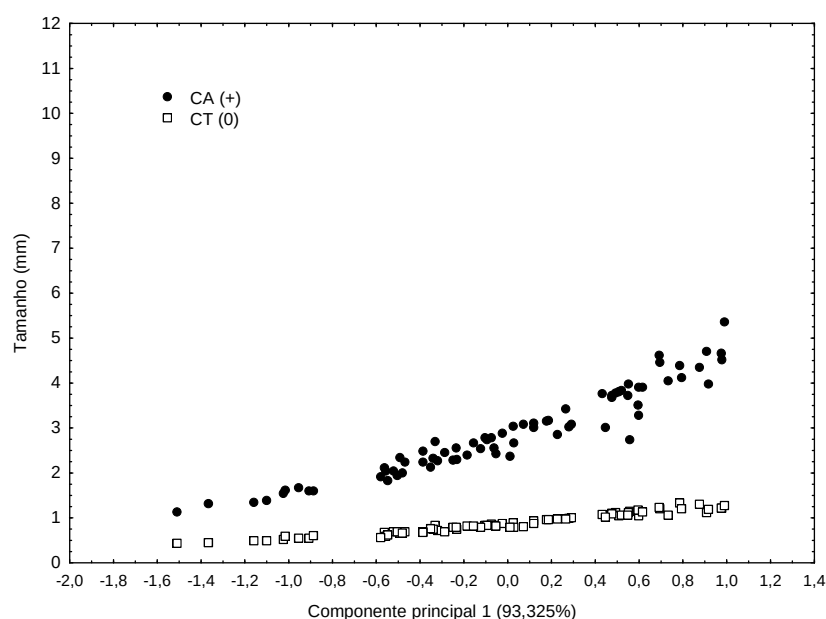


Figura 13) Variação do índice alométrico multivariado em 2 medidas corpóreas do abdômen (vista dorsal) de *Thraulodes* sp. CA - comprimento abdômen, CT - largura do tergo VII. O sinal negativo representa alometria negativa, o sinal positivo alometria positiva e zero isometria.

Variação ontogenética da forma da cabeça e das peças bucais (mandíbula e maxila) de uma espécie de *Thraulodes* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo.

ABSTRACT

Ontogenetic variation of the shape of the head and mouth parts (mandible and maxilla) of a species of *Thraulodes* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) from Parque Estadual Intervales, São Paulo State. In the present paper, the analysis of the stomach content and the investigation of morphological data from the head and the mouth parts during the ontogeny of *Thraulodes* sp. were done using a geometrical approach with the purpose of answering the following questions: 1) considering the head and the mouth parts (mandible and maxilla) separately, are there changes of shape in these structures during the growth? 2) If the changes occur, are they associated to the change of eating habits during the ontogeny? In order to answer those questions, nearly 100 individuals collected at the Intervales State Park were used in the analysis. The head, the mandible and maxilla presented variation of shape during the ontogeny. Fragments of vegetal and shapeless organic material were the main items of the stomach content in all three body size class that we analyzed. Therefore, it was not observed changes in the utilization of resources which could explain the ontogenetic variations of the head and the mouth parts of *Thraulodes* sp.

KEY WORDS: geometric morfometrics; aquatic insects; growth; ontogeny; feeding.

RESUMO

No presente trabalho, a análise do conteúdo estomacal e de dados morfométricos da cabeça e das peças bucais durante a ontogenia de *Thraulodes* sp. foram feitas utilizando uma abordagem geométrica com o objetivo de responder as seguintes questões: 1) considerando a cabeça e as peças bucais (mandíbula e maxila) isoladamente, há mudança de forma destas estruturas durante o crescimento? 2) Caso as mudanças ocorram, elas estão associadas às mudanças dos hábitos alimentares durante a ontogenia? Com o objetivo de responder estas perguntas, aproximadamente 100 indivíduos coletados no Parque Estadual Intervales foram utilizados na análise. A cabeça, a mandíbula e a maxila apresentaram variação de forma durante a ontogenia. Fragmentos vegetais e matéria orgânica amorfa foram os principais itens do conteúdo estomacal em todas as três classes de tamanho analisadas. Portanto, não foi observada mudança na de utilização de recursos que pudessem explicar as variações ontogenéticas das formas da cabeça e das peças bucais de *Thraulodes* sp.

PALAVRAS-CHAVE: morfometria geométrica; insetos aquáticos; crescimento; ontogenia; alimentação.

Introdução

A família Leptophlebiidae é representada por 22 gêneros, sendo que informações sobre a biologia das espécies praticamente inexistem. *Thraulodes* Ulmer, 1920 (Ephemeroptera: Leptophlebiidae: Atalophlebiinae) possui distribuição pan-americana e tem aproximadamente 45 espécies descritas, sendo um dos mais ricos da família Leptophlebiidae. Das 25 espécies registradas para a América do Sul, sete ocorrem no Brasil (Da-Silva, 2003). *Thraulodes* é um gênero raspador comum em riachos de montanha da região neotropical. As espécies do gênero são características de corredeira (Crisci-Bispo *et al.*, 2007).

Conhecer o padrão de crescimento, os ajustes morfológicos e as mudanças da forma para a manutenção da função durante o crescimento pode proporcionar importantes subsídios para o entendimento da biologia e da evolução dos organismos (Cheverud, 1982; Fenoglio & Malacarne, 2007). A avaliação morfológica através de abordagens quantitativas tem sido uma importante ferramenta nos estudos ecológicos e evolutivos de diferentes grupos animais. As técnicas de análise morfométrica estão relacionadas aos métodos para a descrição e análise estatística da variação da forma dentro e entre amostras de organismos, além da análise da mudança da forma como resultado do crescimento, de manipulação experimental e de processos ecológicos e evolutivos (Rohlf, 1990; Rohlf & Marcus, 1993). No final da década de 1980 e início da década de 1990, uma nova maneira quantitativa de caracterizar a forma começou a ganhar espaço, surgindo assim, as bases para o desenvolvimento da morfometria geométrica. Esta abordagem é baseada na análise multivariada de coordenadas cartesianas, geralmente usando marcos anatômicos como referências, ou seja, a posição

das variáveis são levadas em consideração (Bookstein, 1991; Rohlf & Marcus, 1993; Monteiro & Reis, 1999). Esta é a abordagem utilizada no presente trabalho.

Em capítulo anterior, foi verificado que em *Thraulodes* sp. diferentes partes do corpo tem taxas de crescimento distintas e ficou claro que o tórax tende a se tornar proporcionalmente mais robusto, o que pode estar relacionado ao fortalecimento das estruturas de vôo, e o abdômen se torna mais alongado, o que pode ter relação com o desenvolvimento das estruturas reprodutivas. Quanto à cabeça, todas as estruturas se tornaram proporcionalmente menores em relação ao restante do corpo durante o crescimento. Neste contexto, duas das perguntas que permanecem são: 1) considerando a cabeça e as peças bucais (mandíbula e maxila) isoladamente, há mudança de forma destas estruturas durante o crescimento? 2) Caso as mudanças ocorram, elas estão associadas às mudanças dos hábitos alimentares durante a ontogenia? Neste contexto, a análise ontogenética do conteúdo estomacal e o levantamento de dados morfométricos da cabeça e das peças bucais de *Thraulodes* sp. foram realizados com o objetivo de responder estas questões.

Materiais e Métodos

Material analisado

O material analisado (aproximadamente 100 indivíduos de diferentes tamanhos) foi coletado por P. C. Bispo & V. L. Crisci-Bispo em riachos do Parque Estadual Intervales, situado na serra de Paranapiacaba, interior do Estado de São Paulo, entre os municípios de Ribeirão Grande, Eldorado, Guapiara, Iporanga e Sete Barras. O parque situa-se a 24°12'-24°25' de latitude sul e 48°03'-48°30' de longitude oeste, com altitude

variando de 70 a 1000m. O material foi obtido utilizando amostrador de Surber e rede D, ambos com malhas de 0,250mm. A espécie de *Thraulodes* sp. coletada em Intervalos não se encaixa em nenhuma ninfa conhecida do gênero (E. R. da Silva, informação pessoal). Material testemunha está depositado na Coleção de Insetos Aquáticos do Laboratório de Biologia Aquática da UNESP de Assis.

Conteúdo estomacal

Para análise do conteúdo estomacal foram preparadas lâminas em glicerina, com o material retirado da porção anterior do trato digestivo de ninfas de *Thraulodes* sp. com diferentes classes de tamanho (sendo 10 indivíduos de cada classe) assim estabelecidas: pequena (1 mm a 3,9 mm), média (4 mm a 7,9 mm) e grande (8 mm a 10 mm). Foram analisados 20 campos aleatórios. As áreas ocupadas por cada um dos itens foram calculadas através de um software morfométrico acoplado a um microscópio Leica CLS 150X. O material encontrado foi separado nas seguintes categorias: vegetal superior; partícula mineral; matéria orgânica amorfa (grumo); alga filamentosa; diatomácea unicelular e fungo.

Morfometria Geométrica

Apenas indivíduos fêmeas de *Thraulodes* sp. foram analisados, pois os machos de Ephemeroptera apresentam um segundo par de olhos o que causa uma deformação não relacionada com o crescimento e sim com o dimorfismo sexual. Isso poderia alterar os resultados da análise morfométrica.

Três partes do corpo de *Thraulodes* sp. foram analisadas, a cabeça (vista dorsal), a mandíbula direita (vista ventral) e a maxila direita (vista ventral) utilizando uma abordagem geométrica. Cada indivíduo foi dissecado e cada uma das três estruturas estudadas foi fotografada separadamente em uma lupa Leica MZ 125 acoplada a um microcomputador. Em cada estrutura foram estabelecidos marcos (MA) e semi-marcos anatômicos (SMA) (Zelditch *et al.*, 2004). Os marcos e os semimarcos anatômicos para as estruturas estudadas são apresentados na figura 1. As coordenadas cartesianas dos MA e SMA foram obtidas pelo programa TpsDig e depois analisadas através de

Deformações Parciais (Partial Warps) e Deformações Relativas (Relatives Warps) no TpsRelw. Esses programas estão disponíveis gratuitamente no site <http://bio.sunysb.edu/morph>. Os dois primeiros eixos de deformações relativas (análise de componentes principais de uma matriz de deformações parciais) foram relacionados com o tamanho do centróide (indicador do tamanho) através do índice de correlação de Pearson. O tamanho do centróide é a raiz quadrada da soma dos quadrados das distâncias entre cada marco e o centróide (ponto médio) da configuração (Bookstein, 1991).

Resultados

A análise do conteúdo estomacal de *Thraulodes* sp. mostrou que fragmentos de vegetais superiores e matéria orgânica amorfa foram os principais itens alimentares encontrados (Tabela 1) representando entre 85 e 90% do conteúdo estomacal. As três classes de tamanho apresentaram conteúdos estomacais similares.

A análise de DR (Deformações Relativas) para a cabeça mostrou que o primeiro eixo (primeira deformação relativa) explicou 38,11% da variação e foi negativamente relacionado com o tamanho do centróide ($r = -0,8251$; $p = 0,000$) (Figura 2a). Quanto à morfologia, ao longo do primeiro eixo foi observado um deslocamento ântero-medial dos ocelos (MA 23 e 25). Houve um deslocamento medial da gena (MA 3). A região anterior do olho deslocou-se ântero-medialmente (MA 4 e SMA 5, 15), enquanto a região posterior moveu-se lateralmente (MA 9 e SMA 8, 11). O marco 24 deslocou-se ântero-medialmente. O segundo eixo explicou 20,55% da variação dos escores e também foi negativamente relacionado com o tamanho do centróide ($r = -0,3963$; $p = 0,001$) (Figura 2b). Quanto à variação morfológica, ao longo do segundo eixo, pode ser visto um deslocamento ântero-lateral da gena (MA 3). Houve um movimento pósterio-

lateral do ocelo mediano (MA 23) e um deslocamento lateral da confluência da sutura coronal com a sutura pós-frontal (MA 22). A parte anterior do olho (MA 4 e SMA 5, 15) e a posterior (MA 9 e SMA 8, 11) moveram-se anteriormente.

A análise de DR da mandíbula mostrou que o primeiro eixo de variação no subespaço da DR explicou 44% da variação e não esteve relacionada com o tamanho do centróide ($r= 0,1490$; $p= 0,166$) (Figura 3a). Ao longo do primeiro eixo da DR, a região dos incisores (MA 22, 23, 24 e SMA 21, 25, 26) teve um deslocamento ântero-medial, e a região da mola (MA 1, 2, 3) moveu-se anteriormente. O segundo eixo de DR explicou 14,59% da variação dos escores e foi relacionada positivamente com o tamanho do centróide ($r= 0,4486$; $p= 0,001$) (Figura 3b). Ao longo do segundo eixo da DR, os MA 1, 2, 3 e SMA 27 deslocaram-se para a região anterior. A região dos incisores (MA 22, 23, 24 e SMA 21, 25, 26) teve um deslocamento pósterolateral.

Em se tratando da maxila, a análise de DR mostrou que o primeiro eixo explicou 46,39%, e foi relacionado positivamente com o tamanho do centróide ($r= 0,3682$; $p= 0,00$) (Figura 4a). Ao longo do primeiro eixo de DR houve um deslocamento medial da porção posterior da galeolacínia (MA 9 e SMA 5, 6, 7, 8) e um deslocamento pósteromedial da parte ântero-lateral da gálea (SMA 14, 15, 16, 17). A extremidade mais posterior do estipe (MA 10) deslocou-se lateralmente. O segundo eixo explicou 17,05% da variação dos escores (Figura 4b). Ao longo do eixo da segunda DR pode ser visto na galeolacínia dois tipos de deslocamento, um na região posterior (MA 9 e SMA 6, 7, 8) que moveu-se anteriormente e um na parte anterior (MA 13 e SMA 14, 15, 16, 17) que deslocou-se ântero-medialmente. A extremidade mais posterior do estipe (MA 10) deslocou-se para a porção posterior. Não houve relação significativa entre o segundo eixo e o tamanho do centróide ($r= 0,0473$; $p= 0,634$).

Discussão

A mudança da forma corpórea durante a ontogenia é comum. O desenvolvimento de estruturas relacionadas ao vôo ou à reprodução, as mudanças dos hábitos alimentares durante a ontogenia, o fortalecimento de peças bucais e a presença do risco de predação são alguns dos fatores determinantes dos diferentes padrões de crescimento em insetos (Arnqvist & Johansson, 1998; Bernays, 1986; Hochuli, 2001; Renó & Bispo, 2008). Durante a ontogenia, a mudança de forma pode ser necessária para a manutenção da função de uma determinada estrutura.

No caso de *Thraulodes* sp., tanto a cabeça, quanto a mandíbula e a maxila apresentaram mudanças de forma durante a ontogenia. As mudanças morfológicas da cabeça e das peças bucais podem ser um reflexo das mudanças dos itens alimentares durante a ontogenia (Hochuli, 2001; Brannen *et al.*, 2005). Vários trabalhos têm mostrado que o tipo de dieta em insetos pode induzir mudanças morfológicas dessas estruturas durante o crescimento do animal (Bernays, 1986; Hochuli, 2001), o que reflete a importância dos fatores ambientais neste processo. A análise do conteúdo estomacal de *Thraulodes* sp. não mostrou diferenças nos itens alimentares consumidos pelos indivíduos nas diferentes classes de tamanho. Observa-se que houve um predomínio de fragmentos vegetais e matéria orgânica amorfa nas três classes de tamanho analisadas. Provavelmente estes itens dominantes estavam presos ao biofilme, já que *Thraulodes* sp. é um eficiente raspador do biofilme associado a substrato rochoso, utilizando filtração apenas como estratégia secundária (Polegatto & Froehlich, 2003; Crisci-Bispo *et al.*, 2007). Portanto, não foi observada uma mudança de utilização de recursos alimentares que pudesse ser associada às mudanças ontogenéticas de forma nas estruturas estudadas.

Considerando a cabeça, o eixo de deformação relativa foi altamente correlacionado com o tamanho do centróide, o que indica que há uma grande mudança de forma durante a ontogenia. Uma das principais mudanças ontogenéticas da forma da cabeça foi o alargamento relativo de sua base (região posterior) o que teoricamente poderia aumentar o espaço disponível para inserção muscular (Brannen *et al.*, 2005). Quanto à mandíbula, apenas uma pequena parte da variação de forma está relacionada à ontogenia, e neste caso, pode ser observado que houve um deslocamento ântero-medial dos incisores, enquanto a região da mola teve um deslocamento anterior. Quanto à maxila, houve um deslocamento medial da porção posterior da galeolacínia e um deslocamento póstero-medial da parte ântero-lateral da galeolacínia. A extremidade posterior do estipe deslocou-se lateralmente, ocorrendo um aumento relativo do espaço para a passagem da musculatura da maxila, o que certamente poderia fortalecer o movimento dessa peça bucal durante a ontogenia, aumentando assim a eficiência de raspagem.

Os padrões de mudanças de forma da cabeça e das peças bucais durante a ontogenia, encontrados para *Thraulodes* sp. no presente trabalho não são universais para Leptophlebiidae. Em estudo anterior, Paciencia (2008) verificou que a forma da cabeça e da mandíbula de *Massartella brieri*, do Parque Estadual Intervales, não esteve associada à ontogenia. Por outro lado, a maxila, que é uma das estruturas com maior variação em Leptophlebiidae, e que é altamente associada à estratégia alimentar, teve a sua forma relacionada com a variação de tamanho. A variação da forma da maxila em *Thraulodes* sp. e *Massartella brieri* durante a ontogenia foi similar em ambos os casos, nos quais foi observado um deslocamento lateral do estipe, o que, como dito anteriormente, poderia permitir um maior espaço relativo para o fortalecimento muscular.

Os resultados demonstram uma importante variação ontogenética da forma da cabeça e das peças bucais de *Thraulodes* sp. A variação de forma nas estruturas estudadas aqui não pode ser explicada pela mudança ontogenética da dieta, já que esta se manteve inalterada durante o crescimento de *Thraulodes* sp. Portanto, outros fatores ecológicos ou evolutivos, além de regras morfogenéticas específicas de cada estrutura, devem ter sido mais importantes para a variação da forma da cabeça e das peças bucais durante o crescimento da espécie estudada.

Referências bibliográficas

ARNQVIST, G. & JOHANSSON, F. 1998. Ontogenetic Reaction norms of predator-induced defensive morphology in dragonfly larvae. **Ecology** **79(6)**: 1847-1858.

- BERNAYS, E. A. 1986. Diet-induced head allometry among foliage-chewing insects and its importance for graminivores. **Science** **4737**: 495-7.
- BOOKSTEIN, F. L. 1991. **Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology**. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 435 p.
- BRANNEN, D.; BARMAN, E. H. & WALL, W. P. 2005. An allometric analysis of ontogenetic changes (variation) in the cranial morphology of larvae of *Agabus disintegratus* (Crotch) (Coleptera: Dytiscidae). **The Coleopterists Bulletin**, **59(3)**: 351-360.
- CHEVERUD, J. 1982. Phenotypic, genetic and environmental morphological integration in the cranium. **Evolution** **36**: 499-516.
- CRISCI-BISPO, V. L.; BISPO, P. C. & FROEHLICH, C. G. 2007. Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera assemblages in two Atlantic rainforest streams, Southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia** **24(3)**: 545-551.
- DA-SILVA, E. R. 2003. Ninfas de *Thraulodes* Ulmer, 1920 (Insecta: Ephemeroptera: Leptophlebiidae) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Biota Neotropica** **3(2)**: 1-7.
- FENOGLIO, S. & MALACARNE, B. T. 2007. Allometric growth in *Anacroneuria* nymphs (Plecoptera: Perlidae). **Tropical Zoology** **20**: 109-114.
- HOCHULI, D. F. 2001. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behaviour, morphology and host use? **Austral Ecology** **26**: 563-570.
- MONTEIRO, L. R. & REIS, S. F. 1999. **Princípios de Morfometria Geométrica**. Holos editora. X + 188 p.
- PACIENCIA, G. P. 2008. Ciclo de vida, produtividade secundária, distribuição, alimentação e crescimento de *Massartella brienii* (Lestage) (Ephemeroptera:

Leptophlebiidae) em riachos do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo.

Dissertação de Mestrado, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo. 63 p.

POLEGATTO, C. M. & FROELICH, C. G. 2003. Feeding strategies in Atalophlebiinae (Ephemeroptera: Leptophlebiidae), with considerations on scraping and filtering. **Research Update on Ephemeroptera & Plecoptera**. Perugia, Italy. 55-61 p.

RENÓ, N. G. & BISPO, P. C. 2008. Crescimento de ninfas de *Anacroneuria flintorum* (Plecoptera: Perlidae) do Parque Estadual Intervales, São Paulo, Brasil. **Trabalho de conclusão de curso em Ciências Biológicas**. UNESP, Faculdade de Ciências e Letras de Assis. 24 p.

ROHLF, F. J. 1990. Morphometrics. **Annual Review of Ecology and Systematics** 21: 299-316.

ROHLF, F. J. & MARCUS, L. F. 1993. A revolution in morphometrics. **Trends Ecology and Evolution** 8: 129–132.

ZELDITCH, M. L.; SWIDERSKI, D. L.; SHEETS, H. D. & FINK, W. L. 2004. **Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer**. Elsevier Academic Press. 437 p.

Tabela 1) Valores em porcentagem do conteúdo estomacal observado em 3 classes de tamanho de ninfas de *Thraulodes* sp. coletadas no Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo. Legenda. VS: vegetal superior; PM: partícula mineral; MOA: matéria orgânica amorfa (grumo); AF: alga filamentosa; DU: diatomácea unicelular e F: fungo.

Tamanho	VS	PM	MOA	AF	DU	F
Pequeno (1 a 3,9 mm)	75,1	0,7	12,5	0	0	12,0

Médio (4 a 7,9 mm)	52,0	2,2	34,0	0	0	12,0
Grande (8 a 10 mm)	62,0	2,0	28,0	0,1	2,0	6,0

Figuras

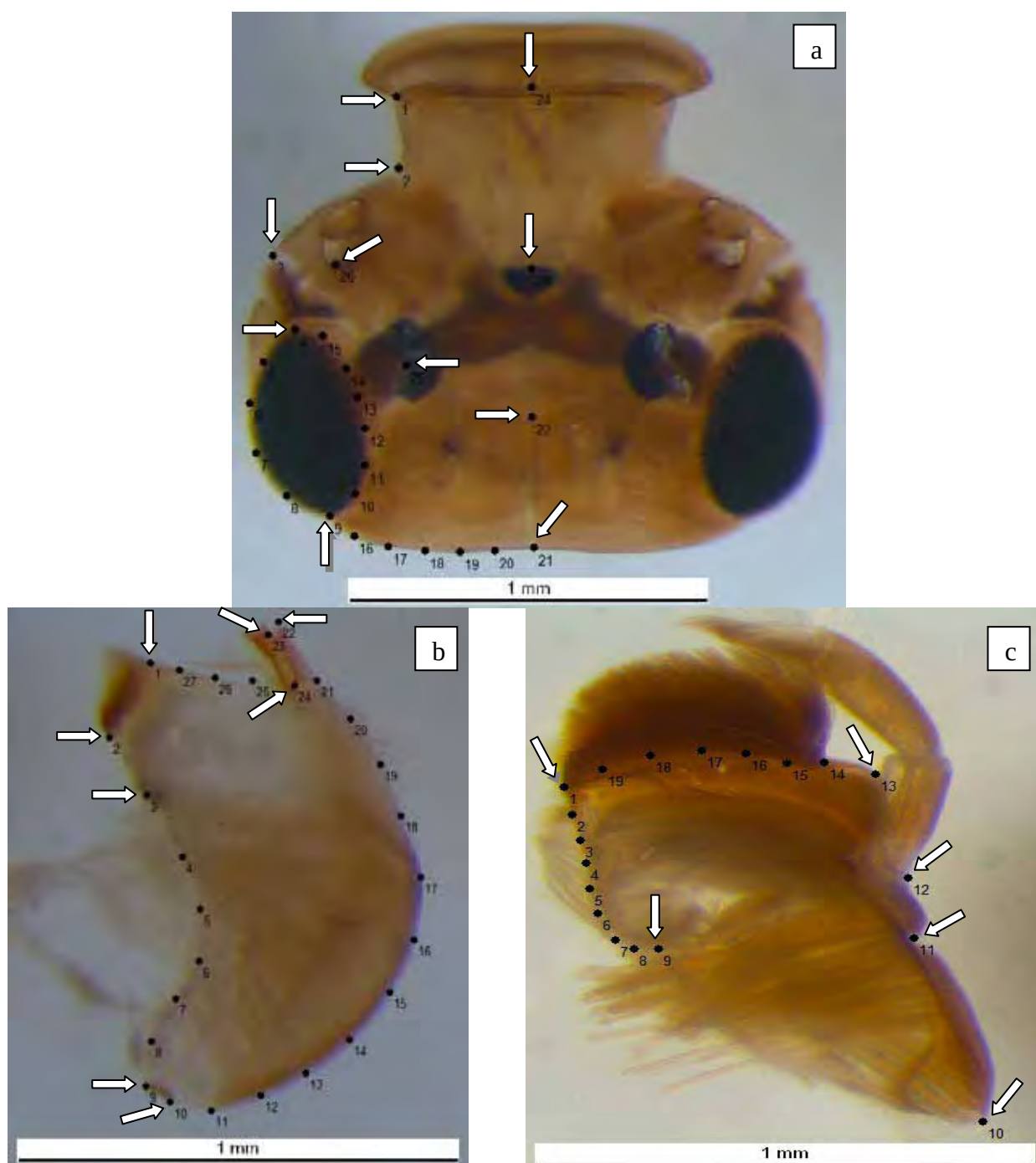


Figura 1) Marcos (setas) e semimarcos anatômicos (demais pontos) da cabeça (a), mandíbula (b) e maxila (c) de *Thraulodes* sp coletados no Parque Estadual Intervales, SP.

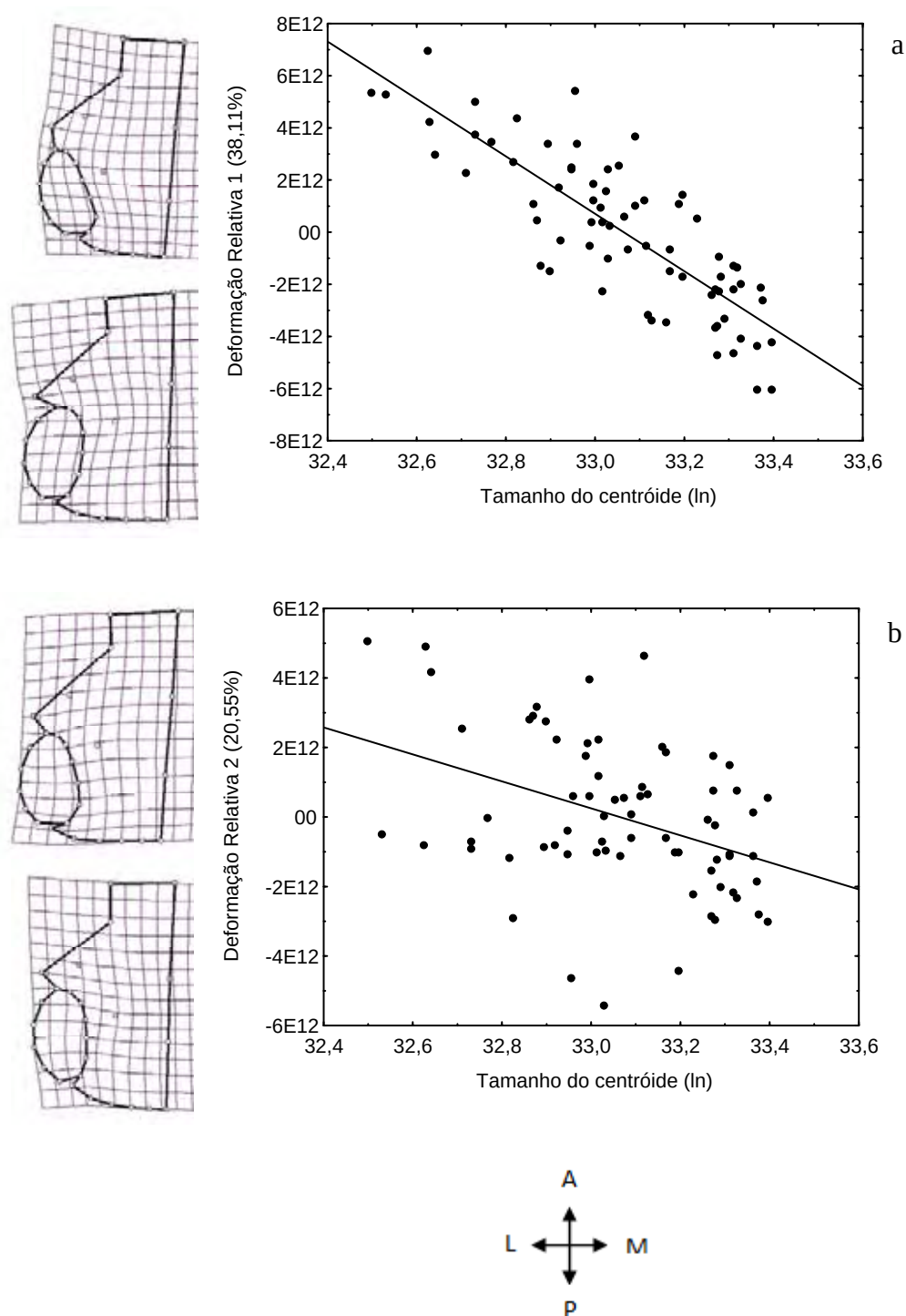


Figura 2) Diagrama de dispersão entre os dois primeiros eixos de Deformações Relativas e o tamanho do centróide da cabeça de indivíduos de *Thraulodes* sp. A diferenciação da forma da cabeça ao longo do eixo é mostrada como diagramas *thin plate splines* que representam os pontos extremos da estrutura analisada. a. $r = -0,8251$; $p = 0,000$. b. $r = -0,3963$; $p = 0,001$. A: anterior; P: posterior; L: lateral; M: medial.

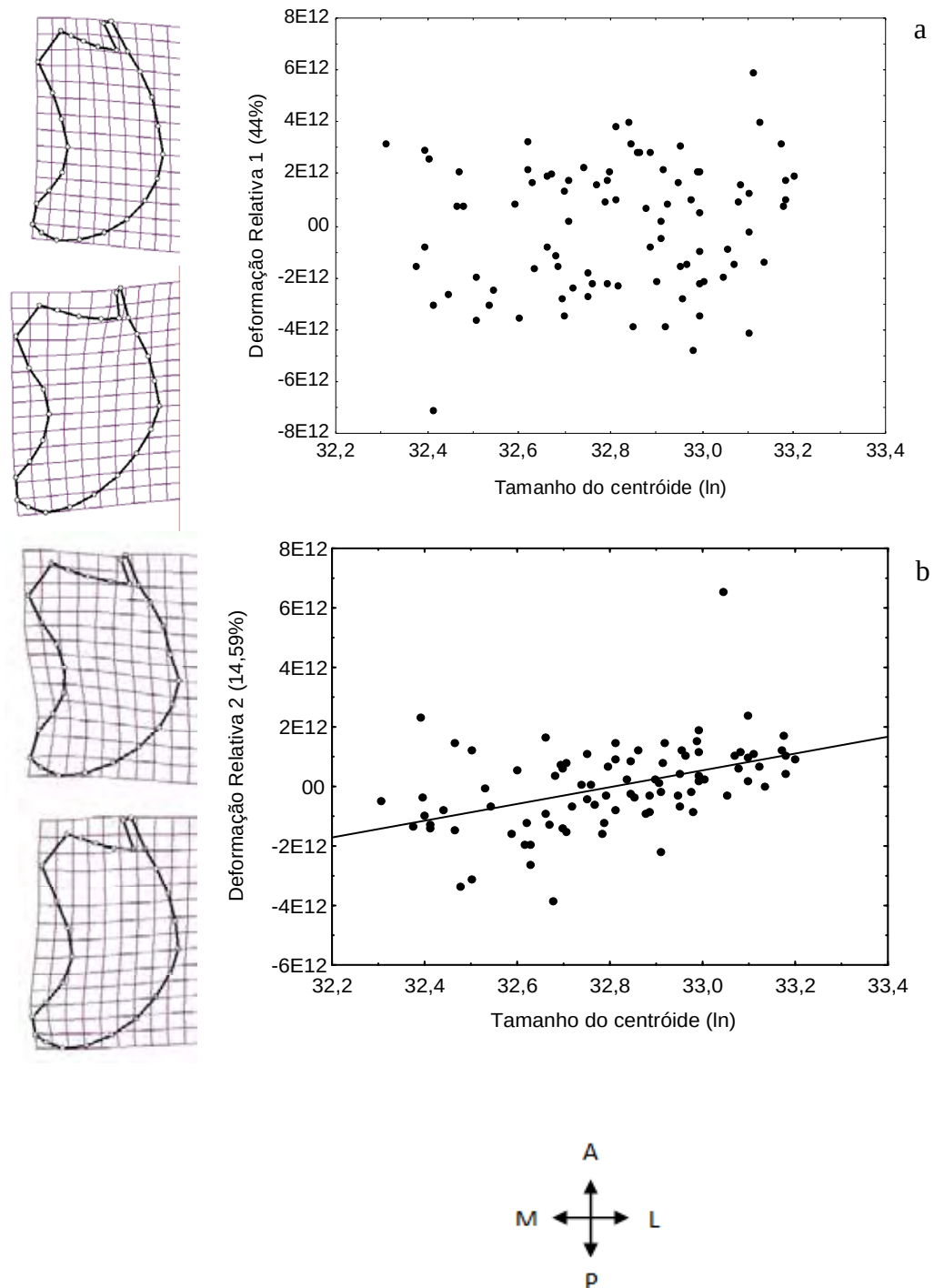


Figura 3) Diagrama de dispersão entre os dois primeiros eixos de Deformações Relativas e o tamanho do centróide da mandíbula de indivíduos de *Thraulodes* sp. A diferenciação da forma da mandíbula ao longo do eixo é mostrada como diagramas *thin plate splines* que representam os pontos extremos da estrutura analisada. a. $r=0,1490$; $p=0,166$. b. $r=0,4486$; $p=0,001$. A: anterior; P: posterior; L: lateral; M: medial.

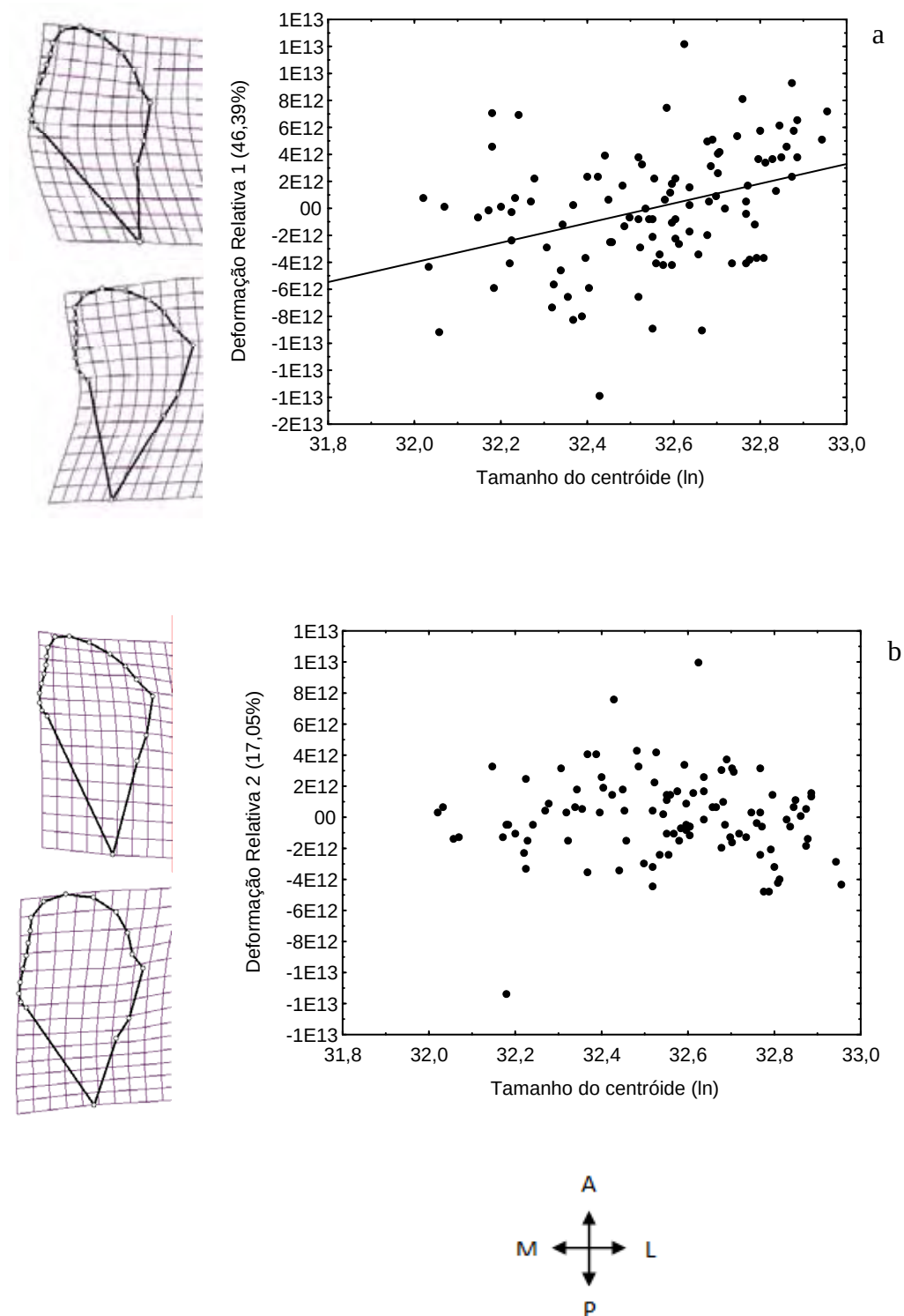


Figura 4) Diagrama de dispersão entre os dois primeiros eixos de Deformações Relativas e o tamanho do centróide da maxila de indivíduos de *Thraulodes* sp. A diferenciação da forma da maxila ao longo do eixo é mostrada como diagramas *thin plate splines* que representam os pontos extremos da estrutura analisada. a. $r = 0,3682$; $p = 0,00$. b. $r = 0,0473$; $p = 0,634$. A: anterior; P: posterior; L: lateral; M: medial.

Variação da morfologia funcional da cabeça e das peças bucais (mandíbula e maxila) de ninfas de Leptophlebiidae (Ephemeroptera) utilizando uma abordagem geométrica

ABSTRACT

Functional morphology of the head and mouth parts (mandible and maxilla) of the Leptophlebiidae (Ephemeroptera) using a geometric approach. The goal of this paper was to answer the following questions: 1) are there differences among the genera in the shape of the head and mouth parts? 2) If those differences exist, what is the relation with the phylogeny and the feeding strategy? In order to answer those questions, data on the phylogeny, feeding strategy and the morphometrical variation of the head, mandible and maxilla of *Askola*, *Farrodes*, *Hagenulopsis*, *Hylistes*, *Massartella*, *Miroculis*, *Thraulodes*, *Ulmeritus* and *Ulmeritoides*, Leptophlebiidae family (Ephemeroptera) were analyzed. The variation of the shape of the head and mouth parts among the genera were evaluated through geometrical morphometrics. The analysis of the stomach content showed that the prevailing feeding item, for the most part of the genera, was fragments of vegetal and shapeless organic matter. The shapes of the head, mandible and maxilla differed significantly among the genera. There was a significant relation between the stomach content and the shape of the head, which did not occur with the mandible and the maxilla. There was a significant relation between the phylogeny and the shape of the head and those of mouth parts (mandible and maxilla). The results indicate that the variation of the shape of the head and mouth parts of Leptophlebiidae did not occur in an independent way, so the phylogenetic inertia overcame the effects of the stochastic adaptive pressures on the shape of these structures.

KEY WORDS: geometric morphometrics; feeding behavior, comparative biology

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi responder as seguintes perguntas: 1) existem diferenças na forma da cabeça e das peças bucais entre os gêneros? 2) Caso existam diferenças, qual a relação com a filogenia e com a estratégia alimentar? Para responder a estas questões, dados sobre a filogenia, a estratégia alimentar e a variação morfométrica da cabeça, mandíbula e maxila dos gêneros *Askola*, *Farrodes*, *Hagenulopsis*, *Hermanella*, *Hylister*, *Massartella*, *Miroculis*, *Thraulodes*, *Ulmeritus* e *Ulmeritoides* da família Leptophlebiidae (Ephemeroptera) foram analisados. A variação de forma da cabeça e das peças bucais entre os gêneros foi avaliada através de morfometria geométrica. A análise dos conteúdos estomacais mostrou que a alimentação predominante para a maior parte dos gêneros foi de vegetal superior e matéria orgânica amorfa. As formas das cabeças, das mandíbulas e das maxilas diferiram significativamente entre os gêneros. Houve uma relação significativa entre o conteúdo estomacal e a forma da cabeça, o que não ocorreu para a mandíbula e a maxila. Houve uma relação significativa entre a filogenia e a forma da cabeça e das peças bucais (mandíbula e a maxila). Os resultados indicam que a variação da forma da cabeça e das peças bucais em Leptophlebiidae não ocorreu de forma independente entre os gêneros, ou seja, a inércia filogenética sobrepôs aos efeitos de pressões adaptativas aleatórias sobre a forma destas estruturas.

PALAVRAS-CHAVE: morfometria geométrica; comportamento alimentar; biologia comparada.

Introdução

Ephemeroptera ocorre em uma ampla variedade de habitats e possui grande variabilidade morfológica das peças bucais. Essa variabilidade morfológica das peças bucais reflete em parte as estratégias alimentares (Polegatto & Froehlich, 2003; Baptista *et al.*, 2006). Informações sobre a morfologia funcional e o comportamento alimentar possibilitam um melhor entendimento sobre as adaptações para a obtenção de alimento. Muitos estudos utilizam o sistema de classificação de insetos aquáticos em relação ao hábito alimentar, baseado na estratégia alimentar predominante. Neste contexto, os efemerópteros podem ser classificados em raspadores (scraper, grazer), escovadores (brusher), coletores (collector, gatherer), filtradores (filterer), fragmentadores (shredder). Predadores são raros. É importante salientar que esta classificação é baseada nas estratégias alimentares predominantes, no entanto, pode haver uma grande flexibilidade.

Entender a variabilidade morfológica e a sua relação com a função pode proporcionar importantes subsídios para o entendimento da biologia e evolução dos organismos (Cheverud, 1982; Fenoglio & Malacarne, 2007). A avaliação morfológica através de abordagens quantitativas tem sido uma importante ferramenta nos estudos ecológicos e evolutivos de diferentes grupos animais. As técnicas de análise morfométrica estão relacionadas aos métodos para a descrição e análise estatística da variação da forma dentro e entre amostras de organismos, além da análise da mudança da forma como resultado do crescimento, de manipulação experimental e de processos ecológicos e evolutivos (Rohlf, 1990; Rohlf & Marcus, 1993). No final da década de 1980 e início da década de 1990, uma nova maneira quantitativa de caracterizar a forma começou a ganhar espaço, surgindo assim, as bases para o desenvolvimento da morfometria geométrica. Esta abordagem é baseada na análise multivariada de

coordenadas cartesianas, geralmente usando marcos anatômicos como referências, ou seja, a posição das variáveis são levadas em consideração (Bookstein, 1991; Rohlf & Marcus, 1993; Monteiro & Reis, 1999). Esta é a abordagem utilizada no presente trabalho.

Entre os efemerópteros, a família Leptophlebiidae apresenta uma alta diversidade funcional e morfológica, sendo comuns em ambientes lóticos de baixas e médias ordens. Nos capítulos 1 e 2 deste trabalho, foram estudados a variação ontogenética de *Thraulodes* sp. usando a abordagem da morfometria multivariada tradicional e da morfometria geométrica. Neste capítulo, foi feita uma análise mais ampla comparando ninfas maduras de Leptophlebiidae. Os gêneros de Leptophlebiidae apresentam diferentes estratégias alimentares (Polegatto & Froehlich, 2003) e uma grande variabilidade de forma da cabeça e das peças bucais. Neste contexto, dados sobre a filogenia (Lopes, 1999), a alimentação e a variação morfométrica (cabeça, mandíbula e maxila) de Leptophlebiidae foram levantados para alguns gêneros neotropicais com o objetivo de responder as seguintes perguntas: 1) existem diferenças na forma da cabeça e das peças bucais entre os gêneros? 2) Caso existam diferenças, qual a relação com a filogenia e com a estratégia alimentar?

Materiais e Métodos

Material analisado

O material analisado de *Thraulodes*, *Hylister*, *Hagenulopsis*, *Ulmeritoides*, *Farrodes*, *Massartella* e *Miroculis*, foi coletado por P. C. Bispo & V. L. Crisci-Bispo em riachos do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo. O material referente a *Askola* e *Hermanella* foi coletado no Parque Estadual de Campos do Jordão, e os

indivíduos do gênero *Ulmeritus* foram coletados na região da Usina Hidrelétrica Dona Francisca, Ibarama, RS, por M. R. Spies e A. E. Siegloch.

Alimentação

Para análise do conteúdo estomacal foram preparadas lâminas em glicerina, com o material retirado da porção anterior do trato digestivo das ninfas (8 exemplares de cada gênero). Nos exemplares de *Thraulodes* sp. foram analisados 20 campos aleatórios. Para os demais gêneros foram analisados 10 campos aleatórios. As áreas ocupadas por cada um dos itens foram calculadas através de um software morfométrico acoplado a um microscópio Leica CLS 150X. O material encontrado foi separado nas seguintes categorias: vegetal superior; partícula mineral; matéria orgânica amorfa (grumo); alga filamentosa; diatomácea unicelular e fungo. A estratégia alimentar principal foi obtida em Polegatto & Froehlich (2003).

Análise de dados

Apenas indivíduos fêmeas dos 10 gêneros foram analisados (aproximadamente 100 indivíduos, cerca de 10 por gênero), pois os machos de Ephemeroptera apresentam um segundo par de olhos o que causa uma deformação relacionada ao dimorfismo sexual. Isso poderia alterar os resultados da análise morfométrica.

Três partes do corpo desses gêneros foram analisadas separadamente, a cabeça (vista dorsal), a mandíbula direita (vista ventral) e a maxila direita (vista ventral) utilizando uma abordagem geométrica. Cada indivíduo foi dissecado e cada uma das três estruturas estudadas foi fotografada separadamente em uma lupa Leica MZ 125 acoplada a um microcomputador. Em cada estrutura foram estabelecidos marcos (MA) e semi-marcos anatômicos (SMA) (Zelditch *et al.*, 2004). Os marcos e os semimarcos anatômicos para as estruturas estudadas são apresentados na figura 1. As coordenadas cartesianas dos MA e SMA foram obtidas pelo programa TpsDig e depois analisadas através de Deformações Parciais (Partial Warps) e Deformações Relativas (Relative Warps) no TpsRelw. Esses programas estão disponíveis gratuitamente no site <http://bio.sunysb.edu/morph>. Para testar a existência de diferenças significativas de

forma das estruturas estudadas nos diferentes gêneros, as deformações parciais foram analisadas utilizando uma MANOVA. Para testar os efeitos da filogenia e do tipo de alimentação (conteúdo estomacal) sobre a forma das estruturas foi utilizado o teste de Mantel com 5000 permutações (Legendre & Legendre, 1998). Neste caso, foram utilizadas as seguintes matrizes: distância de Procrustes entre os gêneros (representando a forma), distância filogenética e distância euclidiana baseada no conteúdo estomacal. A matriz de distância filogenética foi baseada na filogenia de Lopes (1999), neste caso, os gêneros ausentes nesta filogenia (*Askola*, *Farrodes*, *Hagenulopsis* e *Miroculis*) foram descartados da análise. A distância entre os gêneros baseada no conteúdo estomacal foi construída a partir de uma matriz de abundância relativa dos itens alimentares utilizando distância euclidiana. Neste caso, a matriz de distância euclidiana foi representada graficamente através da UPGMA e as distorções dessa representação foram avaliadas através do índice de correlação cofenética (Legendre & Legendre, 1998). Quando a forma foi relacionada tanto com a alimentação quanto com a filogenia, um teste de Mantel parcial foi feito com o objetivo de comparar o efeito da alimentação sobre a forma, retirando o efeito da filogenia (Smouse *et al.*, 1986). O teste de Mantel foi realizado no programa NTSYS (Rohlf, 2000).

Resultados

A análise do conteúdo estomacal mostrou que *Askola* difere dos demais por ter 50% do conteúdo representado por fungos. Quanto aos demais gêneros, houve a formação de 2 grupos, um formado pelos gêneros *Farrodes*, *Hagenulopsis*, *Hylister*,

Miroculis, *Ulmeritoides* e *Ulmeritus* e outro formado pelos gêneros *Hermanella*, *Massartella* e *Thraulodes* (Figura 2). Em todos os gêneros, partículas de vegetais superiores foram os itens mais importantes. No caso dos gêneros *Hermanella*, *Massartella* e *Thraulodes*, além de vegetal superior, o item matéria orgânica amorfa teve uma grande importância. O conteúdo estomacal para cada gênero é apresentado na tabela 1.

A forma da cabeça diferiu significativamente entre os gêneros estudados (MANOVA, Wilks Lambda= 0,0000; $p= 0,0000$). O primeiro eixo de DR explicou 51,51% da variabilidade e o segundo 19,29% (Figura 3). A dispersão dos gêneros em um espaço de duas dimensões formado pelos dois primeiros eixos de DR mostrou que os escores referentes aos gêneros predominantemente filtradores *Hylister* e *Hermanella* (Polegatto & Froehlich, 2003) tenderam ao extremo negativo dos dois primeiros eixos. Quanto aos gêneros predominantemente raspadores (*Farrodes*, *Hagenulopsis*, *Massartella*, *Miroculis*, *Thraulodes*, *Ulmeritoides* e *Ulmeritus*), estes apresentaram uma grande dispersão no espaço de deformações relativas, o que demonstra uma maior variabilidade de forma da cabeça destes gêneros. *Askola*, gênero que consumiu mais fungo, teve escore localizado no extremo positivo do eixo 1. Ao longo do primeiro eixo claramente houve um estreitamento da região clipeal (MA 1 e 24), um deslocamento anterior da gena (MA 3), um deslocamento lateral do ocelo posterior (MA 25) e um deslocamento póstero-lateral da parte anterior do olho (MA 4 e SMA 5, 14 e 15). Ao longo do segundo eixo houve um deslocamento póstero-lateral da parte posterior da cabeça (SMA 17, 18, 19 e 20), incluindo a parte posterior do olho (MA 9 e SMA 8, 10 e 11), e um estreitamento da região clipeal (MA 1 e 24). Houve uma relação significativa entre o conteúdo estomacal e a forma da cabeça (Teste de Mantel, distância de Procrustes x distância euclidiana considerando o conteúdo estomacal, $r= 0,46$; $p= 0,026$

para 5000 permutações) e entre a filogenia e a forma da cabeça (Teste de Mantel, distância de Procrustes x filogenia, $r = 0,368$; $p = 0,036$ para 5000 permutações). Por outro lado, quando o efeito da filogenia foi retirado, foi observado que a relação entre o conteúdo estomacal e a forma da cabeça se tornou negativa (Teste de Mantel, distância de Procrustes x distância euclidiana considerando o conteúdo estomacal, controlando o efeito da filogenia, $r = -0,392$; $p = 0,0058$ para 5000 permutações).

A forma da mandíbula diferiu significativamente entre os gêneros estudados (MANOVA, Wilks Lambda= 0,0000; $p = 0,0000$). O primeiro eixo de DR explicou 49,33% da variabilidade e o segundo 23,88% (Figura 4). A dispersão dos gêneros em um espaço de duas dimensões formado pelos dois primeiros eixos de DR mostrou que os escores referentes aos gêneros predominantemente filtradores (*Hylistera* e *Hermanella*), juntamente com *Thraulodes* (raspador) tenderam ao extremo negativo do primeiro eixo, enquanto que o raspador *Massartella* teve o escore localizado no extremo positivo deste eixo. Ao longo do primeiro eixo, claramente houve um alargamento da parte anterior da mandíbula (MA 1, 2 e 24; e SMA 19, 20, 21, 25, 26 e 27) e um deslocamento medial da articulação anterior da mandíbula (MA 3). Ao longo do segundo eixo houve um forte deslocamento lateral da mandíbula (SMA 14-19). Não houve uma relação significativa entre o conteúdo estomacal e a forma da mandíbula (Teste de Mantel, distância de Procrustes x distância euclidiana considerando o conteúdo estomacal, $r = 0,065$; $p = 0,373$ para 5000 permutações). Por outro lado, houve uma relação significativa entre a filogenia e a forma da mandíbula (Teste de Mantel, distância de Procrustes x filogenia, $r = 0,489$; $p = 0,0104$ para 5000 permutações).

A forma da maxila diferiu significativamente entre os gêneros estudados (MANOVA, Wilks Lambda= 0,0000; $p = 0,0000$). O primeiro eixo de DR explicou 50,87% da variabilidade e o segundo 23,18% (Figura 5). A dispersão dos gêneros em

um espaço de duas dimensões formado pelos dois primeiros eixos de DR mostrou que os escores referentes aos gêneros predominantemente filtradores (*Hyliaster* e *Hermanella*) ficaram isolados dos demais gêneros, os quais são predominantemente raspadores. Ao longo do primeiro eixo, claramente houve um forte alongamento do estipe (MA 9, 10 e 11) com o deslocamento anterior da base do palpo (MA 11 e 12). Aliado a isso, houve um deslocamento lateral da parte ântero-lateral da maxila (MA 13) e um deslocamento pósteromedial da base medial da galeolacínia (SMA 4, 5, 6, 7, e 8). Ao longo do segundo eixo, houve um deslocamento anterior da parte ânteromedial (MA 1 e SMA 17, 18 e 19) e um deslocamento posterior da parte ântero-lateral da maxila (MA 13 e SMA 14, 15 e 16). Não houve uma relação significativa entre o conteúdo estomacal e a forma da maxila (Teste de Mantel, distância de Procrustes x distância euclidiana considerando o conteúdo estomacal, $r = -0,022$; $p = 0,445$ para 5000 permutações). Por outro lado houve uma relação significativa entre a filogenia e a forma da maxila (Teste de Mantel, distância de Procrustes x filogenia, $r = 0,416$; $p = 0,019$ para 5000 permutações).

Discussão

As ninfas de Leptophlebiidae são comumente consideradas raspadoras, porém alguns grupos são filtradores. A análise da dieta dos gêneros analisados no presente trabalho mostrou que o conteúdo estomacal não reflete as diferentes estratégias para a obtenção de alimento (raspador ou filtrador). As ninfas raspadoras de Leptophlebiidae raspam o biofilme, e neste caso, partículas orgânicas aderidas são ingeridas. Já no caso dos organismos filtradores, as partículas orgânicas são filtradas. Em qualquer uma das duas estratégias, há a possibilidade do predomínio de partículas de matéria orgânica no

conteúdo estomacal. Neste contexto, os dados do presente trabalho mostram um predomínio de partículas de vegetais superiores e matéria orgânica amorfa. Estes resultados concordam com aqueles obtidos por Froehlich & Oliveira (1997) para gêneros de Leptophlebiidae de uma região de Mata Atlântica brasileira.

As ninfas de Leptophlebiidae estudadas podem ser classificadas de acordo com as suas peças bucais e estratégia alimentar principal (Polegatto & Froehlich, 2003) em predominantemente raspadoras (*Askola*, *Farrodes*, *Hagenulopsis*, *Massartella*, *Miroculis*, *Thraulodes*, *Ulmeritoides* e *Ulmeritus*) e em predominantemente filtradoras (*Hermanella* e *Hylister*). As ninfas raspadoras apresentam estruturas especializadas para a raspagem como cerdas curtas e rígidas na maxila, já as filtradoras apresentam maxilas com longas e delicadas cerdas adaptadas à filtragem. Por outro lado, os hábitos alimentares em Leptophlebiidae podem ser mais complexos do que apenas uma simples análise morfológica pode indicar. Neste contexto, apesar do aparato bucal apresentar características que beneficie uma ou outra estratégia, o comportamento alimentar em Leptophlebiidae pode ser muito plástico. Por exemplo, Polegatto & Froehlich (2003), estudando o comportamento alimentar de Leptophlebiidae, encontraram os seguintes resultados: 1) gêneros tidos como raspadores como *Thraulodes* e *Farrodes* apresentaram a filtragem como estratégia alimentar secundária; 2) as ninfas de pequeno porte de *Massartella*, que é um gênero raspador, obtêm o alimento através de filtragem; 3) *Ulmeritoides*, que tem um aparato adaptado a raspagem, foi observado apenas utilizando a filtragem como estratégia alimentar; 4) como esperado, *Hermanella* foi observado apenas filtrando. Com base nestas observações e avaliando a morfologia das peças bucais em diferentes grupos, Polegatto & Froehlich (2003) predizeram a estratégia alimentar para outros gêneros, sempre deixando claro a potencial flexibilidade para cada um delas. Em resumo, em Leptophlebiidae, apesar das estruturas

apresentarem especializações para a raspagem ou filtragem, os indivíduos de cada gênero podem compensar as restrições morfológicas através de estratégias comportamentais que os permitam manter uma segunda estratégia alimentar, o que pode ser vantajoso em determinados cenários ambientais. Esta flexibilidade observada em Leptophlebiidae também pode explicar o fato do conteúdo estomacal não estar diretamente relacionado à estratégia alimentar principal nos gêneros estudados.

A evolução de caracteres não se dá de forma independente e isolada, ou seja, a forma observada de uma estrutura também é um reflexo da forma encontrada em seus ancestrais. Características submetidas a pressões adaptativas recentes e aleatórias provavelmente evoluem independentemente da filogenia, fato que não aconteceu no presente trabalho. No caso dos gêneros de Leptophlebiidae aqui estudados, a variação de forma da cabeça e das peças bucais está estruturada filogeneticamente indicando que estas estruturas evoluíram lentamente de forma neutra acompanhando a estrutura filogenética ou que adaptações antigas ocorridas nos ancestrais permaneceram e foram compartilhadas pelos membros atuais do grupo.

No presente trabalho, foi observado que as formas da cabeça e das peças bucais de Leptophlebiidae dos gêneros filtradores *Hermanella* e *Hylister* (grupo *Hermanella*) (Lopes 1999) foram distintas daquelas observadas nos demais gêneros estudados, os quais são raspadores. Esta distinção foi maior para a forma da maxila do que para a forma da cabeça e da mandíbula. Portanto, apesar da flexibilidade comportamental observada em Leptophlebiidae (Polegatto & Froehlich, 2003), a forma da maxila pode ser uma boa preditora do comportamento alimentar principal.

Em resumo, os dados deste estudo não mostraram uma relação clara entre as peças bucais e o conteúdo estomacal, por outro lado esta relação ocorreu entre a forma destas estruturas e as estratégias alimentares predominantes. Neste sentido, Brittain

(1982) enfatiza que as variações morfológicas das peças bucais em Ephemeroptera estão mais relacionadas às diferentes estratégias alimentares do que propriamente às diferenças na dieta. No presente trabalho, houve uma relação significativa entre a variação de forma e a filogenia. Portanto, os resultados indicam que a variação da forma da cabeça e das peças bucais em Leptophlebiidae não ocorreu de forma independente entre os gêneros, ou seja, a inércia filogenética sobrepôs aos efeitos de pressões adaptativas aleatórias sobre a forma destas estruturas.

Referências Bibliográficas

BAPTISTA, D. F.; BUSS, D. F.; DIAS, L. G.; NESSIMIAN, J. L.; SILVA, E. R.;
MORAES NETO, A. H.; OLIVEIRA, M. A.; CARVALHO, S. N. & ANDRADE,

- L. R. 2006. Functional Feeding Groups of Brazilian Ephemeroptera Nymphs: Ultrastructure of mouthparts. **Annales de Limnologie** 42(2): 87-96.
- BOOKSTEIN, F. L. 1991. **Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology**. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 435 p.
- BRITTAIN, J. E. 1982. Biology of mayflies. **Annual Review of Entomology** 27: 119-
- CHEVERUD, J. 1982. Phenotypic, genetic and environmental morphological integration in the cranium. **Evolution** 36: 499-516.
- FENOGLIO, S. & MALACARNE, B. T. 2007. Allometric growth in *Anacroneuria* nymphs (Plecoptera: Perlidae). **Tropical Zoology** 20: 109-114.
- FROEHLICH, C. G. & OLIVEIRA, L. G. 1997. Ephemeroptera and Plecoptera Nymphs from riffles in low-order streams in Southeastern Brazil. **Ephemeroptera and Plecoptera: Biology-Ecology-Systematics**. 1 ed. Fribourg, Suíça: MTL – Mauron + Tinguely & Lachat SA. 180-185.p.
- LEGENDRE, P. & LEGENDRE, L. 1998. **Numerical Ecology**. Developments in Environmental Modelling, 20; New York, Elsevier. XV + 853 p.
- LOPES, M. J. N. 1999. Sistemática de Atalophlebiinae (Insecta: Ephemeroptera, Leptophlebiidae) nos Escudos das Guianas e Brasileiro (Rondônia). **Tese de Doutorado**. Universidade do Amazonas, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 75 p.
- MONTEIRO, L. R. & REIS, S. F. 1999. **Princípios de Morfometria Geométrica**. Holos editora. 188 p.
- POLEGATTO, C. M. & FROEHLICH, C. G. 2003. Feeding strategies in Atalophlebiinae (Ephemeroptera: Leptophlebiidae), with considerations on scraping and filtering. **Research Update on Ephemeroptera & Plecoptera**. Perugia, Italy. 55-61 p.

- ROHLF, F. J. 1990. Morphometrics. **Annual Review of Ecology and Systematics** 21: 299-316.
- ROHLF, F. J. & MARCUS, L. F. 1993. A revolution in morphometrics. **Trends Ecology and Evolution** 8: 129–132.
- ROHLF, F. J. 2000. **NTSYS 2.1: Numerical Taxonomic and Multivariate Analysis System**. New York, Exeter Software.
- SMOUSE, P. E.; LONG, J. C. & SOKAL, R. R. 1986. Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. **Systematic Zoology** 35(4): 627-632.
- ZELDITCH, M. L.; SWIDERSKI, D. L.; SHEETS, H. D. & FINK, W. L. 2004. **Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer**. Elsevier Academic Press. 437 p.

Tabela 1) Valores em porcentagem do conteúdo estomacal observado em ninfas dos gêneros de Ephemeroptera coletados no Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo. VS: vegetal superior; PM: partícula mineral; MOA: matéria orgânica amorfa (grumo); AF: alga filamentosa; DU: diatomácea unicelular; F: fungo e EAP: estratégia alimentar principal (Polegatto & Froehlich, 2003).

Gêneros	VS	PM	MOA	AF	DU	F	EAP
<i>Askola</i>	27,0	23,2	0	0	0	50,0	raspador
<i>Farrodes</i>	69,0	8,3	8,9	0	0	13,0	raspador
<i>Hagenulopsis</i>	74,0	6,0	10,4	0	0	9,0	raspador
<i>Hermanella</i>	64,0	3,1	17,0	0	0	16,1	filtrador
<i>Hylister</i>	78,0	0	1,0	0	0	21,0	filtrador
<i>Massartella</i>	70,0	11,0	22,9	0,3	0	0	raspador
<i>Miroculis</i>	73,0	2,6	6,1	0	0	18,2	raspador
<i>Thraulodes</i>	62,0	2,0	28,0	0	2,0	6,0	raspador
<i>Ulmeritoides</i>	79,0	2,0	4,8	0	0	14,0	raspador
<i>Ulmeritus</i>	84,0	8,6	1,0	0	0	7,0	raspador

Figuras

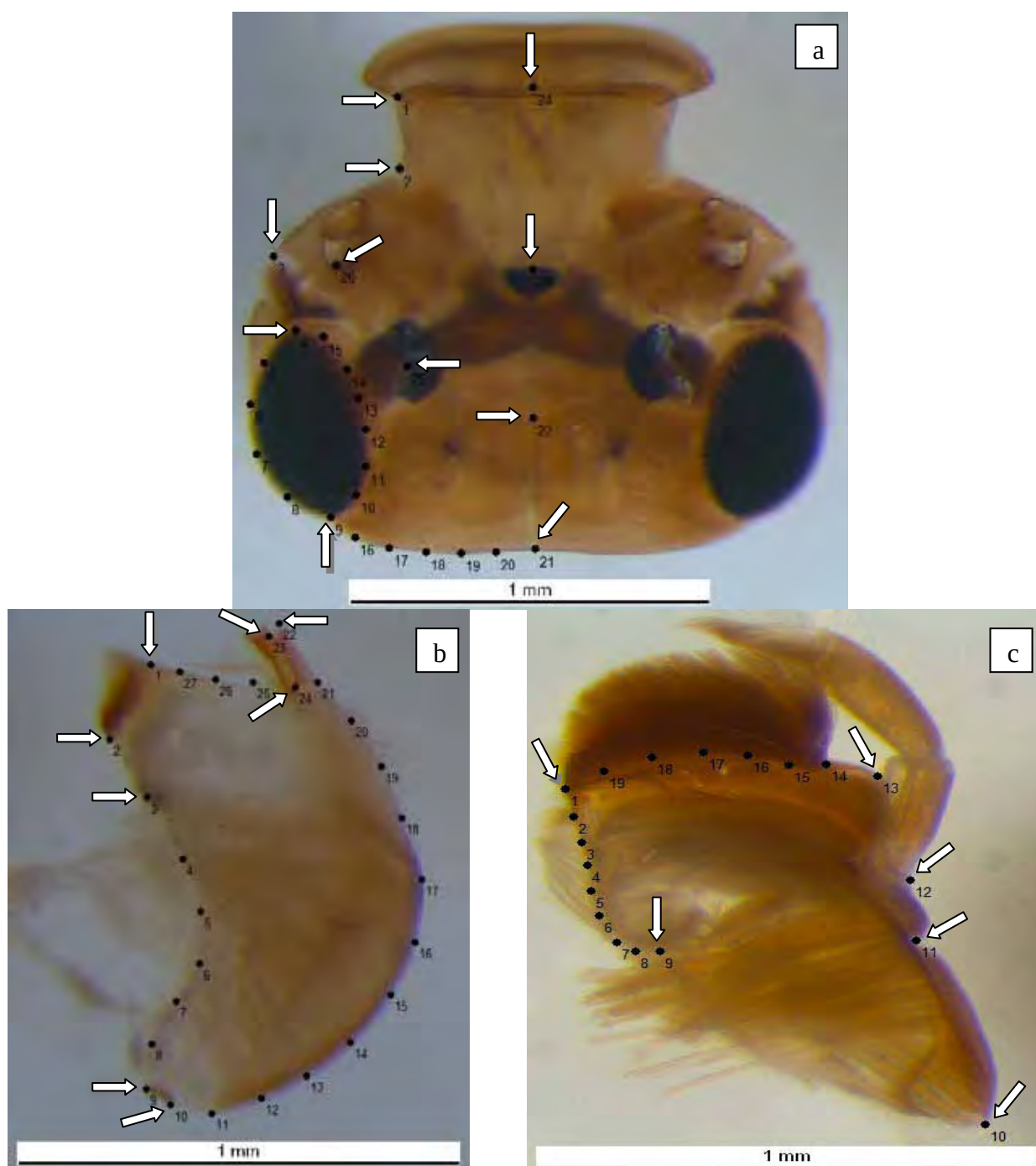


Figura 1) Marcos (setas) e semímarcos anatômicos (demais pontos) da cabeça (a), mandíbula (b) e maxila (c) de *Thraulodes* sp.

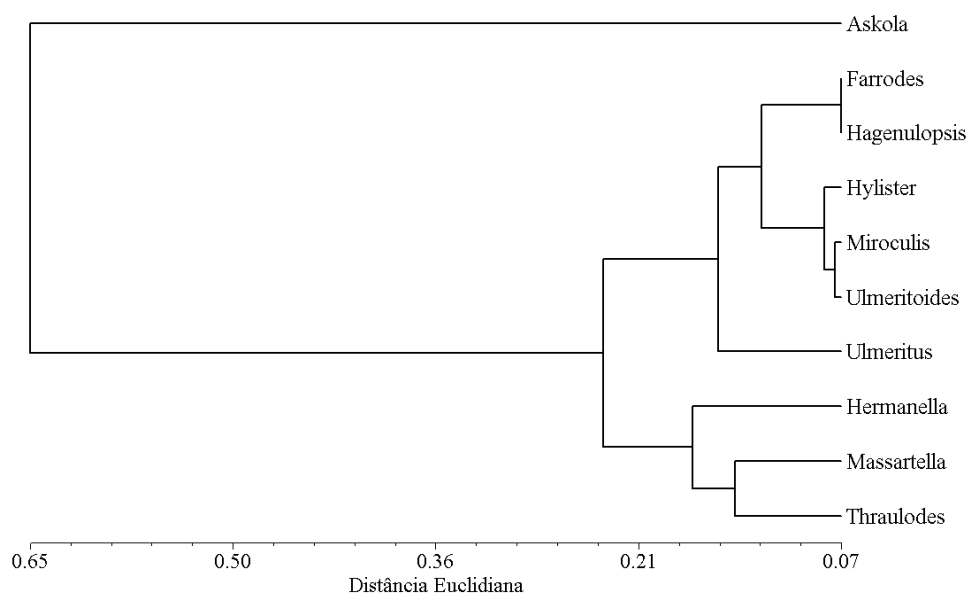


Figura 2) Dendrograma (UPGMA) representando a distância euclidiana entre os gêneros estudados de Leptophlebiidae baseada no conteúdo estomacal. Índice de correlação cofenética: 0,965.

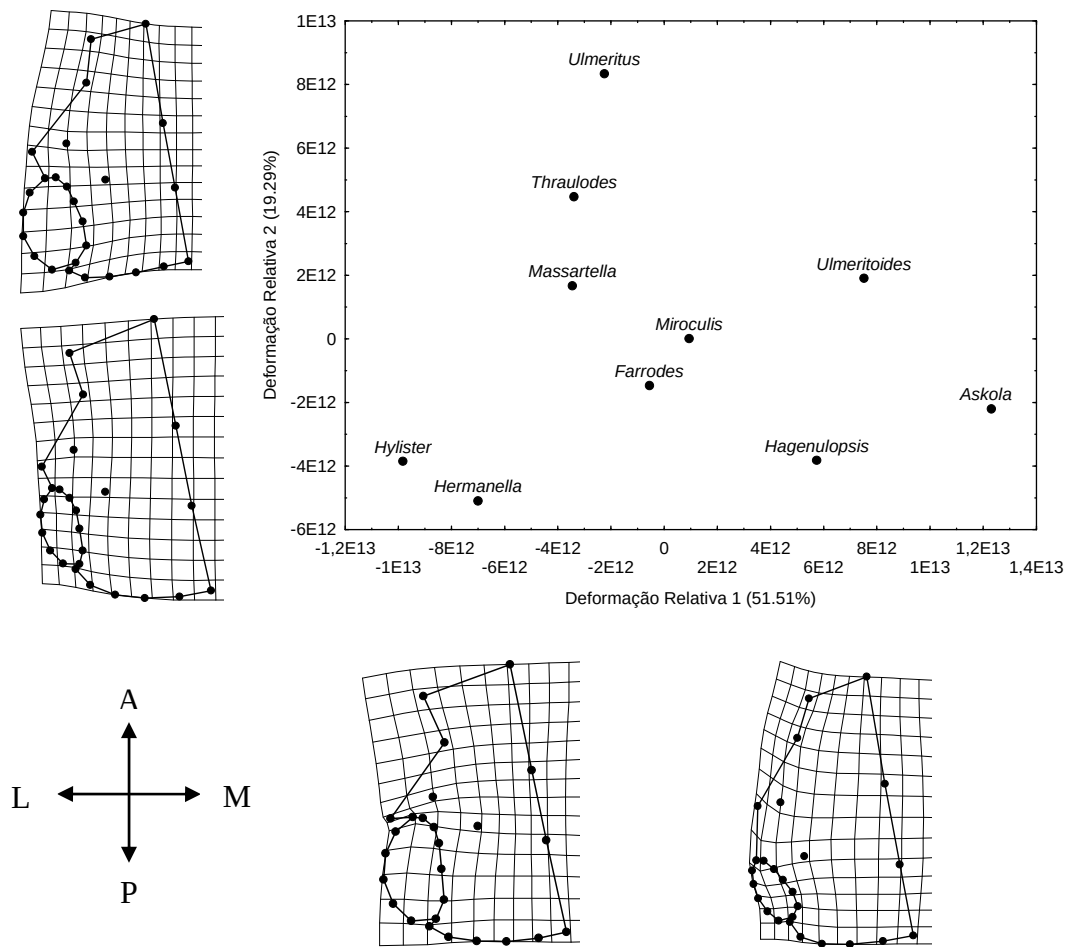


Figura 3) Diagrama de dispersão de cabeças de gêneros de Ephemeroptera no espaço das duas primeiras Deformações Relativas. A diferenciação da forma da cabeça ao longo dos dois eixos multivariados é mostrada como diagramas *thin plate splines* que representam os pontos extremos da estrutura analisada. A: anterior; P: posterior; L: lateral; M: medial.

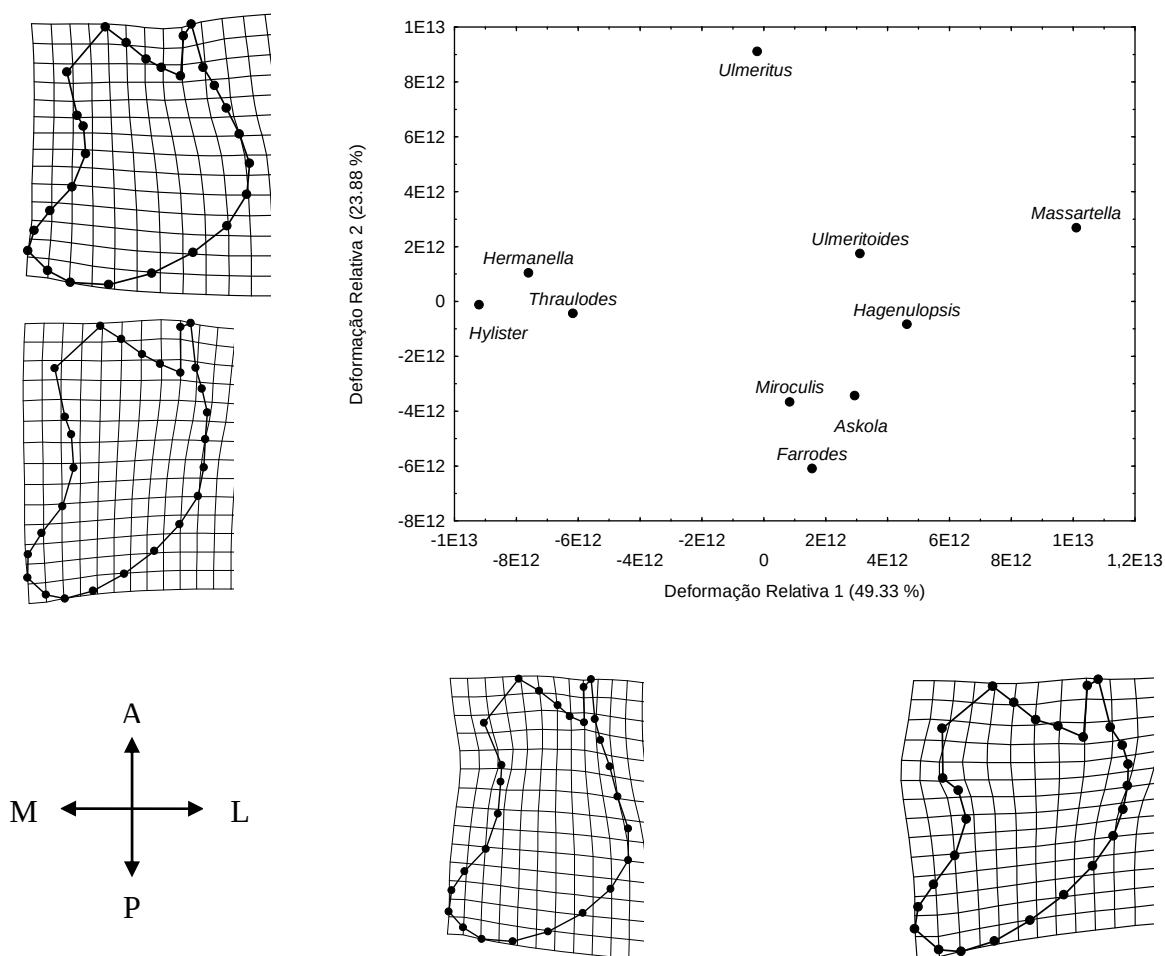


Figura 4) Diagrama de dispersão de mandíbulas de gêneros de Ephemeroptera no espaço das duas primeiras Deformações Relativas. A diferenciação da forma da mandíbula ao longo dos dois eixos multivariados é mostrada como diagramas *thin plate splines* que representam os pontos extremos da estrutura analisada. A: anterior; P: posterior; L: lateral; M: medial.

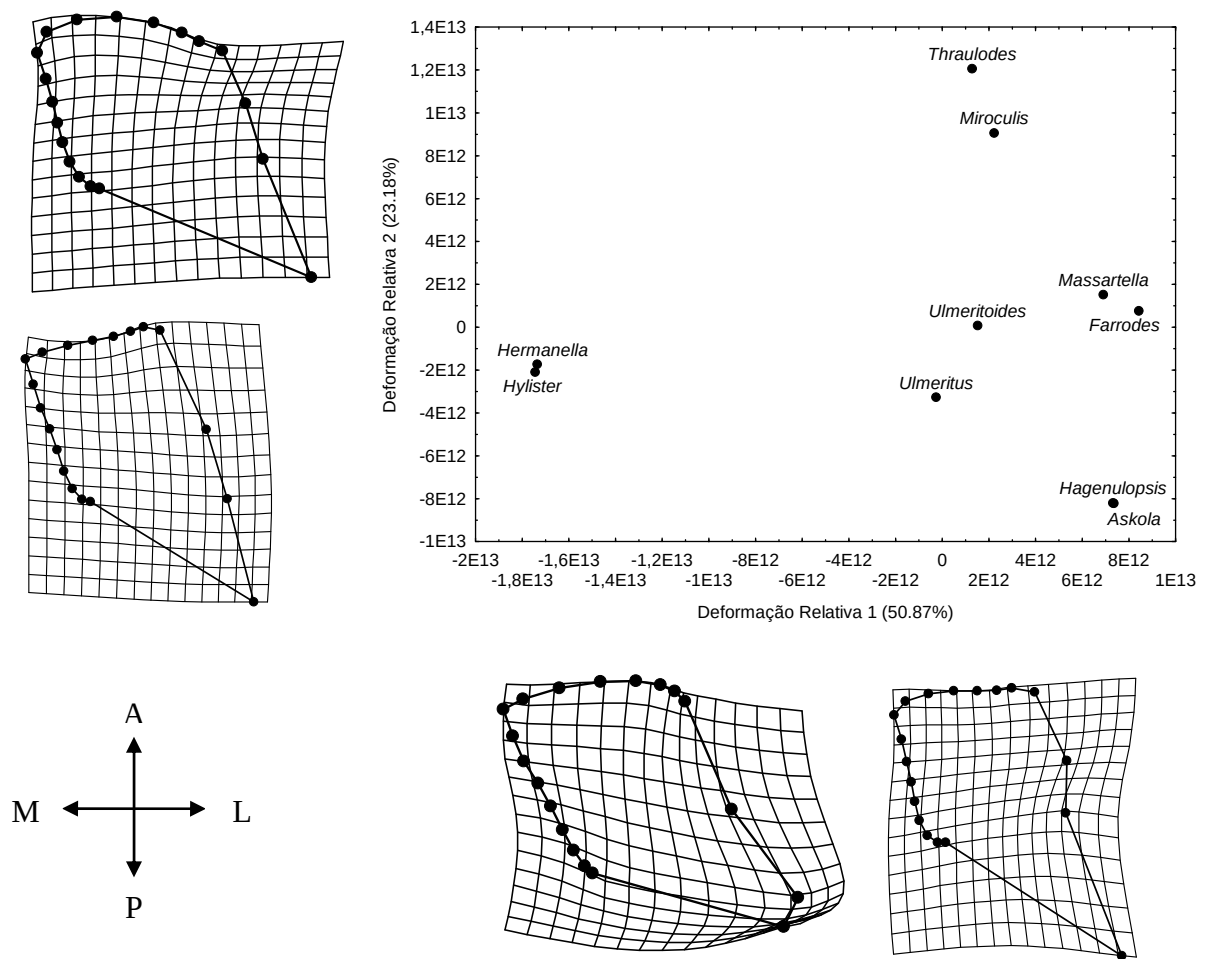


Figura 5) Diagrama de dispersão de maxilas de gêneros de Ephemeroptera no espaço das duas primeiras Deformações Relativas. A diferenciação da forma da maxila ao longo dos dois eixos multivariados é mostrada como diagramas *thin plate splines* que representam os pontos extremos da estrutura analisada. A: anterior; P: posterior; L: lateral; M: medial.

CONCLUSÕES GERAIS

Foi observada a mudança de proporção entre diferentes partes do corpo de *Thraulodes* sp. durante o crescimento, ou seja, grande parte das estruturas mensuradas teve crescimento alométrico. A cabeça teve crescimento alométrico negativo, o mesotórax tornou-se mais robusto em relação ao tamanho generalizado e houve um alongamento relativo do abdômen durante a ontogenia. Os dados mostram que grande parte das mudanças durante a ontogenia de *Thraulodes* sp. está relacionada aos ajustes morfológicos ligados à transição para a vida adulta, entre as quais a preparação do tórax para o desenvolvimento das asas e do abdômen para o desenvolvimento de estruturas reprodutivas e gametas.

Ainda no caso de *Thraulodes* sp., os resultados tanto da cabeça, quanto da mandíbula e da maxila apresentaram mudanças de forma durante a ontogenia. A análise do conteúdo estomacal de *Thraulodes* sp. não mostrou diferenças nos itens alimentares consumidos pelos indivíduos nas diferentes classes de tamanho. No conteúdo estomacal houve um predomínio de fragmentos vegetais e matéria orgânica amorfa nas três classes de tamanho analisadas. Portanto, não foi observada uma mudança de utilização de recursos alimentares que pudesse ser associada às mudanças ontogenéticas de forma nas estruturas estudadas.

As formas das cabeças, das mandíbulas e das maxilas diferiram significativamente entre os gêneros de Leptophlebiidae. A análise da dieta dos gêneros analisados mostrou que o conteúdo estomacal não reflete as diferentes estratégias para a obtenção de alimento (raspador ou filtrador). Os dados mostram que partículas de vegetais superiores e matéria orgânica amorfa foram itens importantes para todos os gêneros estudados. Os resultados mostraram que há uma relação significativa entre o

conteúdo estomacal e a forma da cabeça, o que não ocorreu para a mandíbula e a maxila. Houve uma relação significativa entre a filogenia e a forma da cabeça e das peças bucais (mandíbula e a maxila). Portanto, os resultados indicam que a variação da forma da cabeça e das peças bucais em Leptophlebiidae não ocorreu de forma independente entre os gêneros, ou seja, a inércia filogenética sobrepôs aos efeitos de pressões adaptativas aleatórias sobre a forma destas estruturas.