

PAULO NAOTO TANIGUTI

**PERLIDAE (PLECOPTERA) DA ESTAÇÃO BIOLÓGICA DE
BORACÉIA, ESTADO DE SÃO PAULO:**

integrando dados morfológicos e moleculares e associando adultos e ninfas

Assis - SP

2026

PAULO NAOTO TANIGUTI

**PERLIDAE (PLECOPTERA) DA ESTAÇÃO BIOLÓGICA DE
BORACÉIA, ESTADO DE SÃO PAULO:**

integrando dados morfológicos e moleculares e associando adultos e ninfas

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Assis, para obtenção do título Mestre em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica)

Orientador: Prof. Dr. Pitágoras da Conceição Bispo

Coorientador: Dr. Lucas Henrique de Almeida

Bolsista: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo Nº 2022/15689-3)

Assis - SP

2026

T164p

Taniguti, Paulo Naoto

Perlidae (Plecoptera) da Estação Biológica de Boracéia, Estado de São Paulo: integrando dados morfológicos e moleculares e associando adultos e ninfas / Paulo Naoto Taniguti. -- Assis, 2026
87 p. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Assis

Orientador: Pitágoras da Conceição Bispo

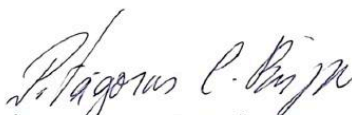
Coorientador: Lucas Henrique de Almeida

1. Genética molecular. 2. Biodiversidade. 3. Insetos aquáticos. 4. Zoologia Classificação. I. Título.



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE PAULO NAOTO TANIGUTI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS E LETRAS - CÂMPUS DE ASSIS.

Aos 13 de novembro de 2025, às 14h, no(a) Sala da Congregação e sala virtual: meet.google.com/oom-essa-jxy, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE PAULO NAOTO TANIGUTI, intitulada **PERLIDAE (PLECOPTERA) DA ESTAÇÃO BIOLÓGICA DE BORACÉIA, ESTADO DE SÃO PAULO: integrando dados morfológicos e moleculares e associando adultos e ninfas**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. PITÁGORAS DA CONCEIÇÃO BISPO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Biológicas / UNESP / Câmpus de Assis - FCLAs, Prof. Dr. TÁCIO VITOR DUARTE SIMÕES (Participação Virtual) do(a) Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Prof. Dr. ROGÉRIO CAMPOS DE OLIVEIRA (Participação Virtual) do(a) Faculdade SESI SP de Educação, Após a exposição pelo mestrando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão



Prof. Dr. PITÁGORAS DA CONCEIÇÃO BISPO

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento: bolsa de mestrado, processo nº 2022/15689-3; bolsa BEPE – Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior, processo nº 2024/06462-0; e pelos processos nº 2019/22833-0 e nº 2021/05986-8.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), através do edital PROTAX – Programa de Capacitação em Taxonomia, processo nº 441119/2020-4, pelo suporte.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociências – Interunidades.

Ao Prof. Dr. Cláudio Gilberto Froehlich, que, pelo exemplo de uma vida dedicada aos estudos da biodiversidade brasileira, inspirou e continua inspirando gerações de biólogos. Ao Prof. Dr. Pitágoras da Conceição Bispo, por ter aceitado me orientar no mestrado, pelas inúmeras conversas sobre a vida, pelas histórias, pelo bom humor no dia a dia e pela amizade. Ao Dr. Lucas Henrique de Almeida (Prego), coorientador, pela parceria nas aventuras em busca de plecópteros, pelos ensinamentos, pelo apoio e pela amizade de longa data.

Aos membros que participaram da banca examinadora, aos quais tenho sincera admiração e gratidão pelas ideias que forneceram para a melhoria do meu trabalho: Dr. Rogério Campos, na Qualificação; Dr. Vinicius Marques Lopez, na Defesa; e Dr. Tácio Duarte, em ambas. Ao Gleyson Desidério, por ter aceitado atuar como professor substituto da casa, permanecendo à disposição para a Defesa, bem como pela companhia no laboratório até tarde da noite em muitos dias da fase final do meu mestrado.

Ao Prof. Dr. Ciro C. Z. Branco, pelo apoio.

À equipe da Seção de Pós-Graduação da UNESP Assis, em especial ao Lino, pelo auxílio e atenção ao longo da trajetória do mestrado.

Aos professores e orientadores José Manuel Tierno de Figueroa e Manuel Jesús López-Rodríguez, por terem me recebido na Universidade de Granada durante o intercâmbio realizado com a BEPE.

Aos amigos parceiros de coleta na Estação Biológica de Boracéia (EBB). Em especial, três nomes foram essenciais nas coletas: Jefferson, com quem tomei muita chuva, mas descobrimos que “entre uma gota e outra a chuva não molha”; Beatriz (Bia), com quem ficamos sem eletricidade por dias, mas aprendemos que “até a eletricidade tem seu lado positivo e o negativo; o positivo é quando há”; e Pedro, com quem passamos vários dias sob

nevoeiro intenso, e assim descobrimos que “havia uma pedra no meio do caminho, a pedra segue lá, bem como um pedaço do carro”.

Aos membros da equipe do Prof. Dr. Frederico F. Salles (Fred): ao Felipe (Ney), pela ajuda na colheita dos frutos de cambuci; à Mellis, pela companhia “inoxidável” nos chás de cambuci, pitanga, capim-cidreira e hortelã; à Isabel (parcerita), pelo “espírito leve” e boa companhia; ao Igor, pelo senso de humor “peculiar”; e ao Rodrigo (Coioite), pela parceria nos treinos. Agradeço também por terem me acompanhado em alguns momentos nas coletas na EBB. Com cada um deles, aprendi muito sobre entomologia e sobre o entusiasmo de estudar os insetos aquáticos.

Aos funcionários da jardinagem, em especial ao Humberto, pelas conversas e pelos cuidados com as plantas frutíferas do campus, muitas delas plantadas por alunos, principalmente do curso de Biologia. Poder plantar, vê-las se desenvolver e colher seus frutos foi um privilégio para mim, além de compartilhar muitos desses momentos com muita gente. Essas plantas tornaram o meu cotidiano acadêmico mais leve e agradável: admirar e observar os passarinhos e outros animais se alimentando, assim como apreciá-los (entre eles, muitos humanos) foi uma experiência inesquecível. Dessa maneira, agradeço muito à biodiversidade do campus e às pessoas que contribuíram para que ela exista e seja preservada. Também quero agradecer a todos os demais funcionários (docentes e administrativos) da UNESP Assis, que fizeram parte de forma “positiva” da minha trajetória como aluno da instituição.

Aos amigos João Victor e Mateus Abe. Aos integrantes da antiga República Calango, na formação que havia quando fui aceito no mestrado e morei (agregado) com eles: Prego, Ney, Evans (Pablo), Thomas (Gordinho), Vini (Jason) e Bia. E também aos camaradas da Moradia Estudantil, com quem compartilhei muitas vivências, aprendizados e bons momentos.

Aos meus pais, Kazuo Taniguti e Damiana Regina da Silva, pelo exemplo de pessoas boas que são e por terem me ensinado, junto às minhas irmãs (Paula, Cida e Kátia), valores que levarei por toda a vida. Agradeço à minha família por todo o amor e apoio, sempre presentes como um amparo ao longo do meu trajeto no mestrado. A família é, sem dúvida, a base de tudo, e sem ela nada disso teria sido possível.

E agradeço muito a todos aqueles que eventualmente eu tenha esquecido.

RESUMO

Plecoptera compreende uma ordem de insetos aquáticos com mais de 4.200 espécies conhecidas, distribuídas em 17 famílias. No Brasil, são registradas apenas duas famílias: Gripopterygidae e Perlidae. Neste trabalho, foram estudadas as espécies de Perlidae da Estação Biológica de Boracéia (EBB), localizada em Salesópolis, Estado de São Paulo, com o objetivo de integrar o conhecimento taxonômico e molecular, permitindo a identificação de adultos e a associação adulto-ninfa utilizando código de barras de DNA. Das 16 espécies previamente registradas, 13 foram recapturadas, incluindo todas as sete espécies do gênero *Anacroneuria* (*A. boraceiensis*, *A. petersi*, *A. paulina*, *A. polita*, *A. subcostalis*, *A. uyara* e *A. vanini*); cinco de *Kempnyia* (*K. colossica*, *K. flava*, *K. gracilentia*, *K. neotropica* e *K. vanini*) e uma de *Macrogynoplax* (*M. veneranda*). Foram obtidos dois novos registros para a EBB (*K. obtusa* e *K. mirim*) e descritas duas espécies novas de *Anacroneuria* (*A. sp. nov. 01* e *A. sp. nov. 02*). Foram descritas neste estudo ninfas de 13 espécies, sendo 11 de *Anacroneuria* (*A. boraceiensis*, *A. paulina*, *A. petersi*, *A. polita*, *A. subcostalis*, *A. uyara*, *A. vanini*, *A. sp. nov. 01*, *A. sp. nov. 02*, além de duas morfoespécies sem adultos conhecidos: *A. morfoespécie 01* e *A. morfoespécie 02*) e duas de *Kempnyia* (*K. vanini* e *K. morfoespécie 01*). Sequências de COI foram obtidas para a maioria das espécies. Estes resultados ampliam o conhecimento sobre a diversidade de Perlidae na Mata Atlântica.

Palavras-chave: molecular; biodiversidade; região neotropical; Plecoptera; taxonomia

ABSTRACT

Plecoptera comprises an order of aquatic insects with more than 4,200 known species, distributed across 17 families. In Brazil, only two families are recorded: Gripopterygidae and Perlidae. In this study, species of Perlidae from the Estação Biológica de Boracéia (EBB), located in Salesópolis, State of São Paulo, were studied with the aim of integrating taxonomic and molecular knowledge, allowing the identification of adults and the association between adults and nymphs using DNA barcoding. Of the 16 previously recorded species, 13 were recaptured, including all seven species of the genus *Anacroneuria* (*A. boraceiensis*, *A. petersi*, *A. paulina*, *A. polita*, *A. subcostalis*, *A. uyara*, and *A. vanini*); five of *Kempnyia* (*K. colossica*, *K. flava*, *K. gracilentia*, *K. neotropica*, and *K. vanini*); and one of *Macrogynoplax* (*M. veneranda*). Two new records for EBB were obtained (*K. obtusa* and *K. mirim*), and two new species of *Anacroneuria* (*A. sp. nov. 01* and *A. sp. nov. 02*) were described. Nymphs of thirteen species were described in this study, eleven belonging to *Anacroneuria* (*A. boraceiensis*, *A. paulina*, *A. petersi*, *A. polita*, *A. subcostalis*, *A. uyara*, *A. vanini*, *A. sp. nov. 01*, *A. sp. nov. 02*, and two morphospecies without known adults: *A. morphospecies 01* and *A. morphospecies 02*) and two to *Kempnyia* (*K. vanini* and *K. morphospecies 01*). COI sequences were obtained for most species. These results expand the knowledge of Perlidae diversity in Atlantic rainforest.

Keywords: molecular; biodiversity; Neotropical region; Plecoptera; taxonomy

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1 INSETOS DE AMBIENTES LÓTICOS.....	1
2 A ORDEM PLECOPTERA.....	2
2.1 BIOLOGIA, ECOLOGIA E MORFOLOGIA.....	2
2.2 CLASSIFICAÇÃO E DIVERSIDADE.....	5
2.3 DIVERSIDADE BRASILEIRA E DESAFIOS TAXONÔMICOS.....	7
3 TAXONOMIA INTEGRATIVA E FERRAMENTAS MOLECULARES EM PERLIDAE.....	8
4 ESTAÇÃO BIOLÓGICA DE BORACÉIA.....	10
5 CLÁUDIO G. FROELICH (PLECOPTERA E EBB).....	12
6 OBJETIVOS.....	12
REFERÊNCIAS (INTRODUÇÃO GERAL).....	13
CAPÍTULO 1. A FAUNA DE PERLIDAE (INSECTA: PLECOPTERA) DA ESTAÇÃO BIOLÓGICA DE BORACÉIA COM DADOS DE CÓDIGO DE BARRAS DE DNA: ESPÉCIES NOVAS, NOVOS REGISTROS E ASSOCIAÇÃO DE NINFAS.....	20
1 INTRODUÇÃO.....	22
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3 RESULTADOS.....	30
3.1 ESPÉCIES.....	30
3.2 CÓDIGO DE BARRAS MOLECULAR.....	32
3.3 TAXONOMIA.....	35
3.3.1 Gênero <i>Anacroneuria</i>	35
3.3.2 Gênero <i>Kempnyia</i>	68
4 DISCUSSÃO.....	78
5 AGRADECIMENTOS.....	81
REFERÊNCIAS.....	82

INTRODUÇÃO GERAL

1 INSETOS DE AMBIENTES LÓTICOS

A Classe Insecta constitui o maior clado em número de espécies descritas, abrangendo mais de 1.000.000 de espécies conhecidas (Stork, 2018). Destas, aproximadamente 10% estão associadas, em alguma fase do ciclo de vida, aos ambientes aquáticos (Lancaster & Downes, 2013). Esse grupo, conhecido como insetos aquáticos, é representado principalmente pelas ordens Coleoptera, Diptera, Ephemeroptera, Hemiptera, Megaloptera, Odonata, Plecoptera e Trichoptera. Os insetos aquáticos passam uma ou mais etapas do seu ciclo de vida em ambientes aquáticos, possuindo, em sua maioria, estágios imaturos aquáticos e adultos alados terrestres. Esses insetos têm papel fundamental nos ecossistemas de água doce, atuando como elos nas cadeias tróficas e prestando serviços ecossistêmicos essenciais, como o processamento de matéria orgânica (DeWalt & Ower, 2019). Exercem funções ecológicas variadas, incluindo a atuação como consumidores primários, detritívoros, predadores e, em alguns casos, polinizadores (Dijkstra *et al.*, 2014).

Os insetos aquáticos são elementos importantes na dinâmica funcional dos ambientes aquáticos e são importantes bioindicadores de qualidade ambiental. Eles sofrem tanto com os efeitos danosos das atividades antrópicas sobre os ambientes aquáticos (redução da qualidade da água e da integridade física) quanto dos ambientes terrestres (redução da vegetação, erosão, mudanças no uso do solo, etc) (Datto-Liberato *et al.*, 2024). Neste contexto, a ordem Plecoptera, juntamente com Ephemeroptera e Trichoptera, conhecidas coletivamente como EPT, é considerada um grupo eficiente de bioindicadores da qualidade da água (Bispo *et al.*, 2006; Bispo & Oliveira, 2007). Dessa forma, esses insetos são componentes essenciais em programas de biomonitoramento (Cheney *et al.*, 2019).

Dada a importância desses insetos, identificar corretamente os diferentes táxons possibilita uma visão mais abrangente da biodiversidade, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de conservação e monitoramento ambiental. No caso dos insetos aquáticos, a classificação taxonômica é, em grande parte, baseada nos machos adultos. Contudo, o conhecimento dos estágios imaturos é fundamental, pois é nessa fase que os indivíduos permanecem nos ambientes aquáticos, tornando-se ferramentas valiosas para estudos de biomonitoramento e para entendimento da dinâmica ecológica dos

ecossistemas aquáticos. Adicionalmente, os imaturos podem fornecer caracteres morfológicos valiosos para reconstruções filogenéticas. Assim, o registro tanto dos adultos quanto dos estágios imaturos de insetos aquáticos oferece subsídios para compreender os principais fatores ecológicos e evolutivos responsáveis pela geração e manutenção da diversidade, além de fornecer suporte para estratégias de biomonitoramento.

2 A ORDEM PLECOPTERA

2.1 BIOLOGIA, ECOLOGIA E MORFOLOGIA

Plecoptera são insetos hemimetábolos, ou seja, com ciclo composto por três estágios principais: ovo, ninfa e adulto (Figura 1). Estes insetos ocorrem principalmente em rios e riachos limpos e bem preservados (DeWalt & Ower, 2019). Em geral, as ninfas vivem em cursos d'água de correnteza rápida e alta oxigenação, ocultando-se entre pedras, troncos, musgos e detritos em trechos com diferentes fluxos. Algumas espécies também podem ser encontradas em ambientes lênticos, como lagoas e lagos. Em certos grupos, as ninfas apresentam hábito terrestre, vivendo em microhabitats úmidos sob pedras (McLellan, 1977) ou na vegetação alpina (McLellan, 1993). Os adultos geralmente são alados e terrestres e permanecem próximos às margens dos ambientes aquáticos devido à capacidade de voo limitada, realizando deslocamentos curtos. A fase adulta é breve, durando de dias a semanas (Stewart, 2009). O tempo de desenvolvimento das ninfas depende de fatores ambientais e varia entre espécies, de cerca de três meses a vários anos (Romero, 2001), com número de instares entre 12 e 36 (Pennak, 1978). A emergência é sazonal e sincronizada em climas temperados, mas quase contínua em regiões tropicais, concentrando o pico na estação quente e chuvosa (McCulloch & Waters, 2018; Bispo *et al.*, 2002).



Figura 1. Representação ilustrativa do desenvolvimento hemimetábolo de Plecoptera, mostrando as fases do ciclo de vida: ovo, ninfa em estágio inicial, ninfa em estágio avançado e adulto. Modificado de Duarte & Calor (2017).

Durante os estágios iniciais, as ninfas alimentam-se principalmente de partículas finas de material orgânico, mas, à medida que se desenvolvem, podem adotar hábitos variados, se tornando predadoras, raspadoras ou fragmentadoras, ocupando diferentes nichos ecológicos (Stark *et al.*, 2009). Alterações ontogenéticas na dieta são comuns, além disso, há espécies que tendem ao onivorismo (Tierno de Figueroa & López-Rodríguez, 2019a). Por outro lado, em alguns grupos, os adultos não se alimentam, ingerindo apenas água, enquanto em outros consomem pólen, líquens, fungos, cianobactérias ou matéria animal; a alimentação na fase adulta tende a ser menos relevante em espécies maiores (Hynes, 1976; Tierno de Figueroa & López-Rodríguez, 2019).

Em relação à morfologia (Figura 2), em geral, os plecópteros possuem corpo achatado dorsoventralmente, dois cercos abdominais e comprimento variando de 4 a 60 mm (Zwick, 1980; Froehlich, 2012). A cabeça é prognata, com olhos compostos, dois ou três ocelos e antenas longas, filiformes e multissegmentadas; as pernas possuem tarsos trímeros, e o abdômen apresenta 11 segmentos, sendo 10 visíveis; o 11º porta cercos longos, paraproctos e, às vezes, epiprocto (Stark *et al.*, 2009; Hynes, 1976). As ninfas respiram por brânquias filamentosas no tórax, na extremidade do abdômen, na base do abdômen e/ou pelo tegumento.

A morfologia das brânquias varia entre famílias e gêneros, possuindo um importante valor taxonômico (Stewart & Stark, 2002). Os adultos possuem dois pares de asas membranosas que se dobram sobre o abdômen. As asas anteriores são longas e estreitas, as posteriores mais curtas e largas, com lobo anal desenvolvido. A dobra em leque das asas posteriores inspirou a etimologia da ordem (*pleco* = dobrar, entrelaçar; *pteron* = asa). A venação distingue-se pelo arculus e pela fusão basal das nervuras RP e M; em algumas espécies, as asas podem estar reduzidas ou ausentes (Froehlich, 2012; Béthoux, 2005; Illies, 1963; McLellan, 2001; McCulloch *et al.*, 2019).

A placa subgenital origina-se do nono esternito nos machos e oitavo nas fêmeas. Em certos grupos, os machos apresentam o martelo, uma estrutura cônica e esclerosada essencial na comunicação com as fêmeas. Essa estrutura é utilizada na produção de sinais acústicos por batidas, atrito, tremulação ou combinações desses métodos, em um comportamento denominado “*drumming*” (Stewart, 2001; Sandberg & Stewart, 2006; Tierno de Figueroa *et al.*, 2019b). Esses sinais são reconhecidos por fêmeas, favorecendo o encontro entre os sexos e a cópula (Tierno de Figueroa *et al.*, 2019b). Nas fêmeas, o ovipositor está ausente na maioria das espécies; quando presente, deriva dos esternos VIII e IX, ou apenas do VIII (Zwick, 1980). A oviposição geralmente ocorre durante o voo sobre a água, com os ovos acumulados na extremidade abdominal formando massas que afundam e aderem ao substrato (Hynes, 1976; Zwick, 2000). Em algumas espécies, os ovos entram em quiescência ou diapausa para evitar condições ambientais desfavoráveis (Hynes, 1976). A duração da incubação e a taxa de eclosão dependem da temperatura (Brittain, 1990).

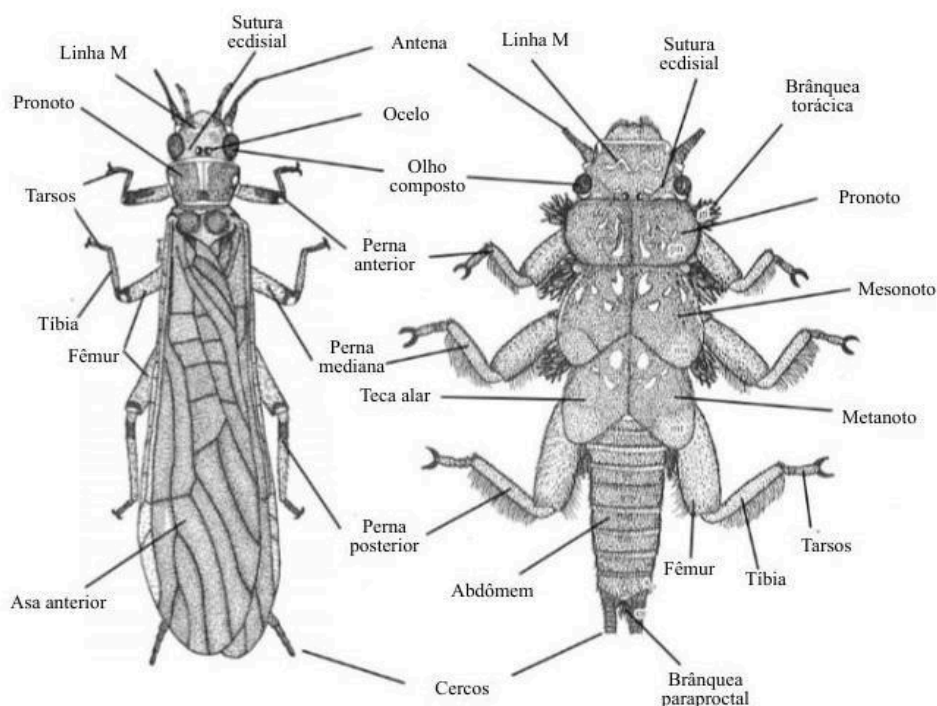


Figura 2. Morfologia do adulto e ninfa de Plecoptera. Modificado de Stark *et al.* (2009).

2.2 CLASSIFICAÇÃO E DIVERSIDADE

Na classe Insecta, o clado Pterygota inclui os insetos alados ou descendentes de formas aladas. Entre eles, Neoptera se destaca pelos escleritos basais, que permitem dobrar as asas sobre o corpo (Grimaldi & Engel, 2005; Beutel *et al.*, 2013). Dentro de Neoptera, a superordem Polyneoptera reúne ordens com asas posteriores amplas, como leques (Gullan & Cranston, 2010). Entre os Polyneoptera, a única ordem aquática é Plecoptera, a qual diverge como linhagem independente, após a divergência do clado Zoraptera + Dermaptera (Wipfler *et al.*, 2019).

Atualmente, são conhecidas cerca de 4.200 espécies de Plecoptera, alocadas em 17 famílias e mais de 300 gêneros (DeWalt *et al.*, 2025; Eichert *et al.*, 2025). A ordem está presente em todos os continentes, com exceção do Antártico (Zwick 2000). A origem provável da ordem Plecoptera remonta ao Carbonífero Superior, cerca de 300 milhões de anos atrás (Béthoux *et al.*, 2011). Os ancestrais mais antigos conhecidos do grupo datam de aproximadamente 265 milhões de anos, indicando que esses insetos provavelmente habitavam o supercontinente Pangeia (Letsch *et al.*, 2021). Segundo Letsch *et al.* (2021), a diversificação

dos dois grandes clados de Plecoptera (Arctoperlaria e Antarctoperlaria) ocorreu entre 265 e 256 milhões de anos atrás, na transição entre o Permiano e o Triássico. Essa estimativa é muito mais antiga do que os dados anteriores, que indicavam essa divergência ocorrendo no Jurássico Inferior, por volta de 180 milhões de anos atrás (McCulloch *et al.*, 2016; Ding *et al.*, 2019). As datações distintas obtidas em Letsch *et al.* (2021) e em outros trabalhos (McCulloch *et al.*, 2016; Ding *et al.*, 2019) implicam em diferentes cenários biogeográficos. Portanto, esta questão ainda precisa ser melhor compreendida.

Desde Zwick, (2000), a ordem tem sido classificada em duas subordens, Arctoperlaria e Antarctoperlaria (Figura 3), as quais têm sido corroboradas por filogenias morfológicas e moleculares (Zwick, 2000; McCulloch *et al.*, 2016; Ding *et al.*, 2019; Letsch *et al.*, 2021). O clado Antarctoperlaria é composto por cerca de 400 espécies, distribuídas em duas superfamílias: Eusthenioidea, que inclui as famílias Diamphipnoidae e Eustheniidae, e Gripopterygioidea, que agrupa as famílias Austroperlidae e Gripopterygidae (DeWalt *et al.*, 2025). Esse grupo é exclusivo do hemisfério sul, com ocorrência restrita à América do Sul e à região da Australásia, incluindo a Nova Zelândia (DeWalt & Ower, 2019). Já o clado Arctoperlaria apresenta uma diversidade significativamente maior, com cerca de 3.800 espécies descritas (DeWalt *et al.*, 2025). O clado é subdividido em duas infraordens: Euholognatha e Systellognatha (Zwick, 2000). A infraordem Euholognatha abrange as famílias: Capniidae, Notonemouridae, Taeniopterygidae, Nemouridae, Scopuridae e Leuctridae. Já a infraordem Systellognatha inclui as famílias: Chloroperlidae, Peltoperlidae, Perlodidae, Styloperlidae, Pteronarcyidae, Perlidae e Kathroperlidae. Essas famílias ocorrem principalmente no hemisfério norte (DeWalt & Ower, 2019), com exceção de Perlidae (família mais diversa com mais de 1100 espécies conhecidas) e Notonemouridae, que foram as únicas capazes de se estabelecer no hemisfério sul, provavelmente por meio de duas invasões independentes (Illies, 1965; Zwick, 2000; McCulloch *et al.*, 2016).

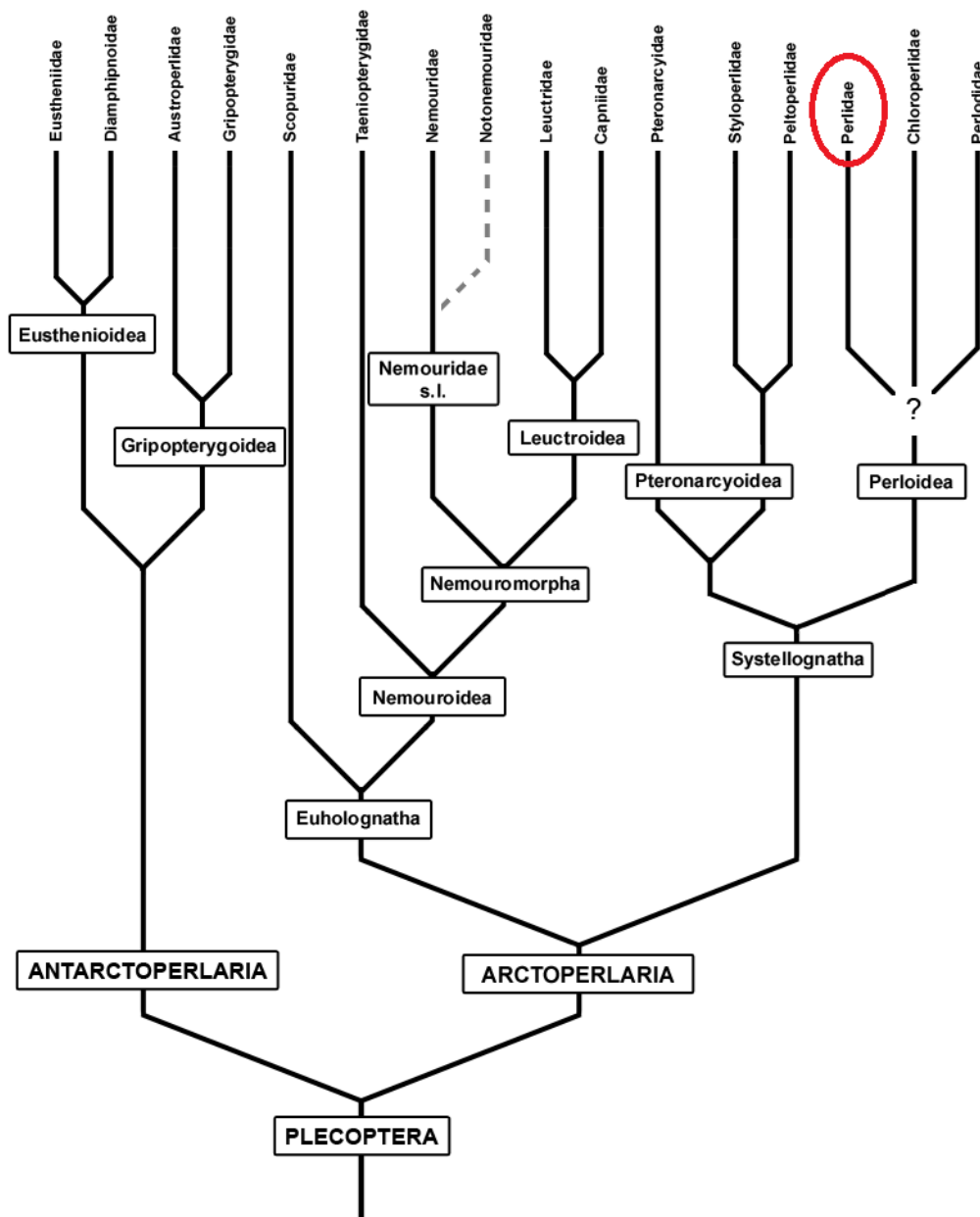


Figura 3. Filogenia de Plecoptera, evidenciando a família Perlidae. Modificado de Zwick (2000).

2.3 DIVERSIDADE BRASILEIRA E DESAFIOS TAXONÔMICOS

No Brasil a ordem Plecoptera possui cerca de 210 espécies descritas, distribuídas em duas famílias: Gripopterygidae e Perlidae (Almeida *et al.*, 2025). Ambas possuem quatro gêneros cada. A família Perlidae possui 145 espécies descritas no país, sendo *Anacroneuria* Klapálek, 1909, o gênero mais diversificado, com 95 espécies e distribuição neotropical; seguido por *Kempnyia* Klapálek, 1914, com 36 espécies, que ocorre do Sul e Sudeste até a

região central do Brasil, sendo o único gênero endêmico do país; *Macrogynoplax* Enderlein, 1909, com 9 espécies, com ocorrência na Floresta Amazônica e uma espécie na Mata Atlântica; e *Enderleina* Jewett, 1960, com 5 espécies, registrada apenas na Amazônia, exceto uma espécie em área de transição Cerrado–Amazônia (Pessacq *et al.*, 2019; Almeida *et al.*, 2023; Almeida, Bispo & Duarte, 2025).

Dentre essas espécies, os estágios de vida registrados incluem aproximadamente 80% de machos descritos formalmente, 70% de fêmeas descritas e apenas 20% de ninfas descritas (Duarte & Lecci, 2023). Esses dados evidenciam que, apesar do entendimento sobre a família Perlidae no Brasil ter melhorado consideravelmente nos últimos anos, o conhecimento sobre as ninfas de Perlidae permanece em fase inicial (Almeida *et al.*, 2022). Por exemplo, até 2023, tinham sido registradas, no Estado de São Paulo, 35 espécies de Perlidae, das quais 19 pertenciam ao gênero *Anacroneuria*, 15 ao gênero *Kempnyia* e uma ao gênero *Macrogynoplax*. Destas, apenas 10 espécies possuíam descrições detalhadas de suas ninfas (Froehlich, 2011; Taniguti *et al.*, 2023).

Essa lacuna de conhecimento é conhecida como déficit Haeckeliano (Faria *et al.*, 2020) e refere-se à escassez de informações sobre os semaforontes de grande parte das espécies conhecidas. Esse déficit no conhecimento das ninfas deve-se, em grande parte, à dificuldade de associá-las morfológicamente aos adultos, bem como ao fato da taxonomia desse grupo ser tradicionalmente baseada na morfologia de machos adultos. A criação das ninfas até que atinjam a fase adulta, em laboratório ou campo, poderia resolver esse problema, entretanto, em geral, o sucesso é baixo (Almeida *et al.*, 2022), dificultando o avanço na descrição desse estágio de vida. Diante desse cenário, uma abordagem integrativa entre morfologia e dados moleculares torna-se necessária para superar essa limitação.

3 TAXONOMIA INTEGRATIVA E FERRAMENTAS MOLECULARES EM PERLIDAE

Atualmente, é desejável que a taxonomia utilize múltiplas fontes de variação através de um processo integrativo. Tradicionalmente, a análise morfológica é a principal fonte de informações sobre a variação entre as espécies. No entanto, na busca por uma taxonomia mais integrativa, outros tipos de dados, entre os quais os moleculares, têm sido incorporados nesse tipo de estudo. Neste contexto, pequenas sequências do gene mitocondrial

COI (citocromo C oxidase subunidade I) têm sido usadas como código de barras molecular (Hebert *et al.*, 2003a, 2003b). Este método molecular tem se mostrado eficiente para identificar e delimitar espécies e também para associar diferentes estágios de vida (Miller *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2008). O uso do COI contribui para compreender a variabilidade intraespecífica (Heilveil & Berlocher, 2006; Fochetti *et al.*, 2009; Almeida & Bispo, 2020) e, junto com a morfologia, permite delimitar unidades taxonômicas com base em múltiplas fontes de variação.

O código de barras molecular, como dito anteriormente, tem se mostrado um método eficiente para relacionar estágios imaturos e adultos. Por exemplo, recentemente, vários estudos têm associado com sucesso adultos e ninfas de Perlidae brasileiros utilizando dados moleculares (Avelino-Capistrano *et al.*, 2014, 2016; Almeida *et al.*, 2018, 2019, 2024, 2025; Almeida & Bispo, 2020; Carvalho *et al.*, 2021; Novaes *et al.*, 2018; Rippel *et al.*, 2019). Portanto, ferramentas moleculares surgem como alternativa viável para fazer esse tipo de associação e reconhecer as ninfas, o que é de fundamental importância para se conhecer de forma mais completa a diversidade da ordem (Mynott *et al.*, 2011). Devido ao potencial e facilidade de utilização dos genes mitocondriais do complexo “Citocromo C Oxidase”, o COI foi escolhido para estudar as espécies Perlidae da Estação Biológica de Boracéia (EBB), Estado de São Paulo, sob as perspectivas do desenvolvimento de uma taxonomia integrativa (integrar dados morfológicos e moleculares) e da associação de estágios imaturos aos respectivos adultos.

A EBB, localizada na Serra do Mar, constitui um ponto-chave para estudos da fauna de Perlidae no Brasil, uma vez que quatro trabalhos taxonômicos abordaram espécies da família nessa área (Froehlich, 1984a, 1984b, 1988, 2004). Nesses estudos, foram registradas 16 espécies e, apesar das descrições morfológicas detalhadas, os limites entre espécies não foram avaliados com base em dados moleculares, o que dificulta a análise da congruência entre as abordagens. Ademais, dentre essas espécies, apenas quatro ninfas possuem descrições formais, refletindo o mesmo cenário observado em nível nacional para os semaforontes. Diante disso, a EBB configura-se como uma área ideal para ampliar o conhecimento sobre a fauna de Plecoptera, por meio da aplicação da abordagem da taxonomia integrativa.

4 ESTAÇÃO BIOLÓGICA DE BORACÉIA

A Estação Biológica de Boracéia (EBB) está localizada no município de Salesópolis, São Paulo (23°39'16"S; 45°53'26"W), a cerca de 110 km da capital (Figura 4). Com área aproximada de 96 hectares, a estação está nas imediações do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM – Núcleo Padre Dória) e é administrada pelo Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP). Toda a área da EBB encontra-se dentro de uma reserva protegida de 16.450 hectares, pertencente à Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), criada com o objetivo de preservar as bacias hidrográficas dos rios Claro e Guaratuba. O Rio Claro é um afluente do Rio Tietê, enquanto o Rio Guaratuba flui em direção ao Oceano Atlântico.

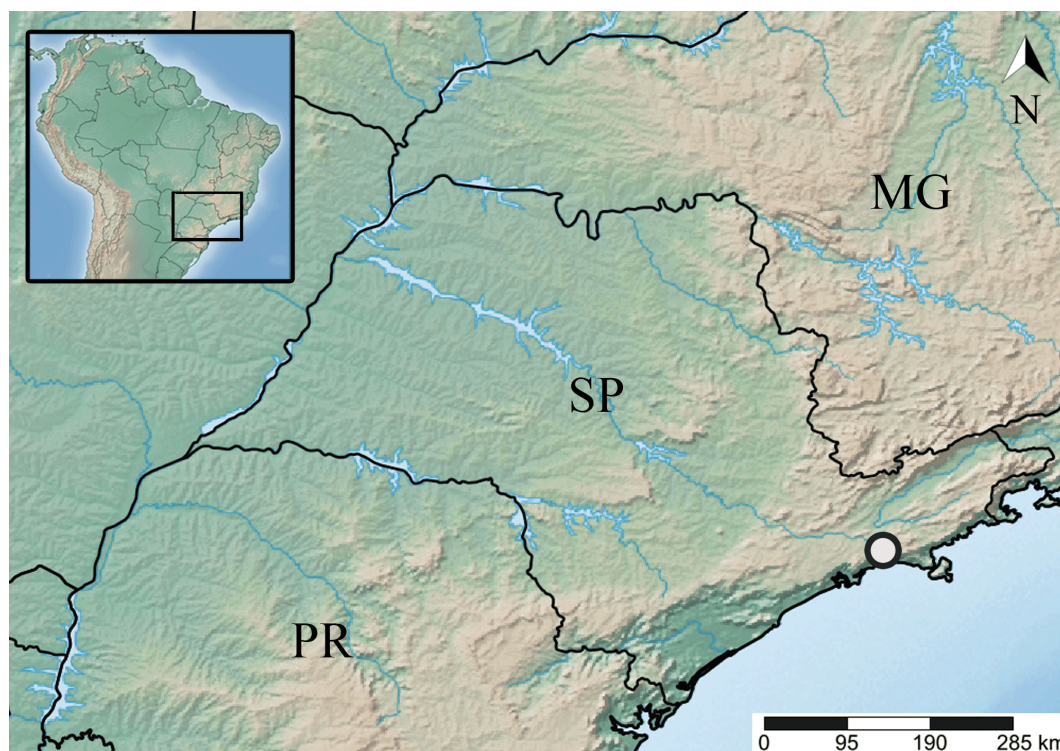


Figura 4. Mapa de localização da Estação Biológica de Boracéia (EBB), município de Salesópolis, estado de São Paulo, Brasil.

A estação está situada no início do Planalto Atlântico, em uma região elevada próxima ao divisor de águas (linha natural de separação entre as bacias que drenam para o oceano Atlântico e aquelas que seguem para o interior do continente), funcionando como limite natural entre duas bacias hidrográficas distintas. O relevo é montanhoso e acidentado, formado por escarpas, vales profundos e maciços densamente cobertos por vegetação. A

cobertura vegetal da EBB é composta, predominantemente, por Floresta Ombrófila Densa, típica da Mata Atlântica.

O ambiente é constantemente úmido, com índices de chuva que chegam a cerca de 2.000 mm por ano, influenciados pela massa tropical atlântica (correntes de ar quente e úmido vindas do oceano) e pela corrente marítima do Brasil (fluxo de água quente que percorre o litoral). A interação desses fatores aumenta a nebulosidade e mantém a floresta sempre verde, com árvores cobertas por musgos e grande presença de bromélias terrestres e epífitas. O solo, típico das áreas montanhosas da Serra do Mar, é raso e pobre em nutrientes, o que faz com que as plantas desenvolvam raízes superficiais, adaptadas às condições locais.

A riqueza de uma floresta bem preservada, como a Mata Atlântica, vai muito além de sua beleza cênica. Este bioma abriga uma impressionante variedade de espécies de fauna e flora, sendo considerado mundialmente um dos principais *hotspots* de biodiversidade, com altos índices de endemismo. Áreas protegidas, como a Estação Biológica de Boracéia, desempenham um papel essencial para a ciência, servindo como referência para comparar ecossistemas intactos com ambientes degradados. Além de conservar a diversidade biológica, esses locais fornecem informações fundamentais para o desenvolvimento de estratégias eficazes de preservação e manejo sustentável, contribuindo para a proteção do patrimônio natural e o equilíbrio ecológico (Figura 5).



Figura 5. Fotos registradas na Estação Biológica de Boracéia (EBB) durante as expedições de pesquisa, ilustrando um pouco da atmosfera local, a fitofisionomia e a infraestrutura: placa de identificação da EBB (A);

alojamento de pesquisa (B); barragem Ribeirão do Campo (C); Rio Claro (D); Rio Guaratuba (E); pesquisador Paulo Naoto Taniguti explorando córrego (23°39'23.9"S, 45°52'30.0"W) nunca antes amostrado, em meio à Mata Atlântica (F).

5 CLÁUDIO G. FROEHLICH (PLECOPTERA E EBB)

A fauna de Plecoptera da Estação Biológica de Boracéia foi estudada por Cláudio G. Froehlich de meados da década de 1960 até meados da década de 2010. Ele foi o principal pesquisador sul-americano a estudar a fauna de Plecoptera, sendo fundamental para o avanço do conhecimento sobre a ordem no Brasil. Por exemplo, ele participou da descrição de 82 espécies brasileiras, o que corresponde a 39,6% da diversidade conhecida da ordem no país. Além das contribuições taxonômicas, formou grande parte dos plecopterólogos brasileiros (Duarte & Lecci, 2023). A EBB, foi o local que o Prof. Cláudio G. Froehlich mais coletou Plecoptera, desenvolvendo inúmeros estudos. Apesar da fauna de Plecoptera da EBB aparentemente ser bem conhecida, as espécies ainda não foram caracterizadas molecularmente e grande parte das ninfas não foi descrita. Com o objetivo de preencher essas lacunas, fizemos o presente estudo.

6 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar as espécies de Perlidae (Plecoptera) da Estação Biológica de Boracéia, integrando dados morfológicos e moleculares.

Como objetivos específicos temos:

1. Identificar morfológicamente as espécies de Perlidae da EBB e obter as sequências do gene mitocondrial COI para cada uma;
2. Avaliar a delimitação das espécies e a congruência entre dados morfológicos e moleculares, integrando as duas abordagens, e descrevendo eventuais novas espécies;
3. Associar adultos e ninfas com base nas sequências obtidas e descrever as ninfas de espécies ainda não descritas;
4. Criar um banco de dados moleculares para as espécies da EBB.

REFERÊNCIAS (INTRODUÇÃO GERAL)

- ALMEIDA, L. H.; DUARTE, T.; BISPO, P. C. **Complementary studies of the Perlidae (Insecta: Plecoptera) fauna from the Paranapiacaba Mountains using DNA barcode data.** *Zootaxa*, v. 5496, n. 4, p. 500–508, 2024.
- ALMEIDA, L. H.; GASTALDO, R. B.; SALLES, F. F.; BISPO, P. D. C. **New Species and Old Semaphoronts: Updating Taxonomic Knowledge of *Kempnyia Klapálek*, 1914 (Plecoptera: Perlidae) with an Integrative Approach.** *Diversity*, v. 17, n. 6, p. 416, 2025.
- ALMEIDA, L. H. **Perlidae do Brasil: reduzindo os déficits Linneano e Wallaceano.** 200 p. Tese (Doutorado em Entomologia). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.
- ALMEIDA, L. H.; BISPO, P. C. **Perlidae (Plecoptera) from the Paranapiacaba Mountains, Atlantic Forest, Brazil: Diversity and implications of the integrative approach and teneral specimens on taxonomy.** *PloS One*, v. 15, n. 12, p. e0243393, 2020.
- ALMEIDA, L. H.; CARDOSO-LEITE, R.; DEODATO, M. F. B.; BISPO, P. D. C. **Anacroneuria iporanga (Plecoptera: Perlidae): description of the nymph and biological notes.** *Zootaxa*, v. 4550, n. 1, p. 141–145, 2019.
- ALMEIDA, L. H.; DUARTE, T.; BISPO, P. C. **Plecoptera do Brasil 2025.** Disponível em: <https://plecopterabrasil.netlify.app/>. Acesso em: 14 ago. 2025.
- ALMEIDA, L. H.; GONÇALVES, M. C.; NOVAES, M. C.; PARESQUI, R. C.; BISPO, P. D. C. **Anacroneuria flintorum Froehlich 2002 (Plecoptera: Perlidae): notes, distribution, and life stages association using molecular tools.** *Zootaxa*, v. 4370, n. 4, p. 409–420, 2018.
- AVELINO-CAPISTRANO, F.; BARBOSA, L. S.; MAEDA TAKIYA, D. **Description of a new *Kempnyia Klapálek* from Brazil (Plecoptera: Perlidae) with life stages associated using DNA barcodes.** *Zootaxa*, v. 4079, n. 3, p. 372–380, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4079.3.5>.
- AVELINO-CAPISTRANO, F.; NESSIMIAN, J. L.; SANTOS-MALLET, J. R.; MAEDA TAKIYA, D. **DNA-based identification and descriptions of immatures of *Kempnyia Klapálek* (Insecta: Plecoptera) from Macaé River Basin, Rio de Janeiro State, Brazil.** *Freshwater Science*, v. 33, n. 1, p. 325–337, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1086/675226>.
- BÉTHOUX, O. **Wing venation pattern of Plecoptera (Insecta: Neoptera).** *Illiesia*, v. 1, p. 52–81, 2005.
- BÉTHOUX, O.; CUI, Y.; KONDRATIEFF, B., et al. **At last, a Pennsylvanian stem stonefly (Plecoptera) discovered.** *BMC Evolutionary Biology*, v. 11, p. 248, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-248>.
- BEUTEL, R. G.; WIPFLER, B.; GOTTARDO, M.; et al. **Polyneoptera or “lower Neoptera”: new light on old and difficult phylogenetic problems.** *Atti Accademia Nazionale Italiana Di Entomologia*, v. 61, p. 113–142, 2013.

- BISPO, P. C.; CARDOSO-LEITE, R.; LECCHI, L. S. **Description of the larva of *Kempnyia colossica* (Navás) (Plecoptera: Perlidae) with biological notes.** *Aquatic Insects*, v. 34, n. 3–4, p. 217–221, 2013.
- BISPO, P. C.; FROELICH, C. G.; OLIVEIRA, L. G. **Stonefly (Plecoptera) fauna of streams in a mountainous area of Central Brazil: abiotic factors and nymph density.** *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 19, p. 325–334, 2002.
- BISPO, P. C.; OLIVEIRA, L. G. **Diversity and structure of Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera (Insecta) assemblages from riffles in mountain streams of Central Brazil.** *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 24, n. 2, p. 283–293, 2007.
- BISPO, P. D. C.; OLIVEIRA, L. G.; BINI, L. M.; SOUSA, K. G. D. **Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera assemblages from riffles in mountain streams of Central Brazil: environmental factors influencing the distribution and abundance of immatures.** *Brazilian Journal of Biology*, v. 66, p. 611–622, 2006.
- BREHM, G. **A new LED lamp for the collection of nocturnal Lepidoptera and a spectral comparison of light-trapping lamps.** *Nota Lepi*, v. 40, n. 1, p. 87–108, 2017.
- BRITTAIN, J. E. **Life history strategies in Ephemeroptera and Plecoptera.** In: CAMPBELL, I. C., editor. *Mayflies and stoneflies: life history and biology*. Series Entomologica, vol. 44. Springer, p. 1–12, 1990. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-94-009-2397-3_1.
- CALOR, A. R.; MARIANO, R. **UV Light Pan Traps for Collecting Aquatic Insects.** *EntomoBrasilis*, v. 5, n. 2, p. 164–166, 2012.
- CARVALHO, L. A. C.; DE ALMEIDA, L. H.; BISPO, P. D. C. **Perlidae (Plecoptera) from Bahia State, Brazil: description of the nymphs of *Anacroneuria bahiensis* Righi-Cavallaro & Lecci, notes on *Anacroneuria debilis* (Pictet), and updated list of the species.** *Zootaxa*, v. 5023, n. 3, p. 433–441, 2021.
- CHENEY, K. N.; ROY, A. H.; SMITH, R. F.; DEWALT, R. E. **Effects of stream temperature and substrate type on emergence patterns of Plecoptera and Trichoptera from Northeastern United States headwater streams.** *Environmental Entomology*, v. 48, n. 6, p. 1349–1359, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ee/nvz106>.
- DEWALT, R. E.; HOPKINS, H.; NEU-BECKER, U.; STUEBER, G. **Plecoptera Species File.** Disponível em: <https://plecoptera.speciesfile.org/>. Acesso em: 14 ago. 2025.
- DEWALT, R. E.; OWE, G. D. **Ecosystem services, global diversity, and rate of stonefly species descriptions (Insecta: Plecoptera).** *Insects*, v. 10, n. 4, p. 99, 2019.
- DIJKSTRA, K. D. B.; MONAGHAN, M. T.; PAULS, S. U. **Freshwater biodiversity and aquatic insect diversification.** *Annual Review of Entomology*, v. 59, p. 143–163, 2014.
- DING, S.; LI, W.; WANG, Y., et al. **The phylogeny and evolutionary timescale of stoneflies (Insecta: Plecoptera) inferred from mitochondrial genomes.** *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 135, p. 123–135, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.03.005>.
- DUARTE, T.; CALOR, A. R. **Plecoptera do semiárido.** In: BRAVO, F. (Org.). *Artrópodes do semiárido II: biodiversidade e conservação*. São Paulo: Métis Produção Editorial, 2017. p. 66–75.

DUARTE, T.; LECCI, L. S. **A scientometric approach to the taxonomy of Brazilian Plecoptera: an overview of data.** *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 67, spe, e20230056, 2023.

EICHERT, A.; ALMEIDA, L. H.; DU, Y.-Z.; DUARTE, T.; FOCHETTI, R.; HOTALING, S.; HUO, Q.-B.; JOUAULT, C.; KIRKALDY, A. P.; LETSCH, H.; LI, W.; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, M. J.; MACHINGURA, J.; MCCULLOCH, G.; MO, R.; MTOW, S.; PESSACQ, P.; RIPPEL, M. L. S.; RIVERA-POMAR, R.; SPROUL, J. S.; SARMENTO, F. R. P.; SROKA, P.; DE FIGUEROA, J. M. T.; WARE, J. **Stonefly systematics: past, present, and future.** *Insect Systematics and Diversity*, v. 9, n. 4, p. 7, 2025.

ENDERLEIN, G. **Klassifikation der Plekopteren sowie Diagnosen neuer Gattungen und Arten.** *Zoologischer Anzeiger*, v. 34, p. 385–419, 1909.

FOCHETTI, R.; SEZZI, E.; TIerno DE FIGUEROA, J. M.; MODICA, M. V.; OLIVERIO, M. **Molecular systematics and biogeography of the western Mediterranean stonefly genus *Tyrrhenoleuctra* (Insecta, Plecoptera).** *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, v. 47, n. 4, p. 328–336, 2009

FOCHETTI, R.; TIerno DE FIGUEROA, J. M. **Global diversity of stoneflies (Plecoptera; Insecta) in freshwater.** In: Balian, E. V.; Lévêque, C.; Segers, H.; Martens, K., eds. *Freshwater animal diversity assessment*. Springer Netherlands, p. 365–377, 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8259-7_39.

FOLMER, O.; BLACK, M.; HOEH, W.; LUTZ, R.; VRIJENHOEK, R. **DNA primers for application of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates.** *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, v. 3, p. 294–299, 1994.

FROEHLICH, C. G. **Anacroneuria (Plecoptera: Perlidae) from the Boracéia Biological Station, São Paulo State, Brazil.** *Aquatic Insects*, v. 26, n. 1, p. 53–63, 2004.

FROEHLICH, C. G. **Brazilian Plecoptera 2. Species of the serrana-group of *Kempnyia* (Plecoptera).** *Aquatic Insects*, v. 6, n. 3, p. 137–147, 1984b.

FROEHLICH, C. G. **Brazilian Plecoptera 3. *Macrogynoplax veneranda* sp. n. (Perlidae: Acroneuriinae).** *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, v. 20, n. 1-2, p. 39–41, jan. 1984a.

FROEHLICH, C. G. **Brazilian Plecoptera 5. Old and new species of *Kempnyia* (Perlidae).** *Aquatic Insects*, v. 10, n. 3, p. 153–170, 1988.

FROEHLICH, C. G. **Checklist dos Plecoptera (Insecta) do Estado de São Paulo, Brasil.** *Biota Neotropica*, v. 11, p. 601–606, 2011.

FROEHLICH, C. G. ***Guaranyperla*, a new genus in the Gripopterygidae (Plecoptera).** *Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera*, p. 377–383, 2001.

FROEHLICH, C. G. **Plecoptera.** In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CESARI, S. A.; CONSTANTINO, R., editors. *Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia*. Editora Holos, 810 pp., 2012.

FROEHLICH, C. G. **Studies on Brazilian Plecoptera 1. Some Gripopterygidae from the Biological Station at Paranapiacaba, State of São Paulo.** *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, v. 6, p. 17–39, 1969. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/01650526909360412>

- GASTALDO, R. B.; ALMEIDA, L. H.; SALLES, F. F. **On Anacroneuriini (Plecoptera: Perlidae) morphology: Standardizing vocabulary and a morphological atlas.** *Arthropod Structure and Development*, v. 86, p. 101427, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.asd.2025.101427>
- GRIMALDI, D.; ENGEL, M. S. **Evolution of the insects.** Cambridge University Press, 2005.
- GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **The Insects: An Outline of Entomology.** 4th ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010.
- HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; DEWAARD, J. R. **Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species.** *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 270, n. 1, p. 96–99, 2003b.
- HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; DEWAARD, J. R. **Barcoding identifications through DNA barcodes.** *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 270, p. 313–321, 2003a.
- HEILVEIL, J. S.; BERLOCHER, S. H. **Phylogeography of postglacial range expansion in *Nigronia serricornis* Say (Megalopectera: Corydalidae).** *Molecular Ecology*, v. 15, n. 6, p. 1627–1641, 2006.
- HYNES, H. B. N. **Biology of Plecoptera.** *Annual Review of Entomology*, v. 21, p. 135–153, 1976.
- ILLIES, J. **Phylogeny and zoogeography of the Plecoptera.** *Annual Review of Entomology*, v. 10, p. 117–140, 1965. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.10.010165.001001>
- ILLIES, J. **Revision der sudamerikanischen Gripopterygidae (Plecoptera).** *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, v. 36, p. 145–248, 1963. Disponível em: <https://doi.org/10.5169/seals-401456>.
- JEWETT, S. G. JR. **A stonefly aquatic in the adult stage.** *Science*, v. 139, p. 484–485, 1963. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.139.3554.484>.
- JEWETT, S. G. JR. **Notes and descriptions concerning Brazilian stoneflies (Plecoptera).** *Arquivos do Museu Nacional*, v. 50, p. 167–184, 1960
- KLAPÁLEK, F. **Analytická tabulka fam. Perlidae a její dvou subfam. Perlinae a Acroneurinae (Plecoptera).** *Časopis České Společnosti Entomologické*, v. 11, p. 53–69, 1914
- KLAPÁLEK, F. **Vorläufiger Bericht über exotische Plecoptera.** *Wiener Entomologische Zeitung*, v. 28, p. 215–232, 1909.
- KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. **MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets.** *Molecular Biology and Evolution*, v. 33, p. 1870–1874, 2016.
- LANCASTER, J.; DOWNES, B. J. **Aquatic Entomology.** Oxford: Oxford University Press, 2013. 296 p.
- LANFEAR, R.; FRANDSEN, P. B.; WRIGHT, A. M.; SENFELD, T.; CALCOTT, B. **Partitionfinder 2: New methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses.** *Molecular Biology and Evolution*, v. 34, p. 772–773, 2017.
- LETSCH, H.; SIMON, S.; FRANDSEN, P. B., et al. **Combining molecular datasets with strongly heterogeneous taxon coverage enlightens the peculiar biogeographic history of stoneflies**

(Insecta: Plecoptera). *Systematic Entomology*, v. 46, p. 952–967, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/syen.12505>.

MCCULLOCH, G. A.; FOSTER, B. J.; INGRAM, T., et al. **Insect wing loss is tightly linked to the treeline: evidence from a diverse stonefly assemblage.** *Ecography*, v. 42, p. 811–813, 2019a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ecog.04140>.

MCCULLOCH, G. A.; WALLIS, G. P.; WATERS, J. M. **A time-calibrated phylogeny of southern hemisphere stoneflies: Testing for Gondwanan origins.** *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 96, p. 150–160, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.10.028>.

MCCULLOCH, G. A.; WATERS, J. M. **Testing for seasonality in alpine streams: How does altitude affect freshwater insect life cycles?** *Freshwater Biology*, v. 63, p. 483–491, 2018.

MCINTYRE, S. R.; LINEWEAVER, C. H.; GROVES, C. P., et al. **Global biogeography since Pangaea.** *Proceedings of the Royal Society*, v. 284, p. 20170716, 2017.

MCLELLAN, I. D. **A revision of South American Austroperlidae (Plecoptera).** *Aquatic Insects*, v. 23, p. 233–251, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1076/aqin.23.3.233.4891>.

MCLELLAN, I. D. **Antarctoperlinae (Insecta: Plecoptera).** *Fauna of New Zealand*, v. 27, p. 1–70, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.7931/J2/FNZ.27>.

MCLELLAN, I. D. **Austroperla cyrene Newman (Plecoptera: Austroperlidae).** *Journal of the Royal Society of New Zealand*, v. 27, p. 271–278, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03014223.1997.9517538>.

MCLELLAN, I. D. **New alpine and southern Plecoptera from New Zealand, and a new classification of the Gripopterygidae.** *New Zealand Journal of Zoology*, v. 4, p. 119–147, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03014223.1977.9517945>.

MILLER, K. B.; ALARIE, Y.; WOLFE, G. W.; WHITING, M. F. **Association of insect life stages using DNA sequences: the larvae of *Philodytes umbrinus* (Motschulsky) (Coleoptera: Dytiscidae).** *Zootaxa*, v. 3361, p. 56–62, 2005.

MYNOTT, J. H.; WEBB, J. M.; SUTER, P. J. **Adult and larval associations of the alpine stonefly genus *Riekoperla* McLellan (Plecoptera: Gripopterygidae) using mitochondrial DNA.** *Invertebrate Systematics*, v. 25, n. 1, p. 11–21, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1071/is10025>.

NOVAES, M. C.; VILELA, D. S.; LOPEZ, V. M.; FERREIRA, R. G. N. **Certain species of Plecoptera from the headwater springs of National Integration River (São Francisco), Brazil.** *Zootaxa*, v. 4429, n. 1, p. 195–200, 2018.

PENNAK, R. W. **Freshwater Invertebrates of the United States.** 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 803 p., 1978.

PESSACQ, P.; RIPPEL, M. L. S.; RIVERA-POMAR, R.; SPROUL, J. S.; SARMENTO, F. R. P.; SROKA, P.; DE FIGUEROA, J. M. T.; WARE, J. **Stonefly systematics: past, present, and future.** *Insect Systematics and Diversity*, v. 9, n. 4, p. 7, 2025.

PESSACQ, P.; ZUÑIGA, M. D. C.; DUARTE, T. **An updated checklist of Neotropical Plecoptera.** *Zoosymposia*, v. 16, p. 182–209, 2019.

PICTET, F. J. **Historie Naturelle Générale et Particulière des Insectes Névroptères. Famille des Perlides.** Geneva: Chez J. Kessmann et Ab. Cherbuliz, 1841. p. 423

PRICE, B.; BAKER, E. **NightLife: A cheap, robust, LED based light trap for collecting aquatic insects in remote areas.** *Biodiversity Data Journal*, v. 4, p. e7648, 2016.

PUILLANDRE, N.; LAMBERT, A.; BROUILLET, S.; ACHAZ, G. **ABGD: Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation.** *Molecular Ecology*, v. 21, p. 1864–1877, 2012.

RIPPEL, M. L. S.; NOVAES, M. C.; KROLOW, T. K. **First records of Kempnyia and Macrogynoplax (Plecoptera: Perlidae) from Tocantins State, Brazil with description of the immatures and the adult female.** *Zootaxa*, v. 4700, n. 4, p. 471–478, 2019.

ROMERO, V. F. **Plecoptera.** In: FERNÁNDEZ, H. R.; DOMÍNGUEZ, E. *Guía para la determinación de los artrópodos bentónicos sudamericanos.* Argentina: Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Tucumán, Editorial Universitaria de Tucumán, Cap. 3, 2001.

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D. L.; DARLING, A.; HÖHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M. A.; HUELSENBECK, J. P. **MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space.** *Systematic Biology*, v. 61, p. 539–542, 2012.

SANDBERG, J. B.; STEWART, K. W. **Continued studies of vibrational communication (drumming) of North American Plecoptera.** *Illiesia*, v. 2, p. 1–14, 2006.

SOUTH, E. J.; SKINNER, R. K.; DEWALT, E. R., et al. **A new family of stoneflies (Insecta: Plecoptera), Kathroperlidae, fam. n., with a phylogenomic analysis of the Paraperlinae (Plecoptera: Chloroperlidae).** *Insect Systematics and Diversity*, v. 5, p. 1, 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/isd/ixab014>.

SOUTH, E. J.; SKINNER, R. K.; DEWALT, E. R., et al. **A new family of stoneflies (Insecta: Plecoptera), Kathroperlidae, fam. n., with a phylogenomic analysis of the Paraperlinae (Plecoptera: Chloroperlidae).** *Insect Systematics and Diversity*, v. 5, p. 1, 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/isd/ixab014>

SOUTH, E. J.; SKINNER, R. K.; DEWALT, E. R., et al. **Phylogenomics of the North American Plecoptera.** *Systematic Entomology*, v. 46, p. 287–305, 2021b. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/syen.12462>.

STARK, B. P.; FROEHLICH, C. G.; ZÚÑIGA, M. C. **South American Stoneflies (Plecoptera).** Volume 5. *Aquatic Biodiversity in Latin America.* Pensoft, Sofia-Moscow, p. 154, 2009.

STEWART, K. W. **Plecoptera: stoneflies.** In: RESH, V. H.; CARDÉ, R. T., editors. *Encyclopedia of Insects*, 2nd ed. Academic Press, p. 810–813, 2009.

STEWART, K. W. **Vibrational communication (Drumming) and mate-searching behavior of stoneflies (Plecoptera); evolutionary considerations.** In: DOMÍNGUEZ, E., editor. *Trends in research in Ephemeroptera and Plecoptera.* Springer US, p. 217–225, 2001. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1257-8_25.

STEWART, K. W.; HARPER, P. P. **Plecoptera.** In: MERRITT, R. W.; CUMMINS, K. W., editors. *An introduction to the aquatic insects of North America.* Kendall/Hunt Publishing Co., Dubuque, IA, p. 217–266, 1996.

STORK, N. E. **How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth?** *Annual Review of Entomology*, v. 63, p. 31–45, 2018.

TANIGUTI, P. N.; SARMENTO, F. R. P.; LOPEZ, V. M.; KOBAL, R. O. A. C.; DE ALMEIDA, L. H. **Perlidae (Plecoptera) do Estado de São Paulo, Brasil: lista de espécies, problemas taxonômicos e amostragem.** *Acta Biologica Brasiliensia*, v. 6, n. 2, p. 5–14, 2023.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. **CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice.** *Nucleic Acids Research*, v. 22, n. 22, p. 4673–4680, 1994.

TIERNO DE FIGUEROA, J. M.; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, M. J. **Trophic ecology of Plecoptera (Insecta): a review.** *European Zoological Journal*, v. 86, p. 79–102, 2019a.

TIERNO DE FIGUEROA, J. M.; LUZÓN-ORTEGA, J. M.; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, M. J. **Drumming for Love: Mating Behavior in Stoneflies.** In: DEL-CLARO, K.; GUILLERMO, R., editors. *Aquatic insects: behavior and ecology*. Springer International Publishing, p. 117–137, 2019b. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-16327-3_6.

WIPFLER, B.; LETSCH, H.; FRANDSEN, P. B.; KAPLI, P.; MAYER, C.; BARTEL, D.; BUCKLEY, T. R.; DONATH, A.; EDGERLY-ROOKS, J. S.; FUJITA, M.; LIU, S.; MACHIDA, R.; MASHIMO, Y.; MISOF, B.; NIEHUIS, O.; PETERS, R. S.; PETERSEN, M.; PODSIADLOWSKI, L.; SCHÜTTE, K.; SHIMIZU, S.; UCHIFUNE, T.; WILBRANDT, J.; YAN, E.; ZHOU, X.; SIMON, S. **Evolutionary history of Polyneoptera and its implications for our understanding of early winged insects.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, v. 116, n. 8, p. 3024–3029, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1817794116>.

ZHANG, H. C.; ZHANG, D.; QIAO, G. X. **Association of aphid life stages using DNA sequences: A case study of tribe Eriosomatini (Hemiptera: Aphididae: Pemphiginae).** *Insect Science*, v. 15, n. 6, p. 545–551, 2008.

ZHANG, J.; KAPLI, P.; PAVLIDIS, P.; STAMATAKIS, A. **A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements.** *Bioinformatics*, v. 29, p. 2869–2876, 2013.

ZHOU, X.; KJER, K. M.; MORSE, J. C. **Associating larvae and adults of Chinese Hydropsychidae caddisflies (Insecta: Trichoptera) using DNA sequences.** *Journal of the North American Benthological Society*, v. 26, n. 4, p. 719–742, 2007.

ZWICK, P. **Phylogenetic System and Zoogeography of the Plecoptera.** *Annual Review of Entomology*, v. 45, p. 709–746, 2000.

ZWICK, P. **Plecoptera (Steinfliegen).** *Handbuch der Zoologie*, v. 4, n. 2, p. 2–7. Walter de Gruyter, Berlin, 1980.

CAPÍTULO 1. A FAUNA DE PERLIDAE (INSECTA: PLECOPTERA) DA ESTAÇÃO BIOLÓGICA DE BORACÉIA COM DADOS DE CÓDIGO DE BARRAS DE DNA: ESPÉCIES NOVAS, NOVOS REGISTROS E ASSOCIAÇÃO DE NINFAS.

Paulo Naoto Taniguti^{1,2}, Lucas Henrique de Almeida¹ & Pitágoras da Conceição Bispo^{1,2}

1. *Laboratório de Biologia Aquática, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Assis, São Paulo, Brasil.*

2. *PPG em Biociências, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Assis, São Paulo, Brasil.*

ORCIDs: PNT 0000-0002-4881-5001, LHA 0000-0002-3388-4143, PCB 0000-0002-7356-8882.

RESUMO

A Estação Biológica de Boracéia (EBB), localizada em Salesópolis, Estado de São Paulo, é uma região da Mata Atlântica cuja fauna de Plecoptera é relativamente bem conhecida. No entanto, ainda persistem lacunas de conhecimento. O presente estudo teve como objetivo atualizar o conhecimento taxonômico das espécies de Perlidae da região por meio de coletas de campo e análises moleculares. Utilizamos código de barras de DNA para complementar os métodos morfológicos tradicionais, permitindo a associação e descrição das ninfas de *Anacroneuria*: *A. boraceiensis*, *A. petersi*, *A. paulina*, *A. polita*, *A. subcostalis*, *A. uyara*, *A. vanini*, *A. sp. nov. 01* e *A. sp. nov. 02*, além de duas morfoespécies sem adultos conhecidos: *A. morfoespécie 01* e *A. morfoespécie 02*. No gênero *Kempnyia*, registramos duas ninfas inéditas: *K. vanini* e *K. morfoespécie 01* (sem adulto associado), totalizando 13 ninfas inéditas para a EBB. Além disso, descrevemos duas espécies novas de *Anacroneuria* (*A. sp. nov. 01* e *A. sp. nov. 02*) e registramos duas novas ocorrências de *Kempnyia* na região (*K. obtusa* e *K. mirim*). Evidências morfológicas e moleculares indicam a existência de três linhagens distintas de *K. neotropica*. Nossos resultados ampliam o conhecimento sobre o grupo na EBB

e destacam a importância do código de barras de DNA para a associação de estágios imaturos e a delimitação de espécies.

Palavras-chave: código de barras; biodiversidade; região neotropical; Perlidae; taxonomia

ABSTRACT

The Estação Biológica de Boracéia (EBB), located in Salesópolis, State of São Paulo, is an Atlantic Forest area whose Plecoptera fauna is relatively well known. However, knowledge gaps still remain. In this study, our objective was to update the taxonomic knowledge of Perlidae species in the region through field collections and molecular analyses. We used DNA barcoding to complement traditional morphological methods, allowing the association and description of the nymphs of *Anacroneuria*: *A. boraceiensis*, *A. petersi*, *A. paulina*, *A. polita*, *A. subcostalis*, *A. uyara*, *A. vanini*, *A. sp. nov. 01*, and *A. sp. nov. 02*, in addition to two morphospecies without known adults: *A. morphospecies 01* and *A. morphospecies 02*. In the genus *Kempnyia*, we recorded two nymphs new to science: *K. vanini* and *K. morphospecies 01* (without associated adults), totaling 13 nymphs new to EBB. Furthermore, we described two new species of *Anacroneuria* (*A. sp. nov. 01* and *A. sp. nov. 02*) and reported two new occurrences of *Kempnyia* in the region (*K. obtusa* and *K. mirim*). Morphological and molecular evidence indicate the existence of three distinct lineages of *K. neotropica*. Our results expand the knowledge of the group in EBB and highlight the importance of DNA barcoding for associating immature stages and delimiting species.

Keywords: código de barras; biodiversity; Neotropical region; Perlidae; taxonomy

1 INTRODUÇÃO

Plecoptera pertence ao clado Polyneoptera dentro de Hexapoda (Misof *et al.*, 2014). A ordem reúne mais de 4.200 espécies descritas, distribuídas em 17 famílias e mais de 300 gêneros (DeWalt *et al.*, 2025), ocorrendo em todos os continentes, exceto na Antártica (Zwick, 2000). Os registros fósseis mais antigos do grupo remontam a cerca de 265 milhões de anos, indicando que seus ancestrais habitaram o supercontinente Pangeia (Letsch *et al.*, 2021).

Esses insetos são hemimetábolos, com corpo achatado dorso-ventralmente, cabeça prognata, olhos compostos, dois ou três ocelos, antenas filiformes, dois cercos, pernas com tarsos tri-segmentados e abdômen com 11 segmentos, dos quais 10 são visíveis (Hynes, 1976; Stark *et al.*, 2009; Froehlich, 2012). Os adultos, geralmente, possuem dois pares de asas membranosas dobradas sobre o abdômen: a anterior estreita e longa e a posterior mais curta e larga, com lobo anal desenvolvido que permite a dobra em leque, o que deu origem ao nome da ordem (*pleco* = dobrar; *pteron* = asa) (Pennak, 1978; Froehlich, 2012).

As ninfas de Plecoptera vivem, geralmente, em corredeiras e remansos de rios e riachos, associadas a diferentes substratos, entre os quais pedras, troncos, musgos e folhiço. Quando jovens, as ninfas se alimentam de material particulado fino e, ao crescer, tornam-se predadoras, raspadoras ou fragmentadoras. A respiração ocorre por brânquias filamentosas torácicas ou abdominais, ou pelo tegumento (Stark *et al.*, 2009). Os adultos, por sua vez, permanecem próximos aos cursos d'água por serem voadores fracos; alguns grupos não se alimentam nesta fase, ingerindo apenas água, embora algumas espécies possam consumir algas, líquens, frutos, botões foliares e pólen (Hynes, 1976).

Apesar das diferentes filogenias propostas nos últimos anos, a ordem permanece sendo classificada em duas subordens, Arctoperlaria e Antarctoperlaria, as quais são suportadas tanto por dados morfológicos (Zwick, 2000) quanto moleculares (McCulloch *et al.*, 2016; Ding *et al.*, 2019). O clado Arctoperlaria reúne cerca de 3.800 espécies descritas (DeWalt *et al.*, 2025) e está dividida em duas infraordens: Euholognatha e Systellognatha (Zwick, 2000). A infraordem Systellognatha compreende as famílias Chloroperlidae, Peltoperlidae, Perlodidae, Styloperlidae, Pteronarcyidae, Perlidae e Kathroperlidae, distribuídas principalmente no hemisfério norte (DeWalt & Ower, 2019). Entre elas, apenas Perlidae (Systellognatha) e Notonemouridae (Euholognatha) se estabeleceram no hemisfério

sul, provavelmente por meio de duas invasões independentes (Illies, 1965; Zwick, 2000; McCulloch *et al.*, 2016).

Perlidae, a família mais rica em números de espécies entre os plecópteros, originou-se durante o Jurássico na Laurásia, há cerca de 165 milhões de anos (DeWalt & Ower, 2019; Letsch *et al.*, 2021). Atualmente, possui mais de 1.100 espécies descritas, representando cerca de 30% do total das espécies da ordem (DeWalt *et al.*, 2025), e está distribuída por todo o Hemisfério Norte, praticamente toda a região Neotropical e algumas áreas da África (DeWalt & Ower, 2019; Pessacq *et al.*, 2019; Letsch *et al.*, 2021)

No Brasil, a família ocorre em todo o território e é representada por quatro gêneros: *Anacroneuria* Klapálek, 1909; *Enderleina* Jewett, 1960; *Kempnyia* Klapálek, 1914; e *Macrogynoplax* Enderlein, 1909 (Froehlich, 2012), totalizando 145 espécies descritas. *Anacroneuria* é o gênero mais diverso com 95 espécies brasileiras, seguido por *Kempnyia* (36), *Macrogynoplax* (9) e *Enderleina* (5) (Almeida, Bispo & Duarte, 2025). Entre essas espécies, cerca de 80% têm machos descritos, 70% fêmeas, e apenas 20% ninfas (Duarte & Lecci, 2023). No Estado de São Paulo, foram registradas 35 espécies de Perlidae: 19 de *Anacroneuria*, 15 de *Kempnyia* e uma de *Macrogynoplax*. Dentre elas, apenas 10 espécies possuem descrições detalhadas de suas ninfas (Froehlich, 2011a; Taniguti *et al.*, 2023).

Dentro desse contexto, a fauna de Plecoptera da Estação Biológica de Boracéia (EBB) encontra-se relativamente bem documentada, com coletas realizadas desde a década de 1960 e mantidas periodicamente nas décadas seguintes por diversos pesquisadores. Entre eles, o professor Cláudio Gilberto Froehlich, o qual publicou diversos artigos sobre a ordem, incluindo quatro trabalhos abordando espécies de Perlidae da EBB (1984a, 1984b, 1988, 2004). Como resultado desses esforços, 16 espécies de Perlidae foram registradas na EBB, distribuídas em três gêneros: *Anacroneuria* (7), *Kempnyia* (8) e *Macrogynoplax* (1). No entanto, apenas cinco ninfas dessas espécies possuem descrição formal (Froehlich, 1984a; Bispo & Froehlich, 2008; Avelino-Capistrano *et al.*, 2011a; Bispo *et al.*, 2013, Almeida *et al.*, 2025a), evidenciando que, como no cenário nacional, existem lacunas importantes no conhecimento sobre a diversidade da ordem na EBB.

Portanto, apesar da fauna de Plecoptera da EBB aparentemente ser bem conhecida, as espécies ainda não foram caracterizadas molecularmente e grande parte das ninfas não foram descritas. É importante salientar que sequências do gene COI para espécies de Perlidae têm se mostrado eficientes para auxiliar na delimitação de espécies e na associação entre adultos e ninfas (Avelino-Capistrano *et al.*, 2014, 2016; Almeida *et al.*, 2018,

2019, 2024a, 2025a; Almeida & Bispo, 2020; Novaes *et al.*, 2018; Rippel *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2021). Diante disso, no presente estudo, a fauna de Perlidae da EBB foi revisitada e novas coletas foram feitas com objetivo de caracterizar as espécies tanto com base na morfologia quanto com base em dados moleculares, melhorar a delimitação entre elas através de uma abordagem integrativa, descrever eventuais espécies novas, identificar novas ocorrências geográficas e associar adultos e ninfas. Finalmente, o presente trabalho teve também o objetivo de criar um banco de dados moleculares para as espécies da EBB.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO

Os espécimes foram coletados na Estação Biológica de Boracéia (EBB) (23°39'16"S e 45°53'26"W), localizada no município de Salesópolis, a aproximadamente 110 km da cidade de São Paulo. A área da EBB compreende cerca de 96 ha, com altitudes entre 800 e 1.100 m, coberta por Floresta Ombrófila Densa. A estação é administrada pelo Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP) e integra o contínuo da Serra do Mar. Está inserida em uma reserva de 16.450 ha pertencente à Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), estabelecida com o objetivo de proteger as bacias hidrográficas dos rios Claro e Guaratuba. A EBB está localizada nas imediações do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM – Núcleo Padre Dória).

2.2 CAMPANHAS DE COLETA E PONTOS AMOSTRAIS

Foram realizadas seis campanhas de coleta: dezembro de 2022, janeiro e novembro de 2023, e janeiro, março e abril de 2024. As coletas se concentraram principalmente em seis pontos: Córrego Venerando (23°39'10"S, 45°53'24"W), Ribeirão Coruja (23°40'05"S, 45°53'57"W), Rio Guaratuba (23°40'05"S, 45°53'48"W), Rio Claro (23°38'10"S, 45°49'54"W), um córrego sem nome em trilha para torres de transmissão de energia elétrica (23°39'23.9"S, 45°52'30.0"W; 23°39'23.9"S, 45°52'28.4"W) e rio onde esse córrego desemboca, próximo à confluência (23°39'48.3"S, 45°52'45.9"W).

2.3 LICENÇAS

Os espécimes foram coletados em conformidade com os procedimentos legais vigentes no Brasil, com licenças do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO – 55428-16, 65213-11, 92744-1 e 70090-5) e do Instituto de Pesquisas Ambientais do Estado de São Paulo (IPA/SIMA – SMA 15054/2022 e 5579/2023). Os métodos de coleta seguiram as instruções normativas do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio).

2.4 COLETA E PRESERVAÇÃO

A amostragem dos adultos foi realizada utilizando armadilhas do tipo Malaise, montadas sobre ou próximas aos cursos d'água, armadilhas luminosas (tipo Pennsylvania, bandejas e lençóis) posicionadas nas proximidades dos cursos d'água, além de coleta ativa. As ninfas foram coletadas com o uso de rede tipo D em diferentes períodos (manhã, tarde e noite). A amostragem incluiu uma ampla variedade de micro-habitats, abrangendo águas rápidas e lentas, bordas e centro dos cursos d'água, áreas ensolaradas e sombreadas, acúmulos de folhice em trechos rasos e profundos (em alguns pontos superiores a 1 m), bem como diferentes tipos de substrato, como areia, cascalho fino e grosso, sob rochas de grande porte, musgos e raízes de plantas. Os espécimes foram preservados em etanol absoluto a -25 °C, visando à conservação do DNA. O material estudado encontra-se depositado na Coleção de Insetos Aquáticos “Prof. Dr. Cláudio Gilberto Froehlich” (CIACGF do Laboratório de Biologia Aquática, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Assis, SP, Brasil).

2.5 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

Os machos foram dissecados a partir da incisão entre os segmentos abdominais VII e VIII e submetidos à clarificação em solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10%. Após o clareamento, a reação foi neutralizada em ácido acético (10%). As estruturas genitais (armaduras penianas) foram extraídas dos abdômes clarificados para análise morfológica detalhada. As comparações das estruturas genitais com aquelas de outras espécies foram feitas com base na literatura especializada, incluindo descrições de espécies morfológicamente próximas, além de comparações com espécimes disponíveis na coleção

CIACGF. A caracterização das brânquias das ninfas baseou-se nos critérios de Shepard & Stewart (1983), enquanto a terminologia morfológica utilizada nas descrições seguiu a padronização proposta por Gastaldo *et al.* (2025). As estruturas morfológicas importantes taxonomicamente, incluindo as armaduras penianas, foram registradas fotograficamente com câmera digital MC170HD acoplada a um estereomicroscópio Leica M205A equipado com sistema de automontagem. As imagens resultantes foram tratadas posteriormente no software Adobe Photoshop 2025®.

2.6 EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO

A extração do DNA total das espécies foi realizada utilizando o kit *DNeasy® Blood and Tissue Kit* (Qiagen), seguindo as instruções do fabricante. Para extração, foram utilizadas duas pernas de cada inseto. Cada espécime recebeu um número de voucher (Tabela 1) correspondente à sua sequência genética. Para amplificação do fragmento do gene mitocondrial citocromo C oxidase subunidade I (COI) (Hebert *et al.*, 2003a, 2003b), foram empregados os primers LCO-1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e HCO-2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994) por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR). O protocolo de PCR iniciou-se com uma desnaturação a 94°C por 5 minutos, seguida de 5 ciclos de 94°C por 1 minuto, 45°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto e 30 segundos. Em seguida, foram realizados 35 ciclos com anelamento a 50°C por 1 minuto e um passo final de extensão a 72°C por 5 minutos. Os produtos amplificados foram purificados conforme as instruções do kit ExoSAP-IT™. O sequenciamento bidirecional foi realizado no Centro de Recursos Biológicos e Biologia Genômica (CREBIO/UNESP, Jaboticabal).

2.7 DADOS DE REFERÊNCIA

Para auxiliar na delimitação das espécies e na associação das ninfas da Estação Biológica de Boracéia (EBB), foram utilizadas também sequências do gene COI disponíveis no GenBank de espécies já registradas na EBB por estudos anteriores, mas que não foram coletadas neste trabalho. Essas sequências foram usadas como referência para comparar com os dados moleculares obtidos, permitindo confirmar as identificações e associar os diferentes

estágios de desenvolvimento. Os códigos dos espécimes utilizados estão na Tabela 1. Todas as sequências geradas neste estudo serão disponibilizadas no GenBank.

2.8 ANÁLISES MOLECULARES

O software MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021) foi utilizado para editar os cromatogramas e gerar as sequências-consenso. O alinhamento dessas sequências foi feito com ClustalW (Thompson *et al.*, 1994) no mesmo software. A matriz de distâncias foi calculada pelo modelo Kimura de dois parâmetros (K2P), considerando transições e transversões, 1000 replicações bootstrap, taxas uniformes e deleção por pares. Para as análises, foram utilizadas 70 sequências do gene COI, com alinhamento de 529 pares de bases (pb), correspondentes a 40 espécimes de *Anacroneuria*, 27 de *Kempnyia* e 3 de *Macrogynoplax* (Tabela 1). Além disso, uma sequência de *Griopteryx* sp. foi utilizada como grupo externo. A filogenia foi construída pelo método de máxima verossimilhança (*Maximum Likelihood, ML*) usando o software RAxML (Stamatakis, 2014), com 1000 buscas para encontrar a árvore mais provável, adotando o modelo evolutivo GTR+G e 5000 replicações de bootstrap.

2.9 DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES

Para a delimitação de espécies com base em dados moleculares, foram empregados os métodos *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD) (Puillandre *et al.*, 2012), *Assemble Species by Automatic Partitioning* (ASAP) (Puillandre *et al.*, 2021) e *Poisson Tree Processes* (PTP) (Zhang *et al.*, 2013). Todas as análises foram realizadas em servidores online (ABGD: <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/>; ASAP: <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap/>; e PTP/bPTP: <http://species.h-its.org/ptp/>). Nas análises ABGD e ASAP, foram usados os parâmetros padrão do modelo de Kimura (K80) para transições e transversões, com largura relativa do gap de 1,0 no ABGD. Já os modelos PTP foram aplicados com as configurações padrão, utilizando como base as árvores geradas pelo método de máxima verossimilhança.

Tabela 1. Códigos de voucher. Vouchers dos espécimes com sua respectiva identificação, local de coleta e códigos de acesso ao GenBank das sequências do gene COI. M = macho; F= fêmea e N = ninfa.

Espécie (Estágio de vida)	Código do voucher	Localidade	Acesso GenBank do COI
<i>Griopterix</i> sp. (F)	PPI3	BR, SP, Intervales, Cor. Mirante	—
<i>Anacroneuria uyara</i> (M)	DP1182	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Claro	—
<i>Anacroneuria uyara</i> (N)	DP901	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Claro	—
<i>Anacroneuria uyara</i> (F)	DP1220	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Claro	—
<i>Anacroneuria uyara</i> (M)	DP1183	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Claro	—
<i>Anacroneuria</i> sp. nov. 01 (N)	DP1068	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'23,9"S 45°52'28,4"W	—
<i>Anacroneuria</i> sp. nov. 01 (M)	DP1067	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'23,9"S 45°52'28,4"W	—
<i>Anacroneuria</i> sp. nov. 01 (M)	PL00205A	BR, MG, Araponga, PESB, 20°43'52"S 42°27'50"W	—
<i>Anacroneuria</i> sp. nov. 01 (M)	PL00051B	BR, MG, Araponga, PESB, 20°43'52"S 42°27'50"W	—
<i>Anacroneuria petersi</i> (N)	DP1042	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Anacroneuria petersi</i> (M)	DP777	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Anacroneuria petersi</i> (N)	DP905	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Anacroneuria petersi</i> (N)	DP840	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Anacroneuria polita</i> (M)	LM12	BR, SP, São Miguel Arcanjo, PECB, Ribeirão de Pedras	MW293828.1
<i>Anacroneuria polita</i> (N)	DP841	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Anacroneuria polita</i> (M)	DP1241	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Anacroneuria polita</i> (N)	DP847	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Anacroneuria vanini</i> (N)	DP903	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Anacroneuria vanini</i> (F)	DP924	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'23,9"S 45°52'30,0"W	—
<i>Anacroneuria vanini</i> (F)	DP1073	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'23,9"S 45°52'30,0"W	—
<i>Anacroneuria subcostalis</i> (F)	LM07	BR, SP, Iporanga, PEI, Roda D'agua	MW293829.1
<i>Anacroneuria subcostalis</i> (F)	LM08	BR, SP, Iporanga, PEI, Roda D'agua	MW293830.1
<i>Anacroneuria subcostalis</i> (F)	DP796	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Anacroneuria subcostalis</i> (N)	DP1262	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'48,3"S 45°52'45,9"W	—
<i>Anacroneuria subcostalis</i> (N)	DP1263	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'48,3"S 45°52'45,9"W	—
<i>Anacroneuria</i> morfoespécie 02 (N)	DP1270	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Claro	—
<i>Anacroneuria</i> morfoespécie 02 (N)	DP1271	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Claro	—

<i>Anacroneuria boraceiensis</i> (N)	DP900	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Claro	—
<i>Anacroneuria boraceiensis</i> (M)	DP785	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Anacroneuria boraceiensis</i> (N)	DP1053	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Claro	—
<i>Anacroneuria</i> morfoespécie 01 (N)	DP1119	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Anacroneuria</i> morfoespécie 01 (N)	DP1112	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Guaratuba	—
<i>Anacroneuria</i> sp. nov. 02 (M)	DP1199	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Guaratuba	—
<i>Anacroneuria</i> sp. nov. 02 (F)	DP1200	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Guaratuba	—
<i>Anacroneuria</i> sp. nov. 02 (N)	DP1111	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Guaratuba	—
<i>Anacroneuria</i> sp. nov. 02 (N)	DP1277	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Guaratuba	—
<i>Anacroneuria</i> sp. nov. 02 (N)	DP1330	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Guaratuba	—
<i>Anacroneuria paulina</i> (N)	DP1107	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Anacroneuria paulina</i> (N)	DP1275	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Guaratuba	—
<i>Anacroneuria paulina</i> (M)	DP1256	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Anacroneuria paulina</i> (F)	DP1204	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Guaratuba	—
<i>Macrogynoplax veneranda</i> (N)	DP764	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	OR496989.1
<i>Macrogynoplax veneranda</i> (F)	DP763	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	OR496988.1
<i>Macrogynoplax veneranda</i> (F)	DP795	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Kempnyia jatim</i> (M)	DP85	BR, ES, Santa Teresa, REBIO, Córrego da Estrada	PP704428.1
<i>Kempnyia colossica</i> (M)	DP707	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Kempnyia colossica</i> (M)	DP708	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Kempnyia colossica</i> (M)	DP794	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Kempnyia mirim</i> (M)	DP269	BR, MG, Poços de Caldas, Fazenda de Eucalipto	PP704430.1
<i>Kempnyia gracilentia</i> (M)	DP83	BR, ES, Santa Teresa, REBIO A R, Córrego Bragacho	PP704427.1
<i>Kempnyia</i> morfoespécie 01 (N)	DP906	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'23,9"S 45°52'28,4"W	—
<i>Kempnyia</i> morfoespécie 01 (N)	DP907	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'23,9"S 45°52'28,4"W	—
<i>Kempnyia flava</i> (F)	LM35	BR, SP, São Miguel Arcanjo, PECB, Rio Bonito	MW293846.1
<i>Kempnyia flava</i> (F)	DP925	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'26,9"S 45°52'30,0"W	—

<i>Kempnyia obtusa</i> (M)	DP704	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Kempnyia obtusa</i> (N)	DP1104	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Kempnyia vanini</i> (N)	DP908	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Claro	—
<i>Kempnyia vanini</i> (F)	DP761	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Kempnyia vanini</i> (F)	DP823	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Kempnyia vanini</i> (F)	DP685	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Kempnyia vanini</i> (M)	DP682	BR, SP, Salesópolis, EBB, Casa do Pesquisador	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 02 (M)	DP1222	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'26,9"S 45°52'30,0"W	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 02 (F)	DP1223	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'26,9"S 45°52'30,0"W	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 02 (M)	DP1339	BR, SP, Salesópolis, EBB, 23°39'26,9"S 45°52'30,0"W	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 01 (M)	DP1085	BR, SP, Salesópolis, EBB, Rio Guaratuba	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 01 (M)	DP914	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 01 (F)	DP1079	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 03 (N)	DP857	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 03 (N)	DP858	BR, SP, Salesópolis, EBB, Córrego Venerando	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 03 (M)	DP788	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—
<i>Kempnyia aff. neotropica</i> 03 (F)	DP791	BR, SP, Salesópolis, EBB, Ribeirão Coruja	—

3 RESULTADOS

3.1 ESPÉCIES

Das 16 espécies de Perlidae anteriormente registradas para a Estação Biológica de Boracéia (EBB), 13 foram novamente coletadas. Entre elas, todas as sete espécies do gênero *Anacroneuria*: *A. boraceiensis*, *A. petersi*, *A. paulina*, *A. polita*, *A. subcostalis*, *A. uyara* e *A. vanini*. Do gênero *Kempnyia*, foram encontradas 5 espécies: *K. colossica*, *K. flava*, *K. gracilentia*, *K. neotropica* e *K. vanini*. Do gênero *Macrogynoplax*, a espécie *M. veneranda*

também foi registrada. As três espécies restantes, *K. jatim*, *K. serrana* e *K. umbrina*, não foram coletadas novamente. Além disso, dois novos registros para a EBB foram obtidos: *K. obtusa* e *K. mirim*. Também foram coletadas duas espécies novas de *Anacroneuria*: *A. sp. nov. 01* e *A. sp. nov. 02*. Considerando as espécies previamente registradas, os novos registros e as espécies novas, o número total de adultos conhecidos para a EBB chegou a 20 (Tabela 2). Ressalta-se ainda que três linhagens, com diferenças morfológicas, de *K. neotropica* foram registradas.

No que diz respeito às ninfas, foram coletadas ninfas não descritas de 13 espécies, sendo 10 do gênero *Anacroneuria*: *A. boraceiensis*, *A. petersi*, *A. paulina*, *A. polita*, *A. subcostalis*, *A. uyara*, *A. vanini*, *A. sp. nov. 01* e *A. sp. nov. 02*, além de duas sem adultos conhecidos: *A. morfoespécie 01* e *A. morfoespécie 02*. Do gênero *Kempnyia*, foram registradas duas ninfas: *K. vanini* e *K. morfoespécie 01* (sem adulto associado). Sendo assim, 10 ninfas associadas e 3 morfoespécies sem adultos conhecidos até o momento (Tabela 2).

Foram obtidas sequências de COI para a maioria das espécies coletadas na EBB. Incluindo *K. gracilenta*, *K. jatim*, *K. mirim* e *K. umbrina* de outras localidades, com exceção de *K. serrana*, sendo a única sem informações moleculares.

Tabela 2. Estado do conhecimento atual da fauna de Perlidae da Estação Biológica de Boracéia.

Espécies	Descrição de adultos Autor(es), Ano	Descrição de ninfas Autor(es), Ano	Distribuição
<i>Anacroneuria sp. nov. 01</i>	Este artigo	Este artigo	BR: MG, RJ, SP.
<i>Anacroneuria sp. nov. 02</i>	Este artigo	Este artigo	BR: RJ, SP.
<i>Anacroneuria morfoespécie 01</i>	-	Este artigo	BR: SP.
<i>Anacroneuria morfoespécie 02</i>	-	Este artigo	BR: SP.
<i>Anacroneuria boraceiensis</i>	Froehlich 2004	Este artigo	BR: MG, SP.
<i>Anacroneuria paulina</i>	(Navás 1936)	Este artigo	BR: SP.
<i>Anacroneuria petersi</i>	Froehlich 2002	Este artigo	BR: PR, RJ, SP.
<i>Anacroneuria polita</i>	(Burmeister 1839)	Este artigo	BR: MG, PR, SC, SP. ARG.
<i>Anacroneuria subcostalis</i>	Klapálek 1921	Este artigo	BR: ES, RJ, SP.
<i>Anacroneuria uyara</i>	Froehlich 2002	Este artigo	BR: PR, RS, SC, SP. ARG.
<i>Anacroneuria vanini</i>	Froehlich 2004	Este artigo	BR: BA, MG, SP.
<i>Kempnyia morfoespécie 01</i>	-	Este artigo	BR: SP.

<i>Kempnyia colossica</i>	(Navás 1934)	Bispo <i>et al.</i> , 2013	BR: MG, PR, RJ, SC, SP.
<i>Kempnyia flava</i>	Klapálek 1916	-	BR: ES, MG, RJ, SP.
<i>Kempnyia gracilentia</i>	(Enderlein 1909)	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> , 2011a	BR: BA, ES, MG, RJ, SP.
<i>Kempnyia jatim</i>	Froehlich 1988	-	BR: BA, ES, MG, RJ, SP.
<i>Kempnyia mirim</i> *	Froehlich 1984b	-	BR: MG, SC, SP.
<i>Kempnyia neotropica</i>	(Jacobson and Bianchi 1905)	Bispo & Froehlich 2008	BR: BA, ES, GO, MG, PR, RJ, RS, SC, SP.
<i>Kempnyia obtusa</i> *	Klapálek 1916	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> , 2014	BR: ES, MG, RJ, SP.
<i>Kempnyia serrana</i>	(Navás 1936)	-	BR: ES, RJ, SP.
<i>Kempnyia umbrina</i>	Froehlich 1988	Almeida <i>et al.</i> , 2025a	BR: MG, RJ, SP.
<i>Kempnyia vanini</i>	Froehlich 1988	Este artigo	BR: GO, MG, SP.
<i>Macrogynoplax veneranda</i>	Froehlich 1984a	Froehlich 1984a	BR: ES, SP.

*: Novo registro.

3.2 CÓDIGO DE BARRAS MOLECULAR

A análise do código de barras de COI revelou forte congruência com a delimitação morfológica da maioria das espécies de *Anacroneuria* e *Kempnyia*, permitindo também a associação molecular entre estágios imaturos e adultos (Figura 1). Dentro de *Anacroneuria*, as divergências intraespecíficas foram consistentemente baixas na maioria dos táxons: *A. boraceiensis* variou de 0,4% (DP785M vs. DP1053N) a 1,1% (DP900N vs. DP1053N); *A. paulina* de 0,0% (DP1204F vs. DP1256M) a 0,2% (DP1107N vs. DP1204F); *A. petersi* de 0,5% (DP777M vs. DP1042N) a 1,9% (DP777M vs. DP905N); *Anacroneuria polita* apresentou valores de 0,0% (DP847N vs. DP1241M) a 0,2% (DP841N vs. DP1241M), mas a divergência aumentou para 2,4% (LM12M vs. DP841N) ao incluir um exemplar do Parque Estadual Intervales; *Anacroneuria* morfoespécie 02 apresentou divergência de 1,3% (DP1270N vs. DP1271N); *Anacroneuria* morfoespécie 01 mostrou 0,6% (DP1112N vs. DP1119N); *Anacroneuria* sp. nov. 01 apresentou divergência de 2,3% (DP1068 e DP1067) a 5,4% (DP1068 e PL051), incluindo espécimes do Estado de Minas Gerais; *Anacroneuria* sp. nov. 02 variou de 0,0% (DP1111N vs. DP1200F) a 0,5% (DP1199M vs. DP1200F); *A. subcostalis* de 0,0% (DP1262N vs. DP1261N) a 1,4% (LM07M vs. LM08M), incluindo

também exemplares do Parque Estadual de Intervales; *Anacroneuria uyara* apresentou divergência muito baixa, de 0,0% (DP1183M vs. DP1220F) a 0,2% (DP901N vs. DP1183M); e *A. vanini* variou de 0,2% (DP924F vs. DP1073F) a 0,5% (DP903N vs. DP1073F). As divergências interespecíficas dentro de *Anacroneuria* variaram de 12,1% a 25,7%, separando claramente todas as espécies nominais e candidatas.

Todas as espécies de *Anacroneuria* analisadas tiveram pelo menos uma ninfa associada com sucesso a um adulto por meio de dados moleculares. Essas associações são particularmente relevantes, pois as ninfas dessas espécies eram desconhecidas. Aqui, pela primeira vez, fornecemos associações para vários desses táxons, possibilitando a descrição morfológica formal de seus estágios imaturos dentro deste estudo.

Em *Kempnyia*, a divergência intraespecífica variou de 0,0% a 10,4%. *Kempnyia vanini* apresentou baixa variação, de 0,1% (DP685F vs. DP761F) a 0,5% (DP682M vs. DP823F), e *Kempnyia* morfoespécie 01 exibiu 1,2% (DP906N vs. DP907N). No primeiro caso, adultos e um imaturo foram associados pelo código de barras de DNA. No segundo, ninfas da mesma espécie foram identificadas mesmo sem adultos conhecidos, o que apoia a descrição dessas ninfas neste trabalho. Em contraste, *Kempnyia neotropica*, quando tratada como uma única espécie, apresentou divergência intraespecífica incomumente alta, variando de 0,0% (DP788M vs. DP791F) a 10,4% (DP1079F vs. DP1339M). Quando subdividida em três linhagens evolutivas putativas, a divergência dentro de cada grupo foi notavelmente reduzida: *K. aff. neotropica* 01 variou de 0,7% (DP914M vs. DP1085M) a 1,5% (DP1079F vs. DP1085M); *K. aff. neotropica* 02 de 0,5% (DP1223F vs. DP1339M) a 1,8% (DP1222M vs. DP1223F); e *K. aff. neotropica* 03 de 0,0% (DP788M vs. DP791F) a 0,3% (DP857N vs. DP858N). Esses resultados sugerem fortemente que *K. neotropica* pode representar um complexo de pelo menos três espécies distintas ainda não descritas. Duas ninfas se associaram a uma dessas linhagens.

A divergência interespecífica dentro de *Kempnyia* variou de 7,3% a 24,3% quando *K. neotropica* foi tratada como um único táxon, e de 10,7% a 24,3% quando considerada como três linhagens. Um claro “gap” de código de barras foi observado em ambos os gêneros na maioria dos cenários, sem sobreposição entre divergências intra- e interespecíficas, exceto em *K. neotropica* quando tratada como um único táxon.

Em conjunto, os resultados destacam a eficácia do código de barras de DNA não apenas em confirmar os limites morfológicos das espécies e revelar diversidade críptica, mas também em possibilitar associações robustas entre adultos e ninfas. Essas associações foram

fundamentais para as descrições morfológicas dos estágios imaturos apresentadas neste trabalho, preenchendo uma lacuna significativa na taxonomia dos perlídeos neotropicais.

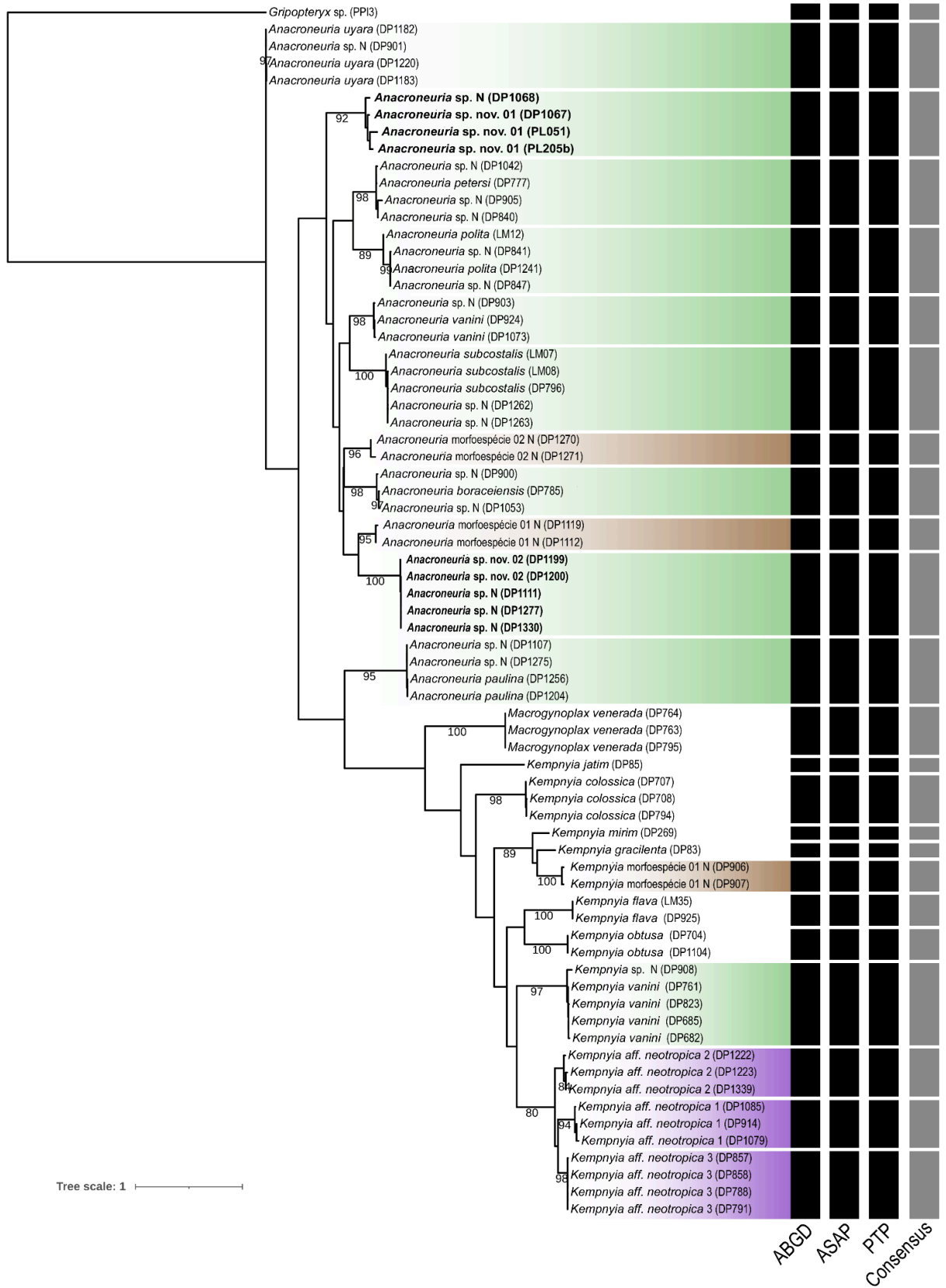


Figura 1. Análise molecular. Árvore de máxima verossimilhança das espécies de Perlidae obtida a partir de sequências do gene mitocondrial citocromo C oxidase subunidade I (COI) (529 pb). Os valores representam suportes de bootstrap. Verde: ninfas associadas. Marrom: ninfas sem adultos associados. Roxo: complexo *Kempnyia neotropica*. Negrito: espécie nova. N = ninfa.

3.3 TAXONOMIA

3.3.1 Gênero *Anacroneuria*

Anacroneuria morfoespécie 01 (Figura 2)

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Rio Guaratuba, 21.IV.2024, rede D, 1 ninfa, Bispo *et al. leg.* (CIACGF – DP1112); Córrego Venerando, 21.IV.2024, rede D, 1 ninfa, Bispo *et al. leg.* (CIACGF – DP1119); "Córrego Longe" 23°39'26,9"S 45°52'30,0"W, 21.IV.2024, rede D, 1 ninfa, Bispo *et al. leg.* (CIACGF – DP1122).

Descrição. Ninfa. Espécie de tamanho médio. Cor geral marrom-escuro. **Cabeça** (Figura 2A, D) marrom-escuro com manchas claras. **Labro** escuro; par de manchas pequenas, claras, centralizadas, nas bordas anterior e posterior. **Frontoclípeo** com faixa clara central, laterais escuras. **Fronte** escura na maior parte; mancha clara próxima aos ocelos; margeando a sutura ecdizial, estreitamente. Área central entre base da linha M e ocelos com mancha marrom-clara, pouco corada, ligeiramente triangular. Linha M pouco visível, base central ligeiramente clara. **Vértex** claro, homogêneo, contínuo à mancha clara posterior da fronte. **Antenas** marrons, homogêneas. **Tórax** (Figura 2A, B, D): marrom com manchas claras. Cerdas curtas esparsas. **Pronoto** com parte central ligeiramente mais clara; linha longitudinal central com faixa amarelada, não alcançando as bordas; áreas laterais pretas. **Mesonoto** com manchas centrais claras, bem evidentes, amareladas no centro. Tecas alares marrom-escuras na maior parte; ápices posteriores com mancha clara margeando a borda. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** marrom-claras, amareladas. **Fêmures** com face anterodorsal levemente escurecida; face posteroventral clara. Cerdas finas e curtas distribuídas uniformemente; cerdas grossas, médias e longas, mais proeminentes na margem externa da face anterodorsal. **Tíbias** com faixa de pelos da margem externa claros; cerdas grossas alinhadas, predominantes no ápice distal; uniformemente claras. **Abdômen** (Figura 2C, D): marrom; tergos bicolores; exceto 8, 9 e 10, homogêneos. Cerdas uniformemente distribuídas.

Cercos marrom-alaranjados, uniformes; base escurecida. Cerdas esparsas. **Brânquias:** ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Ninfã (n=3): largura da cabeça, 3,5–5,0 mm; comprimento do corpo, 10,0–14,5 mm.

Comentários. Ninfã não associada a adultos. Coletada apenas na transição verão–outono. Futuras coletas devem focar no início do outono para coletar adultos. A espécie se assemelha às ninfãs de *A. petersi* e *A. polita* no padrão de manchas e coloração, mas difere por detalhes das manchas centro-posteriores da cabeça e, principalmente, pelo tamanho geral, maior e mais robusta que as demais espécies.

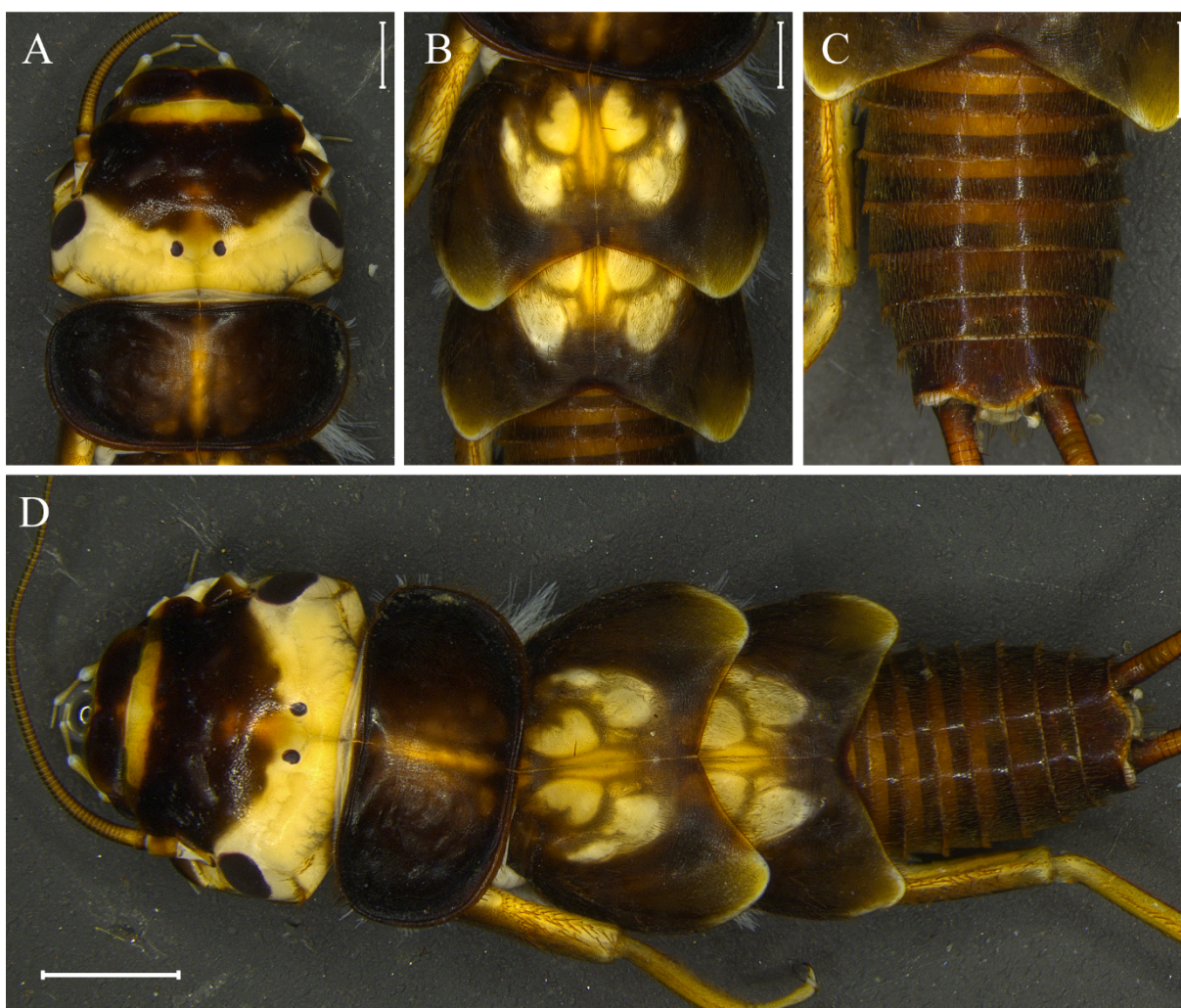


Figura 2. *Anacroneuria* morfoespécie 01, ninfã: cabeça e pronoto (A); tórax (B); abdome (C); vista dorsal do corpo inteiro (D). Escalas: 1 mm.

***Anacroneuria* morfoespécie 02 (Figura 3)**

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Rio Claro, 18.III.2024, rede D, 2 ninfas, Taniguti *et al. leg.* (CIACGF – DP1270, DP1271).

Descrição. Ninf. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral marrom-clara. **Cabeça** (Figura 3A, D): marrom com manchas claras. Cerdas esparsas, glabra na maior parte. **Labro** corado, mais escuro centralmente; pequena mancha clara centrofrontal. **Frontoclípeo** marrom-claro. **Fronte** com mancha escura na porção anterior; parte posterior da mancha com duas semiconcavidades laterais e ápice central suavemente agudo; margens laterais ligeiramente mais escurecidas. Linha M com arestas ligeiramente claras; base central da linha M formando ponto claro, bem evidente, ligeiramente triangular. Porção posterior da fronte clara. **Vértex** claro e uniforme; contínuo com a porção posterior da fronte. **Antenas** com esclerito antenal, escapo e pedicelo claros; flagelo claro na porção basal e apical, exceto flagelômeros da porção medial, ligeiramente mais escuros. **Tórax** (Figura 3A, B, D): marrom-claro com manchas claras. Cerdas irregulares, esparsas. **Pronoto** com manchas claras, amplamente distribuídas centralmente; mancha marrom-opaca anterocentral; borda anterior escura; borda posterior escura apenas na parte central. **Mesonoto** com mancha ligeiramente escurecida anterocentralmente; manchas centrais claras, bem evidentes; rodeadas por mancha marrom-clara. Tecas alares claras. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** uniformemente claras. **Fêmures** com cerdas finas esparsas; cerdas grossas e médias, mais proeminentes na margem externa da face anterodorsal. **Tíbias** com faixa de pêlos claros na margem externa; cerdas grossas, alinhadas e esparsas, mais proeminentes no ápice distal. **Abdômen** (Figura 3C, D) marrom; tergos bicolores; exceto tergo 10, homogêneo. Cerdas uniformemente distribuídas. **Cercos** marrom-claros, uniformes; base escurecida; cerdas grossas esparsas. **Brânquias:** ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Ninf (n=2): largura da cabeça, 2,5–2,9 mm; comprimento do corpo, 8,0–9,3 mm.

Comentários. Ninf não associada a adultos. Coletada apenas na transição verão–outono. Futuras coletas devem focar no início do outono para coletar adultos. As ninfas da espécie se diferenciam das demais do gênero pelo padrão de cor e pelo padrão de manchas da cabeça, principalmente pelo ponto claro ligeiramente triangular no centro. Coloração geral semelhante

a *A. boraceiensis*, porém *Anacroneuria* morfoespécie 02 é ligeiramente mais clara, e o padrão de manchas na cabeça, meso- e metanoto é distinto.

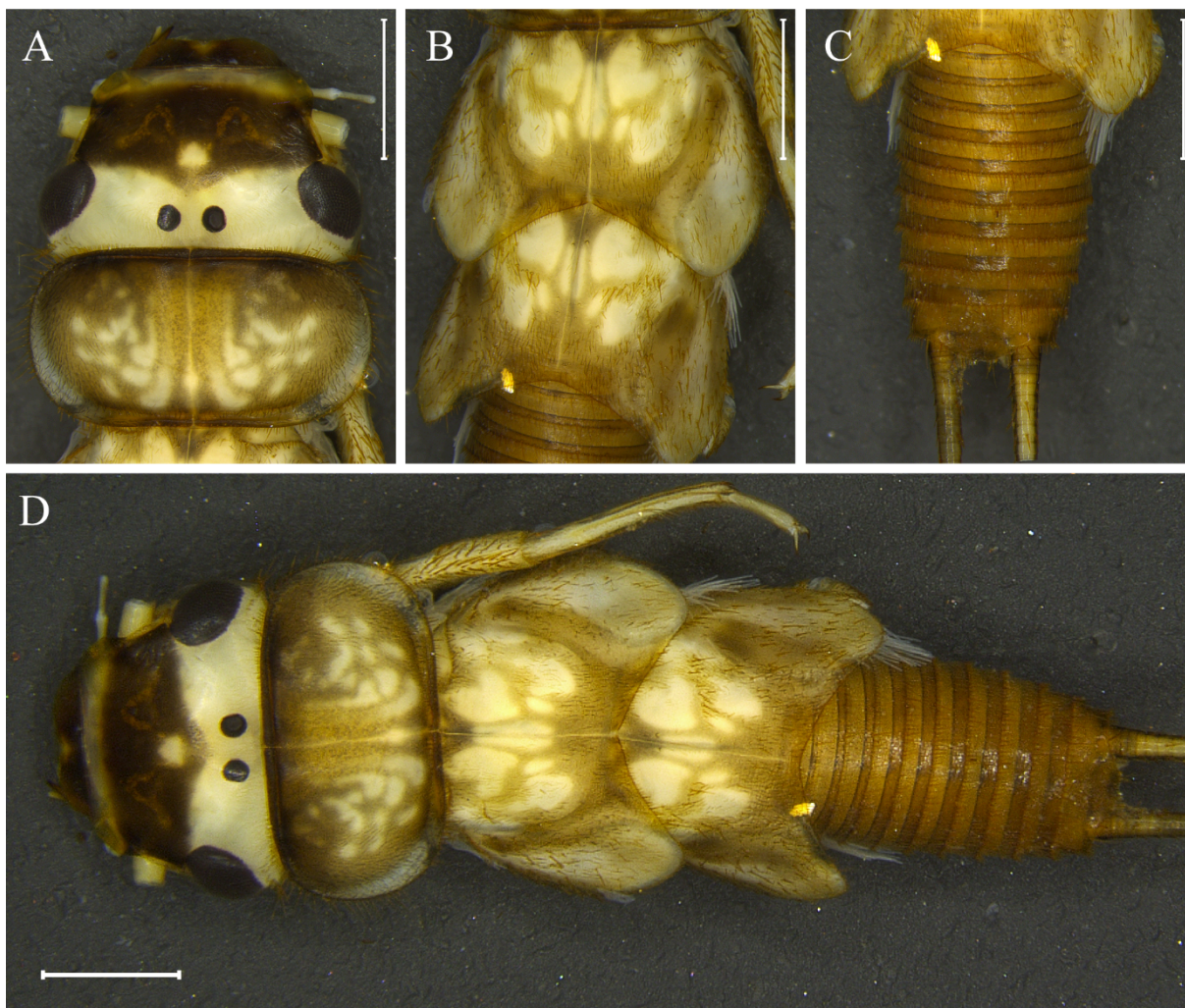


Figura 3. *Anacroneuria* morfoespécie 02, ninfa: cabeça e pronoto (A); tórax (B); abdome (C); vista dorsal do corpo inteiro (D). Escalas: 1 mm.

***Anacroneuria boraceiensis* Froehlich 2004 (Figura 4)**

Anacroneuria boraceiensis Froehlich 2004: 54, descrição; Bispo & Froehlich 2004a: 103, novo registro; Stark *et al.*, 2009: 117, checklist; Froehlich 2010a: 149, catálogo; Froehlich 2011a: 03, checklist; Novaes & Bispo 2014c: 434, novo registro; Almeida & Bispo 2020: 10, figura; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist; Almeida *et al.*, 2025b: 600, novo registro

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Ribeirão Coruja, 8.XII.2022, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Almeida & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP785); Córrego Venerando, 29.XI.2023, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP1243); Rio Claro, 23.XI.2023, rede D, 2 ninfas, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP900, DP1053); "Rio Tão Tão Distante" 23°39'48,3"S 45°52'45,9"W, 23.x.2025, rede D, 1 ninfas, Taniguti & Amaral *leg.* (CIACGF – DP1561).

Descrição. Ninfa. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral marrom. **Cabeça** (Figura 4C, F): marrom com manchas claras. Poucas cerdas, esparsas. **Labro** marrom-claro. **Frontoclípeo** claro centralmente; laterais levemente escurecidas. **Fronte** com mancha marrom-escura, cobrindo a maior parte anterior, afunilando-se centralmente entre os ocelos até a borda centro-posterior da sutura ecdisial em Y. Linha M com ápices anteriores formando um par de pontos claros, reniformes. Porções póstero-laterais com par de manchas claras, arredondadas próximo aos ocelos, formando convexidades proeminentes; após curva aguda, manchas seguem estreitamente junto à sutura ecdisial. **Vértex** claro na maior parte, contínuo com manchas claras da porção posterior da fronte; exceto por manchas escuras pouco definidas na margem posterior, pequena triangular central e par oblíquas médio-laterais. **Antenas** com esclerito antenal e escapo marrom claro; pedicelo e porção proximal do flagelo levemente mais escuros, gradualmente clareando em direção à porção distal. **Tórax** (Figura 4C, D, F): marrom com manchas claras. Cerdas esparsas, mais visíveis lateralmente; cerdas das bordas laterais predominantemente curtas. **Pronoto** com manchas centrais claras, bem evidentes; linha central com faixa longitudinal clara, mais larga anteriormente, afunilando no meio, alargando posteriormente, sem encostar na borda; par de linhas adjacentes, longas, curvadas lateralmente nas extremidades, paralelas no meio, porção posterior mais grossa; áreas laterais marrom-escuras. **Mesonoto** com manchas centrais conectadas ou semiconectadas, formando figura bem definida, quase contínua, larga anteriormente, afunilando posteriormente, ponta aguda; entre a figura, par de manchas escuras laterais; porções adjacentes marrom-escuras; margem posterior ligeiramente amarelada. Tecas alares com mancha clara posterior, arredondada. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** de cor clara, homogênea. **Fêmures** com cerdas bem definidas, curtas, distribuídas uniformemente na face anterodorsal; longas, mais proeminentes na margem externa da face anterodorsal; face posteroventral com poucas cerdas esparsas. **Tíbias** com faixa de pêlos na margem externa, longos e densos; uniformemente claros. **Abdômen** (Figura 4E, F) marrom; porção anterior ligeiramente mais

clara que a posterior; linha dorsal escura, longitudinal, cobrindo toda a extensão; cerdas uniformemente distribuídas. **Cercos** marrom-alaranjados, porção proximal escura, distal clara.

Brânquias: ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Macho (n=2): comprimento da asa anterior, 11,9–12,0 mm. Ninfas (n=3): largura da cabeça, 2,3–4,0 mm; comprimento do corpo, 8,2–12 mm.

Comentários. A ninfa de *A. boraceiensis* diferencia-se das demais espécies conhecidas do gênero principalmente pelo padrão de manchas na cabeça, meso- e metanoto, que são bem definidas e contrastantes, característico da espécie. Coloração geral semelhante a *A. morfoespécie* 02, mas *A. boraceiensis* é ligeiramente mais escura. Neste trabalho, a ninfa da espécie é associada ao adulto pela primeira vez.

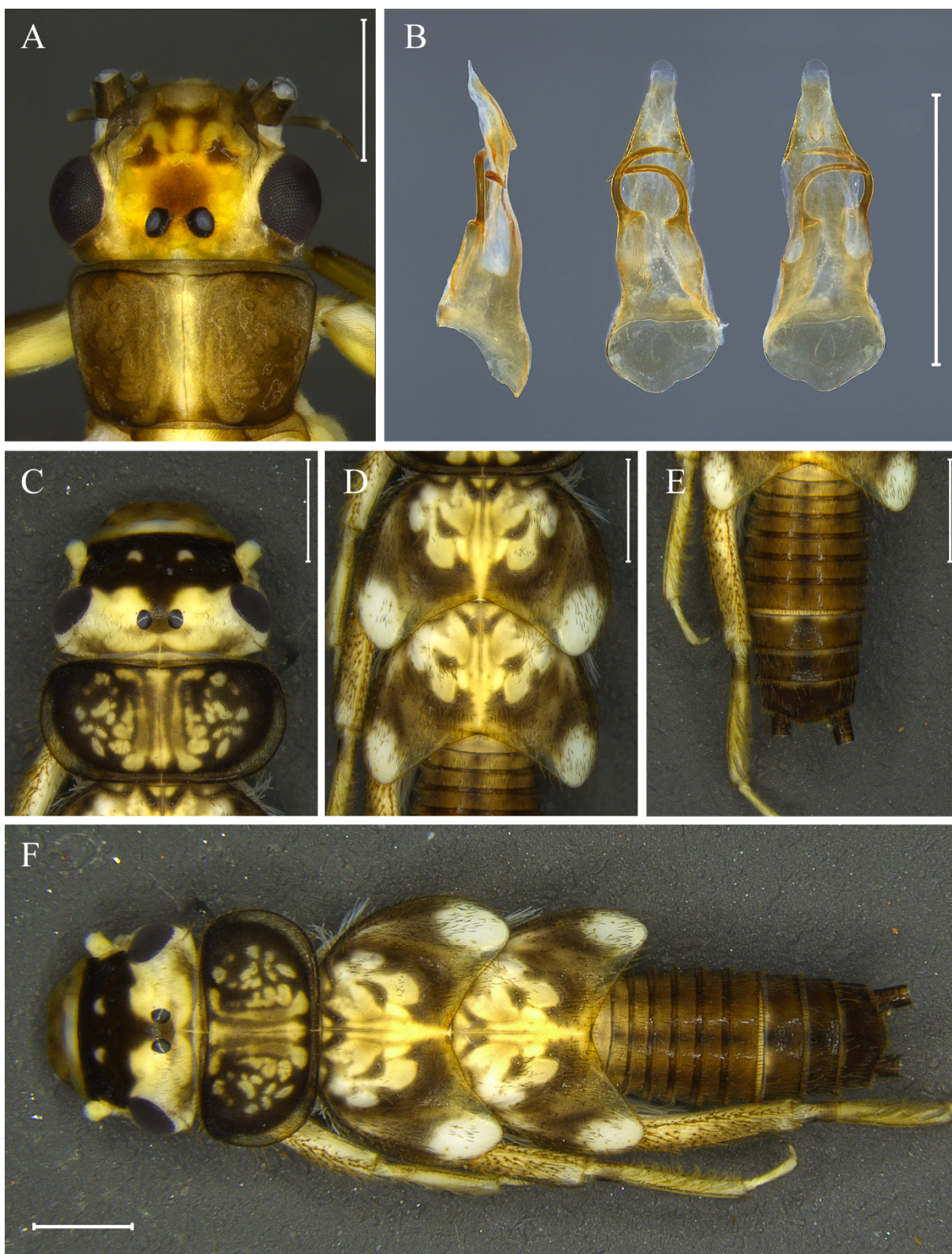


Figura 4. *Anacroneuria boraceiensis*, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Ninfã: cabeça e pronoto (C); tórax (D); abdômen (E); vista dorsal do corpo inteiro (F). Escalas: 1 mm.

***Anacroneuria paulina* (Navás 1936) (Figura 5)**

Coeloperla paulina Navás 1936: 728, descrição; *Anacroneuria paulina* Froehlich 2004: 56, nova combinação e descrição do macho; Stark *et al.*, 2009: 118, checklist; Froehlich 2010a: 166, catálogo; Froehlich 2011a: 03, checklist; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Ribeirão Coruja, 24.I.2023, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Almeida, Rippel & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP1256); Rio Guaratuba, 15.III.2024–21.III.2024, LED (UV, azul e verde), 1 fêmea, Taniguti & Gonçalves *leg.* (CIACGF – DP1204); Ribeirão Coruja, 20.IV.2024, rede D, 1 ninfa, Bispo *et al. leg.* (CIACGF – DP1107); Rio Guaratuba, 19.iii.2024, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Gonçalves *leg.* (CIACGF – DP 1275); Ribeirão Coruja, 24.x.2025, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Amaral *et al. leg.* (CIACGF – DP1580).

Descrição. Ninfa. Espécie de tamanho grande. Cor geral preta. **Cabeça** (Figura 5C, F): preta com manchas claras. Poucas cerdas; glabra na maior parte. **Labro** preto; pequena mancha clara anteriocentralmente. **Frontoclípeo** com faixa clara central; laterais ligeiramente mais escuras. **Fronte** predominantemente preta. Par de manchas claras circulares na margem anterior, pouco definidas; linha M completa, bem definida, arestas grossas; ocelos com manchas em arco nas bordas externas, claras; par de manchas claras circulares adjacentes aos ocelos. Cicatrizes tentoriais visíveis como leves pontos amarronzados. **Vértex** com três manchas amareladas na porção central, pequenas, suaves, foscas; central subtriangular, laterais oblíquas. Laterais adjacentes com manchas claras; par de faixas oblíquas, espessas, em arco pronunciado; mancha clara margeando os olhos; mancha clara posterior aos olhos. Manchas pretas na maior parte da porção anterior e entre as manchas claras. **Antenas** com esclerito antenal preto, base com pequena mancha clara; escapo marrom escuro; pedicelo marrom amarelado; flagelo marrom, gradualmente clareando em direção à porção distal. **Tórax** (Figura 5C, D, F): preto, marrom, e manchas claras. Cerdas curtas, esparsas; cerdas das bordas curtas e grossas. **Pronoto** com manchas claras bem evidentes, ligeiramente amareladas; linha central longitudinal com ápice anterior ligeiramente largo, estreitando em seguida, alargando gradativamente até próximo à borda posterior, afunilando novamente; par de linhas adjacentes arqueadas, irregulares no meio, estreitando antes das extremidades, alargando nos ápices; demais manchas esparsas lateralmente. Manchas claras rodeadas por

áreas marrom-escuras, homogêneas. Áreas laterais e bordas pretas. **Mesonoto** com manchas claras bem definidas; centrais fundidas, amareladas, maiores; laterais menos coradas, menores, esparsas. Machas claras rodeadas por mancha marrom-escura. Tecas alares predominantemente clara, opaca. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** marrom-claras e amareladas. **Fêmures** com extremidades e margens mais escuras. Mancha clara, comprida e estreita, longitudinal em ambas as faces. Cerdas curtas e finas bem definidas, distribuídas uniformemente na face anterodorsal; cerdas grossas esparsas; faixa de pelos longos, densos e claros. **Tíbias** predominantemente amarelas; porção proximal das margens com manchas escuras. Faixa de pêlos da margem externa densa e clara. **Abdômen** (Figura 5E, F) marrom e preto; tergos anteriores mais claros que posteriores; tergo 10 escuro com mancha clara elipsoidal dorsal central; linha longitudinal dorsal levemente escurecida; cerdas curtas, bem distribuídas. **Cercos** amarelo-alaranjados; coloração uniforme. **Brânquias**: ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Macho (n=1): comprimento da asa anterior, 18,3 mm. Fêmea (n=1): comprimento da asa anterior, 23,0 mm. Ninfas (n=3): largura da cabeça, 3,5–5,0 mm; comprimento do corpo, 10,5–20,2 mm.

Comentários. *A. paulina* é, até então, a maior espécie do gênero registrada na Estação Biológica de Boracéia. A ninfa não se assemelha a nenhuma outra da EBB. Comparando com espécies do gênero conhecidas no Brasil, *A. paulina* se aproxima de *A. flintorum* (Almeida *et al.*, 2018) e, principalmente, de *A. iporanga* (Almeida *et al.*, 2019) no padrão geral de manchas. Difere de *A. flintorum* pelo padrão das manchas na cabeça, especialmente as laterais dos ocelos e as do vértex, e de *A. iporanga*, sobretudo pelo formato da linha M. Apresenta coloração geral mais escura que ambas as espécies. Neste trabalho, a ninfa da espécie é associada ao adulto pela primeira vez.



Figura 5. *Anacroneuria paulina*, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Ninfã: cabeça e pronoto (C); tórax (D); abdômen (E); vista dorsal do corpo inteiro (F). Escalas: 1 mm.

Anacroneuria petersi (Figura 6)

Anacroneuria polita Froehlich 2002: 97, descrição; Froehlich 2004: 58, novo registro; Bispo & Froehlich 2004a: 102, identificação incorreta; Stark *et al.*, 2009: 118, checklist; Froehlich 2010a: 166, catálogo; Froehlich 2011a: 03, checklist; Baldin *et al.*, 2013: 394, novo registro; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Ribeirão Coruja, 23.I.2023, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Almeida & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP777); Córrego Venerando, 29.XI.2023, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP1242); 07.XII.2022, rede D, 1 ninfa, Almeida & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP840); 22.XI.2023–23.XI.2023, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP905); Ribeirão Coruja, 17.I.2024, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Sabino *leg.* (CIACGF – DP1042); Rio Claro, 23.xi.2023, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP1251); "Rio Tão Tão Distante" 23°39'48,3"S 45°52'45,9"W, 23.x.2025, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Amaral *leg.* (CIACGF – DP1560).

Descrição. Ninfa. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral marrom. **Cabeça** (Figura 6C, F): marrom-escuro com manchas claras. Poucas cerdas, glabra na maior parte. **Labro** marrom-escuro, pequena mancha clara centrofrontalmente. **Frontoclípeo** com faixa clara central, laterais escuras. **Fronte** escura na maior parte. Linha M pouco visível, base e arestas internas ligeiramente claras. Manchas claras adjacentes externamente aos ocelos, pequenas, trapezoidal, oblíquas. **Vértex** com mancha marrom-clara na maior parte da margem da sutura ecdizial, estreitando medialmente no centro, alargando junto à borda posterior. Áreas laterais com par de manchas claras separadas, amplas nas extremidades, afuniladas medialmente. **Antenas** uniformemente marrons-claras. **Tórax** (Figura 6C, D, F): marrom com manchas claras. Cerdas esparsas, com áreas grablas; bordas com cerdas longas esparsas. **Pronoto** com manchas pouco definidas; área central ligeiramente mais clara, marrom-amarelada; laterais mais escuras. **Mesonoto** com manchas centrais claras, amareladas opacas, parcialmente definidas, contornos suaves. Tecas alares ligeiramente claras; porção apical com faixa estreita, mais clara. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** marrom-claras. **Fêmures** com face anterodorsal levemente escurecida, face posteroventral clara. Cerdas grossas, longas, mais proeminentes na margem externa. **Tíbias** com porção proximal mais escura; faixa de pêlos

claros na margem externa, pouco densa; cerdas curtas, predominantes medialmente, esparsas nos ápices. **Abdômen** (Figura 6E, F): marrom-escuro; tergos semiuniformes. Cerdas curtas e longas, distribuídas irregularmente. **Cercos** marrons, uniformes; base levemente escurecida; cerdas finas e curtas, médias e grossas, esparsas. **Brânquias**: ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Macho (n=3): comprimento da asa anterior, 9,7–10,0 mm. Ninfas (n=4): largura da cabeça, 2,3–2,8 mm; comprimento do corpo, 8,0–9,1 mm.

Comentários. A ninfa da espécie se assemelha àquela de *A. polita*, *A. itajaimirim* (Almeida *et al.*, 2024a) e *A. morfoespécie 01* no padrão de manchas e coloração, mas difere por detalhes das manchas centro-posteriores da cabeça, especialmente por possuir boa parte do vértice corado, ausente nas demais. Possui tamanho menor que *A. morfoespécie 01* e aproximadamente igual a *A. polita* e *A. itajaimirim*. Neste trabalho, a ninfa da espécie é associada ao adulto pela primeira vez.

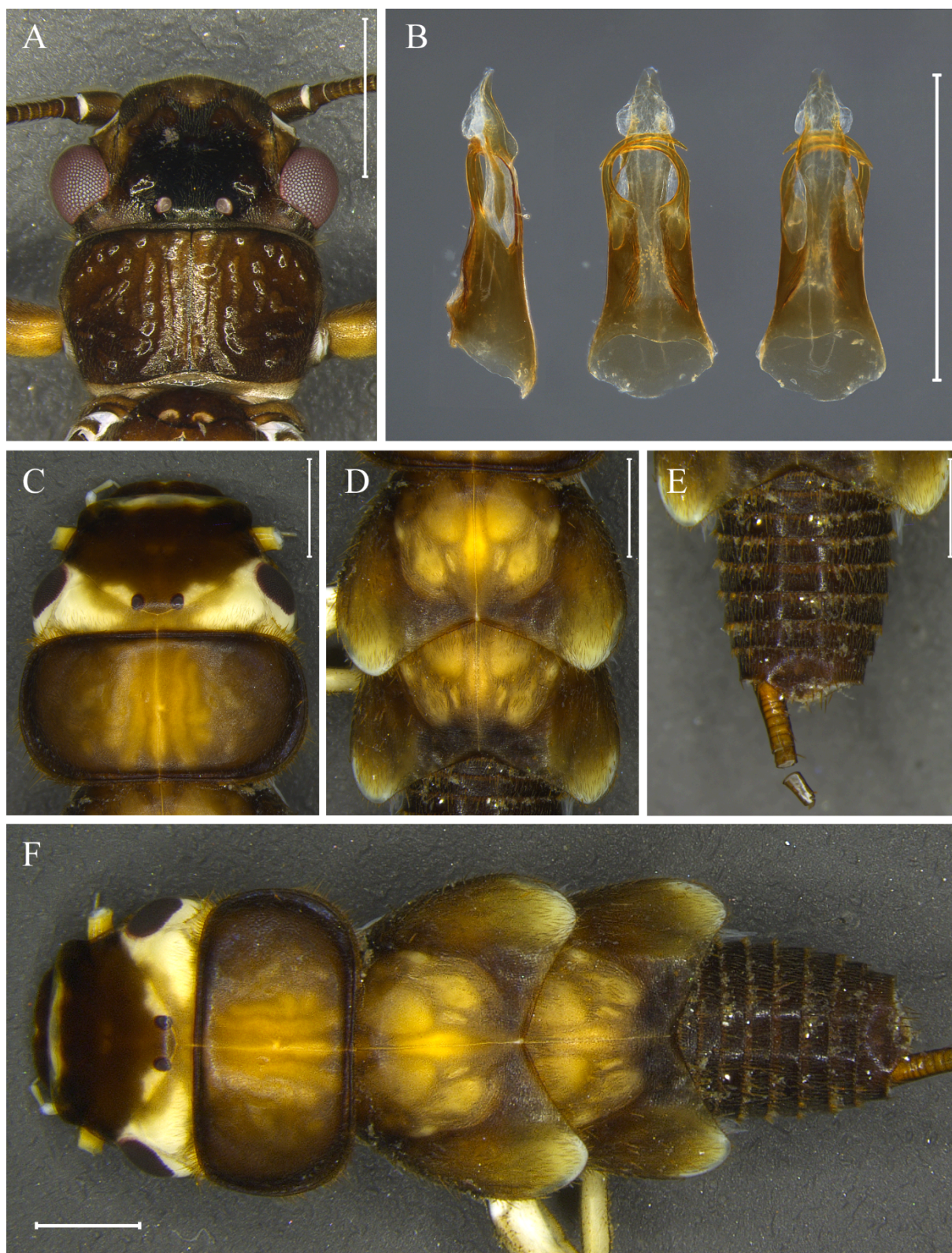


Figura 6. *Anacroneuria petersi*, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Ninfã: cabeça e pronoto (C); tórax (D); abdômen (E); vista dorsal do corpo inteiro (F). Escalas: 1 mm.

***Anacroneuria polita* (Burmeister 1839) (Figura 7)**

Perla polita Burmeister 1839: 879, descrição; *Anacroneuria polita* Zwick 1972: 1163, nova combinação e ilustração; Froehlich 2002: 85, ilustração; Froehlich 2004: 58, novo registro; Bispo & Froehlich 2004a: 98, ilustração; Stark *et al.*, 2009: 118, checklist; Froehlich 2010a: 168, catálogo; Froehlich 2011a: 03, checklist; Novaes & Bispo 2014b: 459, ilustração e figura; Novaes & Bispo 2014c: 435, novo registro; Romero 2017: 49, novo registro; Almeida & Bispo 2020: 15, sequência de COI e figuras; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist; Almeida *et al.*, 2025b: 607, novos registros.

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Córrego Venerando, 29.XI.2023, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP1241); 07.XII.2022, rede D, 2 ninfas, Almeida & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP841, DP847); "Córrego Longe" 23°39'26,9"S 45°52'30,0"W, 22.x.2025, rede D, 1 ninfas, Taniguti & Amaral *leg.* (CIACGF – DP1566).

Descrição. Ninfas. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral marrom. **Cabeça** (Figura 7C, F): marrom com manchas claras. Poucas cerdas, glabra na maior parte. **Labro** marrom, uniforme. **Frontoclípeo** ligeiramente claro medialmente. **Fronte** com mancha marrom, contínua, cobrindo a maior parte; porção posterior da mancha semicircular centralmente, lateralmente seguindo a sutura ecdizial, margem ligeiramente amarelada. Manchas claras entre e lateralmente aos ocelos. Linha M pouco visível. **Vértex** completamente claro, contínua com manchas claras posteriores da fronte. **Antenas** uniformemente claras, ligeiramente amareladas. **Tórax** (Figura 7C, D, F): marrom com manchas claras. Cerdas esparsas, com áreas glabras; bordas com cerdas médias, uniformes. **Pronoto** com área central ligeiramente mais clara; manchas centrais parcialmente definidas, amareladas. Laterais mais escuras. Borda posterior central mais clara. **Mesonoto** com manchas centrais claras, moderadamente definidas, contornos suaves; áreas adjacentes marrons. Tecas alares com mancha clara posterior, apicalmente. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** claras, uniformes. **Fêmures** com cerdas grossas e longas, predominantes na área distal externa da face anterodorsal. **Tíbias** com faixa de pêlos da margem externa pouco densa. Cerdas grossas predominantes no ápice distal. **Abdômen** (Figura 7E, F): marrom; tergos bicolores; exceto tergo 10, homogêneo. Cerdas curtas e longas, distribuídas uniformemente. **Cercos** claros,

uniformes; base levemente escurecida; cerdas distribuídas uniformemente. **Brânquias:** ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Macho (n=1): comprimento da asa anterior, 9,8 mm. Ninfas (n=3): largura da cabeça, 2,3–2,7 mm; comprimento do corpo, 7,0–9,0 mm.

Comentários. A ninfa da espécie se assemelha àquela de *A. petersi*, *A. itajaimirim* (Almeida *et al.*, 2024a), *A. sp. nov.* 02 e *Anacroneuria* morfoespécie 01 no padrão de manchas e coloração, mas difere por detalhes das manchas centro-posteriores da cabeça, especialmente pela mancha escura na porção posterior da fronte, próxima aos ocelos, mais arredondada e contínua que nas demais. Possui tamanho menor que *A. morfoespécie* 01 e aproximadamente igual às demais. Neste trabalho, a ninfa da espécie é associada ao adulto pela primeira vez.



Figura 7. *Anacroneuria polita*, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Ninfã: cabeça e pronoto (C); tórax (D); abdômen (E); vista dorsal do corpo inteiro (F). Escalas 1 mm.

***Anacroneuria subcostalis* Klapálek 1921 (Figura 8)**

Anacroneuria subcostalis Klapálek 1921: 326, descrição; Froehlich 2002: 86, ilustrações da fêmea; Froehlich 2004: 59, descrição do macho; Bispo & Froehlich 2004a: 99, novo registro; Stark *et al.*, 2009: 118, checklist; Froehlich 2010a: 171, catálogo; Froehlich 2011a: 03, checklist; Baldin *et al.*, 2013: 392, novo registro; Gonçalves *et al.*, 2017: 147, novo registro; Gonçalves *et al.*, 2019: 103, checklist; Almeida & Bispo 2020: 15, sequência de COI e figuras; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Córrego Venerando, 21.I.2023, LED (UV, azul e verde), 1 fêmea, Almeida & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP796); Rio Claro, 17.I.2024, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Taniguti & Sabino *leg.* (CIACGF – DP1181); 23°39'48,3"S 45°52'45,9"W, 18.III.2024, rede D, 2 ninfas, Taniguti & Gonçalves *leg.* (CIACGF – DP1262, DP1263); "Córrego Longe" 23°39'26,9"S 45°52'30,0"W, 15-21.iii.2024, LED (UV, azul e verde), 1 fêmea, Taniguti & Gonçalves *leg.* (CIACGF – DP1221).

Descrição. Ninfa. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral marrom-claro. **Cabeça** (Figura 8C, F): marrom com manchas claras. Poucas cerdas, glabra na maior parte. **Labro** marrom, uniforme. **Frontoclípeo** ligeiramente claro medialmente. **Fronte** corada na maior parte; margens laterais escuras. Mancha clara lateralmente aos ocelos. Linha M completa, visível como um contraste opaco, suave. **Vértex** claro na maior parte, contínuo com manchas claras posteriores da fronte. Par de sombras laterais na margem posterior, medialmente a cada lado. **Antenas** uniformemente claras. **Tórax** (Figura 8C, D, F): marrom-claro, amarelas e áreas mais claras. Cerdas esparsas, com áreas glabras; bordas com cerdas curtas, uniformes. **Pronoto** predominantemente opaco; manchas pouco definidas. Mancha amarelada anterocentral, convexa anteriormente, afunilando medialmente. Porções laterais da borda anterior com mancha ligeiramente escura. Par de manchas escuras na borda posterior, próximo das extremidades. **Mesonoto** com manchas centrais claras, pouco definidas. Tecas alares predominantemente marrom-claras, opacas. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** claras, uniformes. **Fêmures** com cerdas moderadamente esparsas; porção distal da margem externa com faixa de pêlos longos, esparsos. **Tíbias** com faixa de pêlos da margem externa pouco densa, finas. Cerdas grossas predominantes no ápice distal, poucas. **Abdômen**

(Figura 8E, F): marrom-claro, uniforme. Cerdas curtas, distribuídas esparsamente. **Cercos** claros, uniformes. **Brânquias**: ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Macho (n=1): comprimento da asa anterior, 11,8 mm. Fêmea (n=2): comprimento da asa anterior, 14,5–14,9 mm. Ninfã (n=2): largura da cabeça, 2,2–2,5 mm; comprimento do corpo, 7,9–9,0 mm.

Comentários. A ninfã de *A. subcostalis* se assemelha àquela de *A. polita*, *A. itajaimirim* (Almeida *et al.*, 2024a) e *A. sp. nov. 02* no padrão de manchas na cabeça, mas difere por possuir linha M completa, pela coloração geral do corpo, sendo mais clara que as demais, e pelo padrão das manchas no pronoto. Neste trabalho, a ninfã da espécie é associada ao adulto pela primeira vez.

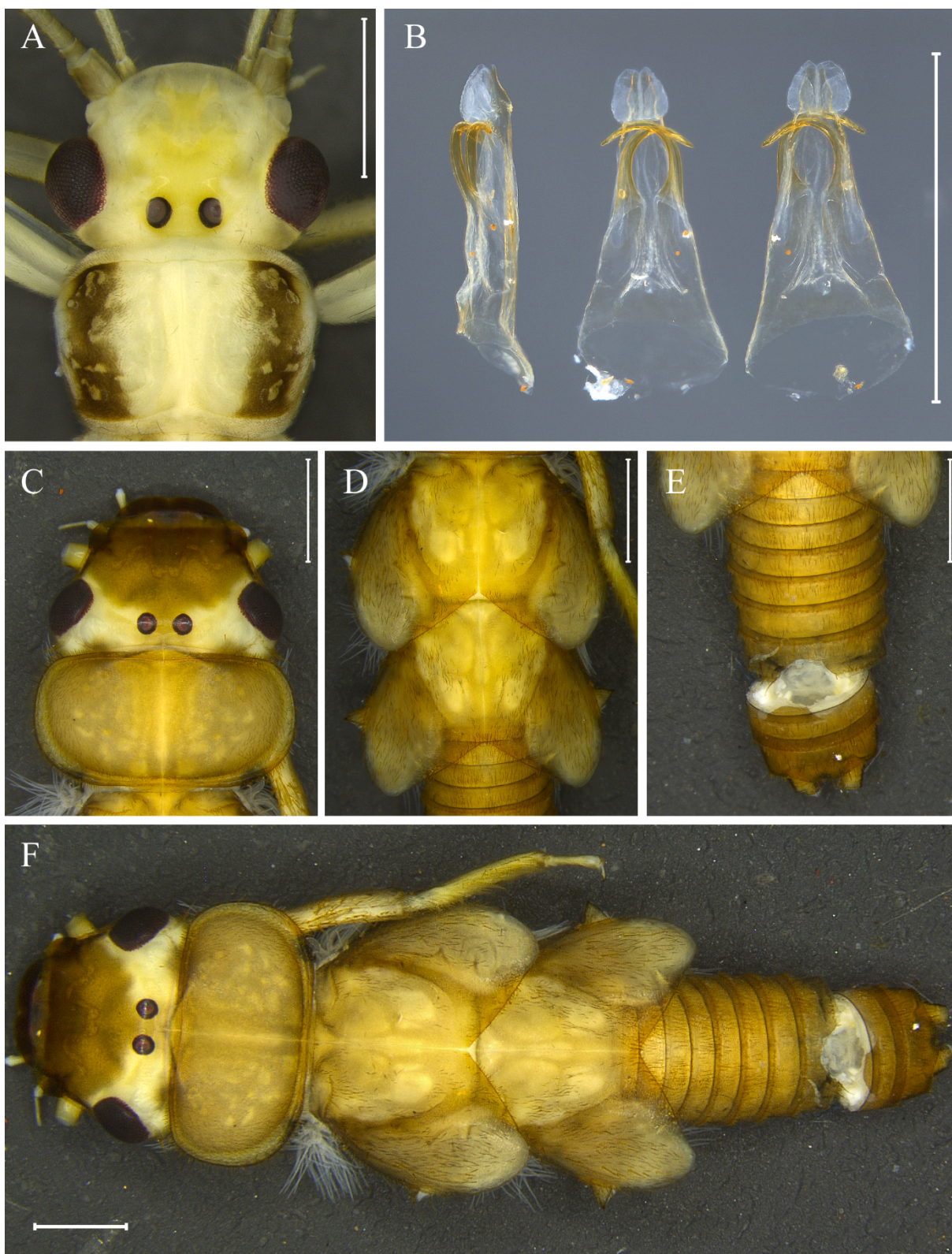


Figura 8. *Anacroneuria subcostalis*, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Nífa: cabeça e pronoto (C); tórax (D); abdômen (E); vista dorsal do corpo inteiro (F). Escalas: 1 mm.

Anacroneuria uyara (Figura 9)

Anacroneuria uyara Froehlich 2002: 100, descrição; Froehlich 2004: 59, novo registro; De Ribeiro & Froehlich 2007: 56, novo registro; Stark *et al.*, 2009: 119, checklist; Froehlich 2010a: 174, catálogo; Froehlich 2011a: 03, checklist; Romero 2017: 50, novo registro; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist.

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Rio Claro, 15.III.2024–21.III.2024, LED (UV, azul e verde), 1 macho e 1 fêmea, Taniguti & Gonçalves *leg.* (CIACGF – DP1215, DP1220); 17.I.2024, LED (UV, azul e verde), 2 machos, Taniguti & Gonçalves *leg.* (CIACGF – DP1182, DP1183); 23.XI.2023, rede D, 2 ninfa, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP901, DP1054); 24.x.2025, rede D, 4 ninfa, Taniguti & Amaral *leg.* (CIACGF – DP1515, DP1518, DP1519, DP1520).

Descrição. Ninfa. Espécie de tamanho médio. Cor geral preto. **Cabeça** (Figura 9C, F): preta com manchas claras. Poucas cerdas, glabra na maior parte. **Labro** preto, uniforme. **Frontoclípeo** claro, amarelado; extremidades laterais pretas. **Fronte** corada; região anterior ligeiramente mais escura; áreas laterais aos ocelos com manchas claras. Linha M visível somente como um relevo. **Vértex** claro na maior parte; mancha escura contínua, margeando a sutura ecdisial centralmente, afunilada medialmente, margeando toda a borda posterior. **Antenas** com escapo amarelo; pedicelo marrom-amarelado; flagelo marrom, flagelômeros proximais escuros e gradativamente claros distalmente. **Tórax** (Figura 9C, D, F): preto, marrom e com manchas claras. Poucas cerdas esparsas; áreas grablas. Bordas com cerdas curtas e poucas médias. **Pronoto** com área central ligeiramente mais clara, marrom com manchas claras; manchas pouco definidas; laterais pretas, escurecidas. **Mesonoto** com manchas centrais bem definidas, claras, isoladas; rodeadas por mancha marrom escura, ligeiramente opaca. Porção posterior central pretas. Tecas alares opacas; borda lateral predominantemente preta; ápice ligeiramente claro, margem com faixa clara. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** marrons e amareladas. Fêmures com face anterodorsal marrom-escura; ápice distal com mancha clara. Face posteroventral clara; porção proximal com mancha ligeiramente escurecida. Cerdas robustas distribuídas na margem externa. **Tíbias** claras, amareladas, homogêneas. Faixa de pêlos da margem externa densa, clara. Cerdas grossas predominantes no ápice distal. **Abdômen** (Figura 9E, F): marrom; tergos bicolores;

tergos posteriores mais homogêneos. Cerdas curtas, uniformemente distribuídas. **Cercos** amarelados, uniformes; base levemente escurecida; cerdas distribuídas esparsamente.

Brânquias: ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Macho (n=3): comprimento da asa anterior, 11,8–12,4 mm. Fêmea (n=1): comprimento da asa anterior, 17,8 mm. Ninfã (n=6): largura da cabeça, 3,0–4,3 mm; comprimento do corpo, 10,0–14,8 mm.

Comentários. A ninfã dessa espécie se assemelha ligeiramente àquela de *A. petersi* no padrão de manchas no vértex e nas manchas claras laterais aos ocelos, mas difere pelo padrão de cor geral, apresentando maior contraste entre manchas claras e escuras, além de tamanho maior. Comparando com espécies coletadas em outros locais do Brasil, assemelha-se bastante a *A. debilis* (Avelino-Capistrano *et al.*, 2011b) no padrão de manchas. Futuros estudos devem comparar essas duas espécies. Neste trabalho, a ninfã da espécie é associada ao adulto pela primeira vez.



Figura 9. *Anacroneuria uyara*, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Ninfã: cabeça e pronoto (C); tórax (D); abdômen (E); vista dorsal do corpo inteiro (F). Escalas 1 mm.

***Anacroneuria vanini* Froehlich 2004** (Figura 10)

Anacroneuria vanini Froehlich 2004: 61, descrição; Stark *et al.*, 2009: 119, checklist; Froehlich 2010a: 174, catálogo; Froehlich 2010b: 68, novo registro; Froehlich 2011a: 03, checklist; Novaes & Bispo 2014c: 436, novo registro; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist.

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, 23°39'23,9"S 45°52'30,0"W, 28.XI.2023–14.I.2024, Malaise, 1 fêmea, Taniguti & Sabino *leg.* (CIACGF – DP1073); 17.I.2024, LED (UV, azul e verde), 1 fêmea, Taniguti & Sabino *leg.* (CIACGF – DP924); Córrego Venerando, 22.XI.2023–23.XI.2023, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP903); "Córrego Longe" 23°39'26,9"S 45°52'30,0"W, 22.x.2025, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Amaral *leg.* (CIACGF – DP1576).

Descrição. Ninfa. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral preto. **Cabeça** (Figura 10A, D): clara com manchas escuras. Poucas cerdas, esparsas, glabra na maior parte. **Labro** preto; borda anterior e parte central posterior marrons. **Frontoclípeo** marrom; extremidades laterais pretas. **Fronte** preta na região anterior à linha M; região posterior clara, exceto por pequena linha medial, pouco visível. Linha M visível como sombra ligeiramente mais escura, delimitando a mancha escura e a clara. **Vértex** predominantemente claro, contínuo e uniforme com parte posterior da fronte; margens posterior e laterais levemente coradas. **Antenas** com escapo marrom-escuro; pedicelo e flagelo marrom; flagelômeros proximais escuros, gradualmente mais claros distalmente. **Tórax** (Figura 10A, B, D): preto e marrom. Cerdas esparsas; áreas grabras. Bordas com cerdas médias e longas, irregulares. **Pronoto** uniforme, preto e escuro; poucas manchas visíveis, apenas como relevos. **Mesonoto** com porção central marrom escuro; manchas centrais indefinidas. Áreas laterais pretas, uniformes. Ápices das tecas alares marrons; faixa clara estreita margeando a borda. **Metanoto** semelhante ao mesonoto; parte central, medial e anterior, mais claras. **Pernas** pretas com manchas claras. **Fêmures** com mancha clara no ápice distal; face anterodorsal escura; face posteroventral ligeiramente clara. Cerdas robustas distribuídas uniformemente, maiores na margem externa. **Tíbias** escuras. Mancha clara no ápice proximal, continuando com a mancha clara do fêmur. Ápice distal ligeiramente claro. Faixa de pelos da margem externa ausente. Cerdas robustas na face anterodorsal, margem externa e ápice distal. **Abdômen** (Figura 10C, D); preto, uniforme e escuro; tergo 10 amarelado na porção posterior. Cerdas médias e longas predominantes,

uniformemente distribuídas. **Cercos** amarelados, claros, uniformes; cerdas robustas. **Brânquias:** ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Fêmea (n=2): comprimento da asa anterior, 11,9–12,2 mm. Ninfa (n=2): largura da cabeça, 2,0–2,4 mm; comprimento do corpo, 6,8–8,0 mm.

Comentários. A ninfa de *A. vanini* se assemelha muito àquela de *A. sp. nov. 01* no tamanho, cor geral e padrão de manchas, sendo *A. vanini* ligeiramente mais escura nas áreas escuras. Difere principalmente pelo padrão de manchas na cabeça, com *A. vanini* apresentando a maior parte da cabeça clara, vértex e porção posterior da fronte claros, enquanto *A. sp. nov. 01* possui parte do vértex e da porção posterior da fronte levemente corados. Neste trabalho, a ninfa da espécie é associada ao adulto pela primeira vez.

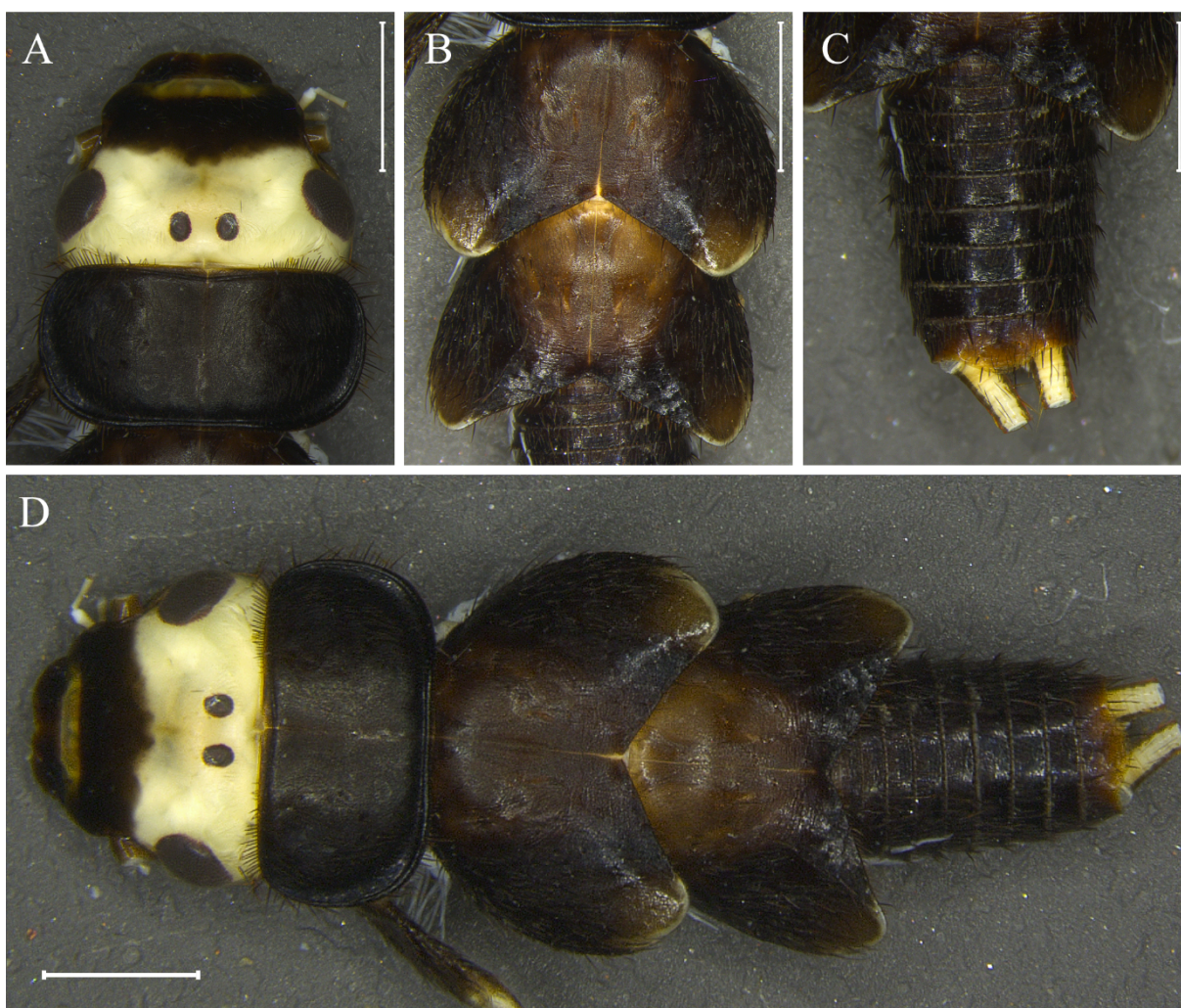


Figura 10. *Anacroneuria vanini*, ninfa: cabeça e pronoto (A); tórax (B); abdome (C); vista dorsal do corpo inteiro (D). Escalas: 1 mm.

***Anacroneuria* sp. nov. 01** (Figuras 11)

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, 23°39'23,9"S 45°52'28,4"W, 24.xi.2023, coleta ativa, 1 macho, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP1067); Rede D, 3 ninfas, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP1068, DP1069, DP1071); Córrego Venerando, 22.x.2025, Rede D, 1 ninfa, Taniguti & Amaral *leg.* (CIACGF – DP1534); 23°39'23,9"S 45°52'28,4"W, 22.x.2025, Rede D, 2 ninfas, Taniguti & Amaral *leg.* (CIACGF – DP1570, DP1573); BR, MG: Araponga, Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, 20° 43' 52" S 42° 27' 50" W, 1100 m, 19.x.2022 – 03.xi.2022, Malaise, macho, F.F. Salles *leg.* (PL205A); BR, MG: Araponga, Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, 20° 43' 52" S 42° 27' 50" W, 1100 m, 28.vii.2022 – 19.x.2022, Malaise, macho, F.F. Salles *leg.* (PL051B); BR, RJ: Petrópolis, Araras, REBIO Araras, Rio Araras, Trilha do Caneco (Ponte), 1086 m, 17.x.2018 – 17.xi.2018, Malaise, 1 macho (CIACGF – DP890).

Descrição. Macho. Teneral. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral preto. **Cabeça** (Figura 11A): preta com manchas opacas. Cerdas esparsas. **Frontoclípeo** opaco; lóbulos emarginados por linha clara, ligeiramente translúcidos. **Fronte** corada, escura, homogênea. Linha M incompleta, desconectada entre a base central e as arestas, mais clara lateralmente; cicatrizes tentoriais quase imperceptíveis, ligeiramente mais claras que o restante da fronte. **Vértex** sutilmente mais claro que a fronte. **Genas** opacas. **Antenas** com escapo escuro, pedicelo e flagelo claros, homogêneos. **Palpo maxilar** com quatro palpômeros, basal mais escuro; segundo com comprimento somado do terceiro e quarto. **Lábio** com premento mais claro que mento e submento. Palpo labial com três palpômeros. Primeiro mais escuro que os demais. **Tórax:** preto e marrom-escuro. Cerdas curtas, esparsas. **Pronoto** (Figura 11A) predominantemente escuro, uniforme; margens anterolaterais ligeiramente claras. Superfície com rugosidades distribuídas. Suturas pretas. **Prosterno** com região central escura cobrindo furcasterno e parte do basisterno; restante pálido. **Mesoescuto** com porção anterior com par de manchas semicirculares claras; porção posterior mais pálida que o restante do corpo. **Mesosterno** com basisterno pálido, acinzentado anterolateralmente, com mancha escura posteromedial; furcasterno escuro. **Metasterno** semelhante ao mesosterno. **Pernas** homogêneas. Cerdas curtas distribuídas uniformemente. **Fêmures** médios e posteriores mais pálidos que o restante do corpo; linha clara próximo-distal na superfície anterodorsal. **Tíbias** escuras. **Asas** com região costal mais escura que o restante; membrana opaca e acinzentada

nas margens, transparente no centro; veia CuA das asas anteriores mais grossa que veias nas regiões radial posterior e mediana. **Abdômen**: preto e marrom-escuro; tergos bicolores; tergos anteriores pálidos na porção abdominal. Cercos pálidos na margem anterior. **Genitalia** com martelo ligeiramente mais longo que largo, trapezoidal. **Armadura peniana** (Figura 11B): base mais larga que a porção apical; porção basal ocupa metade do comprimento total da armadura. Esclerito dorsal com margens laterais ligeiramente divergentes em direção ao ápice. Ombros pronunciados, ligeiramente projetados. Processo gonoporal com margens paralelas; gonópore arredondado. Esclerito auxiliar bem delimitado, longo. Quilha pronunciada. Base dos ganchos entumecida; ganchos curvos apenas no plano frontal. Vesículas ventrais pareadas, grandes, tocando-se medialmente.

Descrição. Nífa. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral preto. **Cabeça** (Figura 11C, F): preta com manchas claras. Poucas cerdas esparsas, glabra na maior parte. **Labro** preto, uniforme. **Frontoclípeo** ligeiramente claro medialmente; extremidades laterais pretas. **Fronte** predominantemente corada, preta, cobrindo toda a parte anterior, margeando extremidades da sutura ecdizial, afunilando centralmente, estreitando entre os ocelos, sem tocá-los; par de manchas circulares sobressalentes na região das cicatrizes tentoriais. Mancha clara margeando os ocelos, lateralmente estendendo-se até as manchas circulares. Linha M pouco visível, como sombra suave. **Vértex** suavemente corado na porção central e margem da borda posterior, contínuo com mancha escura estreita entre os ocelos da fronte. Par de manchas claras laterais, contínuas com manchas claras da fronte. **Antenas** com escapo e pedicelo marrons-escuros, flagelo marrom-claro. **Tórax** (Figura 11C, D, F): preto e marrom. Cerdas esparsas; áreas grablas. Bordas com cerdas médias, irregulares. **Pronoto** predominantemente preto; laterais mais escuras; poucas manchas visíveis, apenas como leve sombra; linha longitudinal medial marrom clara, muito fina; porção central da borda posterior amarelada. **Mesonoto** com manchas centrais pouco evidentes, indefinidas; margens laterais e borda posterior mais escuras. Tecas alares levemente mais claras; ápice com faixa clara estreita margeando a borda. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** marrons. **Fêmures** com mancha clara na região proximal da margem externa e distal da face anterodorsal. Face anterodorsal com cerdas robustas; face posteroventral com cerdas finas. **Tíbias** com aspecto amarelado, mais claras distalmente. Faixa de pelos da margem externa pouco densa, curta; cerdas grossas e curtas em fileira na margem externa e ápice distal. **Abdômen** (Figura 11E, F): preto e marrom-escuro; tergos bicolores; tergo 10 amarelado na porção posterior. Cerdas médias, uniformemente

distribuídas. **Cercos** amarelados, claros, uniformes; cerdas distribuídas esparsamente.

Brânquias: ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Medidas. Macho (N = 4) largura da cabeça, 1,7–1,9 mm; largura do pronoto, 1,5–1,8 mm; comprimento da asa anterior: 8,2–9,0 mm. Ninfã (N = 6) largura da cabeça: 2,0–2,6 mm; comprimento do corpo: 7,8–9,5 mm.

Diagnose. Macho. Pequeno, marrom-escuro a preto, com coloração uniforme; flagelômeros claros; fêmures médios e posteriores com linha clara próximo-distal; armadura peniana robusta, de base larga; esclerito dorsal com margens divergentes, ombros pronunciados e curvados ventralmente; processo gonoporal com margens paralelas e gonóporo arredondado; quilha pronunciada; vesículas ventrais grandes, pareadas, tocando-se medialmente (Figura 11).

Comentários. Macho. A coloração geral e padrão de manchas na cabeça e pronoto de *A. sp. nov. 01* são semelhantes aos de *A. petersi* e *A. polita*. Porém, os flagelômeros são mais claros que em ambas; fêmures mais uniformes, com linha clara próximo-distal nas pernas médias e posteriores; armadura peniana mais robusta, menos afunilada, divergindo na forma da quilha e do processo gonoporal. A estrutura do processo gonoporal lembra àquela de *A. vanini*, mas o adulto apresenta diferenças marcantes na cor geral e no padrão de manchas. Asas anteriores ligeiramente menores que nas demais espécies citadas. Ao comparar a armadura penial dos espécimes de *A. sp. nov. 01* de três localidades, aqueles do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (MG) apresentam aspecto geral mais largo que o da Estação Biológica de Boracéia (SP). O da REBIO Araras (RJ) apresenta aspecto geral intermediário entre os dois. Nesse trabalho, a espécie nova (macho) é apresentada. Ninfã. Semelhante àquela de *A. vanini* em tamanho, cor geral e padrão de manchas. Difere no padrão de manchas na cabeça: parte do vértex e da porção posterior da fronte suavemente coradas em *A. sp. nov. 01*, enquanto em *A. vanini* a maior parte da cabeça, vértex e porção posterior da fronte são claros. Neste trabalho, a ninfã da espécie é associada ao adulto.

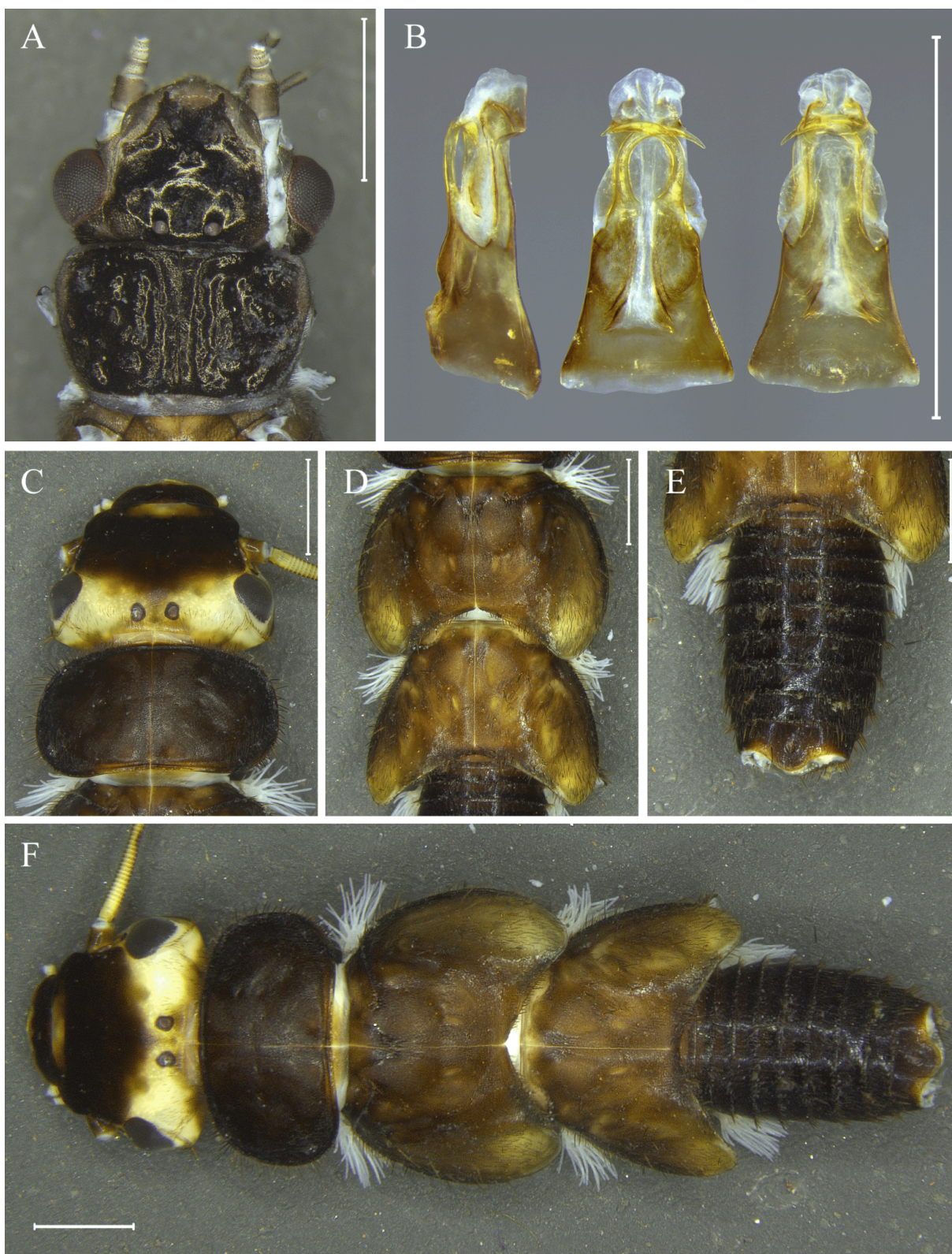


Figura 11. *Anacroneuria* sp. nov. 01, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Nífa: cabeça e pronoto (C); tórax (D); abdômen (E); vista dorsal do corpo inteiro (F). Escalas: 1 mm.

***Anacroneuria* sp. nov. 02** (Figuras 12 e 13)

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Rio Guaratuba, 20.IV.2024–23.IV.2024, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Bispo *et al. leg.* (CIACGF – DP1101); 15.III.2024–21.III.2024, LED (UV, azul e verde), 1 macho e 1 fêmea, Taniguti & Gonçalves *leg.* (CIACGF – DP1199, DP1200); 21.IV.2024, rede D, 1 ninfa, Bispo *et al. leg.* (CIACGF – DP1111); 19.III.2024, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Gonçalves *leg.* (CIACGF – DP1277); 21.IV.2024, rede D, 1 ninfa, Bispo *et al. leg.* (CIACGF – DP1330).

Descrição. Macho. Teneral. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral clara. **Cabeça** (Figura 12A): clara com manchas marrons e amarelas. Cerdas curtas, marrons, uniformes, exceto medialmente. **Frontoclípeo** claro; lóbulos emarginados por faixa levemente sombreada, ligeiramente translúcidos. **Fronte** corada. Linha M clara, opaca, incompleta, interrompida entre base e arestas. Mancha circular marrom-escura central, abrangendo porção anterior aos ocelos e posteriormente a área entre eles. Par de manchas marrom-escuras nos ângulos posteriores da linha M. Mancha amarela anterior, entre interrupções da linha M, contornando mancha circular escura. Cicatrizes tentoriais pouco visíveis, ligeiramente mais claras. **Vértex** escurecido central e posteriormente. **Genas** claras. **Antenas** claras, uniformes. Cobertas por cerdas marrons, uniformemente distribuídas. **Palpo maxilar** com quatro palpômeros; segundo palpômero equivalente à soma dos palpômeros três e quatro. **Palpo labial** com três palpômeros; submento com mancha amarela central; dentro dela, par de manchas claras anterolaterais. **Tórax:** marrom. Cerdas curtas, uniformemente distribuídas. **Pronoto** (Figura 12A) marrom-escuro. Faixa longitudinal amarela, com ápices afilados, estendendo-se ao longo da sutura central. Porções laterais anteriores brancas. Suturas pretas. Superfície com rugosidade uniforme. **Prosterno** com região central amarelada, cobrindo parte do furcasterno e do basisterno. Restante pálido. **Mesoescuto** e **metaescuto** com mancha posterior em U, corada de marrom. **Mesosterno** com basisterno apresentando mancha amarela posteromedial. **Metasterno** semelhante ao mesosterno. **Pernas** claras. Cerdas curtas distribuídas uniformemente. **Fêmures** com mancha preta no ápice distal, em anel incompleto, sem alcançar a margem interna. **Tíbias** com par de linhas curtas e delgadas, mais evidentes proximalmente, menos distalmente, nas margens interna e externa. **Asas** com região Sc e Sc+RA com membrana mais opaca que o restante, hialino. Veias RP com 2 bifurcações. **Abdômen:** uniforme. Genitália com martelo de comprimento e largura equivalentes,

cilíndrico. **Armadura peniana** (Figura 12B): base mais larga que a porção apical; porção basal ocupa metade do comprimento total. Esclerito dorsal com margens laterais divergentes; margem dorsal espessa na região mediana, semiconvexa. Ombros afunilam-se em direção ao ápice; ápice curvado ventralmente às vesículas. Processo gonoporal oblíquo, inclinado ventralmente; base ligeiramente mais larga que o ápice do ombro, margens levemente afuniladas; gonópore arredondado. Esclerito auxiliar delgado, curto; membrana do sulco lateral não expandida. Quilha pronunciada, altura semelhante aos ombros. Bases dos ganchos próximas, ligeiramente entumecidas, afilando-se próximo à base; espessura uniforme até o ápice, onde se afilam. Ganchos curvos apenas no plano frontal. Vesículas ventrais pareadas, pequenas, tocando-se ligeiramente.

Descrição. Ninf. Espécie de tamanho pequeno. Cor geral marrom. **Cabeça** (Figura 12C, F): marrom com manchas claras. Poucas cerdas, glabra na maior parte. **Labro** marrom; bordas laterais mais escuras. **Frontoclípeo** ligeiramente mais claro medialmente que nas porções laterais. **Fronte** corada na maior parte, ligeiramente mais escura anteriormente que posteriormente; parte central amarelada; margens laterais escurecidas. Linha M pouco evidente, clara e incompleta. Porção posterior central com mancha clara entre, ao redor e lateralmente aos ocelos. **Vértex** predominantemente claro, contínuo com mancha clara posterior a fronte; pequena mancha central amarelada, suave. **Antenas** com esclerito antenal, escapo e pedicelo amarelados; flagelo marrom claro. **Tórax** (Figura 12C, D, F): marrom com manchas claras. Cerdas curtas, esparsas, com áreas grablas; bordas com cerdas curtas, uniformes. **Pronoto** com região central mais clara, amarelada; manchas pouco definidas; laterais marrom-escuros; borda posterior central ligeiramente amarelada. **Mesonoto** com manchas centrais bem definidas, claras, contornos suaves, não conectadas. Tegas alares com margens laterais escuras; ápices claros. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** marrons. **Fêmures** marrom claro; face anterodorsal coberta por cerdas robustas; face posteroventral por cerdas finas. **Tíbias** marrom claro, escurecidas proximalmente; faixa de pêlos pouco densa e fileira de cerdas curtas e robustas na margem externa. **Abdômen** (Figura 12E, F): marrom; tergos bicolores, exceto tergos 9 e 10, homogêneos. Cerdas curtas, distribuídas uniformemente. **Cercos** marrons, homogêneos; cerdas esparsas. **Brânquias:** ASC [1], PSC [1], AT [2,3], PT [3], A [1].

Descrição. Fêmea. Cor geral marrom. **Cabeça** (Figura 13A): corada, marrom com manchas claras amareladas. Cerdas curtas, esparsas, pouco evidentes. **Frontoclípeo** claro, opaco na maior parte; lóbulos escurecidos. **Fronte** com linha M ligeiramente clara, opaca, incompleta, interrompida entre base e arestas. Par de manchas claras, amareladas, cruzando interrupções da linha M, formando “X” evidente. Mancha clara contínua cobrindo margens laterais e posterior da fronte. Mancha escura margeando ângulo anterior do “X”. Par de manchas escuras preenchendo ângulos posteriores das arestas da linha M. Mancha escura circular central, abrangendo área anterior aos ocelos e região posterior entre eles. Cicatrizes tentoriais pouco visíveis, ligeiramente mais claras. **Vértex** ligeiramente escurecido centralmente e posteriormente. **Genas** marrom, homogêneas. **Antenas** marrons. Escapo e pedicelos mais escuros que flagelos. Flagelômeros uniformes em cor e distribuição de cerdas. **Lábio** de cor clara; premento esbranquiçado; mento amarelado. **Palpo labial** com três palpômeros, claros. Palpo basal estreito proximalmente, alargando-se distalmente. **Tórax**: marrom com manchas claras. Cerdas curtas, esparsas. **Pronoto** (Figura 13A) com faixa longitudinal medial clara, evidente, bordas paralelas anterior e medialmente, bifurcando posteriormente. Manchas ligeiramente claras nas margens laterais. Demais áreas marrom-escuro. Rugosidades distribuídas esparsamente na superfície. **Prosterno** de cor clara; basisterno amarelado; furcasterno esbranquiçado; furca marrom, linhas finas. **Mesoescuto** com prescuto marrom-claro; escuto com mancha clara central, estendendo-se anteroposteriormente, formando semilózango no ponto médio; lateralmente, par de manchas escuras, mais largas anteriormente que posteriormente, margeando a mancha clara; regiões laterais claras. **Mesoesterno** claro; presterno com duas linhas brancas longitudinais paralelas, anteroposteriores, estendendo-se por toda a extensão; basisterno semelhante ao prosterno, exceto laterais, mais claras com veias marrons. **Metaescuto** semelhante ao mesoscuto, porém com traços mais suaves. **Metaesterno** semelhante ao mesosterno. **Pernas** com cerdas curtas distribuídas uniformemente. **Fêmures** com mancha clara proximal, escura distal. Face anterodorsal mais escura que a posteroventral. Margens internas amareladas, especialmente proximal da margem externa. **Tíbias** marrom-escuro, com manchas amarelas nos ápices e na margem interna. **Asas** com nervuras predominantemente douradas. Áreas entre nervuras hialinas na maior parte; porção distal entre C e Sc+RA opaca. Nervuras C, Sc e RA mais escuras proximais. Nervura transversal RA-RP mais escura que as demais. **Abdômen**: esternitos abdominais brancos, pálidos, homogêneos, exceto região da genitália ligeiramente amarelada. **Genitália** (Figura 13B): placa subgenital com quatro lobos, centrais arredondados,

laterais agudos, ligeiramente mais pronunciados; entalhes central e laterais bem definidos, aspecto suave; esterno 9 com margem posterior sinuosa lateralmente, entalhes marcados; cerdas douradas centrais. **Cercos** claros com cerdas douradas.

Medidas. Macho (n=2): largura da cabeça, 2,0 mm; largura do pronoto, 1,8 mm; comprimento da asa anterior, 10,1–10,8 mm. Fêmea (n=1) comprimento da asa anterior: 14,0 mm. Ninfas (n=3) largura da cabeça, 2,4–3,0 mm; comprimento do corpo, 9,0–11,0 mm.

Diagnose. Macho. Teneral. Cor geral clara. Cabeça com linha M clara, incompleta; manchas claras entre fragmentos da linha M; manchas escuras nos ângulos posteriores da linha M; mancha circular marrom-escura central, semicircundada por manchas claras; manchas mais claras próximas às cicatrizes tentoriais. Armadura peniana: bases dos ganchos próximas; ganchos afilados proximalmente, espessura constante até quase a região distal; esclerito auxiliar delgado e curto; quilha pronunciada; processo gonoporal oblíquo (Figura 12).

Comentários. *Anacroneuria* sp. nov. 02 difere das demais espécies do gênero principalmente pelos padrões únicos de manchas na cabeça (macho e fêmea) e pela morfologia da armadura peniana. Os machos assemelham-se aos de *A. boraceiensis* no tamanho e na coloração geral, além de apresentarem padrão de manchas no pronoto muito semelhante. Diferem, entretanto, pelo padrão de manchas na cabeça. As armaduras penianas de *A. boraceiensis* e *A. amargosa* (Righi-Cavallaro *et al.*, 2013) são semelhantes àquela de *A. sp. nov. 02*, mas esta difere das demais por apresentar margem dorsal com paredes medianas mais robustas, ligeiramente elevadas e de formato semiconvexo. A quilha é mais proeminente que em ambas. Além disso, *A. amargosa* possui manchas na cabeça e no pronoto distintas e tamanho geral maior que *A. sp. nov. 02*. As fêmeas são semelhantes àsquelas de *A. boraceiensis* no tamanho, cor geral, padrões de manchas no pronoto, mesonoto e metanoto, padrões nos fêmures e coloração das asas, mas diferem pelo padrão de manchas na cabeça e pelo formato da placa subgenital, que apresenta lobos e entalhes mais pronunciados. As ninfas diferem das de outras espécies conhecidas do gênero, principalmente, pelo padrão de manchas na cabeça. Esse padrão é semelhante ao de *A. subcostalis*, mas *A. sp. nov. 2* é mais escura que *A. subcostalis* e mais clara que *A. petersi*. É muito semelhante no padrão geral de coloração e nas manchas da cabeça a *A. polita* e *A. itajaimirim* (Almeida *et al.*, 2024a), porém, ambas diferindo,

sobretudo, nas manchas claras da parte posterior da fronte. Neste trabalho, a espécie nova é apresentada com macho, fêmea e ninfa descritos.

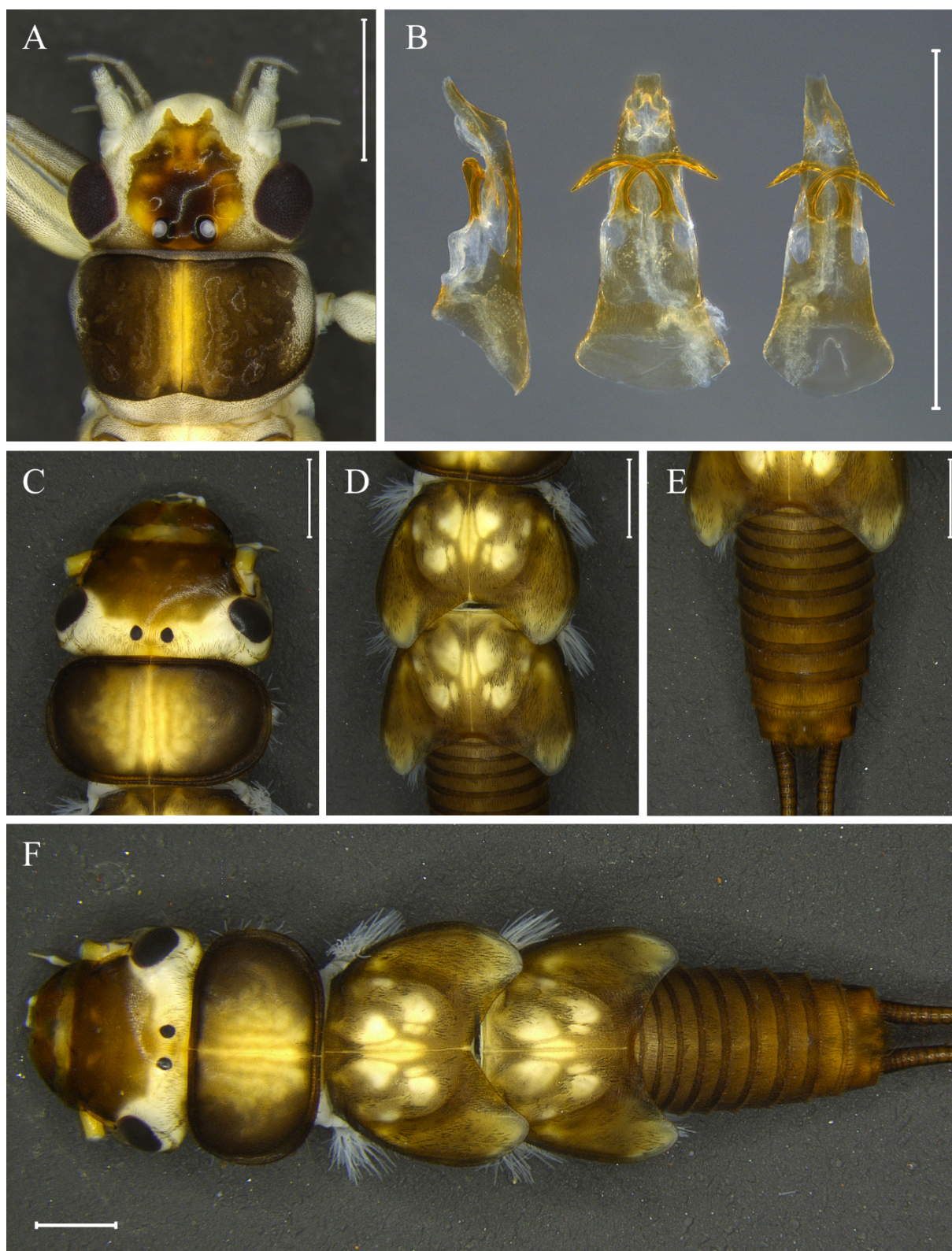


Figura 12. *Anacroneuria* sp. nov. 02, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Ninfã: cabeça e pronoto (C); tórax (D); abdômen (E); vista dorsal do corpo inteiro (F). Escalas: 1 mm.

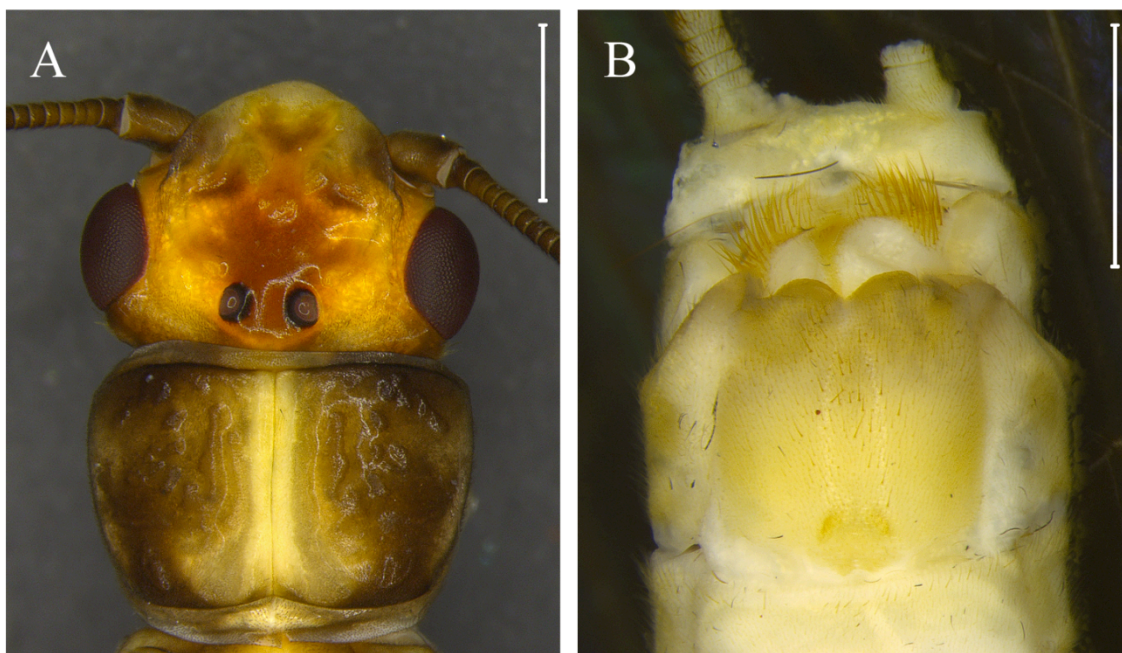


Figura 13. *Anacroneuria* sp. nov. 02, fêmea: cabeça e pronoto (A); placa subgenital (B). Escalas: 1 mm.

3.3.2 Gênero *Kempnyia*

Kempnyia morfoespécie 01 (Figura 14)

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, 23°39'23,9"S 45°52'28,4"W, 24.XI.2023, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP906); 23°39'23,9"S 45°52'30,0"W, 14.I.2024, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Sabino *leg.* (CIACGF – DP907).

Descrição. Ninfa. Espécie de tamanho médio. Cor geral marrom claro. **Cabeça** (Figura 14A, D): marrom com manchas claras. Poucas cerdas, esparsas; glabra na maior parte. Labro marrom; par de pontos escuros na borda anterior, centralizados. **Frontoclípeo** ligeiramente claro medialmente, extremidades laterais homogêneas. **Fronte** com par de manchas claras, circulares, na parte anterior, equidistantes entre si e das margens laterais. Linha M bem evidente, clara, semicompleta. Margens laterais centrais com par de manchas escuras. Mancha ligeiramente escurecida entre os três ocelos. Manchas ligeiramente claras, adjacentes aos ocelos, formando semicírculo pouco evidente. **Vértex** claro na maior parte; mancha central entre os ocelos, margeando o semicírculo da sutura ecdizial, afunilando posteriormente em

forma triangular com ápice agudo; claro entre os olhos e na maior parte das porções laterais e posteriores. Par de manchas escuras nas bordas posteriores dos ocelos e na sutura ecdizial, lateralmente adjacentes aos ocelos, afunilando posteriormente para o centro. **Antenas** marrons, homogêneas. **Tórax** (Figura 14A, B, D): marrom com manchas claras. Cerdas uniformemente distribuídas na maior parte, poucas áreas grábas; bordas com cerdas curtas, uniformes. **Pronoto** com manchas centrais claras, bem definidas; mancha medial em formato de T, estreita anteriormente, ligeiramente mais larga posteriormente. **Mesonoto** com manchas centrais bem definidas, claras; rodeadas por mancha marrom escura. Tecas alares com margens laterais escuras; porção posterior central ligeiramente escurecida; ápices claros. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** claras, homogêneas. **Fêmures** com cerdas marrons, uniformemente distribuídas. **Tíbias** com faixa de pêlos da margem externa clara, fina. Cerdas grossas predominantes no ápice distal, poucas. **Abdômen** (Figura 14C, D): marrom; tergos bicolores, exceto 9 e 10. Tergos 1–4 com par de pontos claros, pequenos, dorsalmente. Tergos 9 e 10 com mancha clara, dorsal, longitudinal, alongada. Cerdas distribuídas uniformemente. **Cercos** marrom claros, uniformes; cerdas distribuídas em anéis uniformes. **Brânquias**: ASC [1], PSC [1–3], AT [2,3], PT [3], A [1], SL.

Medidas. Ninfa (n=2): largura da cabeça, 4,0–4,2 mm; comprimento do corpo, 14,0 mm.

Comentários. Ninfa não associada aos adultos. Semelhante à ninfa de *K. krenaki* (Almeida *et al.* 2025a) no padrão geral de coloração e manchas da cabeça. Difere pela mancha clara central do vértex menor e restrita à porção centro-frontal, enquanto em *K. krenaki* estende-se até a porção posterior. Pronoto com padrão semelhante; meso e metanoto com padrões distintos.

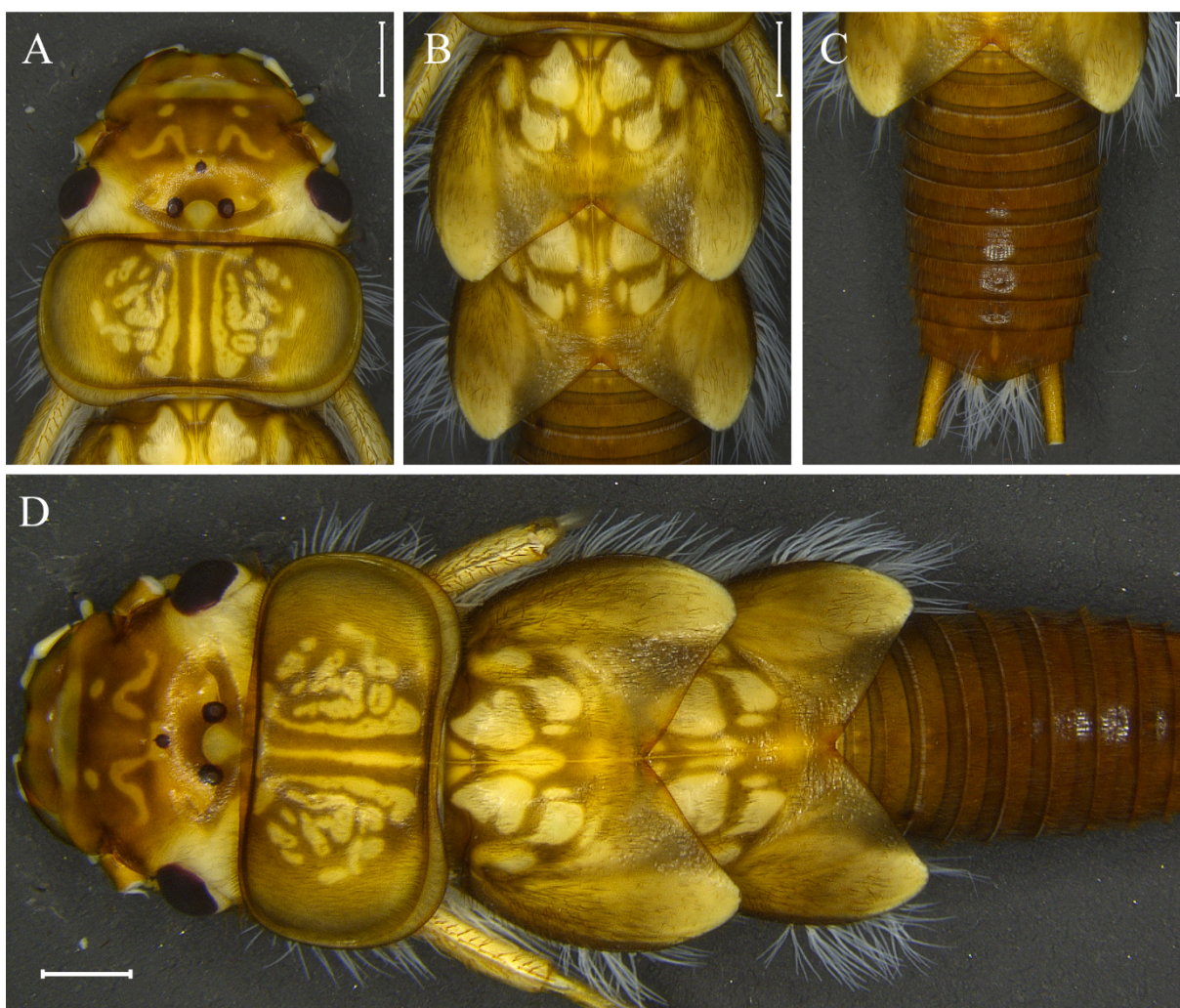


Figura 14. *Kempnyia* morfoespécie 01, ninfa: cabeça e pronoto (A); tórax (B); abdome (C); vista dorsal do corpo inteiro (D). Escalas: 1 mm.

***Kempnyia mirim* Froehlich, 1984 (Figura 15)**

Kempnyia mirim Froehlich 1984: 140, descrição; Stark 2001: 415, checklist; Stark *et al.*, 2009: 124, checklist; Froehlich 2010a: 181, catálogo; Froehlich 2011a: 03, checklist; Novaes & Bispo 2014b: 283, registro; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist; Almeida *et al.*, 2024b: 8, novo registro e distribuição.

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Ribeirão Coruja, 18.I.2024, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Taniguti & Sabino *leg.* (CIACGF – DP911).

Medidas. Macho (n=1) comprimento da asa anterior: 10,5 mm.

Comentários. *Kempnyia mirim* é uma das menores espécies do gênero *Kempnyia*. A armadura peniana é compatível com descrições anteriores, sem variações notáveis. As manchas do pronoto são mais homogêneas que nas amostras de Santa Catarina (Novaes & Bispo, 2014b). Neste trabalho, é apresentado um novo registro da espécie.

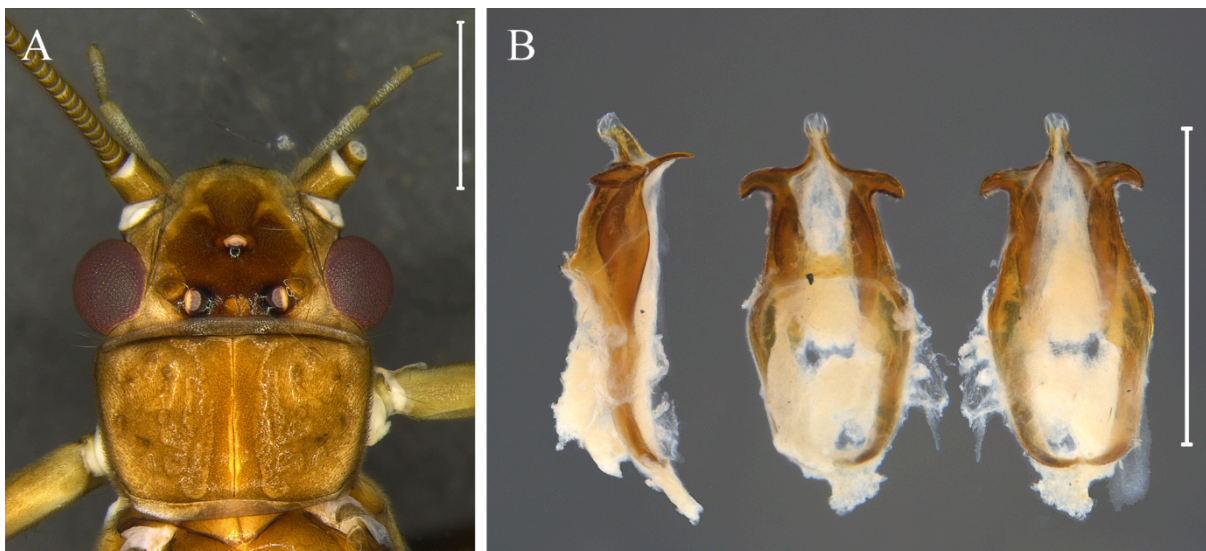


Figura 15. *Kempnyia mirim*, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Escalas: 1 mm.

***Kempnyia neotropica* (Jacobson and Bianchi, 1905) (Figura 16)**

Perla (*Perla*) *obscura* Pictet 1841: 28, descrição; *Perla neotropica* Jacobson & Bianchi 1905: 617, novo nome; *Macrogynoplax aterrima* Klapálek 1916: 73, descrição; *Kempnyia neotropica*, Zwick 1972: 1168, nova combinação e ilustrações; Zwick 1973a: 276, registro; Bispo & Froehlich 2004a: 2, registro; Bispo & Froehlich 2004b: 107, registro; Bispo & Froehlich 2008: 62, ninfa e descrição complementar; Stark 2001: 415, checklist; Stark *et al.*, 2009: 124, checklist; Froehlich 2010a: 181, catálogo; Froehlich 2011b: 133, ilustração; Froehlich 2011c: 22, registro; Duarte *et al.*, 2014: 89, registro; Novaes & Bispo 2014a: 464, ilustração e figura; Novaes & Bispo 2014b: 283, ilustração e figura; Novaes & Bispo 2014c: 439, registro; Novaes *et al.*, 2016: 98, registro; Gonçalves *et al.*, 2017: 147, registro; Gonçalves *et al.*, 2019: 107, checklist; Almeida & Bispo 2020: 19, sequência de COI e *K.*

petersorum como sinônimo júnior; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist; Almeida *et al.*, 2024b: 11, novos registros e distribuição.

Kempnyia petersorum Froehlich 1996: 119, descrição; Froehlich 2011b: 134, ilustração.

Kempnyia aff. neotropica 01 (Figura 16 A–B)

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Ribeirão Coruja, 16.I.2024, LED (UV, azul e verde), 1 macho e 1 fêmea, Taniguti & Sabino *leg.* (CIACGF – DP914, DP1079); Rio Guaratuba, 16.I.2024, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Taniguti & Sabino *leg.* (CIACGF – DP1085).

Medidas. Macho (n=2): comprimento da asa anterior, 13,0–13,3 mm. Fêmea (n=1): comprimento da asa anterior, 17,8 mm.

Kempnyia aff. neotropica 02 (Figura 16 C–D)

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, 23°39'26,9"S 45°52'30,0"W, 15–21.III.2024, LED (UV, azul e verde), 1 macho e 1 fêmea, Taniguti & Gonçalves *leg.* (CIACGF – DP1222, DP1223); 17.I.2024, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Taniguti & Sabino *leg.* (CIACGF – DP1339).

Medidas. Macho (n=2): comprimento da asa anterior, 13,0–13,4 mm. Fêmea (n=1): comprimento da asa anterior, 19,5 mm.

Kempnyia aff. neotropica 03 ((Figura 16 E–F)

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Ribeirão Coruja, 24.I.2023, LED (UV, azul e verde), 1 macho e 1 fêmea, Almeida & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP788, DP791); 09.XII.2022, rede D, 1 ninfa, Almeida & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP857); Córrego Venerando, 23.I.2023, rede D, 1 ninfa, Almeida & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP858).

Medidas. Macho (n=1): comprimento da asa anterior, 17,4 mm. Fêmea (n=1): comprimento da asa anterior, 23,0 mm. Ninfas (n=2): largura da cabeça, 4,2–5,1 mm; comprimento do corpo, 14,0–18,9 mm.

Comentários. As análises moleculares sugerem que *Kempnyia neotropica* forma um complexo, uma vez que identificaram três linhagens, as quais correspondem a três morfotipos coletados: *K. aff. neotropica* 01, 02 e 03. Morfotipos 01 e 02 não ocorreram nos mesmos riachos. Por outro lado, o morfotipo 03 foi coletado em um riacho com o morfótipo 01 e em outro riacho com o morfótipo 02. Morfotipos 01 e 02 de tamanho mediano. Morfotipo 03 significativamente maior. Machos de 02 e 03 predominantemente escuros. Machos de 01 ligeiramente mais claros; fêmures com porção proximal clara-amarelada. Armaduras peniais semelhantes de modo geral, mas com diferenças. Projeções espiniformes maiores e mais abundantes em 01, presentes e menores em 02, escassos e diminutos em 03. Escleritos sinuosos em 01 e 03, mais retos em 02. Região basal e central mais estreita em 02. Maior afunilamento da região apical em 03. Dobra dorsal mais robusta em 03. Fêmeas de *K. aff. neotropica* 01, 02 e 03 mais claras que machos; distinguíveis pela mancha clara no pronoto, 01 e 02 podem apresentar mancha amarelada grande na parte medial; 03 geralmente com linhas ou faixas claras longitudinais mediais. Fêmures, 01 com porção proximal clara-amarelada; 03 apenas ápice proximal claro; 02 mais escuros homogêneos.

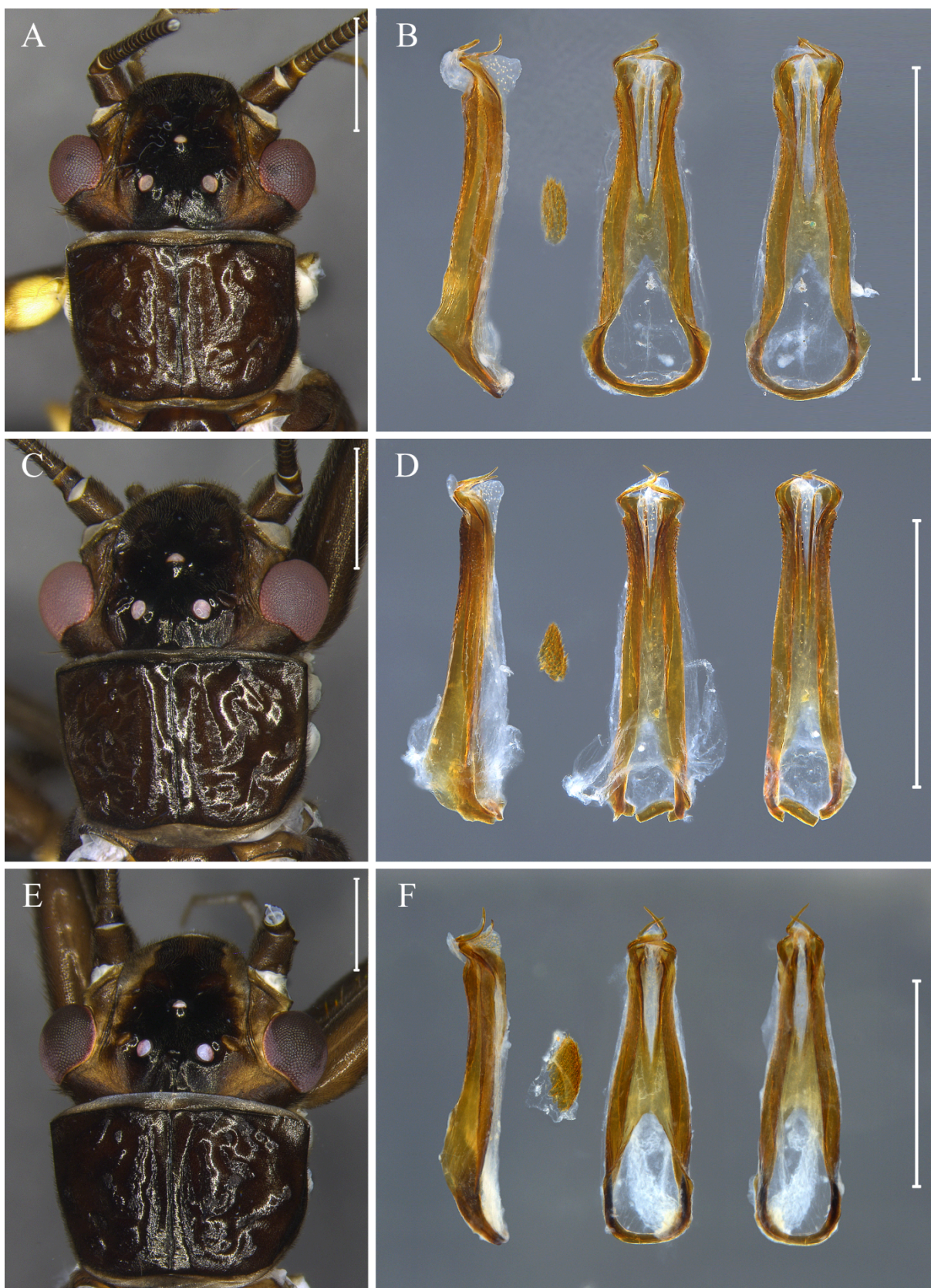


Figura 16. *Kempnyia* aff. *neotropica* 01, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). *Kempnyia* aff. *neotropica* 02, macho: cabeça e pronoto (C); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (D). *Kempnyia* aff. *neotropica* 03, macho: cabeça e pronoto (E); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (F). Escalas: 1 mm.

***Kempnyia obtusa* Klapálek, 1916 (Figura 17)**

Kempnyia obtusa Klapálek 1916: 51, descrição; Illies 1966: 340, catálogo; Zwick 1972: 1171, ilustrações; Froehlich 1988: 153, ilustrações; Stark 2001: 415, checklist; Stark *et al.*, 2009: 124, checklist; Froehlich 2010a: 181, catálogo; Froehlich 2011a: 03, checklist; Froehlich 2011c: 22, ilustração; Avelino-Capistrano *et al.*, 2014: 330, descrição de ninfa; Novaes & Bispo 2014c: 439, registro; Gonçalves *et al.*, 2017: 148, registro; Gonçalves *et al.*, 2019: 107, checklist; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist; : Almeida *et al.*, 2024b: 13, novo registro e distribuição.

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Ribeirão Coruja, 24.I.2023, LED (UV, azul e verde), 1 macho, Almeida & Taniguti *leg.* (CIACGF – DP704).

Medidas. Macho (n=1) comprimento da asa anterior: 18,0 mm.

Comentários. A espécie pode ser facilmente identificada pela armadura peniana característica. O padrão de manchas na cabeça e no pronoto do espécime coletado na Estação Biológica de Boracéia é consistente com o observado em espécimes de outras regiões do Brasil (Almeida *et al.*, 2024b). Neste trabalho, é apresentado um novo registro da espécie.

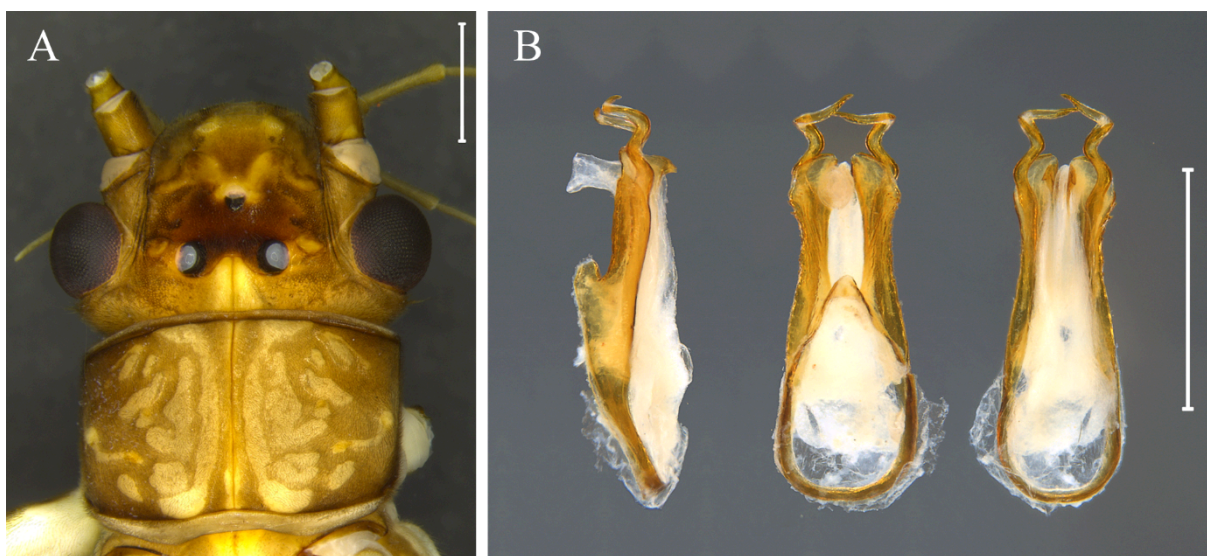


Figura 17. *Kempnyia obtusa*, macho: cabeça e pronoto (A); armadura peniana em vistas lateral, ventral e dorsal (B). Escalas: 1 mm.

***Kempnyia vanini* Froehlich, 1988** (Figura 18)

Kempnyia vanini Froehlich 1988: 164, descrição; Bispo & Froehlich 2004b: 02, registro; Stark 2001: 415, checklist; Stark *et al.*, 2009: 124, checklist; Froehlich 2010a: 182, catálogo; Froehlich 2011a: 03, checklist; Taniguti *et al.*, 2023: 10, checklist; Almeida *et al.*, 2024b: 19, sequência de COI, mal identificada como *Kempnyia umbrina*; Almeida *et al.*, 2025a: 05, correção da identificação de Almeida *et al.*, 2024b.

Material examinado. BR, SP: Salesópolis, Estação Biológica de Boracéia, Rio Claro, 23.XI.2023, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Lima *leg.* (CIACGF – DP908); "Rio Tão Tão Distante" 23°39'48,3"S 45°52'45,9"W, 23.x.2025, rede D, 1 ninfa, Taniguti & Amaral *leg.* (CIACGF – DP1551).

Descrição. Ninfa. Espécie de tamanho médio. Cor geral marrom. **Cabeça** (Figura 18A, D): marrom com manchas claras. Poucas cerdas, esparsas. **Labro** marrom escuro; ponto claro central na borda anterior; mancha clara estreita na porção central da borda posterior. **Frontoclípeo** marrom claro, homogêneo; exceto por mancha estreita, ligeiramente escura nas extremidades laterais. **Fronte** marrom-escuro anterior até porção média, sem atingir o ocelo central; homogênea. Linha sinuosa delimitando mancha, com pequena concavidade central sobre o ocelo e duas concavidades maiores médio-laterais. Linha M incompleta, clara, visível na parte apical anterior e em metade das arestas internas. Porção entre os três ocelos com mancha marrom, levemente corada; áreas adjacentes claras. **Vértex** claro na maior parte, contínuo com manchas claras posteriores da fronte; mancha clara em toda porção lateral. Mancha ligeiramente opaca na região central. Margem posterior central com mancha escurecida. **Antenas** uniformemente claras. **Tórax** (Figura 18A, B, D): marrom com manchas claras. Cerdas esparsas na maior parte; bordas com cerdas curtas, uniformes. **Pronoto** com manchas centrais claras, bem definidas; mancha medial longitudinal estreita, não tocando as bordas, mais estreita anteriormente, alargando levemente posteriormente; algumas manchas adjacentes unidas, formando par de manchas grandes. Áreas laterais marrom escuro. Borda externa marrom opaca. **Mesonoto** com manchas centrais fundidas em única, clara, bem definida. Larga anteriormente, afunilada posteriormente, ápice agudo. Rodeadas por mancha marrom escura. Tecas alares com margens laterais com faixas escuras; porção interna e ápices posteriores claros. **Metanoto** semelhante ao mesonoto. **Pernas** uniformemente claras.

Fêmures com cerdas curtas, marrons, esparsas, predominantemente nas margens. **Tíbias** com faixa de pelos da margem externa clara, fina. Cerdas grossas robustas escassas. **Abdômen** (Figura 18C, D): marrom; tergos bicolores; exceto 10 mais escuro, linha escura, dorsal, longitudinal. Cerdas curtas distribuídas uniformemente. **Cercos** marrom claros, uniformes; cerdas distribuídas em anéis uniformes. **Brânquias**: ASC [1], PSC [1–3], AT [2,3], PT [3], A [1], SL.

Medidas. Ninfas (n=2) largura da cabeça, 3,3–3,8 mm; comprimento do corpo, 12,4–13,5 mm.

Comentários. As ninfas de *K. vanini* diferem das demais espécies do gênero pelos padrões de manchas da cabeça e do tórax. O padrão da cabeça, com região anterior escura e posterior clara, lembra o de *K. neotropica* (Bispo & Froehlich, 2008); entretanto, diferem na linha que divide as manchas, mais sinuosa em *K. vanini*, e nas manchas do meso- e metanoto, com predominância de manchas claras e padrão único. Além disso, as ninfas de *K. neotropica* são maiores. Neste trabalho, a ninfa da espécie é associada ao adulto pela primeira vez.

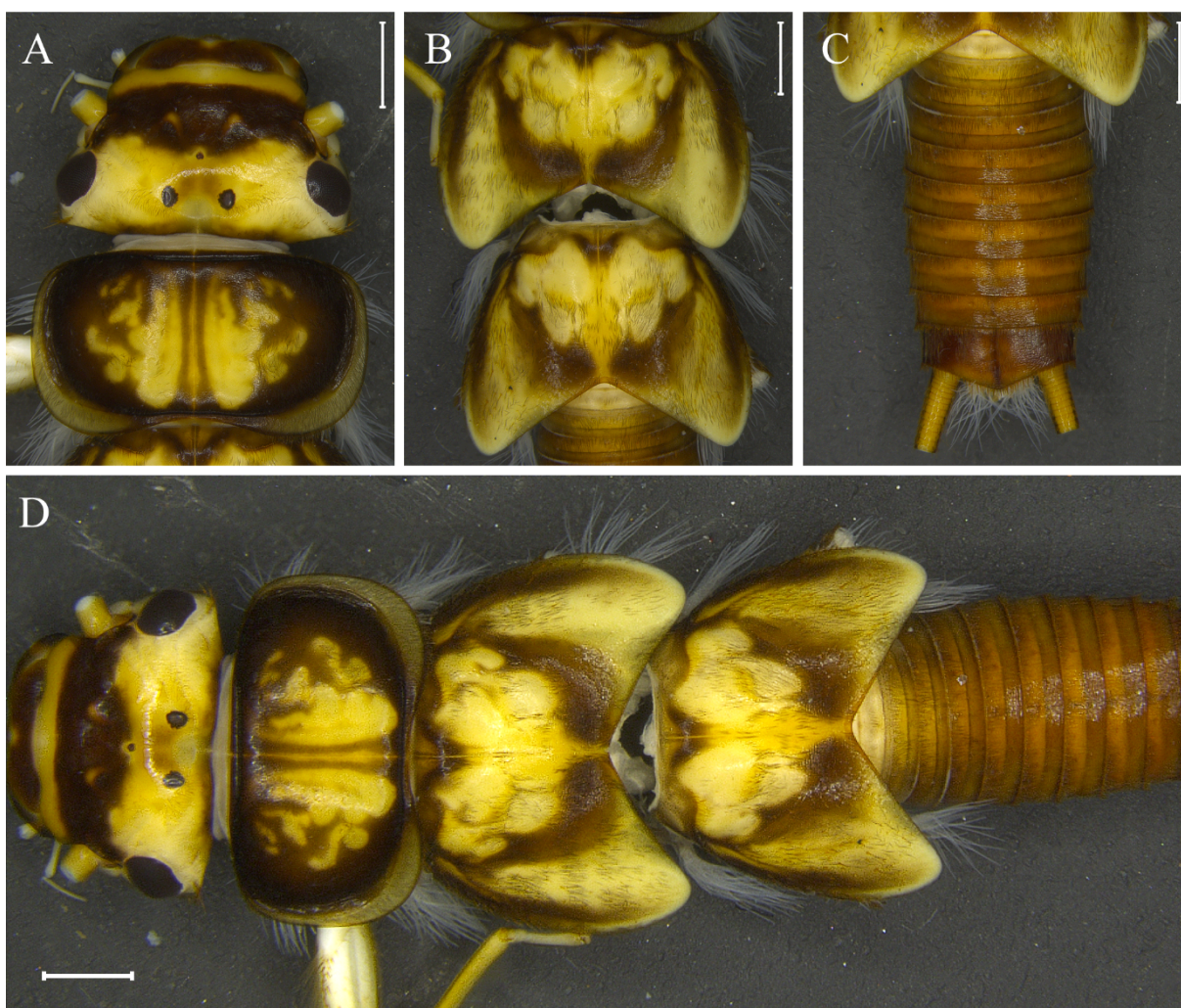


Figura 18. *Kempnyia vanini*, ninfa: cabeça e pronoto (A); tórax (B); abdome (C); vista dorsal do corpo inteiro (D). Escalas: 1 mm.

4 DISCUSSÃO

Este estudo atualiza e amplia o conhecimento sobre a diversidade de Perlidae na Estação Biológica de Boracéia (EBB) ao integrar dados morfológicos e moleculares para a delimitação de espécies. A confirmação de 13 das 16 espécies previamente registradas e a inclusão de novos registros (*Kempnyia obtusa* e *K. mirim*) e espécies novas de *Anacroneuria* (*A. sp. nov. 01* e *A. sp. nov. 02*) reforçam a importância de esforços contínuos de amostragem, mesmo em áreas relativamente bem estudadas.

Além disso, o presente estudo ampliou substancialmente o conhecimento sobre os estágios imaturos de Perlidae na EBB com a descrição de ninfas desconhecidas de 13 espécies

(onze de *Anacroneuria* e duas de *Kempnyia*). Dessas, dez foram associadas a adultos, enquanto três morfotipos permanecem sem adultos conhecidos, indicando que o conhecimento sobre a diversidade de Perlidae na região ainda está incompleta.

Considerando que, até pouco tempo (2023), apenas quatro ninfas das espécies de Perlidae da EBB haviam sido associadas aos adultos (Froehlich, 1984a; Bispo & Froehlich, 2008; Avelino-Capistrano *et al.*, 2011a; Bispo *et al.*, 2013), os resultados apresentados aqui representam um avanço considerável. Somando-se as ninfas descritas neste trabalho, o acréscimo do registro de *K. obtusa* (já com ninfa associada; Avelino-Capistrano *et al.*, 2014) e de *K. umbrina* (com ninfa descrita recentemente por Almeida *et al.*, 2025a), o número total de ninfas associadas a adultos aumenta para 16, correspondendo a 80% do total de espécies conhecidas da EBB. Esse avanço representa uma contribuição significativa para o entendimento da fase imatura de Perlidae na região. Ao incluir os três morfotipos sem adultos associados, o total de ninfas descritas para a EBB sobe para 19 (Tabela 2), evidenciando que a diversidade da fauna de Plecoptera ainda possui lacunas, embora muito menores do que anteriormente. Uma observação relevante é que todas as espécies conhecidas do gênero *Anacroneuria* na EBB tiveram suas ninfas devidamente associadas aos respectivos adultos.

Embora o conhecimento sobre as ninfas de Perlidae na Estação Biológica de Boracéia tenha avançado significativamente, o cenário nacional apresenta uma realidade distinta. De acordo com o levantamento realizado por Duarte & Lecci (2023), até 2023, apenas cerca de 20% das espécies brasileiras de Perlidae possuíam ninfas descritas. Desde então, alguns avanços foram obtidos com a publicação de novos trabalhos (Almeida *et al.*, 2024a; Almeida *et al.*, 2025a). No entanto, mesmo com essas contribuições recentes, a proporção de ninfas associadas aos respectivos adultos ainda permanece inferior a 30%. Esse panorama evidencia um déficit considerável no conhecimento sobre os semáforontes do grupo e reforça a importância de investigações adicionais voltadas à descrição e associação dos diferentes estágios de desenvolvimento das espécies.

A análise do gene COI mostrou-se uma ferramenta eficiente para delimitação de espécies de Perlidae e para associação dos estágios de vida, complementando de forma robusta os dados morfológicos. Para a maioria das espécies, foi possível observar um claro gap entre divergências moleculares intra- e interespecíficas, com valores acima de 12% para comparações interespecíficas e geralmente abaixo de 2% para intraespecíficas, o que corrobora os limites morfológicos propostos. No gênero *Anacroneuria*, as divergências intraespecíficas foram baixas para praticamente todas as espécies, como observado para *A.*

boraceiensis (0,4%–1,1%), *A. paulina* (0,0%–0,2%) e *A. uyara* (0,0%–0,2%), o que sugere coesão genética e estabilidade populacional na EBB.

Por outro lado, o gênero *Kempnyia* apresentou um cenário mais complexo. Algumas espécies, como *K. vanini*, apresentaram baixa divergência intraespecífica (<0,5%). No entanto, *K. neotropica* exibiu uma variação molecular incomumente alta, com valores de divergência chegando a 10,4% quando considerada como um único táxon. Ao subdividir os espécimes em três linhagens putativas (*K. aff. neotropica* 01, 02 e 03), a divergência intralinhagem foi drasticamente reduzida (<1,8%), indicando que *K. neotropica* provavelmente representa um complexo de espécies crípticas. Isso é corroborado pelas diferenças morfológicas das três linhagens distintas. Além disso, uma dessas linhagens teve a ninfa associada (*K. aff. neotropica* 03); porém, futuros estudos serão necessários para aprofundar as investigações sobre essas três linhagens, incluindo a consulta ao holótipo de *K. neotropica*, a fim de delimitar as espécies de forma mais segura. Assim, optou-se por não descrever a ninfa até que a questão das linhagens seja solucionada.

Considerando que a EBB se encontra em uma área de Mata Atlântica (alta biodiversidade), nossos resultados sugerem que amostragens adicionais, especialmente em riachos ainda pouco explorados, podem revelar novas espécies e registros para a região, já que a *A. sp. nov. 01*, *K. morfoespécie 01* e *K. aff. neotropica 02* foram coletadas em um riacho que nunca havia sido amostrado anteriormente (23°39'23,9"S 45°52'28,4"W). Por outro lado, riachos amplamente amostrados também podem conter novidades taxonômicas, como foi o caso do Ribeirão Coruja com novos registros (*K. mirim* e *K. obtusa*), do Rio Guaratuba com espécie nova (*A. sp. nov. 02*), do Rio Claro com ninfa inédita (*A. morfoespécie 02*) e do Córrego Venerando com ninfa inédita (*A. morfoespécie 01*).

De forma adicional, é importante destacar que a Estação Biológica de Boracéia apresenta diversos desafios para os pesquisadores, principalmente devido à instabilidade climática. Mudanças repentinas, como chuvas, neblinas e quedas de temperatura, podem dificultar a captura de plecópteros e tornar cada dia de coleta imprevisível. Para contornar essas variações, optou-se por estender a permanência no local por pelo menos uma semana ou mais em cada expedição (em boa parte), aumentando as chances de aproveitar dias com condições favoráveis. Durante essas estadias, foi comum observar grande variação na coleta: alguns dias resultavam em poucas capturas, enquanto outros, dentro da mesma expedição, apresentavam abundância significativa de exemplares. Essa variação evidencia a dinâmica

natural das populações de Perlidae ao longo do tempo, sugerindo que a distribuição e a presença dos indivíduos podem oscilar mesmo em locais e períodos próximos.

De forma geral, este estudo demonstra a importância de uma abordagem integrativa que combina dados morfológicos e moleculares. A análise molecular foi essencial para confirmar identificações morfológicas, delimitar espécies com maior precisão, detectar diversidade críptica e associar ninfas a adultos com alta confiabilidade, permitindo também atualizar o inventário de Perlidae da EBB. Essa integração fornece um panorama mais completo da fauna, possibilitando compreender melhor a diversidade e a dinâmica populacional, além de oferecer uma base sólida para estudos futuros de taxonomia, ecologia e biogeografia.

Este trabalho evidencia ainda a importância de áreas protegidas como a Estação Biológica de Boracéia. A preservação dessas áreas é fundamental, não apenas para conservar a riqueza biológica, mas também para permitir estudos detalhados envolvendo todos os estágios de vida das espécies. Com o presente trabalho contribuímos para a redução dos déficits de conhecimento da fauna de Plecoptera em riachos de Mata Atlântica, o que é fundamental para a conservação da ordem nesse bioma que é fortemente ameaçado pelas atividades antrópicas.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processos nº 19/22833-0 e nº 21/05986-8, pelo apoio financeiro. Paulo Naoto Taniguti e Lucas Henrique de Almeida agradecem à FAPESP respectivamente pelas bolsas de mestrado (nº 2022/15689-3 e BEPE – Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior nº 2024/06462-0) e de pós-doutorado (nº 2021/04798-3); Pitágoras da Conceição Bispo agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de produtividade em pesquisa (nº 306400/2022-7). Os autores dedicam esse trabalho ao Prof. Cláudio Gilberto Froehlich que dedicou sua vida ao estudo da biodiversidade brasileira, incluindo a fauna de Plecoptera da Estação Biológica de Boracéia, deixando um legado imenso para as gerações futuras.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. H.; BISPO, P. C. **Perlidae (Plecoptera) from the Paranapiacaba Mountains, Atlantic Forest, Brazil: Diversity and implications of the integrative approach and teneral specimens on taxonomy.** *PLoS ONE*, v. 15, p. 1–30, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243393>.
- ALMEIDA, L. H.; CARDOSO-LEITE, R.; DEODATO, M. F. B.; BISPO, P. C. **Anacroneuria iporanga (Plecoptera: Perlidae): description of the nymph and biological notes.** *Zootaxa*, v. 4550, n. 1, p. 141–145, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4550.1.10>.
- ALMEIDA, L. H.; CARVALHO GONÇALVES, M.; DA CONCEIÇÃO BISPO, P. **Reducing the Linnean and Wallacean shortfalls to *Anacroneuria* Klapálek, 1909 (Plecoptera: Perlidae) from Brazil: Two new species and several new distributional records.** *Biologia*, v. 80, n. 3, p. 597–614, 2025b.
- ALMEIDA, L. H.; DUARTE, T.; BISPO, P. C. **Complementary studies of the Perlidae (Insecta: Plecoptera) fauna from the Paranapiacaba Mountains using DNA barcode data.** *Zootaxa*, v. 5496, n. 4, p. 500–508, 2024a. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5496.4.5>.
- ALMEIDA, L. H.; DUARTE, T.; BISPO, P. C. **Plecoptera do Brasil.** Disponível em: <https://plecopterabrasil.netlify.app/>. Acesso em: 14 ago. 2025.
- ALMEIDA, L. H.; GASTALDO, R. B.; SALLES, F. F.; BISPO, P. C. **New species and old semaphoronts: updating taxonomic knowledge of *Kempnyia* Klapálek, 1914 (Plecoptera: Perlidae) with an integrative approach.** *Diversity*, v. 17, n. 6, p. 416, 2025a. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/d17060416>.
- ALMEIDA, L. H.; GONÇALVES, M. C.; BISPO, P. C. **An integrative approach to the study of *Kempnyia* Klapálek, 1914 (Plecoptera: Perlidae) from Brazil: Support for the description of four new species and a basis for future studies.** *PLoS ONE*, v. 19, e0305824, 2024b. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305824>.
- ALMEIDA, L. H.; GONÇALVES, M. C.; NOVAES, M. C.; PARESQUI, R. C.; BISPO, P. C. ***Anacroneuria flintorum* Froehlich, 2002 (Plecoptera: Perlidae): notes, distribution, and life stages association using molecular tools.** *Zootaxa*, v. 4370, n. 4, p. 409–420, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4370.4.6>.
- AVELINO-CAPISTRANO, F.; BARBOSA, L. S.; DE ALMEIDA, G. L. **Complementary descriptions of *Kempnyia gracilenta* (Enderlein, 1909) and *Kempnyia reticulata* (Klapálek, 1916) (Plecoptera: Perlidae).** *Illiesia*, v. 7, n. 14, p. 142, 2011a.
- AVELINO-CAPISTRANO, F.; BARBOSA, L. S.; DE ALMEIDA, G. L. **The nymph of *Anacroneuria debilis* (Pictet, 1841) (Plecoptera: Perlidae).** *Zootaxa*, v. 2882, p. 59–63, 2011b.
- AVELINO-CAPISTRANO, F.; BARBOSA, L. S.; TAKIYA, D. M. **Description of a new *Kempnyia* Klapálek from Brazil (Plecoptera: Perlidae) with life stages associated using DNA barcodes.** *Zootaxa*, v. 4079, n. 3, p. 372–380, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4079.3.5>
- AVELINO-CAPISTRANO, F.; NESSIMIAN, J. L.; SANTOS-MALLET, J. R.; TAKIYA, D. M. **DNA-based identification and descriptions of immatures of *Kempnyia* Klapálek (Insecta:**

- Plecoptera) from Macaé River Basin, Rio de Janeiro State, Brazil.** *Freshwater Science*, v. 33, n. 1, p. 325–337, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/675226>.
- BALDIN, C.; BISPO, P. D. C.; NOVAES, M. C. **New species and records of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from Rio de Janeiro State, Brazil.** *Zootaxa*, v. 3694, n. 4, p. 391–397, 2013.
- BÉTHOUX, O.; CUI, Y.; KONDRATIEFF, B., et al. **At last, a Pennsylvanian stem stonefly (Plecoptera) discovered.** *BMC Evolutionary Biology*, v. 11, p. 248, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-248>.
- BISPO, P. C.; CARDOSO-LEITE, R.; LECCI, L. S. **Description of the larva of *Kempnyia colossica* (Navás) (Plecoptera: Perlidae) with biological notes.** *Aquatic Insects*, v. 34, n. 3–4, p. 217–221, 2013.
- BISPO, P. C.; FROEHLICH, C. G. **Description of the larva and redescription of the adult of *Kempnyia neotropica* Jacobsen and Bianchi (Plecoptera: Perlidae) with biological notes.** *Aquatic Insects*, v. 30, n. 1, p. 61–67, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01650420701832239>.
- BISPO, P. C.; FROEHLICH, C. G. **Perlidae (Plecoptera) from Intervales State Park, São Paulo State, southeastern Brazil, with descriptions of new species.** *Aquatic Insects*, v. 26, n. 2, p. 97–113, 2004.
- BISPO, P. C.; FROEHLICH, C. G. **The first records of *Kempnyia* (Plecoptera: Perlidae) from Central Brazil, with descriptions of new species.** *Aquatic Insects*, v. 26, n. 3, p. 1–7, 2004.
- BURMEISTER, H. **Plecoptera.** In: *Handbuch der Entomologie*, v. 2.2, p. 863–881, 1839.
- CARVALHO, L. A. C.; ALMEIDA, L. H.; BISPO, P. C. **Perlidae (Plecoptera) from Bahia State, Brazil: description of the nymphs of *Anacroneuria bahiensis* Righi-Cavallaro & Lecci, notes on *Anacroneuria debilis* (Pictet), and updated list of the species.** *Zootaxa*, v. 5023, n. 3, p. 433–441, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5023.3.7>.
- DATTO-LIBERATO, F. H.; et al. **Total environment sentinels: Dragonflies as ambivalent/amphibiotic bioindicators of damage to soil and freshwater.** *Science of the Total Environment*, v. 934, p. 173110, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173110>.
- DEWALT, R. E.; HOPKINS, H.; NEU-BECKER, U.; STUEBER, G. **Plecoptera Species File.** Disponível em: <https://plecoptera.speciesfile.org/>. Acesso em: 14 ago. 2025.
- DEWALT, R. E.; OWER, G. D. **Ecosystem services, global diversity, and rate of stonefly species descriptions (Insecta: Plecoptera).** *Insects*, v. 10, n. 4, p. 99, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/insects10040099>.
- DING, S.; LI, W.; WANG, Y., et al. **The phylogeny and evolutionary timescale of stoneflies (Insecta: Plecoptera) inferred from mitochondrial genomes.** *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 135, p. 123–135, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.03.005>.
- DUARTE, T.; LECCI, L. S. **A scientometric approach to the taxonomy of Brazilian Plecoptera: an overview of data.** *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 67, spe, e20230056, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9665-rbe-2023-0056>.
- DUARTE, T.; LECCI, L. S.; CALOR, A. R. **Stoneflies (Insecta: Plecoptera) from Serra Bonita, Bahia, Brazil: New species and updated records.** *Zootaxa*, v. 3779, p. 81–92, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3779.1.9>.

ENDERLEIN, G. **Klassifikation der Plecopteropteren, sowie Diagnosen neuer Gattungen und Arten.** *Zoologischer Anzeiger*, v. 34, p. 385–419, 1909.

FOLMER, O.; BLACK, M.; HOEH, W.; LUTZ, R.; VRIJENHOEK, R. **DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates.** *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, v. 3, p. 294–299, 1994.

FROEHLICH, C. G. **Anacroneuria (Plecoptera, Perlidae) from the Mantiqueira Mountains, São Paulo State, Brazil.** *Zootaxa*, v. 2365, p. 55–68, 2010b. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2365.1.4>

FROEHLICH, C. G. **Anacroneuria (Plecoptera: Perlidae) from the Boracéia Biological Station, São Paulo State, Brazil.** *Aquatic Insects*, v. 26, n. 1, p. 53–63, 2004. <https://doi.org/10.1080/01650420410001737428>

FROEHLICH, C. G. **Anacroneuria mainly from southern Brazil and northeastern Argentina.** *Proceedings of the Biological Society of Washington*, v. 115, p. 75–107, 2002.

FROEHLICH, C. G. **Brazilian Plecoptera 2. Species of the serrana-group of Kempnyia (Plecoptera).** *Aquatic Insects*, v. 6, n. 3, p. 137–147, 1984b. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01650428409361156>.

FROEHLICH, C. G. **Brazilian Plecoptera 3. Macrogynoplax veneranda sp. n. (Perlidae: Acroneuriinae).** *Annales de Limnologie – International Journal of Limnology*, v. 20, n. 1–2, p. 39–41, 1984a. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/limn/1984003>.

FROEHLICH, C. G. **Brazilian Plecoptera 5. Old and new species of Kempnyia (Perlidae).** *Aquatic Insects*, v. 10, n. 3, p. 153–170, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01650428809361318>.

FROEHLICH, C. G. **Catalogue of Neotropical Plecoptera.** *Illiesia*, v. 6, p. 118–205, 2010a.

FROEHLICH, C. G. **Checklist dos Plecoptera (Insecta) do Estado de São Paulo, Brasil.** *Biota Neotropica*, v. 11, p. 601–606, 2011a. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032011000400053>

FROEHLICH, C. G. **Kempnyia (Plecoptera) from the Mantiqueira Mountains of Brazil.** *Zootaxa*, v. 2999, p. 20–32, 2011c.

FROEHLICH, C. G. **Notes on Kempnyia, with the description of three new species (Plecoptera: Perlidae).** *Illiesia*, v. 7, p. 133–141, 2011b.

FROEHLICH, C. G. **Plecoptera.** In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. (Eds.) *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. Ribeirão Preto: Editora Holos, 2012. p. 810.

FROEHLICH, C. G. **Two new species of Kempnyia from southern Brazil (Plecoptera: Perlidae).** *Bulletin de la Société Entomologique Suisse*, v. 69, p. 117–120, 1996.

GASTALDO, R. B.; ALMEIDA, L. H.; SALLES, F. F. **On Anacroneuriini (Plecoptera: Perlidae) morphology: Standardizing vocabulary and a morphological atlas.** *Arthropod Structure and Development*, v. 86, 101427, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.asd.2025.101427>

GONÇALVES, M. C.; NOVAES, M. C.; SALLES, F. F. **New species and records of Perlidae (Plecoptera) from Espírito Santo State, Brazil.** *Zootaxa*, v. 4273, p. 141–150, 2017. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4273.1.11>

- GONÇALVES, M. D. E. C.; NOVAES, M. C.; LECCI, L. S.; ALMEIDA, L. H.; COSTA, V.; SALLES, F. F. **Checklist of *Plecoptera* (Insecta) from the State of Espírito Santo, Brazil.** *Zoosymposia*, v. 16, p. 96–123, 2019. <https://doi.org/10.11646/zoosymposia.16.1.10>
- HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; DEWAARD, J. R. **Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species.** *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 270, n. 1, p. 96–99, 2003b.
- HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; DEWAARD, J. R. **Barcoding identifications through DNA barcodes.** *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 270, p. 313–321, 2003a.
- HYNES, H. B. N. **Biology of *Plecoptera*.** *Annual Review of Entomology*, v. 21, p. 135–153, 1976. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.21.010176.001031>
- ILLIES, J. **Katalog der rezenten *Plecoptera*.** Das Tierreich, 82. Berlin: Walter de Gruyter & Co., 1966.
- ILLIES, J. **Phylogeny and zoogeography of the *Plecoptera*.** *Annual Review of Entomology*, v. 10, p. 117–140, 1965. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.10.010165.001001>
- JACOBSON, G. C.; BIANCHI, V. L. **Orthoptera and Pseudoneuroptera from the Russian Empire and Neighboring Lands.** Leningrad: Izdanie A. F. Devriena, 1905. [Original in Russian]
- KLAPÁLEK, F. **Pléoptères nouveaux. Troisième partie.** *Annales de la Société Entomologique de Belgique*, v. 61, p. 320–327, 1921.
- KLAPÁLEK, F. **Subfamilia Acroneuriinae Klp.** *Časopis Českého Spolku Entomologického*, v. 13, p. 45–84, 1916.
- LETSCH, H.; SIMON, S.; FRANDSEN, P. B., et al. **Combining molecular datasets with strongly heterogeneous taxon coverage enlightens the peculiar biogeographic history of stoneflies (Insecta: *Plecoptera*).** *Systematic Entomology*, v. 46, p. 952–967, 2021. <https://doi.org/10.1111/syen.12505>
- MCCULLOCH, G. A.; WALLIS, G. P.; WATERS, J. M. **A time-calibrated phylogeny of southern hemisphere stoneflies: Testing for Gondwanan origins.** *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 96, p. 150–160, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.10.028>
- MCINTYRE, S. R.; LINEWEAVER, C. H.; GROVES, C. P., et al. **Global biogeography since Pangaea.** *Proceedings of the Royal Society B*, v. 284, 20170716, 2017. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0716>
- MISO, B.; LIU, S.; MEUSEMANN, K.; PETERS, R. S.; DONATH, A.; MAYER, C.; FRANDSEN, P. B.; WARE, J.; FLOURI, T.; BEUTEL, R. G.; NIEHUIS, O.; PETERSEN, M.; IZQUIERDO-CARRASCO, F.; WAPPLER, T.; RUST, J.; ABERER, A. J.; ASPÖCK, U.; ASPÖCK, H.; BARTEL, D.; BLANKE, A. **et al. Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution.** *Science*, v. 346, n. 6210, p. 763–767, 2014.
- NAVÁS, L. **Insectos del Brasil.** *Revista do Museu Paulista*, v. 20, p. 721–734, 1936.
- NAVÁS, L. **Insectos suramericanos. 8a serie.** *Revista de la Academia de Ciencias de Madrid*, v. 31, p. 9–28, 1934.

- NOVAES, M. C.; BISPO, P. C. **A new species and notes on Perlidae (Plecoptera) from Paraná and Santa Catarina States, southern Brazil.** *Zootaxa*, v. 3765, p. 458–468, 2014b. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3765.5.4>
- NOVAES, M. C.; BISPO, P. C. **Perlidae (Plecoptera) from Southeastern Santa Catarina State, Southern Brazil.** *Zootaxa*, v. 3779, p. 277–287, 2014c. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3779.2.8>
- NOVAES, M. C.; BISPO, P. C. **Plecoptera from Minas Gerais State, southeastern Brazil.** *Zootaxa*, v. 3856, p. 433–442, 2014a. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3856.3.8>
- NOVAES, M. C.; BISPO, P. C.; GONÇALVES, M. C. **A new species of *Anacroneuria* Klapálek 1909 (Plecoptera: Perlidae) from Espírito Santo State, southeastern Brazil and comments on additional species.** *Zootaxa*, v. 4208, p. 94–98, 2016. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4208.1.7>
- NOVAES, M. C.; VILELA, D. S.; LOPEZ, V. M.; FERREIRA, R. G. N. **Certain species of *Plecoptera* from the headwater springs of National Integration River (São Francisco), Brazil.** *Zootaxa*, v. 4429, n. 1, p. 195–200, 2018.
- PENNAK, R. W. **Freshwater Invertebrates of the United States (2nd edition).** New York: John Wiley & Sons, 1978. 803 p.
- PESSACQ, P.; ZUÑIGA, M. D. C.; DUARTE, T. **An updated checklist of Neotropical *Plecoptera*.** *Zoosymposia*, v. 16, p. 182–209, 2019. <https://doi.org/10.11646/zoosymposia.16.1.21>
- PICTET, F. J. **Historie Naturelle Générale et Particulière des Insectes Névroptères. Famille des Perlides.** Geneva: Chez J. Kessmann et Ab. Cherbuliz, 1841. p. 423.
- PUILLANDRE, N.; BROUILLET, S.; ACHAZ, G. **ASAP: Assemble species by automatic partitioning.** *Molecular Ecology Resources*, v. 21, n. 2, p. 609–620, 2021. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13281>
- PUILLANDRE, N.; LAMBERT, A.; BROUILLET, S.; ACHAZ, G. **ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation.** *Molecular Ecology*, v. 21, n. 8, p. 1864–1877, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>
- RIBEIRO, V. R.; FROELICH, C. G. **Two new species of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from southern Brazil.** *Zootaxa*, v. 1624, p. 53–57, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3779.5.9>.
- RIGHI-CAVALLARO, K. O.; FROELICH, C. G.; LECCI, L. S. **New species of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from northeast Brazil.** *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, v. 48, n. 2, p. 125–134, 2013.
- RIPPEL, M. L. S.; NOVAES, M. C.; KROLOW, T. K. **First records of *Kempnyia* and *Macrogynoplax* (Plecoptera: Perlidae) from Tocantins State, Brazil with description of the immatures and the adult female.** *Zootaxa*, v. 4700, n. 4, p. 471–478, 2019.
- ROMERO, F. **Estado del conocimiento del orden *Plecoptera* en la provincia de Misiones, Argentina.** *Acta Zoológica Lilloana*, v. 61, p. 42–54, 2017.
- SHEPARD, W. D.; STEWART, K. W. **A comparative study of nymphal gills in North American stonefly (Plecoptera) genera and a new proposed paradigm of *Plecoptera* gill evolution.** *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America*, v. 55, p. 1–58, 1983.

STAMATAKIS, A. **RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies.** *Bioinformatics*, v. 30, p. 1312–1313, 2014.

STARK, B. P. **A synopsis of Neotropical Perlidae (*Plecoptera*).** In: DOMINGUEZ, E. (Ed.). *Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera*. Kluwer Academic Plenum Publishers, 2001. p. 405–422.

STARK, B. P.; FROEHLICH, C. G.; ZÚÑIGA, M. C. **South American Stoneflies (*Plecoptera*). Volume 5.** Aquatic Biodiversity in Latin America. Pensoft, Sofia-Moscow, 154 p., 2009.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. **MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11.** *Molecular Biology and Evolution*, v. 38, p. 3022–3027, 2021.

TANIGUTI, P. N.; SARMENTO, F. R. P.; LOPEZ, V. M.; KOBAL, R. O. A. C.; ALMEIDA, L. H. **Perlidae (*Plecoptera*) do Estado de São Paulo, Brasil: lista de espécies, problemas taxonômicos e amostragem.** *Acta Biologica Brasiliensia*, v. 6, n. 2, p. 5–14, 2023. <https://doi.org/10.22571/actabiologicabrasiliensia.v6n2a1>

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. **CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice.** *Nucleic Acids Research*, v. 22, n. 22, p. 4673–4680, 1994. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>

ZHANG, J.; KAPLI, P.; PAVLIDIS, P.; STAMATAKIS, A. **A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements.** *Bioinformatics*, v. 29, n. 22, p. 2869–2876, 2013. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt499>

ZWICK, P. **Die Plecopteren Pictets und Burmeisters, mit Angaben über weitere Arten (Insecta).** *Revue Suisse de Zoologie*, v. 78, p. 1123–1194, 1972.

ZWICK, P. **Die Plecopteren-Arten Enderleins (Insecta): Revision der Typen.** *Annales Zoologici*, v. 30, p. 471–507, 1973.

ZWICK, P. **Phylogenetic system and zoogeography of the *Plecoptera*.** *Annual Review of Entomology*, v. 45, p. 709–746, 2000. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.709>