

RODOLFO MAURICIO CASTILLO VELÁSQUEZ

**DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO DE PLECOPTERA DE MINAS GERAIS,
BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Frederico Falcão Salles

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

C352d
2023 Castillo Velásquez, Rodolfo Mauricio, 1985-
Diversidade e distribuição de Plecoptera de Minas Gerais,
Brasil / Rodolfo Mauricio Castillo Velásquez. – Viçosa, MG,
2023.

1 dissertação eletrônica (102 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Frederico Falcão Salles.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Entomologia, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.249>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Plecoptera - Distribuição geográfica - Minas Gerais.
2. Plecoptera - Identificação - Minas. 3. Insetos aquáticos.
4. Perlidae. 5. Gripopterygidae. I. Salles, Frederico Falcão,
1975-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Entomologia. Programa de Pós-Graduação em Entomologia.
III. Título.

CDD 22. ed. 595.735098151


RODOLFO MAURICIO CASTILLO VELÁSQUEZ

**DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO DE PLECOPTERA DE MINAS GERAIS,
BRASIL**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de fevereiro de 2023

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 RODOLFO MAURICIO CASTILLO VELASQUE
Data: 16/05/2023 22:30:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Rodolfo Mauricio Castillo Velásquez
Autor

Documento assinado digitalmente
 FREDERICO FALCAO SALLES
Data: 17/05/2023 08:48:01-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Frederico Falcão Salles
Orientador

Dedico esta dissertação a todas as pessoas que me acompanharam nesta pequena fração da minha jornada, à minha querida “energia” por estar sempre comigo e a cada persona com sede de conhecimento que luta para continuar avançando pelas ruas da ciência.

AGRADECIMENTOS

De maneira geral, quero agradecer a todas as pessoas que me incentivaram a iniciar esta nova etapa da minha vida no Brasil, e que foram um grande impulso para começar o mestrado e continuar com minha carreira, que por um momento senti finalizada quando terminei a licenciatura.

Ao Dr. Frederico Falcão Salles, que apostou em mim e no meu projeto de pesquisa apesar de não me conhecer nem ter referências significativas sobre mim; obrigado por sua paciência, orientação e inspiração que pude ver refletidas em suas aulas, pesquisas e seu entusiasmo e paixão pelos insetos aquáticos.

À Dra. Ana Huamantino Araújo, com quem sempre mantive contato durante minha estada no Brasil, obrigado pela ajuda e valiosos conselhos que me ajudaram muito no desenvolvimento do meu mestrado e da minha dissertação.

Aos meus amigos e colegas do Museu de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa pela amizade, e experiências durante estes dois anos de pós-graduação. Também, pelo apoio e suporte acadêmico que sempre recebi gentilmente de vocês ao longo da pós-graduação. E agradecer mais uma vez à Maísa, que me ajudou a tirar e editar as fotos das espécies catalogadas no presente estudo.

“A mis causitas peruanos” da Universidade de São Paulo: Alexis, Ruth, Berna e Orlando, pelos momentos de relaxamento e diversão que passamos ao final de cada semestre. E mais uma vez quero agradecer a Berna e Alexis por me ajudar a conseguir uma hospedagem e estar comigo durante as consultas médicas em SP. Obrigado pela sua sincera amizade.

Ao programa de bolsas Brasil PAEC OEA-GCUB patrocinado pela Organização de Estados Americanos (OEA) e o Grupo de Cooperação Internacional de Universidades Brasileiras (GCUB), ao Programa de Pós-graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela oportunidade de estudos e apoio financeiro durante o curso, além das aulas, seminários, palestras e todas as lindas experiências vivenciadas durante o mestrado.

Aos meus amigos de república: André, Dudu, Willon, Rafael e Any pela excelente convivência, camaradagem e apoio moral.

A essa linda pessoa que deu cor aos meus últimos meses de permanência no Brasil, principalmente nos momentos mais difíceis da minha doença. Obrigado por me ensinar que o amor também pode ter asas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Eu sei o preço do sucesso: dedicação, trabalho duro, e uma incessante devoção às coisas que você quer ver acontecer”.

(Frank Lloyd Wright)

RESUMO

CASTILLO-VELÁSQUEZ, Rodolfo Mauricio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2023. **Diversidade e distribuição de Plecoptera de Minas Gerais, Brasil.** Orientador: Frederico Falcão Salles.

Plecoptera é uma pequena ordem de insetos aquáticos que inclui sete famílias e mais de 3.700 espécies em nível mundial, das quais seis famílias e 505 espécies estão distribuídas na região Neotropical. No Brasil, apesar dos muitos estudos na região Sudeste, são poucos aqueles voltados para a fauna de Minas Gerais, onde não existem trabalhos que integrem os registros de ocorrência e riqueza de espécies de Plecoptera dentro do estado mineiro. O principal objetivo do presente estudo é complementar e integrar o conhecimento a respeito da ordem Plecoptera do estado de Minas Gerais com relação à sua diversidade e distribuição. Como primeiro passo, foi realizada uma revisão de todos os artigos que apresentavam registros de espécies de Plecoptera para o estado. Material biológico também foi avaliado a partir de coletas nas seguintes áreas de estudo: Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Parque Nacional da Serra do Cipó, Parque Nacional do Itatiaia (parte alta) e os municípios de Conceição do Mato Dentro, Brumadinho, Pingo-D'Água, Aimorés, Naque, Santo Antônio do Rio Baixo, São José do Goiabal e Guaraciaba (Bacia do Rio Doce). A partir deste conjunto de dados foi elaborada uma lista atualizada das espécies de Plecoptera registradas para Minas Gerais. As coordenadas dos pontos de coleta foram projetadas em mapas e figuras para representar a distribuição conhecida das espécies, tanto geográfica como altitudinal, e analisar se esses registros contemplam as diferentes regiões do estado, ou estão concentrados em áreas restritas e pouco representativas. Os dados de distribuição das espécies foram discutidos levando-se em consideração sua representatividade frente às diferentes áreas do estado. Foram encontradas, ao todo, 42 espécies de Plecoptera para o estado de Minas Gerais, 26 de Perlidae e 16 de Gripopterygidae. Duas espécies foram pela primeira vez registradas para o estado, e uma nova espécie de *Anacroneuria* foi descrita com base em adultos. Apesar deste esforço, existem ainda áreas com lacunas que precisam ser preenchidas, especialmente nas mesorregiões de Triângulo/Alto Paranaíba, Oeste de Minas, Vale do Mucuri e Campo das Vertentes e em biomas como Cerrado e Caatinga. O presente trabalho pretende estabelecer uma base de dados inicial visando estimular um aumento no número de coletas em zonas ainda pouco ou não amostradas, além de auxiliar futuras ações de monitoramento e conservação de ambientes aquáticos.

Palavras-chave: Biodiversidade. Gradiente altitudinal. Registros de ocorrência. Insetos aquáticos. Perlidae. Gripopterygidae.

ABSTRACT

CASTILLO-VELÁSQUEZ, Rodolfo Mauricio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2023. **Diversity and distribution of Plecoptera of Minas Gerais, Brazil.** Adviser: Frederico Falcão Salles.

The order Plecoptera is a small order of aquatic insects that includes seven families and more than 3,700 valid extant species worldwide (DeWalt & Ower 2019, South *et al.* 2021), with six families and 505 valid species distributed in the Neotropical region (Pessacq *et al.* 2019). In Brazil, despite the many studies in the Southeast region, few are focused on the fauna of Minas Gerais (Froehlich, 1998, 2016; Bispo & Froehlich 2008; Novaes & Bispo 2014; Novaes *et al.* 2018), where there are no works that compile the geographic records and species richness of Plecoptera in the state of Minas Gerais. The main objective of the present study is to complement and improve the knowledge about the order Plecoptera of the state of Minas Gerais in relation to its diversity and distribution. As a first step, a review of all articles that present records of Plecoptera species in Minas Gerais will be carried out. Biological material to carry out the work was obtained from collections in the following study areas: Serra do Brigadeiro State Park, Serra do Cipó National Park, Itatiaia National Park (upper part) and the municipalities of Conceição do Mato Dentro, Brumadinho, Pingo-D'Água, Aimorés, Naque, Santo Antônio do Rio Abaixo, São José do Goiabal and Guaraciaba (Doce River Basin). From this data set, an updated list of Plecoptera species registered for Minas Gerais was elaborated. The coordinates of the collection points were projected on maps and figures to know the distribution of the species, both geographic and altitudinal, and to analyze whether these records include the different regions of the state or are concentrated in restricted and unrepresentative areas. Species distribution data were discussed taking into account their representativeness across different areas of the state. A total of 42 species of Plecoptera were found for the state of Minas Gerais, 26 of Perlidae and 16 of Gripopterygidae. Two species were recorded for the first time in the state, and a new species of *Anacroneuria* described based on adults. Despite this effort, there are still areas with gaps that need to be filled, especially in the mesoregions of Triângulo/Alto Paranaíba, Oeste de Minas, Vale do Mucuri and Campo das Vertentes. The present work intends to set up an initial database to stimulate more collections and investment in non-sampled areas and for future actions of monitoring and conservation of aquatic environments.

Keywords: Altitudinal gradient. Aquatic insects. Biodiversity. Occurrence records. Perlidae. Gripopterygidae.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Mapa de localização e distribuição dos registros de ocorrência de Plecoptera por família no estado de Minas Gerais, Brasil. 42
- Figura 2.** Mapa de localização e distribuição dos registros de ocorrência de Plecoptera por gênero no estado de Minas Gerais, Brasil. (A) *Anacroneuria*. (B) *Kempnyia*. (C) *Gripopteryx*. (D) *Tupiperla*. (E) *Guaranyperla*. (F) *Paragripopteryx*. Para a legenda de cores, vide legenda da Figura 1. 43
- Figura 3.** Distribuição dos registros de ocorrência e de riqueza de espécies de Plecoptera ao longo do gradiente altitudinal do estado de Minas Gerais, Brasil. 44
- Figura 4.** Distribuição dos registros de ocorrência e de riqueza de espécies de Plecoptera: Perlidae ao longo do gradiente altitudinal do estado de Minas Gerais, Brasil. 44
- Figura 5.** Distribuição altitudinal das espécies da família Perlidae (Plecoptera) registradas em Minas Gerais, Brasil. 45
- Figura 6.** Distribuição dos registros de ocorrência e riqueza de espécies de Plecoptera: Gripopterygidae ao longo do gradiente altitudinal do estado de Minas Gerais, Brasil. 45
- Figura 7.** Distribuição altitudinal das espécies da família Gripopterygidae (Plecoptera) registradas em Minas Gerais, Brasil. 46
- Figura 8.** Distribuição do número de registros de ocorrência de Plecoptera em Minas Gerais, agrupados em células de um grau de lado. 47
- Figura 9.** Distribuição do número de espécies de Plecoptera em Minas Gerais, agrupados em células de um grau de lado. 47
- Figura 10.** Coletas de espécies de Plecoptera ao longo do tempo no estado de Minas Gerais, Brasil. 48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista de espécies de Plecoptera registradas para Minas Gerais, Brasil.	39
--	----

SUMÁRIO

ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO	14
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3. RESULTADOS	21
4. DISCUSSÃO.....	25
5. CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS	31
APÊNDICE A - Fotografias de algumas das espécies identificadas no presente trabalho	49
APÊNDICE B - Stoneflies left over from a mining disaster: New species and records of Perlidae (Plecoptera) from Doce river basin, southeastern Brazil.....	60
APÊNDICE C - A review of the rearing of Plecoptera nymphs in Brazil and a new experience carried out in the laboratory.....	75

ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

O presente trabalho tem como documento principal o texto apresentado a seguir: Diversidade e distribuição das espécies de Plecoptera de Minas Gerais, Brasil. Durante a execução da dissertação, contudo, foram elaborados dois manuscritos que se colocam em anexo: um deles a ser submetido à Zootaxa, que apresenta uma nova espécie de *Anacroneuria* e novos registros de Perlidae, e o outro, a ser submetido a Revista Brasileira de Entomologia, que relata uma nova experiência de criação de ninfas de Plecoptera em laboratório. As respectivas bibliografias podem ser consultadas ao final de cada anexo.

1. INTRODUÇÃO

Plecoptera é uma ordem de insetos aquáticos hemimetabólicos que se dividem em duas subordens, Arctoperlaria e Antarctoperlaria, e inclui um total de 17 famílias (DeWalt & Ower 2019, South *et al.* 2021) e mais de 3.700 espécies válidas (DeWalt & Ower 2019). Na América do Sul, são encontradas seis famílias e 600 espécies válidas aproximadamente (Pessacq *et al.* 2019), com a maioria de seus táxons distribuídos nas famílias Perlidae e Gripopterygidae, onde o gênero *Anacroneuria* Klapálek 1909, apresenta mais de $\frac{2}{3}$ das espécies reconhecidas (Pessacq *et al.* 2019). No Brasil existem aproximadamente 200 espécies alocadas em duas famílias: Gripopterygidae, com 56 espécies distribuídas nos gêneros *Guaranyperla* Froehlich 2001, *Gripopteryx* Pictet, 1841, *Paragripopteryx* Enderlein 1909 e *Tupiperla* Froehlich, 1969; e Perlidae, com 140 espécies distribuídas nos gêneros *Anacroneuria*, *Enderleina* Jewett 1960, *Kempnyia* Klapálek 1914 e *Macrogynoplax* Enderlein 1909, além de algumas dezenas de espécies que estão em processo de descrição (Pessacq *et al.* 2019, Almeida & Bispo 2020).

A distribuição geográfica das espécies de Plecoptera é um ponto pouco estudado na América do Sul. No catálogo de Plecoptera Neotropical, Froehlich (2010) fornece dados completos, mas isolados, de 508 espécies. Pessacq *et al.* (2019), além de incrementar o número de espécies válidas para 596, mapeia a distribuição das famílias e alguns gêneros da América do Sul. No caso do Brasil, os primeiros estudos contínuos de Plecoptera foram impulsionados principalmente nas décadas de 1980 e 1990 por Froehlich (1984, 1988, 1990, 1993, 1998), onde se gerou informação e registros valiosos que seriam incluídos e/ou comparados em trabalhos posteriores que integram dados de distribuição geográfica de espécies de Plecoptera. Se até então os dados encontravam-se concentrados principalmente no estado de São Paulo, a partir daí houve uma contínua expansão sobre o conhecimento do grupo em diferentes localidades brasileiras, com destaque nos últimos anos para os estados do Maranhão (Carvalho *et al.* 2020), Goiás (Miguel *et al.* 2022), São Paulo (Almeida & Bispo 2020, Duarte *et al.* 2022), Espírito

Santo (Gonçalves *et al.* 2019) e Santa Catarina (Duarte *et al.* 2019). Ainda assim, as regiões Sul e Sudeste do território brasileiro são as áreas com maior concentração de registros de espécies de Plecoptera no Brasil (Pessacq *et al.* 2019), exceto para os gêneros *Enderleina* e *Macrogynoplax*, os quais apresentam a maioria dos seus registros na região amazônica do território brasileiro.

Apesar dos muitos estudos na região Sudeste, são poucos aqueles voltados para a fauna de Minas Gerais (Froehlich 1998, 2016, Bispo & Froehlich 2008; Novaes & Bispo 2014; Novaes *et al.* 2018). O mais abrangente destes estudos, Novaes & Bispo (2014), foi realizado há mais de oito anos. Além de descrever duas novas espécies de *Anacroneuria*: *A. paprockii* Novaes & Bispo 2014 e *A. mineira* Novaes & Bispo 2014, os autores apresentaram uma lista de 28 espécies de Plecoptera para o estado de Minas Gerais. Em termos de comparação, para os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo, são conhecidas respectivamente 64, 45 e 40 espécies até o momento. Fica evidente, portanto, que perguntas básicas e essenciais para estudos mais aplicados permanecem não respondidas: Que espécies de Perlidae estão registradas para Minas Gerais atualmente?; Quais espécies de Gripopterygidae são conhecidas para Minas Gerais?; Para que localidades as espécies de Plecoptera de Minas Gerais foram registradas?; Esses registros contemplam as diferentes regiões do estado ou estão concentrados em áreas restritas e pouco representativas?; O número de espécies conhecido é compatível com a área e com a diversidade paisagística do estado?

De uma maneira geral, a escassez de conhecimento taxonômico das espécies (Déficit Linneano) e seus habitats e distribuição geográfica (Déficit Wallaceano), se apresentam como desafios para a conservação da biodiversidade (Faria *et al.*, 2020). Por esse motivo, o presente trabalho tem como objetivo complementar e integrar o conhecimento a respeito da ordem Plecoptera do estado de Minas Gerais com relação à sua diversidade e distribuição.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Revisão bibliográfica

Foi realizada uma revisão de todos os artigos publicados em revistas científicas que apresentem registros de espécies de Plecoptera em Minas Gerais, considerando como início o **Catalogue of Neotropical Plecoptera** (Froehlich 2010a). Depois foram pesquisados todos os artigos publicados em revistas indexadas durante o período faltante, 2010-2022, através de buscas realizadas nas bases *Google Scholar*, *Scopus*, *Scielo*, *Web of Science* e o Portal de Periódicos da Capes. Algumas das palavras-chave utilizadas na busca foram: Plecoptera, Perlidae, Gripopterygidae, Minas Gerais, MG, nova espécie, novo registro, ocorrência, altitude, riqueza, distribuição, diversidade, taxonomia. Além disso, as publicações citadas nos artigos obtidos também foram consideradas, sempre e quando apresentaram informação pertinente ao estudo.

Obtenção de material

Parte deste trabalho incluiu material biológico coletado em Minas Gerais entre 2020 e 2022 nas seguintes áreas de estudo: Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Parque Estadual do Rio Doce, Parque Nacional do Caparaó, Parque Nacional do Itatiaia (parte alta) e nos municípios de Araponga, Conceição do Mato Dentro, Brumadinho, Pingo-D'Água, Aimorés, Naque, Santo Antônio do Rio Abaixo, São José do Goiabal e Guaraciaba (Bacia do Rio Doce). Os espécimes foram coletados utilizando diversos métodos, como coleta manual e rede aquática D-net, no caso das ninfas, e bandejas, armadilhas de luz branca e/ou UV em lençol, armadilha do tipo Pensilvânia e armadilha Malaise para coleta de adultos.

Identificação e depósito do material biológico

Para a identificação do material foram observadas as estruturas de valor taxonômico, tais como genitália masculina, asas em adultos e peças bucais, tórax e pernas em ninfas), a terminalia foi extraída, clarificada com KOH 10%, neutralizada em ácido acético glacial e preservada em glicerina. As estruturas de ninfas e adultos foram examinadas com auxílio de um microscópio OLYMPUS CX31 e estereomicroscópio LEICA M20. As identificações das espécies foram feitas com a ajuda de chaves, catálogos e descrições taxonômicas especializadas como Froehlich (1998), Stark *et al.* (2009), Froehlich (2010a), Novaes & Bispo (2014), Avelino-Capistrano *et al.* (2018), Almeida & Bispo (2020), entre outros. As imagens foram fotografadas com a câmera LEICA MC170 HD e finalizadas no Adobe Illustrator CC® 2020. Todos os espécimes encontram-se depositados na coleção úmida do Museu de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa (UFVB).

Elaboração do banco de dados

Para construir o banco de dados foram consideradas as seguintes informações: nome científico, local e data de coleta, latitude, longitude, altitude, instituição de depósito do espécime, número de indivíduos coletados e método de coleta. Foram utilizadas as coordenadas exatas dos pontos de coleta (graus, minutos e segundos), ou, quando estas não eram apresentadas, coordenadas estimadas (graus e minutos) de acordo com as coordenadas dos municípios brasileiros fornecidas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Os valores altitudinais foram obtidos inserindo as coordenadas geográficas exatas da base de dados no programa Google Earth 7.3.4, ou diretamente a partir dos valores fornecidos pelos autores. Dados de altitude não foram fornecidos para o caso de registros em localidades não exatas. Em virtude de uma série de estudos em áreas próximas à divisa com Minas Gerais, em especial no Espírito Santo (Gonçalves 2017a, 2017b, 2019), Rio de Janeiro e São Paulo (Froehlich 1988, 1990,

2010b, 2011b), foram incluídos como **registros prováveis** os pontos geográficos que estivessem pertos da divisa com Minas Gerais.

Distribuição de Plecoptera em Minas Gerais

Para representar e analisar a distribuição da ordem Plecoptera dentro dos diferentes biomas do estado de Minas Gerais, foram elaborados mapas com os registros por família e gênero através do programa QGIS 3.8.0. Do mesmo modo, a fim de se conhecer a distribuição altitudinal das espécies no estado de Minas Gerais, foram gerados gráficos de linhas mostrando a amplitude da distribuição altitudinal por espécie e a quantidade de registros e riqueza de espécies de Plecoptera ao longo do gradiente altitudinal de Minas Gerais (calculada por cada 100 metros).

Esforço de coleta

Para fins de verificação quanto ao esforço de coleta, cada espécie encontrada em um local e dia determinado foi contabilizada como um registro de ocorrência. Adicionalmente, foram considerados registros de ocorrência distintos quando houve coleta no mesmo local em dias diferentes.

Com os dados obtidos anteriormente, foi plotada uma grade vetorial com células de um grau de lado de resolução sobre o mapa de Minas Gerais com o objetivo de conhecer as áreas que concentram uma maior quantidade de ocorrências e riqueza de espécies, e reconhecer as áreas que precisam de levantamentos de fauna de Plecoptera (Oliveira *et al.* 2017, De Marco & Vianna 2005).

Também foram avaliados a variação da quantidade de registros de ocorrência de espécies de Plecoptera ao longo do tempo a partir de um gráfico de linhas com o objetivo de observar o período total trabalhado até hoje e os anos onde foram realizados mais registros. Além disso, esses dados foram relacionados com os coletores e as instituições de depósito para

determinar a atividade realizada pelos investigadores e verificar se houve alguma relação com a distribuição de registros e espécies de Plecoptera de Minas Gerais. Os mapas de pontos de ocorrência e as grades foram elaborados utilizando-se o programa QGIS 3.8.0 e a ferramenta Biological Records tool.

3. RESULTADOS

A partir da revisão bibliográfica foi contabilizado um total de duas famílias, seis gêneros e 39 espécies de Plecoptera em Minas Gerais (Tabela 1). Ao adicionarmos os dados obtidos do material biológico revisado, foram incluídas mais três espécies, das quais duas foram pela primeira vez reportadas para o estado de Minas Gerais (*Anacroneuria atrifrons* e *Gripopteryx pinima*) e a outra trata-se de uma nova espécie de *Anacroneuria* coletada no município de Guaraciaba (descrita no Apêndice C). Estas 42 espécies estão distribuídas em 29 dos 853 municípios que integram Minas Gerais; além disso, se incluem 14 registros prováveis devido a sua proximidade à divisa do estado (Tabela 1).

Foram encontrados 182 registros para o estado ou áreas próximas, dos quais 87 são de Perlidae e 95 de Gripopterygidae. Como pode ser observado a partir dos mapas de distribuição (Figs. 1 e 2), há maior concentração de registros de ocorrência de espécies no bioma Mata Atlântica (121), seguido do Cerrado (61). Para o bioma Caatinga não foi registrada nenhuma espécie, apesar de duas estarem em áreas muito próximas.

Com relação à distribuição dos distintos gêneros de Plecoptera ocorrentes em Minas Gerais, *Anacroneuria* foi o mais amplamente distribuído, com 37 registros distribuídos em 18 municípios (Fig. 2A), e o gênero *Kempnyia*, apesar de ter maior quantidade de registros (50), foi registrado em menor número de municípios (12) (Fig. 2B). Enquanto que para Gripopterygidae, os gêneros mais amplamente distribuídos foram *Gripopteryx*, com 51 registros em 10 municípios (Fig. 2C) e *Tupiperla*, com 38 registros em 11 municípios (Fig. 2D). Em contraste, *Guaranyperla* apresentou apenas quatro registros: um registro de *G. beckeri* no município de Poços de Caldas e três registros de ninfas de *Guaranyperla* não identificadas para os municípios de Alto Caparaó, Espera Feliz e Ouro Fino (Fig. 2D); e no caso de *Paragripopteryx*, apenas um registro por espécie: *P. intervalensis* no município São Gonçalo

do Rio Preto e *P. klapaleki* na divisa com o Espírito Santo, município de Espera Feliz (Fig. 2E), se distribuindo estes dois gêneros exclusivamente no Bioma Mata Atlântica.

Com relação à distribuição altitudinal de Plecoptera em Minas Gerais, dos 182 registros de ocorrência, foi possível obter a altitude para 116 destes, 65 de Perlidae e 51 de Gripopterygidae. Os intervalos compreendidos entre os 800-1200 m.a.s.l. e entre os 1600-2000 m.a.s.l. concentraram a maior quantidade dos registros, sendo o intervalo entre os 800-900 o que apresentou a maior quantidade de registros de espécies (Fig. 3). Enquanto aos valores de riqueza observados, os padrões foram similares, sendo os mesmos intervalos mencionados anteriormente os que concentraram a maior quantidade de espécies e o intervalo entre os 800-900, com 15 espécies, o que apresentou a maior riqueza (Fig. 3).

Analisando as famílias individualmente, Perlidae apresentou as suas espécies bem distribuídas ao longo da faixa altitudinal, tendo poucos intervalos sem registros altitudinais (Fig. 4). Das 28 espécies com dados de altitude, *Anacroneuria* foi o gênero mais representativo ao longo da faixa altitudinal, apresentando *A. mantiqueirae* como registro de maior altitude (1779 m.a.s.l.) e *A. atrifrons* o registro com menor (124 m.a.s.l.), o qual também foi o registro mais baixo de toda a faixa altitudinal (Fig. 5). Em contraste, o gênero *Kempnyia* se apresentou em zonas mais altas, compreendidas desde os 891 m.a.s.l. (*K. neotropica*), sendo *K. obtusa*, com 2005 m.a.s.l., o registro de maior altitude deste gênero (Fig. 5). Com relação à variação altitudinal de espécies, *A. debilis*, *A. flintorum* e *K. obtusa* foram as espécies mais amplamente distribuídas, enquanto que espécies como *A. atrifrons* esteve restrita a altitudes inferiores aos 300 m.a.s.l. e *Kempnyia pirata*, *K. tamoya* e *K. tupinamba* estiveram restritas a altitudes superiores aos 1700 m.a.s.l. (Fig. 5).

As espécies de Gripopterygidae, por sua vez, foram encontradas em altitudes superiores a 600 m.a.s.l., dos quais sempre existiu algum registro entre os 600-1100 m.a.s.l., mas com ausência de registros de espécies no intervalo entre os 1400-1800 m.a.s.l. (Fig. 6). Das 15

espécies com dados de altitude, *Paragripopteryx* foi o gênero com o registro mais baixo desta família (686 m.a.s.l.) e *Gripopteryx* o gênero com os registros mais elevados da faixa altitudinal (*G. juetah* e *G. pilosa*: 2251 m.a.s.l.) (Fig. 7). Enquanto à distribuição altitudinal de espécies, *Gripopteryx reticulata* e *G. cancellata* foram as espécies mais amplamente distribuídas altitudinalmente, enquanto que espécies como *Paragripopteryx intervalensis* e *P. klapaleki* estiveram restritas a altitudes entre os 600 a 800 m.a.s.l. e *Gripopteryx juetah* esteve restrita a altitudes superiores aos 1700 m.a.s.l. (Fig. 7).

Ao avaliarmos o esforço de coleta tendo como base as células de um grau e os registros de ocorrência (Fig. 8), um total de 21 das 79 células que compõem o estado apresentaram ao menos uma ocorrência de Plecoptera. Destas, apenas cinco células alcançaram uma quantidade superior a 10 registros de ocorrência, observando-se uma maior concentração de ocorrências na região centro-leste e em duas células no sul do estado, uma delas próxima ao limite com o estado de São Paulo (Fig. 8). Enquanto a distribuição de registros de ocorrência por bioma, pode-se observar que a maioria deles estão distribuídas no bioma Mata Atlântica (12 células), seguido das sete células compartilhadas entre o Bioma Mata Atlântica e Cerrado e duas células compartilhadas entre o Bioma Caatinga com a Caatinga (Fig. 8).

Enquanto ao esforço de coleta tendo como base as células de um grau e a riqueza de espécies de Plecoptera de Minas Gerais, os resultados gerados apresentaram um padrão similar ao mapa anterior, salientando as mesmas regiões assinaladas anteriormente, as quais apresentaram uma riqueza maior a cinco espécies (Fig. 9). Dentro das áreas que apresentam uma maior riqueza de espécies se observam quatro células, a primeira e segunda está localizada aproximadamente no centro de Minas Gerais, onde se destacam as espécies registradas para a Serra do Espinhaço, a terceira célula ao leste, entre a divisa de Minas Gerais com Espírito Santo, onde destacam as espécies registradas para a Serra do Caparaó, e a outra célula ao sul, perto da

divisa entre Minas Gerais e São Paulo, onde encontram-se as espécies registradas para a Serra da Mantiqueira (Fig. 9).

Com relação à base temporal, todas as coletas encontram-se dentro do período 1940-2022, observando-se uma pequena quantidade de coletas feitas nos anos quarenta, dentro dos quais se pode salientar a coleta mais antiga que foi de uma espécie não identificada do gênero *Guaranyperla* (Froehlich 2001). Depois de uma pequena quantidade de coletas feitas nos anos setenta, observa-se um incremento gradual desde os anos noventa para a atualidade (Fig. 10).

4. DISCUSSÃO

O presente estudo compilou um total de 42 espécies para o estado de Minas Gerais e 14 registros de espécies prováveis, um incremento de 50% do número de espécies com relação à última lista compilada de espécies (Novaes & Bispo 2014). Destaca-se, ainda, o registro inédito de duas espécies para o estado (*Anacroneuria atrifrons* e *Gripopteryx pinima*), além do registro de uma nova espécie de *Anacroneuria*. Com isso, Minas Gerais é o segundo estado com o maior número de espécies de Plecoptera no Brasil, só superado por São Paulo. Se compararmos a riqueza de espécies total de Minas Gerais com os valores obtidos em outros estados, como Espírito Santo, com 40 espécies catalogadas (Gonçalves *et al.* 2019), o número de espécies é maior; porém, devemos levar em consideração que a extensão do território mineiro, além de ser muito maior, conta com mais dois biomas além da Mata Atlântica. Enquanto o Cerrado de Minas Gerais encontra-se visivelmente subamostrado, não há sequer um registro para a Caatinga (Fig. 1), o qual seria preocupante pois esta área possui espécies que não podem ser encontradas em nenhuma região do mundo, pois este bioma é exclusivamente brasileiro. Devido aos escassos estudos de biodiversidade aquática realizados neste bioma, menos de 12 espécies de Plecoptera encontram-se registradas para ele (Almeida 2022, Duarte & Lecci 2016, Takiya *et al.* 2016). Logo, fica evidente que um esforço amostral muito maior é necessário, em especial em áreas de Cerrado e Caatinga, para se obter uma estimativa razoável dos valores de riqueza de espécies do território mineiro.

Dentro das áreas que não apresentam registros de espécies de Plecoptera se encontram os municípios pertencentes às mesorregiões de Triângulo/Alto Paranaíba, Oeste de Minas, Vale do Mucuri e Campo das Vertentes, quando se realizou um diagnóstico sobre o estado atual do conhecimento da biodiversidade do Estado de Minas Gerais e suas mesorregiões (Projeto “Biota Minas”), foi mencionado dentro da área temática “Diversidade de Organismos Aquáticos” as dos primeiras mesorregiões e a mesorregião Zona da Mata como áreas com pesquisas

prioritárias para o estado, com alta prioridade para financiamento as linhas de Inventário e Conservação (Drummond *et al.* 2009). Neste trabalho, muitas das amostras analisadas foram coletadas em municípios desta última mesorregião (especialmente o município de Araponga, Serra do Brigadeiro), contribuindo com novos registros para a plecopterofauna de Minas Gerais em estas áreas prioritárias com lacunas que precisam ser preenchidas.

A distribuição espacial de Plecoptera de Minas Gerais a nível de família e gênero deixa em evidência a falta de registros em muitas áreas localizadas no sul, sudeste e oeste de Minas Gerais (Figs. 1, 2). Isto coincide em parte com os dados apresentados por Pessacq *et al.* (2019), onde se observa uma distribuição de pontos muito similar ao presente estudo, ainda que com uma quantidade menor de registros observados no norte e centro-leste de Minas Gerais, os quais são pontos adicionados pelo presente estudo e por estudos recentes. Em Perlidae, por exemplo, *Anacroneuria* foi o mais amplamente distribuído e com maior riqueza no estado mineiro, padrão que também é observado em outros estados do país (Gonçalves *et al.* 2019, Ribeiro & Dos Santos 2018) e encaixa com a distribuição apresentada por Pessacq *et al.* (2019). Porém, se revisamos os mapas presuntivos de outros gêneros sem registros encontrados no presente estudo, como é o caso de *Macrogynoplax*, se sabe que a distribuição provável já não estaria somente restrita a alguns estados da Amazônia, Mato Grosso e São Paulo, senão que estaria se estendendo a outros estados do Brasil e se acercando ao estado de Minas Gerais, com os registros de *M. matogrossensis* em Tocantins (Rippel *et al.* 2019) e *Macrogynoplax veneranda* em Espírito Santo (Gonçalves *et al.* 2019), pelo que ainda não se poderia descartar a presença deste gênero no estado de Minas Gerais.

No caso de Gripopterygidae, a distribuição da maioria de gêneros também é similar ao apresentada por Pessacq *et al.* (2019) para Minas Gerais, mas seria importante salientar a falta de registros em alguns gêneros que impediriam sinalar algum padrão de distribuição, como é o caso de *Guaranyperla*, que apenas tem 4 registros, com só um registro até espécie em Poços de

Caldas (*G. beckeri*), se revisamos as referências mencionadas no presente estudo (Tabela 1), esta área não apresentaria registros de Plecoptera desde 1963, onde foram registradas além de esta espécie, outras espécies que não foram mais encontradas em Minas Gerais até hoje, pela falta de estudos (e.g. *Tupiperla reichardt*, *Kempnyia vanini*).

Quanto à distribuição altitudinal, as espécies de Plecoptera parecem estar relativamente bem distribuídas em toda a gradiente altitudinal de Minas Gerais, porém ainda existem intervalos sem registros. No caso de Perlidae, pode-se observar a presença de espécies ao longo do gradiente altitudinal mineira do gênero *Anacroneuria* e superior aos 700m em *Kempnyia*, isto coincide com estudos feitos em outros estados (Bispo *et al.*, 2002, Gonçalves *et al.* 2019) e inclusive em estudos de gradientes altitudinais de outros países de América do Sul (Tomanova & Tedesco 2006). A respeito da família Gripopterygidae, as espécies ocorrem em altitudes superiores aos 600 m.a.s.l., uma parte das espécies com apenas um registro de altitude no gráfico, sendo reportadas pela primeira vez em Minas Gerais (e.g. *Gripopteryx pinima*) ou recentemente descobertas (e.g. *Tupiperla amorimi* Froehlich 2016, *Gripopteryx caparao* Gonçalves *et al.* 2017b). Lecci & Froehlich (2011) e Duarte *et al.* (2017, 2022) realizaram revisões taxonômicas do gênero *Gripopteryx*, *Tupiperla* e *Paragripopteryx* onde adicionam registros de altitude principalmente distribuídas em um rango desde os 500-1800 m.a.s.l., onde destacam as áreas montanhosas da Mata Atlântica, o que reforça sua presença em zonas altas. Esta distribuição altitudinal pode estar relacionada com baixas temperaturas, um fator que já foi mencionado como limitante para espécies de Gripopterygidae, especialmente nos gêneros *Gripopteryx* e *Tupiperla* (Bispo *et al.* 2006), outro fator ambiental mencionado seria o aumento da solubilidade de oxigênio nestas altitudes, necessária para estes organismos exigentes neste parâmetro (Bispo *et al.* 2002). Apesar dos padrões altitudinais observados, deve-se lembrar a falta de registros em alguns intervalos de altitude, que poderiam distorcer estes resultados. O gênero *Paragripopteryx* tem apenas dois registros altitudinais (686 e 891 m.a.s.l.), o que faria

presumir que tem uma distribuição altitudinal restrita. Porém, já se reportaram espécies como *P. delicata* e *P. guardae* em altitudes próximas aos 1600-1700 m.a.s.l. (Duarte *et al.* 2022), justamente onde não se encontraram registros de Gripopterygidae no presente estudo (Fig. 6) pelo que se sugeriria que futuras coletas sejam focadas nestas faixas altitudinais.

No presente estudo se observou um padrão irregular da riqueza a respeito da altitude, com um pico desde os 800-1200 m.a.s.l., para depois se apresentar uma tendência de declínio da riqueza de Plecoptera desde os 1700 m.a.s.l. em diante. Quando analisarmos os trabalhos que contemplam longas faixas altitudinais em rios, pode se observar um declínio linear da riqueza de espécies quando a altitude se incrementa consideravelmente (Jacobsen 2008, García-Ríos *et al.* 2020), ou com a formação de uma meseta em altitudes intermediárias (Huanachin & Huamantínco 2018). Esta meseta pode se estar formando devido a uma sobreposição da distribuição de espécies nas elevações intermediárias, uma área onde se encontram os perlídeos que dominam altitudes baixas e médias com os gripoterigídeos de altitude, que habitam áreas montanhosas, com a maior parte das suas espécies distribuídas em altitudes superiores aos 800 m.a.s.l. (Henriques-Oliveira & Nessimian 2010, Gonçalves *et al.* 2019). É importante salientar que esses resultados também podem estar sendo influenciados pelo esforço amostral justamente focado em áreas que estão dentro das faixas altitudinais mencionadas (Serra do Cipó, Serra do Caparaó e Campos do Jordão), e que possuiriam um melhor estado de conservação das formações vegetais e solo em comparação com outras áreas sem proteção, pelo que seria necessário incrementar as coletas para poder visualizar padrões altitudinais de riqueza mais consistentes.

Se observarmos o esforço de coleta das espécies de Plecoptera agrupados em grades, é notória a falta de registros de ocorrência, que ainda é muito baixa para determinar se os valores de riqueza obtidos são adequados para considerá-los representativos, inclusive dentro das áreas mais amostradas (26,58% do território mineiro apresenta algum tipo de registro da ordem

Plecoptera, onde o 66,2% desta percentagem tem apenas de 1-5 registros). É muito provável que ainda não sejam localizadas áreas de alta riqueza dentro do estado mineiro. Outros estados também apresentam estes problemas de conhecimento, onde se apresentam registros e valores de riqueza subestimados pela falta de informação e estudos em regiões que são consideradas inclusive, como hotspots de biodiversidade. Caso, por exemplo, da Amazônia Brasileira, que abrange 10 estados brasileiros (Acre, Amazonas, Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins) e tem apenas 27 espécies reportadas (Ribeiro & Dos Santos 2018).

Finalmente, é importante salientar que esta lista de espécies, pequena, mas valiosa, é produto de coletas feitas em um período de mais de 80 anos, onde se destacam as equipes lideradas por Claudio Gilberto Froehlich (1974-2001), Ralph W. Holzenthal (1996-2002), Henrique Paprocki (1994-2002) e Frederico Falcão Salles (2008-2022). Casualmente, os picos temporais mais altos e o incremento gradual na atualidade coincidem com coletas feitas graças ao auxílio de bolsas e financiamento de programas que apoiam a pesquisa básica (Agências de fomento e o Programa Biota/FAPESP) (Froehlich 2011a, Gonçalves 2017a, 2017b). Imaginemos o avanço se existissem mais investimento e programas que apoiem a ciência dentro de Minas Gerais. Teríamos uma informação mais completa da biodiversidade aquática, que seria a base para escolher áreas que precisam de coletas e pesquisas e selecionar adequadamente áreas prioritárias para a conservação da biodiversidade em Minas Gerais.

5. CONCLUSÕES

O presente estudo registrou 42 espécies para o Minas Gerais e 14 registros prováveis, graças às coletas faunísticas e pesquisas taxonômicas de especialistas brasileiros e estrangeiros durante um período de mais de 80 anos, onde se observou um importante crescimento dos registros de Plecoptera de Minas Gerais nos últimos 20 anos, em parte por trabalhos feitos com apoio de agências de fomento e programas que incentivaram as pesquisas com foco na biodiversidade brasileira (Froehlich 2010a, 2010b, 2011b, Bispo & Froehlich 2008, Novaes & Bispo 2014, Novaes *et al.* 2018). Dentro destes aportes, o presente estudo adicionou dois novos registros para o estado de Minas Gerais e uma nova espécie de *Anacroneuria* descrita pela primeira vez, aportando com novos registros principalmente em municípios da mesorregião Zona da Mata, uma área indicada como prioritária de pesquisa para o estado nas linhas de Inventário e Conservação (Drummond *et al.* 2009). Apesar deste esforço, é muito provável que ainda não sejam conhecidas zonas de alta riqueza dentro do estado mineiro, existindo ainda áreas com lacunas que precisam ser preenchidas, especialmente nos municípios pertencentes às mesorregiões de Triângulo/Alto Paranaíba, Oeste de Minas, Vale do Mucuri e Campo das Vertentes. Com os dados gerados no presente trabalho, espera-se incentivar mais coletas e investimento em áreas não amostradas e futuras ações de monitoramento e conservação de ambientes aquáticos.

REFERÊNCIAS

- 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. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4370.4.6>
- 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, e0243393, p. 1-30, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243393>
- ALMEIDA, L.H. Perlidae from Brasil: reducing Linnean e Wallacean shorfalls. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2022.
- 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.
- AVELINO-CAPISTRANO, F., PESSACQ, P., BARBOSA, L.S. Order Plecoptera. In: HAMADA, N., THORP, J.H., ROGERS, D.C., (Eds.). Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates: Volume 3: Keys to Neotropical Hexapoda. Fourth edition. London: Academic Press, p. 119-141, 2018.
- BALDIN, C., BISPO, P.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.
- BISPO, P.C., FROEHLICH, C.G., OLIVEIRA, L.G. Spatial distribution of Plecoptera nymphs in streams of a mountainous area of Central Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 62, p. 409-417, 2002.

BISPO, P.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.

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.

BISPO, P.C., LECCI, L.S. Gripopterygidae (Plecoptera) from Paranapiacaba mountains, southeastern Brazil. *Annales de Limnologie–International Journal of Limnology*, v. 47, p. 373–385, 2011.

BRAUER, F. Familie Perlidae. Pp. 51–52. In: Neuropteren. Reise der Österreichischen Fregatte Novara um die Erde in den Jahren 1857, 1858, 1859. Zoologischer Theil, 2. Band (1:A), 4, 1-105, pls I-II, 1866.

BURMEISTER, H.C.C. Plecoptera. *Handbuch der Entomologie*, Berlín, v. 2, n. 2, p. 863–881. 1839.

CARVALHO, A.S., ALMEIDA, L.H., AZEVÊDO, C.A.S., LIMA, L.R.C. The genus *Anacroneuria* Klapálek, 1909 (Plecoptera: Perlidae) from Maranhão State, northeastern Brazil. *Zootaxa*, v. 4860, n. 3, 435-444, 2020. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4860.3.8>

DE MARCO JR, P.; VIANNA, D.M. Distribuição do esforço de coleta de Odonata no Brasil–subsídios para escolha de áreas prioritárias para levantamentos faunísticos. *Lundiana*, v. 6, n. supp., p. 13-26, 2005.

DEWALT, R.E., OWER, G.D. Ecosystem services, global diversity, and rate of stonefly species descriptions (Insecta: Plecoptera). *Insects*, v. 10, n. 4, 99, p. 1-13, 2019. <https://doi.org/10.3390/insects10040099>

DRUMMOND, G. M., MARTINS, C.S., GRECO, M.B., VIEIRA, F. Biota Minas: diagnóstico do conhecimento sobre a biodiversidade no estado de Minas Gerais. Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte. 622p, 2009.

DUARTE, T., LECCI, L.S. New species and records of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from the northeastern semi-arid region of Brazil. *Zootaxa*, v. 4079, n. 2, p. 291-300, 2016. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4079.2.10>

DUARTE, T., NOVAES, M.C., BISPO, P.C. Five new species of *Tupiperla* Froehlich, 1969 (Plecoptera: Gripopterygidae). *Zootaxa*, v. 4671, n. 4, p. 511-526, 2019. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4671.4.3>

DUARTE, T., CALOR, A. R., BISPO, P.C. Systematic revision and phylogeny of *Paragripopteryx* Enderlein, 1909 (Plecoptera: Gripopterygidae). *PLoS ONE*, v. 17, n. 3, e0264264, p. 1-41, 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264264>

ENDERLEIN, G. Klassifikation der Plecopteren sowie Diagnosen neuer Gattungen und Arten. *Zool. Anz.* 34, 385-419. 1909.

FROEHLICH, C.G. Studies on Brazilian Plecoptera 1. Some Gripopterygidae from the biological station at Paranapiacaba, state of São Paulo. *Beitrage zur Neotropischen Fauna*, v. 6, n. 1, p. 17-39, 1969.

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

FROEHLICH, C.G. Brazilian Plecoptera 3. *Macrogynoplax veneranda* sp. n. (Perlidae: Acroneuriinae). *Annales de Limnologie*, v. 20, n. 1-2, p. 39-41, 1984b.

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. Brazilian Plecoptera 6. *Gripopteryx* from Campos do Jordao, State of São Paulo (Gripopterygidae). Studies on Neotropical Fauna and Environment, v. 25, n. 4, p. 235-247, 1990.

FROEHLICH, C.G. Brazilian Plecoptera 7. Old and New Species of *Gripopteryx* (Gripopterygidae). Aquatic Insects, v. 15, n. 1, p. 21-38, 1993.

FROEHLICH, C.G. Two new species of *Kempnyia* from southern Brazil (Plecoptera: Perlidae). Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft, v. 69, p. 117-120, 1996.

FROEHLICH, C.G. Seven new species of *Tupiperla* (Plecoptera: Gripopterygidae) from Brazil, with a revision of the genus. Studies on Neotropical Fauna and Environment, v. 33, n. 1, p. 19-36, 1998.

FROEHLICH, C.G. *Guaranyperla*, A New Genus in the Gripopterygidae (Plecoptera). In: DOMÍNGUEZ, E. (ed.) Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera. Springer, Boston, Massachusetts, p. 377-383, 2001.

FROEHLICH, C.G. *Anacroneuria* mainly from southern Brazil and northeastern Argentina (Plecoptera: Perlidae). Proceedings of the biological society of Washington, v. 115, n. 1, p. 75-107, 2002.

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. Catalogue of neotropical Plecoptera. Illiesia, v. 6, n. 12, p. 118-205, 2010a.

FROEHLICH, C.G. *Anacroneuria* (Plecoptera, Perlidae) from the Mantiqueira Mountains, São Paulo State, Brazil. Zootaxa, v. 2365, p. 55-68, 2010b.

FROEHLICH, C.G. Checklist dos Plecoptera (Insecta) do Estado de São Paulo, Brasil. Biota Neotropica, v. 11, n. (Supp.1), p. 601-606, 2011a.

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

- FROEHLICH, C. G. *Tupiperla* (Plecoptera: Gripopterygidae) from southwestern Minas Gerais State, Brazil, with the description of *Tupiperla amorimi* n. sp. *Zootaxa*, v. 4103, n. 2, p. 174-176, 2016. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4103.2.7>
- GARCÍA-RÍOS, R.F., MOI, D.A., PELÁEZ, O.E. Effects of altitudinal gradient on benthic macroinvertebrate assemblages in two hydrological periods in a Neotropical Andean river. *Ecología Austral*, v. 30, n. 1, p. 33-44, 2020. <https://doi.org/10.25260/EA.20.30.1.0.995>
- GONÇALVES, M.C., NOVAES, M.C., SALLES, F. F. New species and records of Perlidae (Plecoptera) from Espírito Santo State, Brazil. *Zootaxa*, v. 4273, n. 1, p. 141-150, 2017a. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4273.1.11>
- GONÇALVES, M.C., NOVAES, M.C., SALLES, F.F. Studies on Gripopterygidae (Plecoptera) from Espírito Santo State, Brazil. *Zootaxa*, v. 4291, n. 3, p. 563-571, 2017b. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4291.3.8>
- GONÇALVES, M.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>
- HENRIQUES-OLIVEIRA, A.L., NESSIMIAN, J.L. Aquatic macroinvertebrate diversity and composition in streams along an altitudinal gradient in Southeastern Brazil. *Biota Neotropica*, v. 10, p. 115-128, 2010.
- HUANACHIN, A.C., HUAMANTINCO, A.A. Composición y estructura de la comunidad de coleópteros acuáticos (Insecta: Coleoptera) a lo largo de un gradiente altitudinal, Cusco, Perú. *Revista peruana de biología*, v. 25, n. 2, p. 131-140, 2018.
- JACOBSEN, D. Tropical high-altitude streams. In: Dudgeon, D. (ed.), *Tropical stream ecology*. Academic Press, p. 219-253, 2008.
- JACOBSON, G.G., BIANCHI, V.L. 1905. The Orthoptera and Pseudoneuroptera of Russia. (In Russian). 952 pp.

- JEWETT, S.G. Notes and descriptions concerning Brazilian stoneflies. *Arquivos do Museu Nacional*, v. 50, p. 167-184, 1960a.
- JEWETT, S.G. Two new species of *Anacroneuria* (Plecoptera) from Goiás, Brazil. *Contributions in Science*, v. 36, p. 1–4.1960b.
- KLAPÁLEK, F. Vorläufiger Bericht über exotische Plecopteren. *Wiener Entomologische Zeitung*, v. 28, n. 7-8, p. 215-232, 1909.
- KLAPÁLEK, F. Analytická tabulka fam. Perlidae a její dvou subfam., Perlinae a Acroneuriinae (Plecoptera). *Časopis České Společnosti Entomologické*, v. 11, p. 53-69, 1914.
- KLAPÁLEK, F. Subfamilia Acroneuriinae Klp. *Časopis České Společnosti Entomologické*, v. 13, p. 45-84, 1916.
- KLAPÁLEK, F. Plécoptères nouveaux. Quatrième partie. *Annales de la Société Entomologique de Belgique*, v. 62, p. 89–95, 1922.
- LATREILLE, P. A. Perlaire; Perlariae. *Histoire Naturelle, Générale et Particulière, des Crustacés et des Insectes*, v. 3, p. 392-393, 1802.
- LECCI, L.S., FROEHLICH, C.G. Taxonomic revision of *Gripopteryx* (Pictet, 1841) (Plecoptera: Gripopterygidae). *Zootaxa*, v. 2792, p. 1-21, 2011.
- MIGUEL, M., ALMEIDA, L.H., NOVAES, M. C., BISPO, P.C. *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from Central Brazil: new species, new geographic records, and taxonomic notes. *Zootaxa*, v. 5162, n. 5, p. 487-506, 2022. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5162.5.2>
- NAVÁS, L. Familia Pérlidos, pp. 22-23; 160–163. In: *Insectos suramericanos*. *Revista de la Real Academia de Ciencias de Madrid*, v. 31, 1934.
- NOVAES, M.C., BISPO, P.C. Plecoptera from Minas Gerais State, southeastern Brazil. *Zootaxa*, v. 3856, n. 3, p. 433-442, 2014. <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, n. 1, 94-98, 2016.
- 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. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4429.1.13>
- OLIVEIRA, U., BRESOVIT, A.D., SANTOS, A.J. Sampling effort and species richness assessment: a case study on Brazilian spiders. *Biodiversity and Conservation*, v. 26, p. 1481-1493, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10531-017-1312-1>
- PICTET, F.J. Histoire Naturelle Générale et Particulière des Insectes Névroptères. Famille des Perlides. 1. Partie. J. Kessmann et A. Cherbuliez Genève, 423 pp., 1841.
- RIBEIRO, J.M.F., DOS SANTOS, C.R.M. Checklist of the Plecoptera of Brazilian Amazon (Insecta: Plecoptera: Perlidae). *Zootaxa*, v. 4514, n. 4, p. 563-572, 2018.
- RIPPEL, M.L., 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. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4700.4.5>
- STARK, B.P., FROEHLICH, C.G., ZÚÑIGA, M.C. South American Stoneflies (Plecoptera). In: ADIS, J., ARIAS, J., GOLOVATCH, S., WANTZEN, M., RUEDA-DELGADO, G. (eds.). *Aquatic Biodiversity in Latin America, Volume 5*. Pensoft Publishers. 154 p. 2009.
- SOUTH, E.J., SKINNER, R.K., DEWALT, R.E., DAVIS, M.A., JOHNSON, K.P., TESLENKO, V.A., LEE, J.J., MALISON, R.L., HWANG, J.M., BAE, Y.J., MYERS, L.W. 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, n. 4, 1, p. 1-27, 2021. <https://doi.org/10.1093/isd/ixab014>

TAKIYA, D.M., SANTOS, A.P., PINTO, A.P., HENRIQUES-OLIVEIRA, A.L., CARVALHO, A.L., SAMPAIO, B.H., CLARKSON, B., MOREIRA, F.F., AVELINO-CAPISTRANO, F., GONÇALVES, I.C., CORDEIRO, I.R., CÂMARA, J.T., BARBOSA, J.F., SOUZA, R.M., RAFAEL, J.A. Aquatic insects from the caatinga: checklists and diversity assessments of Ubajara (Ceará State) and Sete Cidades (Piauí State) national parks, Northeastern Brazil. *Biodiversity Data Journal*, n. 4, e8354, p. 1-194, 2016. <https://doi.org/10.3897/BDJ.4.e8354>

TOMANOVA, S., TEDESCO, P.A. Tamaño corporal, tolerancia ecológica y potencial de bioindicación de la calidad del agua de *Anacroneuria* spp. (Plecoptera: Perlidae) en América del Sur. *Revista de biología tropical*, v. 55, n. 1, p. 67-81, 2007.

Tabelas

Tabela 1. Lista de espécies de Plecoptera registradas para Minas Gerais, Brasil.

Táxon / Autor	Registros	Municípios
I. Perlidae Latreille 1802		
Anacroneuria Klapálek 1909		
1. <i>A. atrifrons</i> Klapálek 1922	Presente estudo (Novo registro)	Aimorés, Iapu, Pingo-d'Água
2. <i>A. boraceiensis</i> Froehlich 2004	Novaes & Bispo 2014.	Aiuruoca
3. <i>A. debilis</i> (Pictet 1841) (Fig. A1)	Novaes & Bispo 2014, Novaes <i>et al.</i> 2016, Gonçalves <i>et al.</i> 2017a, presente estudo.	Aiuruoca, Alto Caparaó, Araponga, Brumadinho, Espera Feliz, Itabirito, Itacarambi, São Gonçalo do Rio Preto, Aimorés (p),
4. <i>A. flintorum</i> (Pictet 1841)	Froehlich 2010b, Gonçalves <i>et al.</i> 2017a, Almeida <i>et al.</i> 2018.	Alto Caparaó, Araponga, Espera Feliz, Delfim Moreira (p), Mantela (p)
5. <i>Anacroneuria</i> aff. <i>flintorum</i> (Fig. A2)	Presente estudo.	Araponga
6. <i>A. galba</i> Jewett 1960 (*)	Jewett 1960b	Além Paraíba
7. <i>A. itatiaiensis</i> Baldin, Bispo & Novaes 2013. (Fig. A3)	Novaes & Bispo 2014, presente estudo.	Guaraciaba, Jaboticatubas, Santo Antônio do Rio Abaixo, São Gonçalo do Rio Preto
8. <i>A. mineira</i> Novaes & Bispo 2014 (Fig. A4)	Novaes & Bispo 2014, presente estudo.	Aimorés, Jaboticatubas
9. <i>A. paprockii</i> Novaes & Bispo 2014	Novaes & Bispo 2014.	São Gonçalo do Rio Preto
10. <i>A. polita</i> (Burmeister 1839)	Novaes & Bispo 2014.	Alto Caparaó
11. <i>A. saofrancisco</i> Novaes, Vilela, Lopez & Ferreira 2018	Novaes <i>et al.</i> 2018	São Roque de Minas
12. <i>A. singularis</i> Righi-Cavallaro & Lecci 2010	Novaes & Bispo 2014.	Santana do Riacho
13. <i>A. stanjewetti</i> Froehlich 2002	Novaes & Bispo 2014.	Santana do Riacho
14. <i>A. terere</i> Righi-Cavallaro & Lecci 2010	Novaes & Bispo 2014.	Bonito de Minas
15. <i>A. vanini</i> Froehlich 2004	Froehlich 2010b, Novaes & Bispo 2014.	Itabirito, Delfim Moreira (p)
16. A. sp. nov. (In description) (Fig. A5)	Presente estudo (Nova espécie)	Guaraciaba
Kempnyia Klapálek 1914		
17. <i>K. alterosarum</i> Froehlich 1988	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014, Novaes & Bispo 2014.	Itabirito, Itamonte, Santana do Riacho
18. <i>K. colossica</i> (Navás 1934)	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014	Itamonte

19. <i>K. flava</i> Klapálek 1916 (Fig. A6)	Froehlich 2011b, Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014, presente estudo.	Alto Caparaó, Araponga, Delfim Moreira (p)
20. <i>K. gracilentata</i> (Enderlein 1909)	Froehlich 1984a.	Catas Altas
21. <i>K. neotropica</i> (Jacobson & Bianchi 1905) (Fig. A7)	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014 (s), Bispo & Froehlich 2008, Novaes <i>et al.</i> 2016, Gonçalves <i>et al.</i> 2017a, presente estudo.	Alto Caparaó, Araponga, Espera Feliz, Itabirito, Santana do Riacho, Aimorés (p).
22. <i>K. obtusa</i> Klapálek 1916 (Fig. A8)	Froehlich 1988, Froehlich 2011b, Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014, Novaes & Bispo 2014, Gonçalves <i>et al.</i> 2017a, presente estudo.	Aiuruoca, Alto Caparaó, Alto Jequitibá, Araponga, Brumadinho, Itabirito, Morro do Pilar, Santana do Riacho, Delfim Moreira (p), Marmelópolis (p)
23. <i>K. reichardti</i> Froehlich 1984	Froehlich 1984a, Froehlich 2011b.	Catas Altas, Morro do Pilar, Delfim Moreira (p).
24. <i>K. sazimai</i> Froehlich 1988	Froehlich 1988.	Morro do Pilar
25. <i>K. umbrina</i> Froehlich 1988	Froehlich 1988.	Morro do Pilar
26. <i>K. vanini</i> Froehlich 1988	Froehlich 1988.	Poços de Caldas
II. Gripterygidae Enderlein, 1909		
<i>Gripteryx</i> Pictet 1841		
27. <i>G. cancellata</i> (Pictet 1841)	Froehlich 1990, 1993, Gonçalves <i>et al.</i> 2017b.	Alto Caparaó, Alto Jequitibá, Camanducaia, Espera Feliz, Morro do Pilar, Belmiro Braga (p), Delfim Moreira (p),
28. <i>G. caparao</i> Gonçalves, Novaes & Salles 2017	Gonçalves <i>et al.</i> 2017b.	Espera Feliz
29. <i>G. garbei</i> Navás 1936	Froehlich 1990, 1993, Gonçalves <i>et al.</i> 2017b.	Camanducaia, Espera Feliz, Ouro Fino, Santana do Riacho, Sapucaí-Mirim, Delfim Moreira (p).
30. <i>G. juetah</i> Froehlich 1990	Froehlich 1990, Gonçalves <i>et al.</i> 2017b.	Alto Caparaó, Camanducaia, Espera Feliz, Sapucaí-Mirim, Delfim Moreira (p).
31. <i>G. liana</i> Froehlich 1993	Froehlich 1993.	Santana do Riacho, Morro do Pilar
32. <i>G. pilosa</i> Froehlich 1990	Froehlich 1990, Gonçalves <i>et al.</i> 2017b.	Alto Caparaó, Espera Feliz, Sapucaí-Mirim, Delfim Moreira (p).
33. <i>G. pinima</i> Froehlich 1993 (Fig. A9)	Presente estudo (Novo registro)	Araponga
34. <i>G. reticulata</i> Brauer 1866 (Fig. A10)	Froehlich 1990, 1993, Gonçalves <i>et al.</i> 2017b, presente estudo.	Alto Caparaó, Alto Jequitibá, Araponga, Camanducaia, Catas Altas, Espera Feliz, Sapucaí-Mirim, Santana do Riacho, Delfim Moreira (p).
<i>Guaranyperla</i> Froehlich 2001		
35. <i>G. beckeri</i> Froehlich 2001	Froehlich 2001.	Poços de Caldas
<i>Guaranyperla</i> spp. (nymphs)		Alto Caparaó, Espera Feliz, Ouro Fino.
<i>Paragripteryx</i> Enderlein 1909		
36. <i>P. intervalensis</i> Bispo & Lecci 2011	Duarte <i>et al.</i> 2022.	São Gonçalo do Rio Abaixo

37. <i>P. klapaleki</i> Enderlein 1909	Gonçalves <i>et al.</i> 2017b.	Espera Feliz
<i>Tupiperla</i> Froehlich 1969		
38. <i>Tupiperla amorimi</i> Froehlich 2016	Froehlich 2016.	Cabo Verde
39. <i>Tupiperla gracilis</i> (Burmeister 1839)	Froehlich 1998, Novaes & Bispo 2014, Froehlich 2016, Novaes <i>et al.</i> 2018.	Cabo Verde, Ouro Preto, Santana do Riacho, São Gonçalo do Rio Preto, São Roque de Minas, Rio Acima, Delfim Moreira (p).
40. <i>Tupiperla reichardti</i> Froehlich 1998	Froehlich 1998.	Poços de Caldas, Delfim Moreira (p).
41. <i>Tupiperla robusta</i> Froehlich 1998	Novaes & Bispo 2014, Gonçalves <i>et al.</i> 2017b.	Alto Caparaó, Espera Feliz, Delfim Moreira (p).
42. <i>Tupiperla tesellata</i> (Brauer 1866) (Fig. A11)	Froehlich 1998, Gonçalves <i>et al.</i> 2017b, presente estudo.	Brumadinho, Catas Altas, Espera Feliz, Santana do Riacho.
Registros prováveis		
1. <i>A. mantiqueirae</i> Froehlich 2010	Froehlich 2010b.	SP, Campos do Jordão (p)
2. <i>A. simulans</i> Froehlich 2010	Froehlich 2010b.	SP, Campos do Jordão (p)
3. <i>A. tabatae</i> Froehlich 2010	Froehlich 2010b.	SP, Campos do Jordão (p)
4. <i>A. toriba</i> Froehlich 2002	Froehlich 2010b.	SP, Campos do Jordão (p)
5. <i>K. jatim</i> Froehlich 1988	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014.	ES, Dolores do Rio Preto (p)
6. <i>K. pirata</i> Froehlich 2011	Froehlich 2011b.	SP, Campos do Jordão (p)
7. <i>K. tamoya</i> Froehlich 1984	Froehlich 2011b.	SP, Campos do Jordão (p)
8. <i>K. tupinamba</i> Froehlich 2011	Froehlich 2011b.	SP, Campos do Jordão (p)
9. <i>G. guapiara</i> Froehlich 2001	Froehlich 2001b.	SP, Campos do Jordão (p)
10. <i>G. nitens</i> Froehlich 2001	Froehlich 2001b.	SP, Campos do Jordão (p)
11. <i>P. delicata</i> Froehlich 1994	Froehlich 1994	SP, Campos do Jordão (p)
12. <i>P. guardae</i> Froehlich 1994	Froehlich 1994	SP, Campos do Jordão (p)
13. <i>P. merui</i> Froehlich 1994	Froehlich 1994	SP, Campos do Jordão (p)
14. <i>T. modesta</i> Froehlich 1998	Froehlich 1998	SP, Campos do Jordão (p)

(*) Registro duvidoso. (p) Registro de ocorrência fora do estado mineiro, mas próximo à divisa com este estado.

Figuras

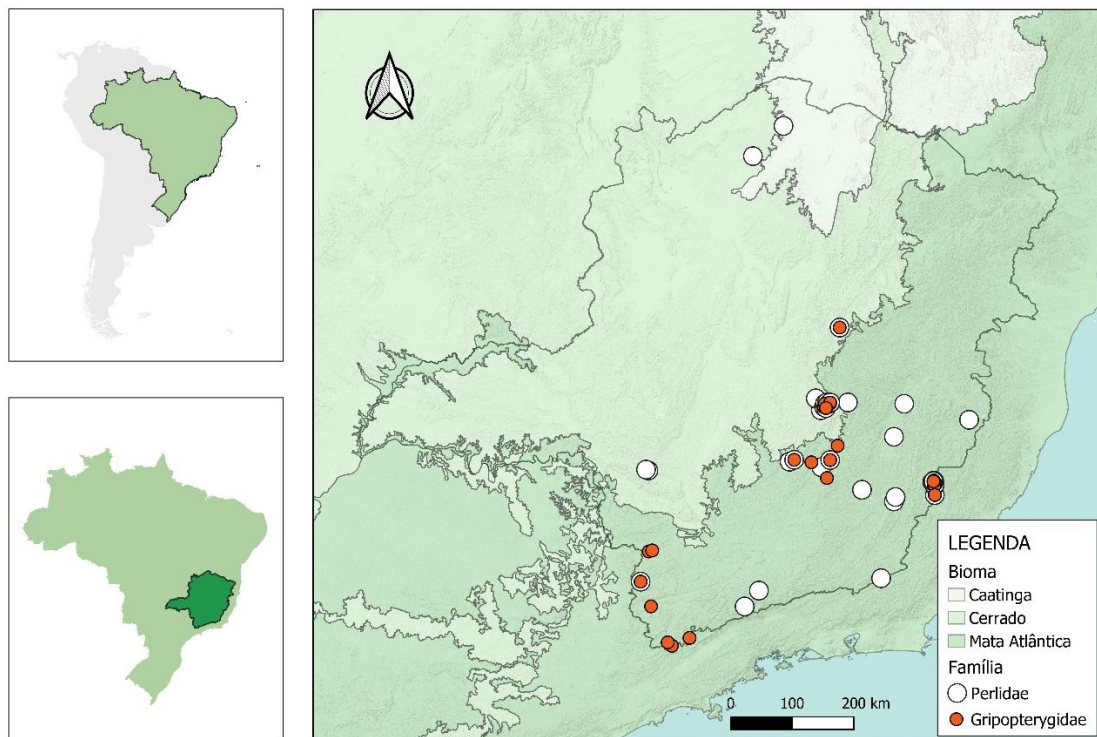


Figura 1. Mapa de localização e distribuição dos registros de ocorrência de Plecoptera por família no estado de Minas Gerais, Brasil.

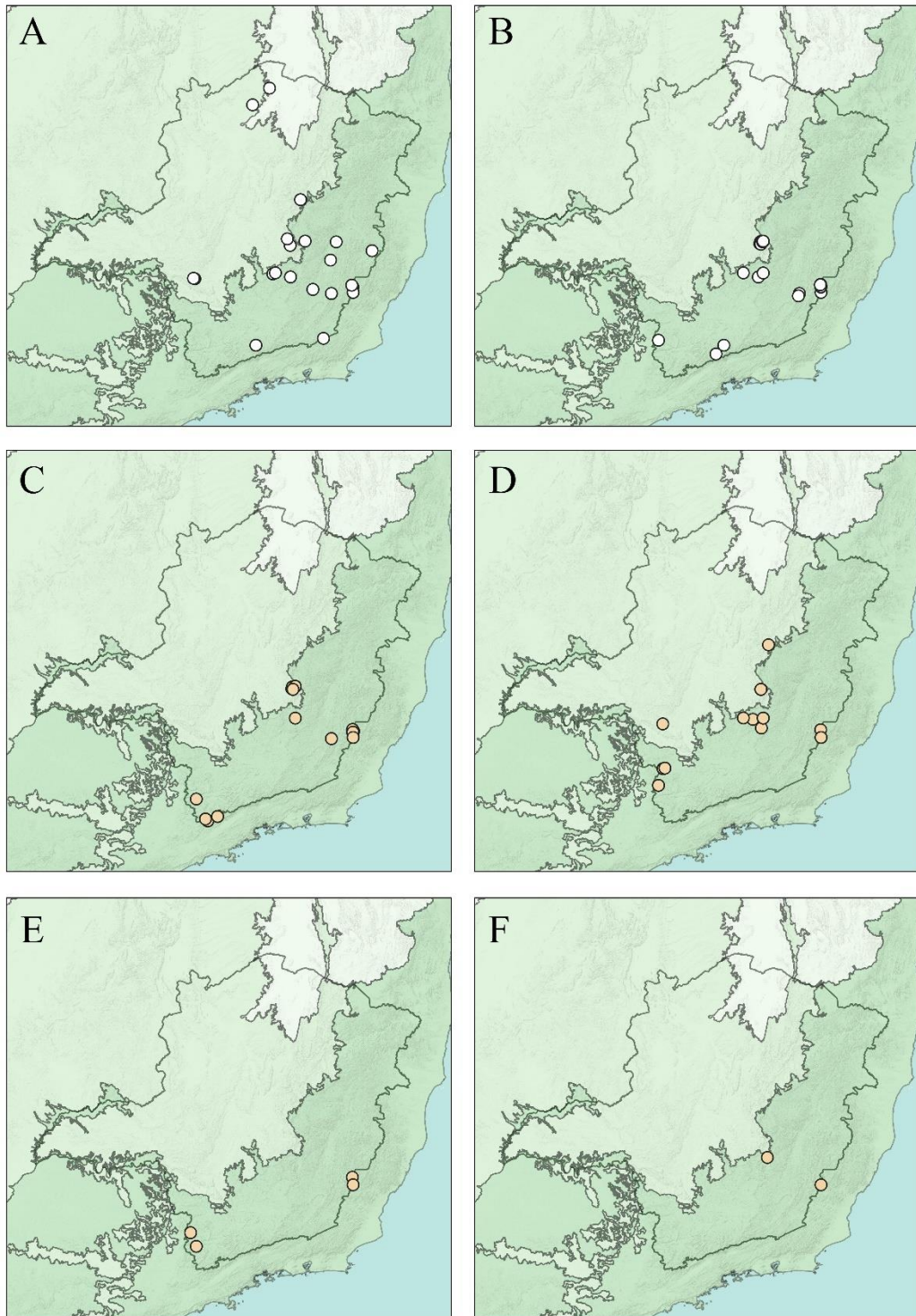


Figura 2. Mapa de localização e distribuição dos registros de ocorrência de Plecoptera por gênero no estado de Minas Gerais, Brasil. (A) *Anacroneuria*. (B) *Kempnyia*. (C) *Gripopteryx*. (D) *Tupiperla*. (E) *Guaranyperla*. (F) *Paragripopteryx*. Para a legenda de cores, vide legenda da Figura 1.

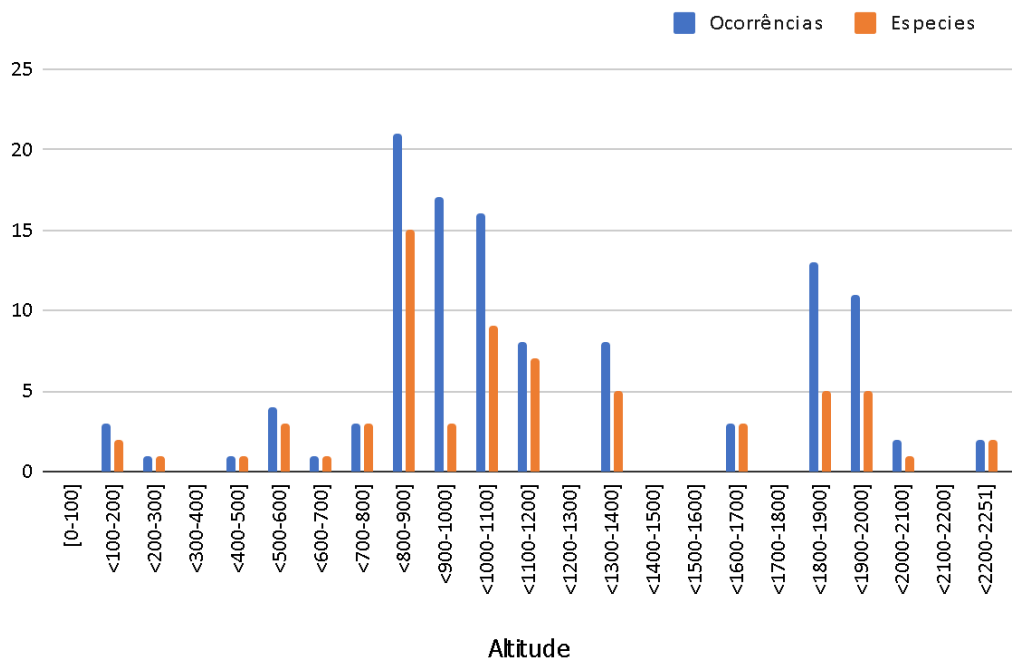


Figura 3. Distribuição dos registros de ocorrência e de riqueza de espécies de Plecoptera ao longo do gradiente altitudinal do estado de Minas Gerais, Brasil.

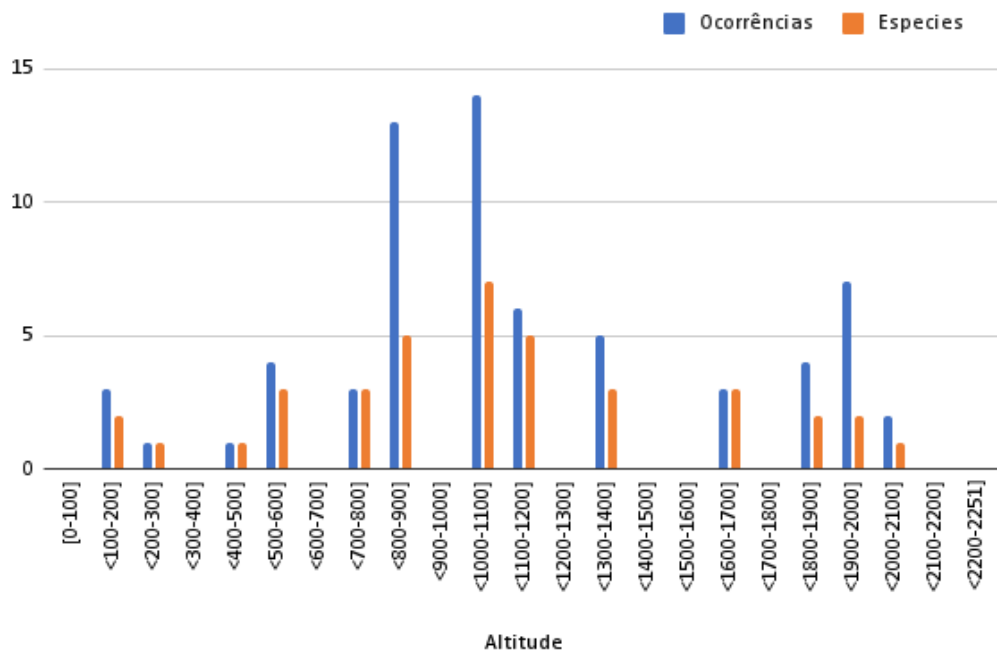


Figura 4. Distribuição dos registros de ocorrência e de riqueza de espécies de Plecoptera: Perlidae ao longo do gradiente altitudinal do estado de Minas Gerais, Brasil.

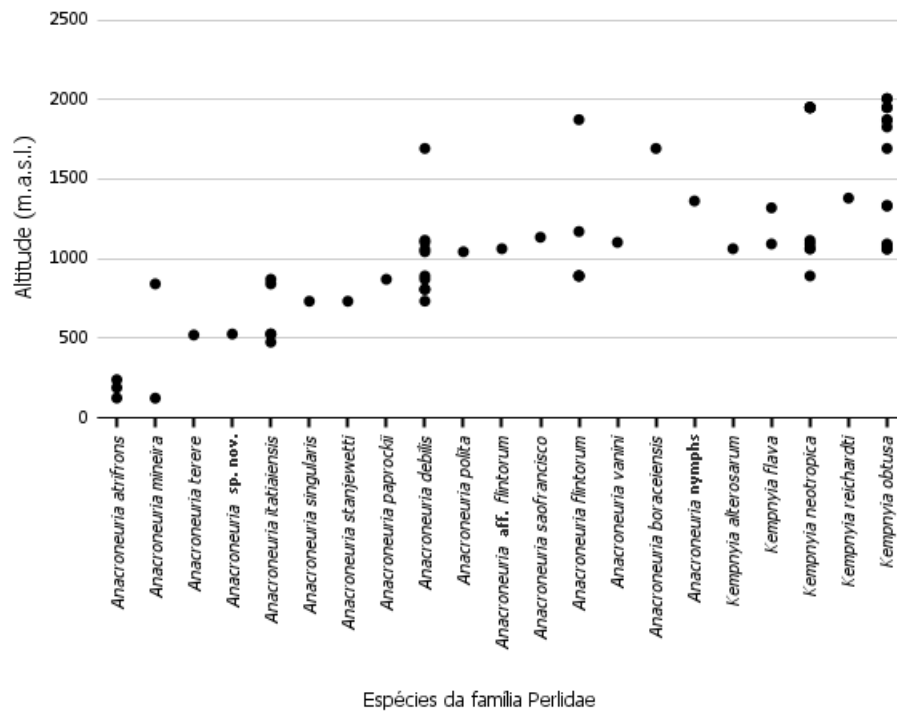


Figura 5. Distribuição altitudinal das espécies da família Perlidae (Plecoptera) registradas em Minas Gerais, Brasil.

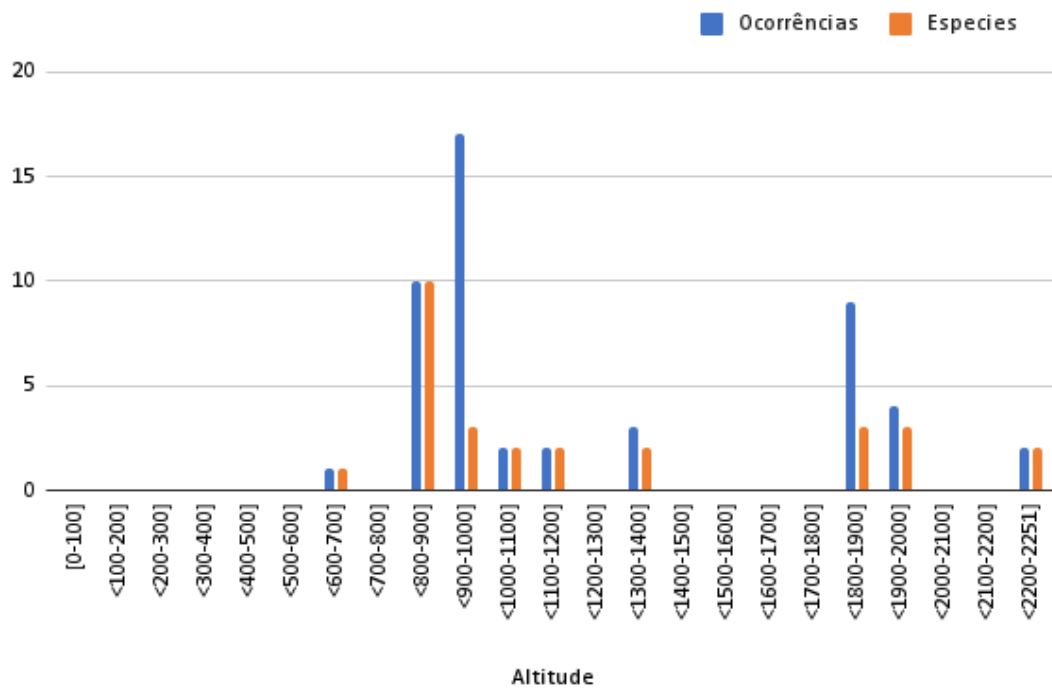


Figura 6. Distribuição dos registros de ocorrência e riqueza de espécies de Plecoptera: Gripopterygidae ao longo do gradiente altitudinal do estado de Minas Gerais, Brasil.

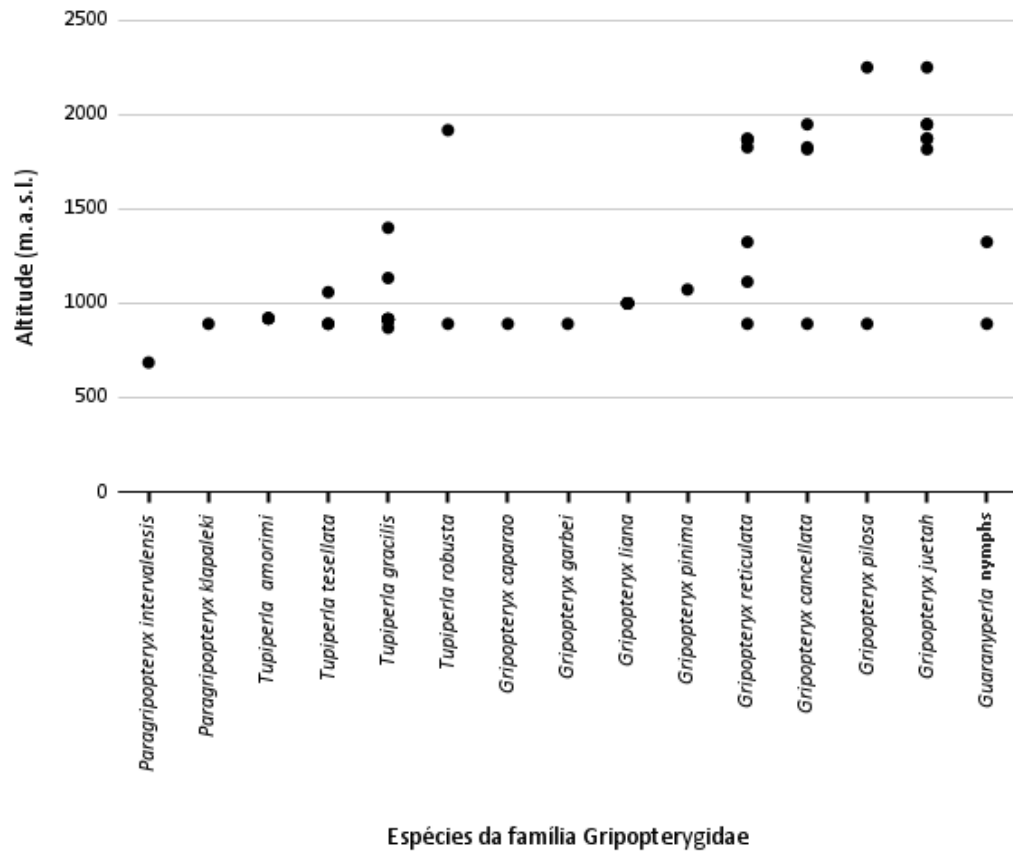


Figura 7. Distribuição altitudinal das espécies da família Gripopterygidae (Plecoptera) registradas em Minas Gerais, Brasil.

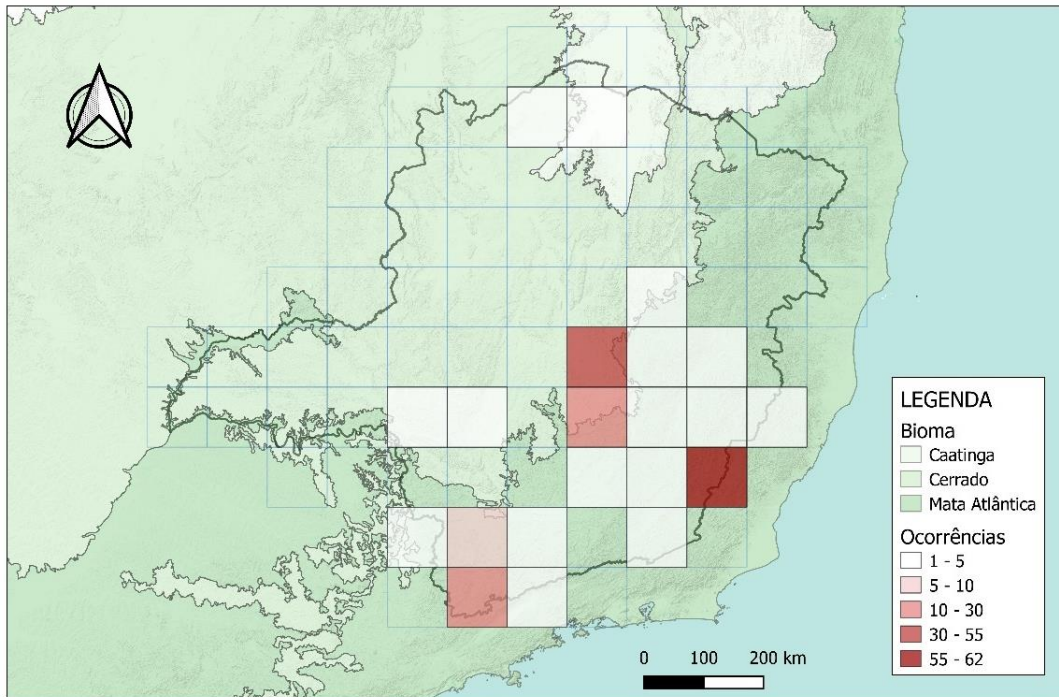


Figura 8. Distribuição do número de registros de ocorrência de Plecoptera em Minas Gerais, agrupados em células de um grau de lado.

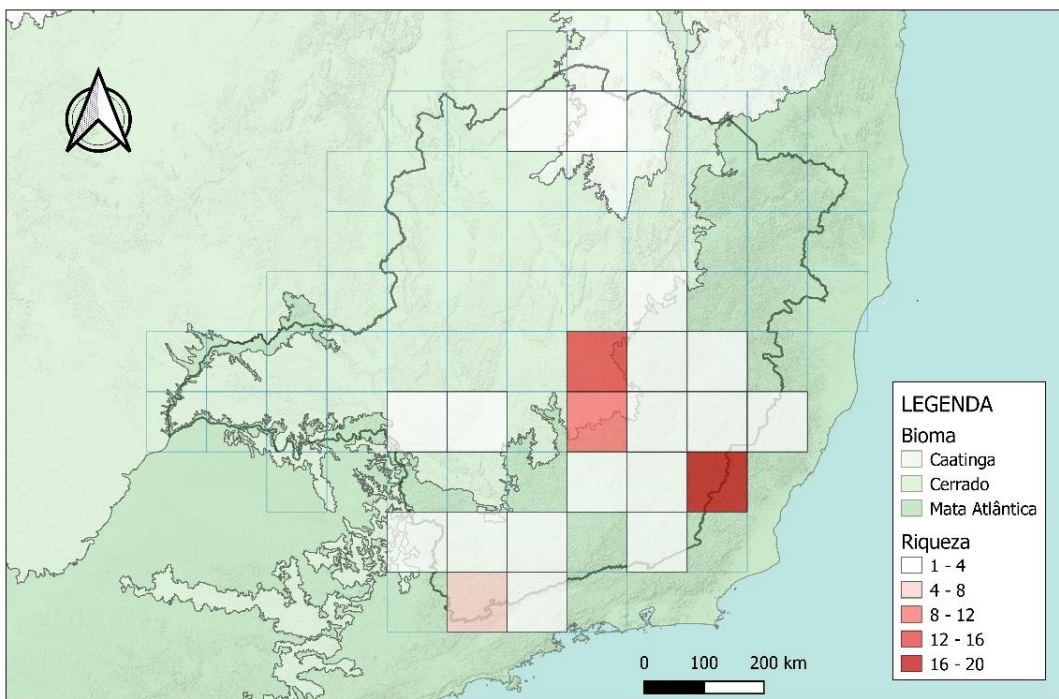


Figura 9. Distribuição do número de espécies de Plecoptera em Minas Gerais, agrupados em células de um grau de lado.

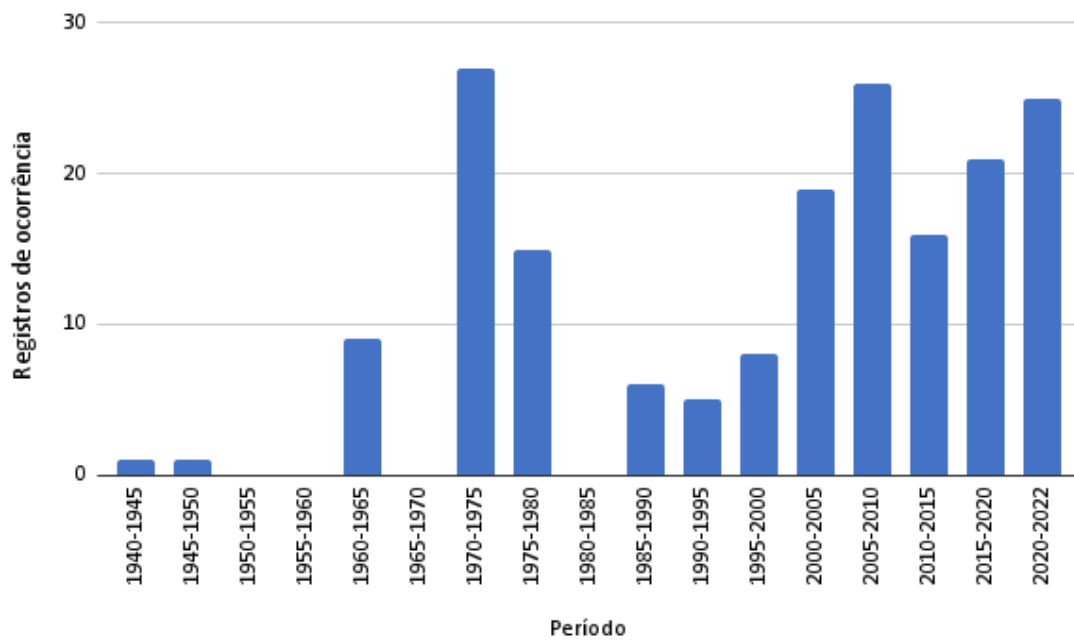


Figura 10. Coletas de espécies de Plecoptera ao longo do tempo no estado de Minas Gerais, Brasil.

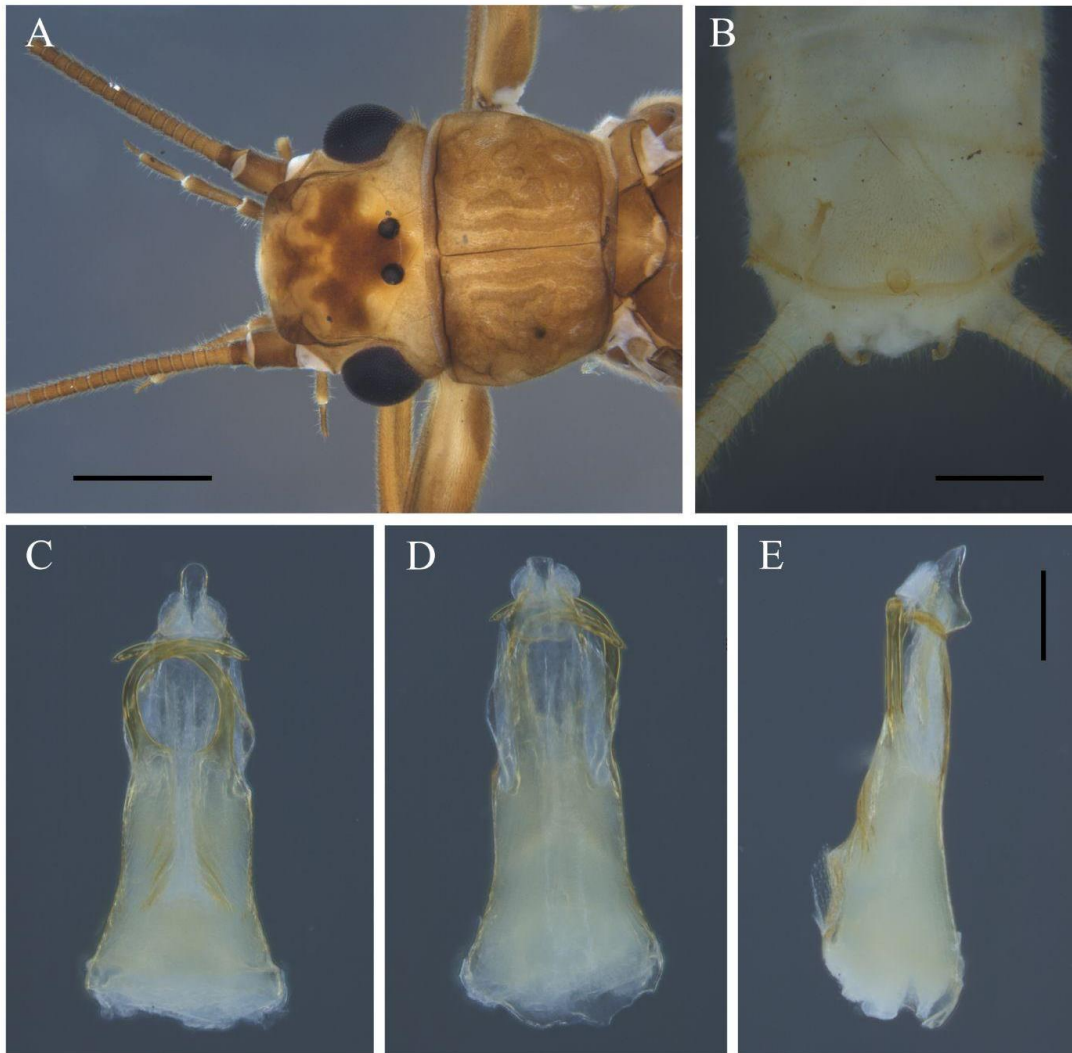
APÊNDICE A - Fotografias de algumas das espécies identificadas no presente trabalho

Fig. A1 (a-e): *Anacroneuria debilis* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; c. armadura peniana, vista ventral; d. armadura peniana, vista dorsal; e. armadura peniana, vista lateral. Escalas - Fig. A1: a. 1mm; b. 0,5mm; c, d and e. 200 μ m.

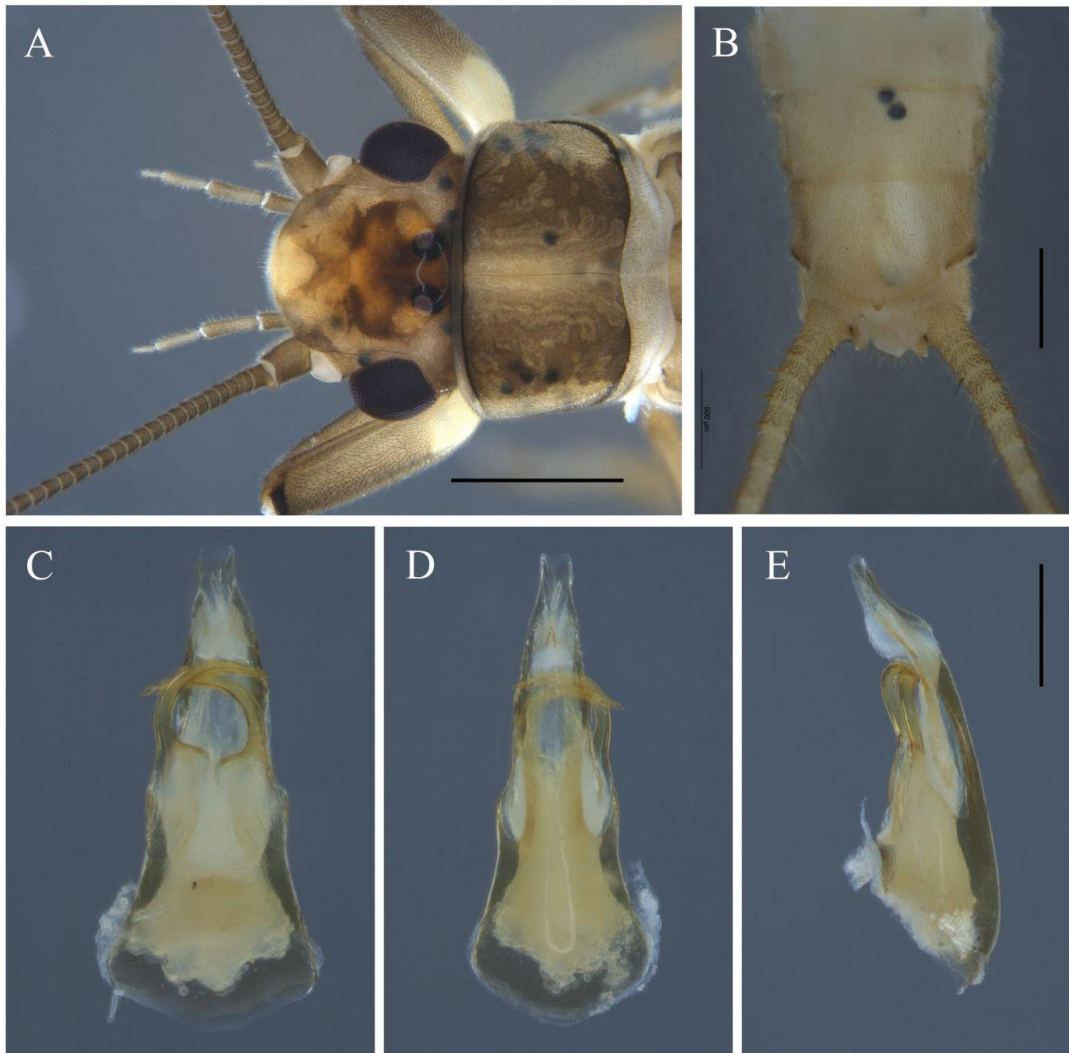


Fig. A2 (a-e): *Anacroneuria* aff. *flintorum* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; c. armadura peniana, vista ventral; d. armadura peniana, vista dorsal; e. armadura peniana, vista lateral. Escalas - Fig. A2: a. 1mm; b. 0,5mm; c, d and e. 200 μ m.

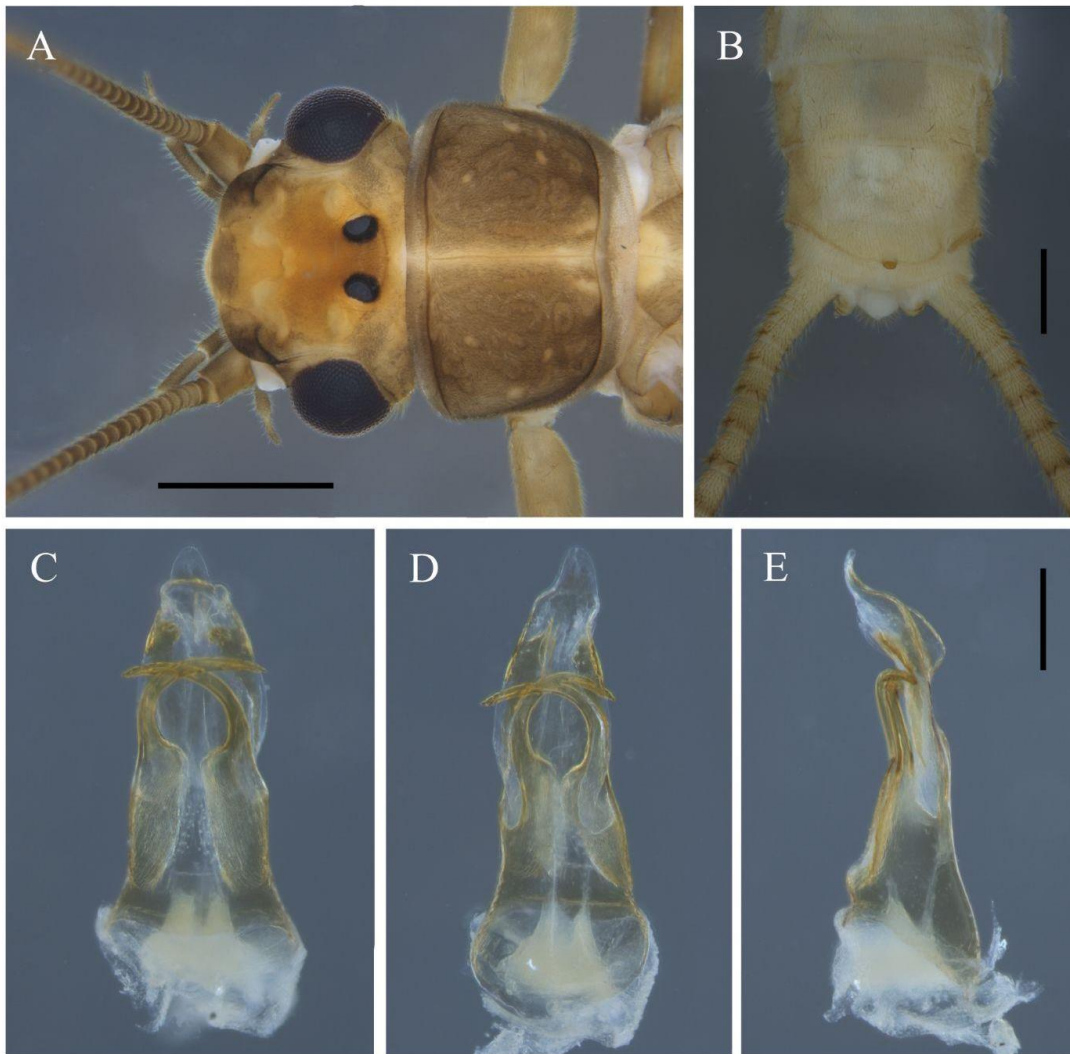


Fig. A3 (a-e): *Anacroneuria itatiaiensis* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; c. armadura peniana, vista ventral; d. armadura peniana, vista dorsal; e. armadura peniana, vista lateral. Escalas - Fig. A3: a. 1mm; b. 0,5mm; c, d and e. 200 μ m.

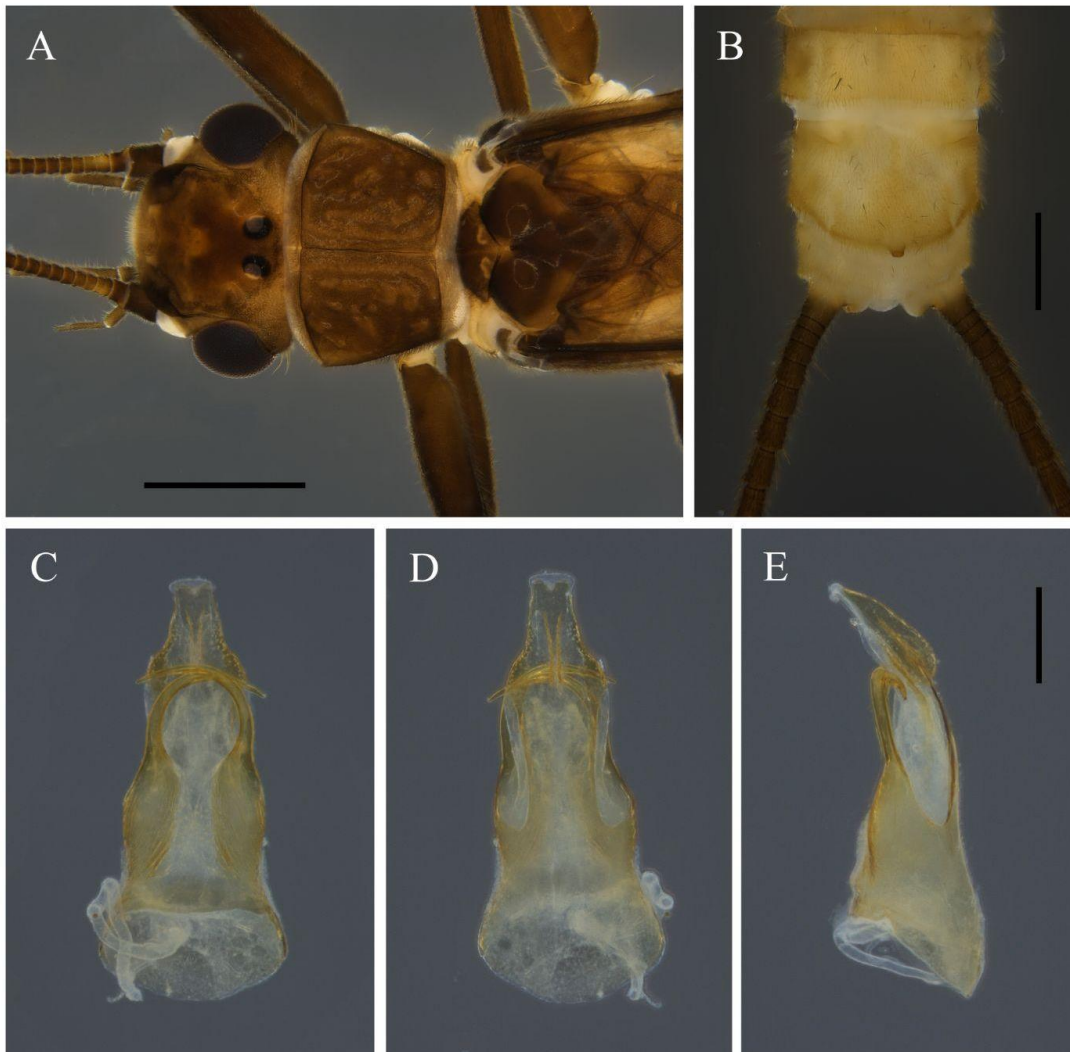


Fig. A4 (a-e): *Anacroneuria mineira* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; c. armadura peniana, vista ventral; d. armadura peniana, vista dorsal; e. armadura peniana, vista lateral. Escalas - Fig. A4: a. 1mm; b. 0,5mm; c, d and e. 200 μ m.

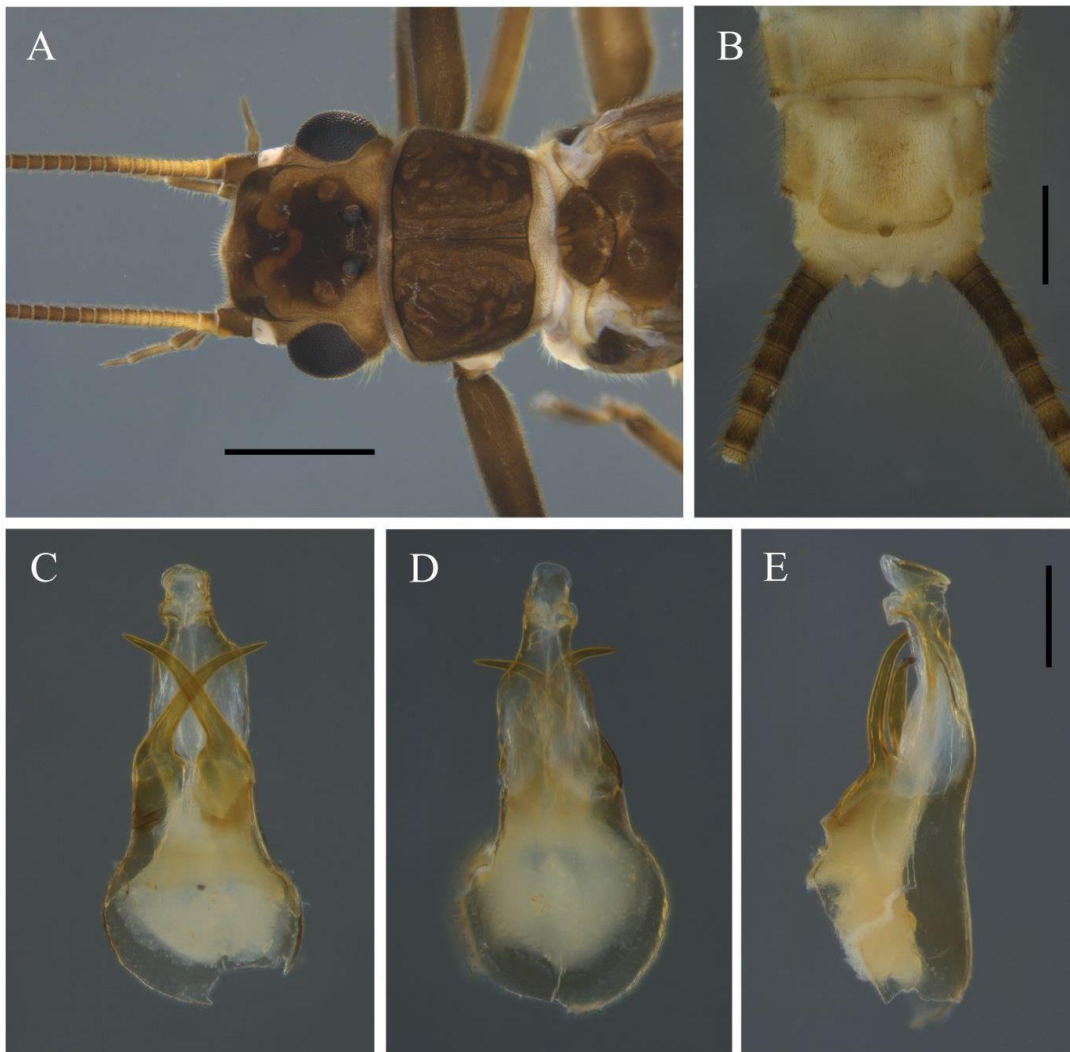


Fig. A5 (a-e): *Anacroneuria* sp. nov. macho (Em descrição). a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; c. armadura peniana, vista ventral; d. armadura peniana, vista dorsal; e. armadura peniana, vista lateral.

Escalas - Fig. A5: a. 1mm; b. 0,5mm; c, d and e. 200 μ m.

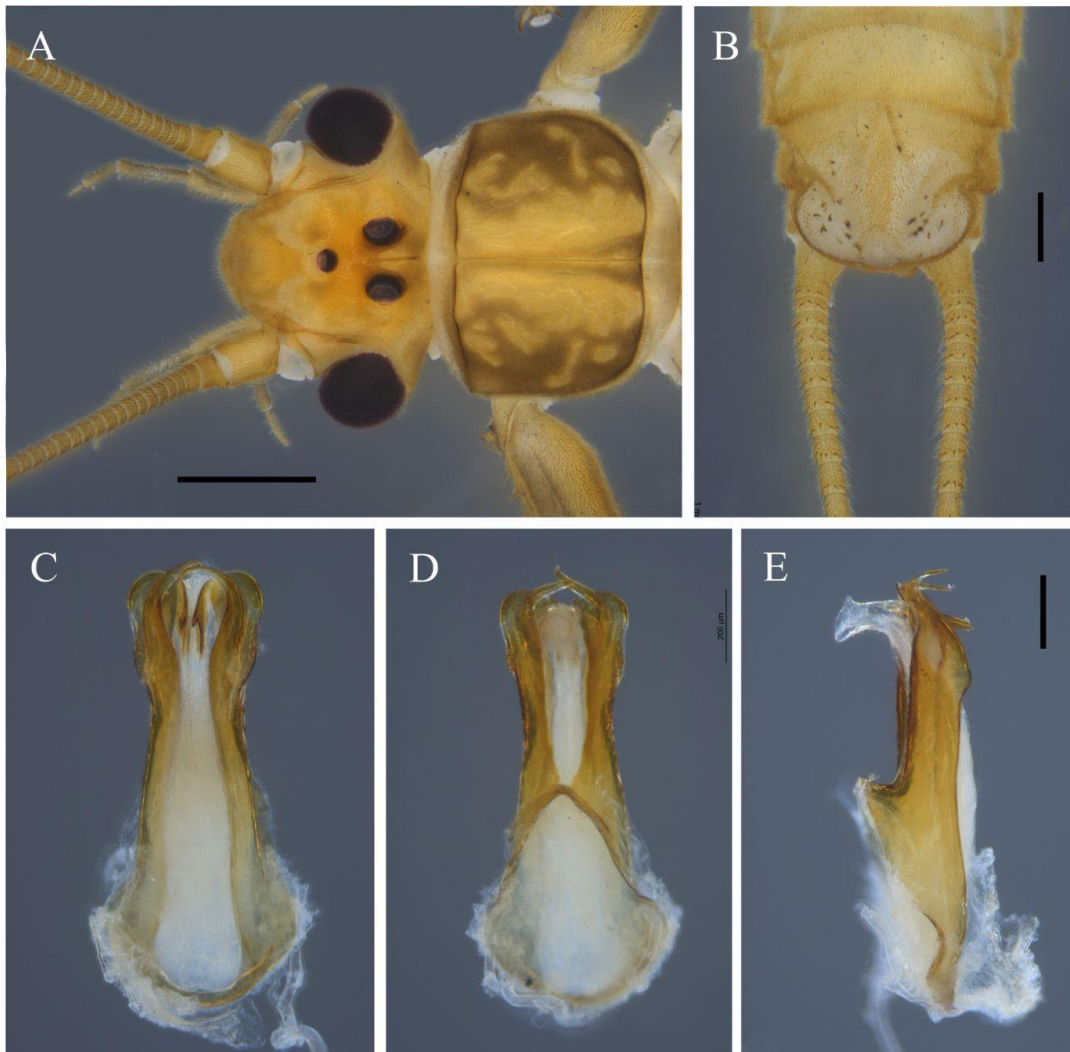


Fig. A6 (a-g): *Kempnyia flava* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; c. armadura peniana, vista ventral; d. armadura peniana, vista dorsal; e. armadura peniana, vista lateral. Escalas - Fig. A6: a. 1mm; b. 0,5mm; c, d and e. 200µm.

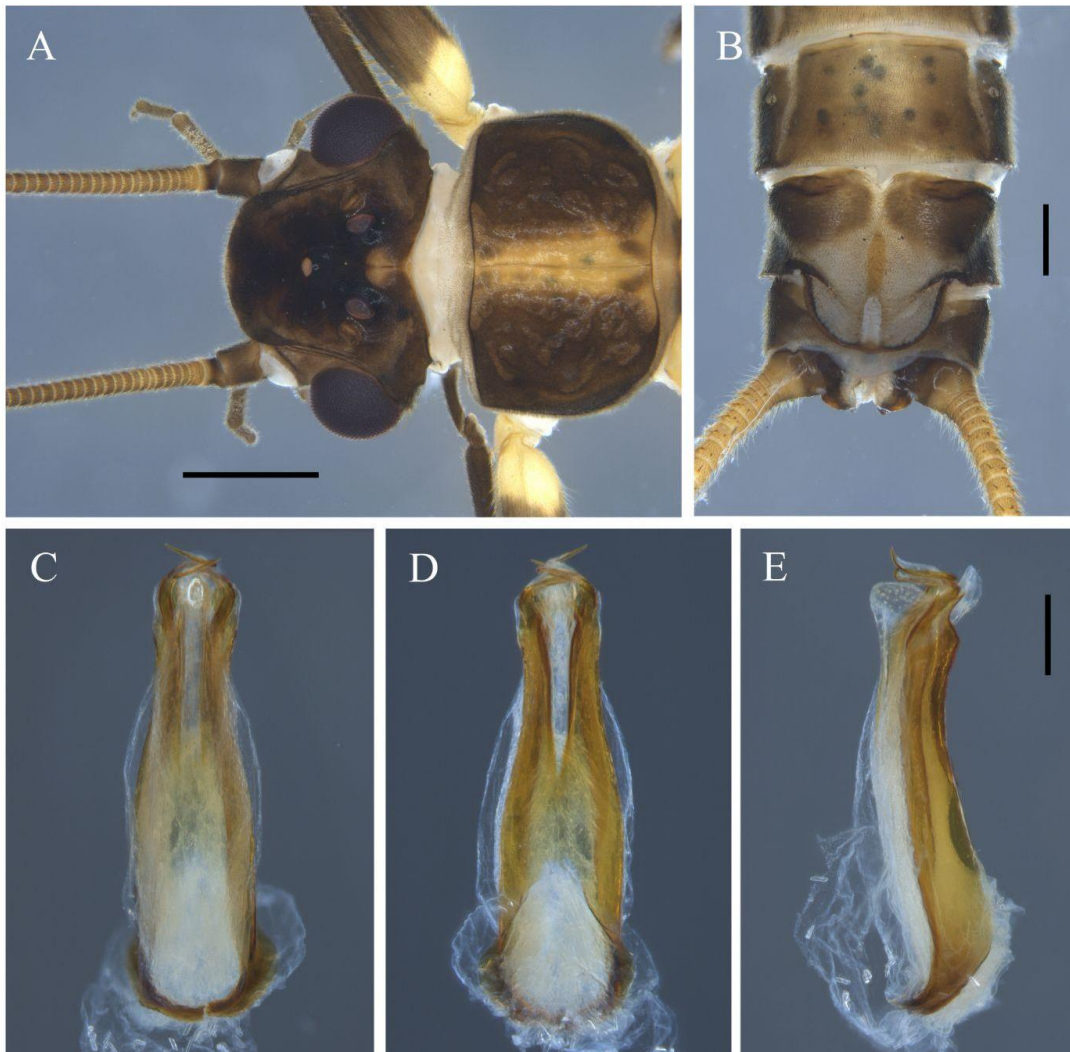


Fig. A7 (a-e): *Kempnyia neotropica* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; c. armadura peniana, vista ventral; d. armadura peniana, vista dorsal; e. armadura peniana, vista lateral. Escalas - Fig. A7: a. 1mm; b. 0,5mm; c, d and e. 200 μ m.

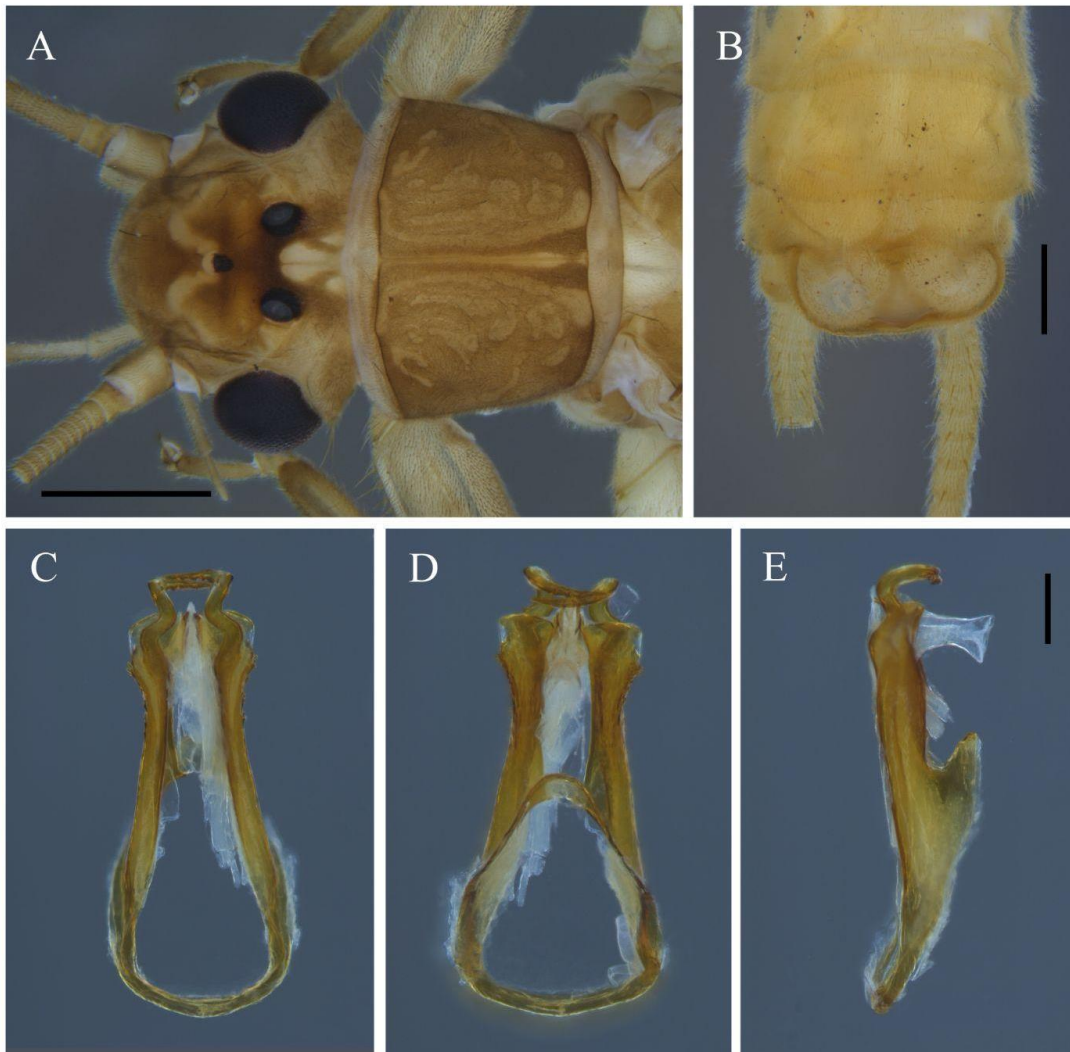


Fig. A8 (a-g): *Kempnyia obtusa* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; c. armadura peniana, vista ventral; d. armadura peniana, vista dorsal; e. armadura peniana, vista lateral. Escalas - Fig. A8: a. 1mm; b. 0,5mm; c, d and e. 200 μ m.



Fig. A9 (a-d): *Gripopteryx pinima* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; vista lateral; c. vista ventral view; d. vista dorsal. Escalas - Fig. A9: a, b, c and d. 1mm.



Fig. 10 (a-d): *Gripopteryx reticulata* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; vista lateral; c. vista ventral view; d. vista dorsal. Escalas - Fig. 10: a, b, c and d. 1mm.

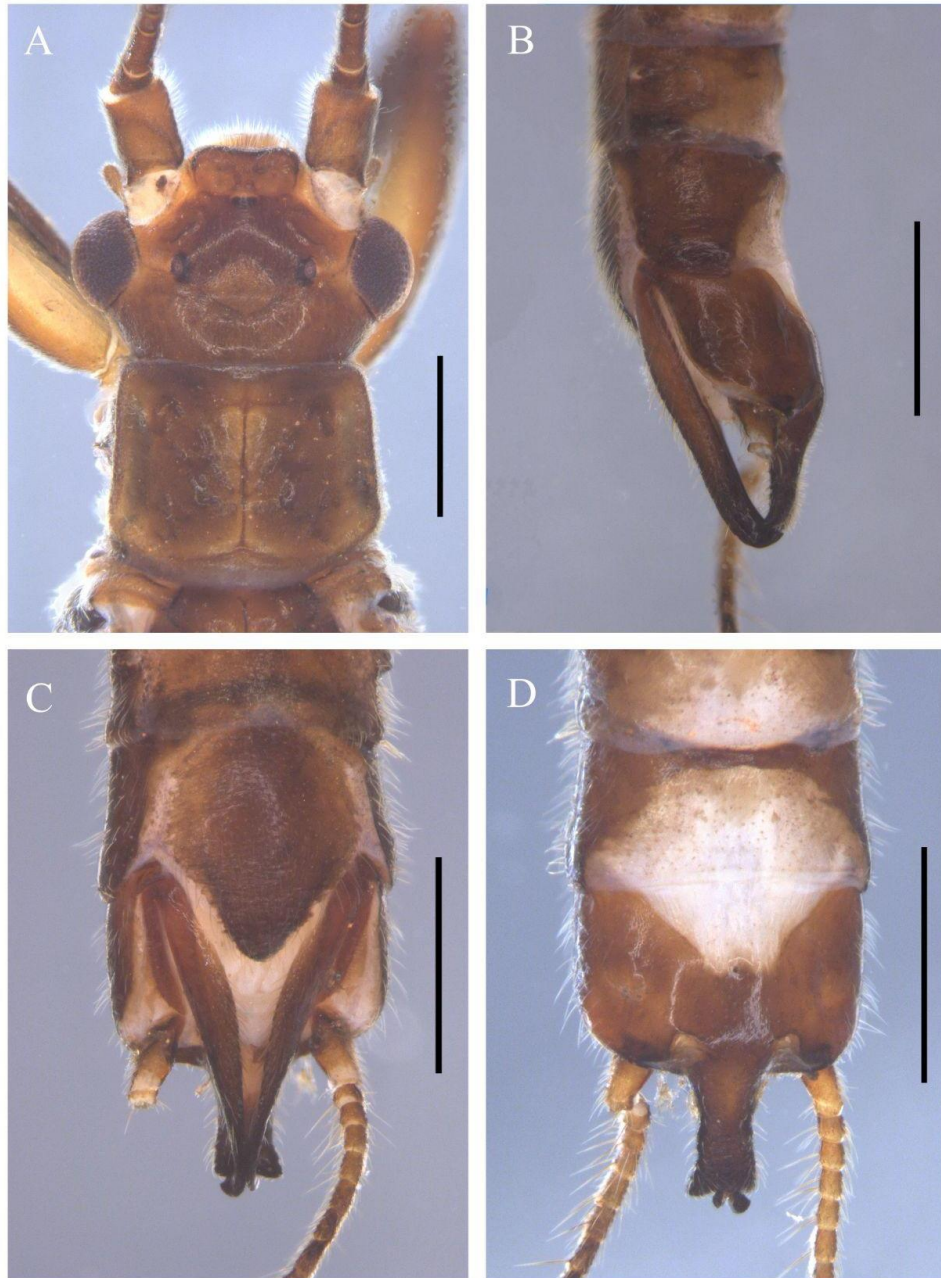


Fig. 11 (a-d): *Tupiperla tesellata* macho. a. Cabeça e pronoto; b. Esterno 9 e martelo; vista lateral; c. vista ventral view; d. vista dorsal. Escalas - Fig. 11: a, b, c and d. 1mm.

APÊNDICE B - Stoneflies left over from a mining disaster: New species and records of Perlidae (Plecoptera) from Doce river basin, southeastern Brazil

R.M. CASTILLO-VELÁSQUEZ^{1,4*}, M.C. GONÇALVES¹, M.C. DIAS CORREIA², A.D.L. VIANA³, M.L.S. RIPPEL¹, P. BONFÁ Nt.², F.F. SALLES²

¹ *Programa de Pós-graduação em Entomologia, Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, CEP 36.570-900, Viçosa, MG, Brasil.*

² *Museu de Entomologia, Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, CEP 36.570-900, Viçosa, MG, Brasil.*

³ *Programa de Pós-graduação em Ecologia, Universidade Federal de Viçosa, CEP 36.570-900, Viçosa, MG, Brasil.*

⁴ *Laboratorio de Invertebrados Acuáticos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.*

* *Corresponding author: rodolfo.velasquez@ufv.br*

RMCV: <https://orcid.org/0000-0003-0106-6792>

MCG: <https://orcid.org/0000-0002-0977-2299>

MCDC: <https://orcid.org/0000-0001-6980-8030>

ADLV: <https://orcid.org/0000-0001-5374-1257>

MLSR: <https://orcid.org/0000-0002-1706-7223>

PBN: <https://orcid.org/0000-0002-9328-1352>

FFS: <https://orcid.org/0000-0001-8331-5929>

Running title: Stoneflies left over from a mining disaster from Doce river basin, southeastern, Brazil

Abstract

Specimens of *Anacroneuria* Klapálek, 1909 (Plecoptera: Perlidae) from the Doce river basin, southeastern Brazil, were studied. Three new records from this basin are included: *A. mineira* Novaes & Bispo, 2014, *A. atrifrons* Klapálek, 1922, and *Anacroneuria itatiaiensis* Baldin, Bispo & Novaes, 2013. And a new species is described: *A. piranga* **sp. nov.** The new species is morphologically similar to *A. annulicauda* Stark & Kondratieff, 2004 and *A. atrifrons*, but can be distinguished by the keel of the aedeagus, which is flat and pointed at the apex. In addition to its description, photographs of all species are included, as well as a detailed description of the habitat of the new species.

Key words: Aquatic insects, Atlantic Forest, Biodiversity, Neotropics.

Introduction

Plecoptera is an order of hemimetabolous aquatic insects that is divided into two suborders, Arctoperlaria and Antarctoperlaria (DeWalt & Over 2019). They present a total of 17 extant families, with a number of species worldwide of just over 3700 (DeWalt & Over 2019; South *et al.* 2021). In Brazil, its taxa are distributed into the families Perlidae and Gripopterygidae, and include eight genera and around 200 species, with more than 80 species belonging to the genus *Anacroneuria* (Almeida & Bispo 2020; Miguel *et al.* 2022).

Within the global conservation hotspot Atlantic Forest biome, lies the Doce River Basin, an area in which few species of stoneflies have been reported (Novaes & Bispo 2014; Novaes *et al.* 2016; Gonçalves *et al.* 2019). In 2015 this basin was partly affected by a flood of mud and mining debris (GFT 2016). This flood released more than 60 million cubic meters of mining waste, encompassing hundreds of miles along the river, until it reached the Atlantic Ocean, which became the worst environmental disaster of the country (Lopes, 2016). Due to this disaster, numerous monitoring activities have been carried out to assess the impact generated. Based on material collected in one of these attempts, we provide new and additional records of Perlidae for the Doce River Basin and describe a new species of *Anacroneuria* Klapálek, 1909.

Material and methods

The specimens used for the study were collected in the Doce River Basin. This basin is located in southeastern Brazil (BRA), between the states of Minas Gerais (MG) and Espírito Santo (ES) (Fig. 1). With an area close to 83,400 km², it is inserted within the Atlantic Forest biome (98%), considered one of the most threatened in the world (ANA 2016).

Alongside the basin, 40 sampling points were selected, including the Doce River and its main tributaries (Fig. 1). Of these 40 points, 16 were sampled in the rainy season (January 2022) and all 40 sampling points in the dry season (July and August 2022).

Insects were collected using Pennsylvania light traps (Frost 1957), which remained in operation from dusk to the morning of the next day, and were then conserved in 80% ethanol. After extraction, the terminalia was clarified with KOH 10% and neutralized in acetic acid and preserved in glycerin. All specimens, including the holotype and paratype of the new species, are deposited in the wet collection of the Museum of Entomology at the Federal University of Viçosa. Specimens were visualized with an OLYMPUS CX31 microscope and LEICA M20 stereomicroscope. All images were photographed with the LEICA MC170 HD camera and finalized using Adobe Illustrator CC® 2020.

The maps were made using the Quantum GIS program, release 3.4.11 Madeira, using the IBGE cartographic databases and raster images for a digital elevation model (Fig. 1).

Results and discussion

Perlidae Latreille, 1802

Genus *Anacroneuria* Klapálek, 1909

Anacroneuria atrifrons Klapálek, 1922

Fig. 2A–G

Material examined. BRA: MG, Municipality of Pingo-D'Água, Parque Estadual do Rio Doce, Doce River 19°44'56.8"S, 42°28'42"W, 239 m.a.s.l., light trap, 07–08.ii.2022, 1 female, A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues. MG, Municipality of Aimorés, Manhuaçu river, 19°29'38.07"S, 41°16'31.73"W, 124 m.a.s.l., light trap, 06–07.i.2022, 2 males, A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues. MG, Municipality of Naque, Doce river, 19°15'5.56"S, 42°18'50.44"W, 189 m, light trap, 8–9.i.2022, 1 male, A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues. MG, Municipality of Mathias Lobato, Suaçuí Grande river, 18°34'23.5"S 41°56'52.3"W, 198 m.a.s.l, light trap, 05–06.ix.2022, 1 male, 5 female. A.Viana, P. Bonfá & A. Ataíde.

Remarks. This is a new record from Minas Gerais State, Brazil.

Anacroneuria mineira Novaes & Bispo, 2014

Fig. 3A–G

Material examined. BRA: MG, Municipality of Aimorés, Manhuaçu river, 19°29'38.07"S, 41°16'31.73"W, 124 m.a.s.l., light trap, 06–07.i.2022, 14 males, A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues.

Remarks. This is a new record from the Doce river basin.

Anacroneuria itatiaiensis Baldin, Bispo & Novaes, 2013

Fig. 4A–G

Material examined. BRA: MG, Municipality of Santo Antônio do Rio Abaixo, Santo Antônio River 19°13'52.41"S, 43°12'54.82"W, 475 m.a.s.l., light trap, 10–11.i.2022, 5 male, A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues. MG, Municipality São José do Goiabal, Doce river, 20°0'52.78"S, 42°44'40.10"W, 258 m.a.s.l., light trap, 12–13.i.2022, 4 male, A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues. MG, Municipality of Guaraciaba, Piranga River, 20°32'46.33"S, 42°59'25.25"W, 526 m.a.s.l., light trap, 14–15.i.2022, 3 male, A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues. MG, Municipality of Rio Doce, Doce River 20°11'47.2"S 42°51'07.2"W, 282 m.a.s.l, light trap, 10–11.viii.2022, 1 male. A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues. MG, Municipality of Mathias Lobato, Suaçuí Grande river, 18°34'23.5"S 41°56'52.3"W, 198 m.a.s.l., light trap, 05–06.ix.2022, 2 male. A.Viana, P. Bonfá & A. Ataíde. MG, Municipality of Jaguarapu, Piracicaba river 19°37'00.8"S, 42°46'46.5"W, 254 m.a.s.l., light trap, 10–11.i.2022, 1 male, A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues. ES, Municipality of Baixo Guandu, Guandu River 19°37'30.0"S 41°01'07.8"W, 188 m.a.s.l., light trap, 09–10.ix.2022, 4 male, 5 female. A.Viana, P. Bonfá & A. Ataíde.

Remarks. This is a new record from the Doce river basin.

Anacroneuria piranga sp. nov. Castillo-Velásquez, Gonçalves & Salles

Fig. 5A–G, 6

urn:lsid:zoobank.org:act:9D139905-969E-4DA2-8179-B1058243D85B

Material examined. Holotype ♂: BRA, MG, Guaraciaba, Rio Piranga, 20°32'46.30"S, 42°59'25.25"W, 14–15.i.2022, 526 m.a.s.l., Pennsylvania trap, A.Viana, P. Bonfá & P. Rodrigues. **Paratype one** ♂: same data as holotype.

Male adult. Habitus. Forewing length 8–10 mm. General color brown in dorsal view and ambar in ventral view (Fig. 5A). Head ambar, postfrontal area, clypeus and frons brown, M-line ambar. Antennae brown, with yellow outer margin on scape, pedicel and the first eight to nine flagellomeres. Palpi brown. Pronotum brown, with two longitudinal light bands and uneven light rugosities (Fig. 5B). Wings with membrane brown, except for pale marks, one close to the forewing base, other at the joint of ScP and RA on fore and hindwings; veins dark brown (Fig. 5C). Legs brown; hind femur a with a subbasal light yellow band; tibiae of all legs ambar at base. Thorax ambar with sternal sulci brown. Abdominal terga and sterna amber, sternum IX uniformly covered with bristles. Cerci with articles dark brown at base, progressively changing to a bicolor

(amber-brown) towards middle; apex of cerci broken (Fig. 5D). Hammer roundly tapered and slightly flattened at the apex (Fig. 5D). Penial armature in ventral view (Fig. 5E) with a pair of membranous vesicles and two flattened and slightly curved hooks that cross each other forming an "x" with acute apices; in dorsal view (Fig. 5F), penial armature bottle-shaped, apex ending in two notches and bottleneck-shaped base of hooks corrugated; keel, in lateral view (Fig. 5G), not curved, flattened and with apex pointed.

Female adult. Unknown.

Nymph. Unknown.

Remarks. The color of the adult resembles those of several species of the genus. The penial armature of *A. piranga* sp. nov., in lateral view, resembles *A. annulicauda* Stark & Kondratieff, 2004, but differs in the shape of the keel. In the new species the keel is not curved, but flattened and with apex pointed. In *A. annulicauda* it is slightly rounded at the apex, not pointed. The shape of the hooks, on the other hand, are more similar to *A. atrifrons* Froehlich, 2008, but are thinner in the new species and lack teeth.

Etymology. The specific name makes reference to the river where the specimens were collected. The term "Piranga", means red, and comes from Tupi, the original language of several Brazilian native tribes (Carvalho 1987).

Habitat. The sampling site is located approximately 3 km west from the Brecha Hydroelectric Plant in an area with native riparian vegetation on the riverbank, with discontinuous stretches due to anthropic influence. The river has poorly developed rapids and a greenish color on the bottom, which is covered by mats of algae and slime, and a combination of stones and gravel, aquatic vegetation is absent (Fig. 6).

Acknowledgments

This work had financial support from the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, grant process APQ 05461-18). The present study was carried out as part of the project approved in public call 10/2018 by Fapemig - Fundação Renova - research, development and innovation for monitoring the biodiversity of aquatic environments in Minas Gerais in areas impacted by the rupture of the Fundão dam - Mariana/MG. Also, this study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001 and CNPq (processes 309666/2019-8 and 140294/2021-0).

References

- Almeida, L.H. & Bispo, P.C. (2020) Perlidae (Plecoptera) from the Paranapiacaba Mountains, Atlantic Forest, Brazil: Diversity and implications of the integrative approach and teneral specimens on taxonomy. *PloS One*, 15 (12), 1–30.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243393>
- ANA. Agência Nacional de Águas. (2016) *Encarte especial sobre a Bacia do Rio Doce: rompimento da barragem em Mariana/MG*. Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil Informe 2015, Brasília, 50 pp. [in Portuguese]
- Baldin, C., Bispo, P.C. & Novaes, M.C. (2013) New species and records of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from Rio de Janeiro State, Brazil. *Zootaxa*, 3694 (4), 391–397.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.3694.4.7>
- Carvalho, M.R. (1987) *Dicionário Tupi (Antigo) português*. Empresa Gráfica da Bahia, Salvador, 324 pp. [in Portuguese]
- DeWalt, R.E. & Ower, G.D. (2019) Ecosystem services, global diversity, and rate of stonefly species descriptions (Insecta: Plecoptera). *Insects*, 10 (4), 99, 1–13.
<https://doi.org/10.3390/insects10040099>
- Froehlich, C.G. (2002) *Anacroneuria* mainly from southern Brazil and northeastern Argentina (Plecoptera: Perlidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 115 (1), 75–107.
- Frost, S.W. (1957) The Pennsylvania Insect Light Trap. *Journal of Economic Entomology*, 50 (3), 287–292.
<https://doi.org/10.1093/jee/50.3.287>
- GFT. Grupo da Força Tarefa. (2016) *Avaliação dos efeitos e desdobramentos do rompimento da Barragem de Fundão em Mariana-MG*. Secretaria de Desenvolvimento Regional, Política Urbana e Gestão Metropolitana, Governo do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, 287 pp. [in Portuguese]
- Gonçalves, M.C., Novaes, M.C., Lecci, L.S., Almeida, L.H., Costa, V. & Salles, F.F. (2019) Checklist of Plecoptera (Insecta) from the State of Espírito Santo, Brazil. *Zoosymposia*, 16, 96–123.
<https://doi.org/10.11646/zoosymposia.16.1.10>

- Klapálek, F. (1909) Vorläufiger Bericht über exotische Plecopteren. *Wiener Entomologische Zeitung*, 28, 215–232. [in German]
- Klapálek, F. (1922) Plécoptères nouveaux. Quatrième partie. *Annales de la Société Entomologique de Belgique*, 62, 89–95. [in French]
- Latreille, P.A. (1802) Perlaires; Perlariae. In: Buffon, G.L.L, Sève, E. & Sonnini, C.S. (Eds.), *Histoire Naturelle, Générale et Particulière, des Crustacés et des Insectes*, 3, pp. 292–293. [in French]
- <https://doi.org/10.5962/bhl.title.15764>
- Lopes, L. M. N. (2016) O rompimento da barragem de Mariana e seus impactos socioambientais. *Sinapse Múltipla*, 1 (5): 1–14.
- Miguel, M., Almeida, L.H., Novaes, M.C., & Bispo, P.C. (2022) *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from Central Brazil: new species, new geographic records, and taxonomic notes. *Zootaxa*, 5162 (5): 487–506.
- <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5162.5.2>
- Novaes, M.C. & Bispo, P.C. (2014) Plecoptera from Minas Gerais State, southeastern Brazil. *Zootaxa*, 3856 (3), 433–442.
- <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3856.3.8>
- Novaes, M.C., Bispo, P.C. & Gonçalves, M.C. (2016) A new species of *Anacroneuria* Klapálek 1909 (Plecoptera: Perlidae) from Espírito Santo State, southeastern Brazil and comments on additional species. *Zootaxa*, 4208 (1), 94–98.
- <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4208.1.7>
- South, E.J., Skinner, R.K., DeWalt, R.E., Davis, M.A., Johnson, K.P., Teslenko, V.A., Lee, J.J., Malison, R.L., Hwang, J.M., Bae, Y.J. & Myers, L.W. (2021) A new family of stoneflies (Insecta: Plecoptera), Kathroperlidae, fam. n., with a phylogenomic analysis of the Paraperlinae (Plecoptera: Chloroperlidae). *Insect Systematics and Diversity*, 5 (4), 1–27.
- <https://doi.org/10.1093/isd/ixab014>
- Stark, B.P. & Kondratieff, B.C. (2004) *Anacroneuria* from Mexico and upper Mesoamerica (Plecoptera: Perlidae). *Monographs of the Western North American Naturalist*, 2 (1), 1–64.
- <https://doi.org/10.3398/1545-0228-2.1.1>

Stark, B.P. & Sivec, I. (1998) *Anacroneuria* of Peru and Bolivia (Plecoptera: Perlidae).
Scopolia, 40, 1–64.

Figure legends

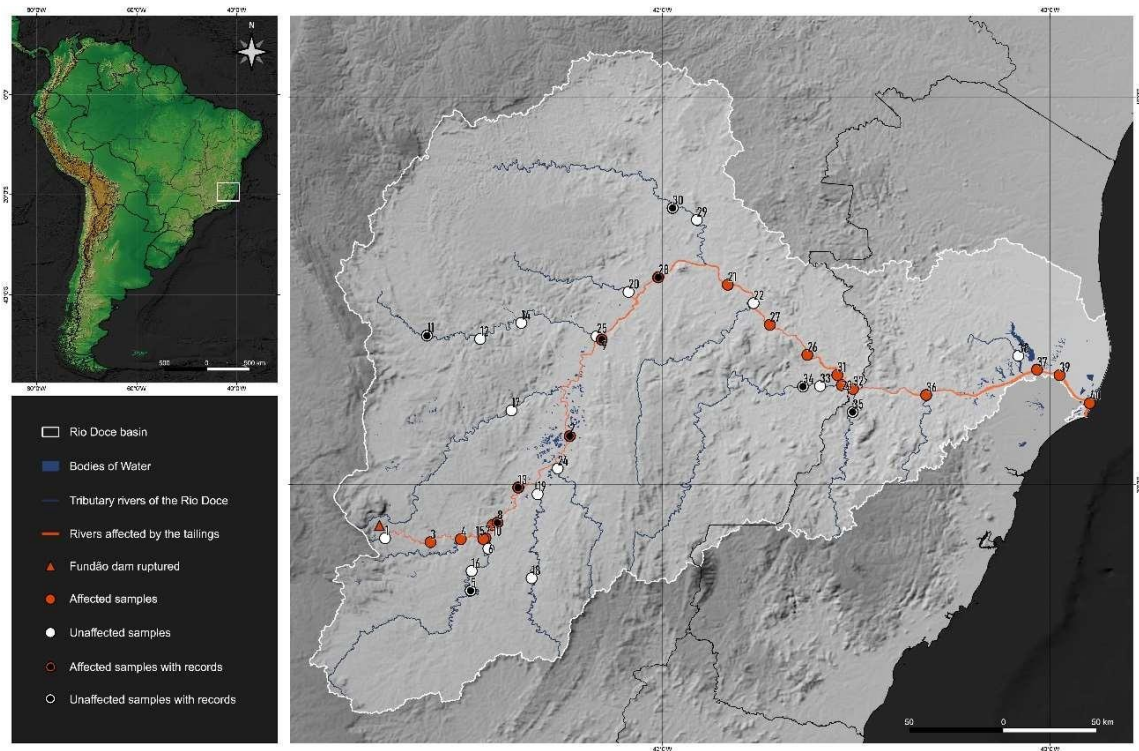


FIGURE 1. Sampling sites in Doce river basin. White circles are samples unaffected by tailings, orange circles are samples affected, black dots in the center of the circles are records of Plecoptera. Orange triangle is dam ruptured, orange line are rivers affected by tailings and blue lines are unaffected tributary.

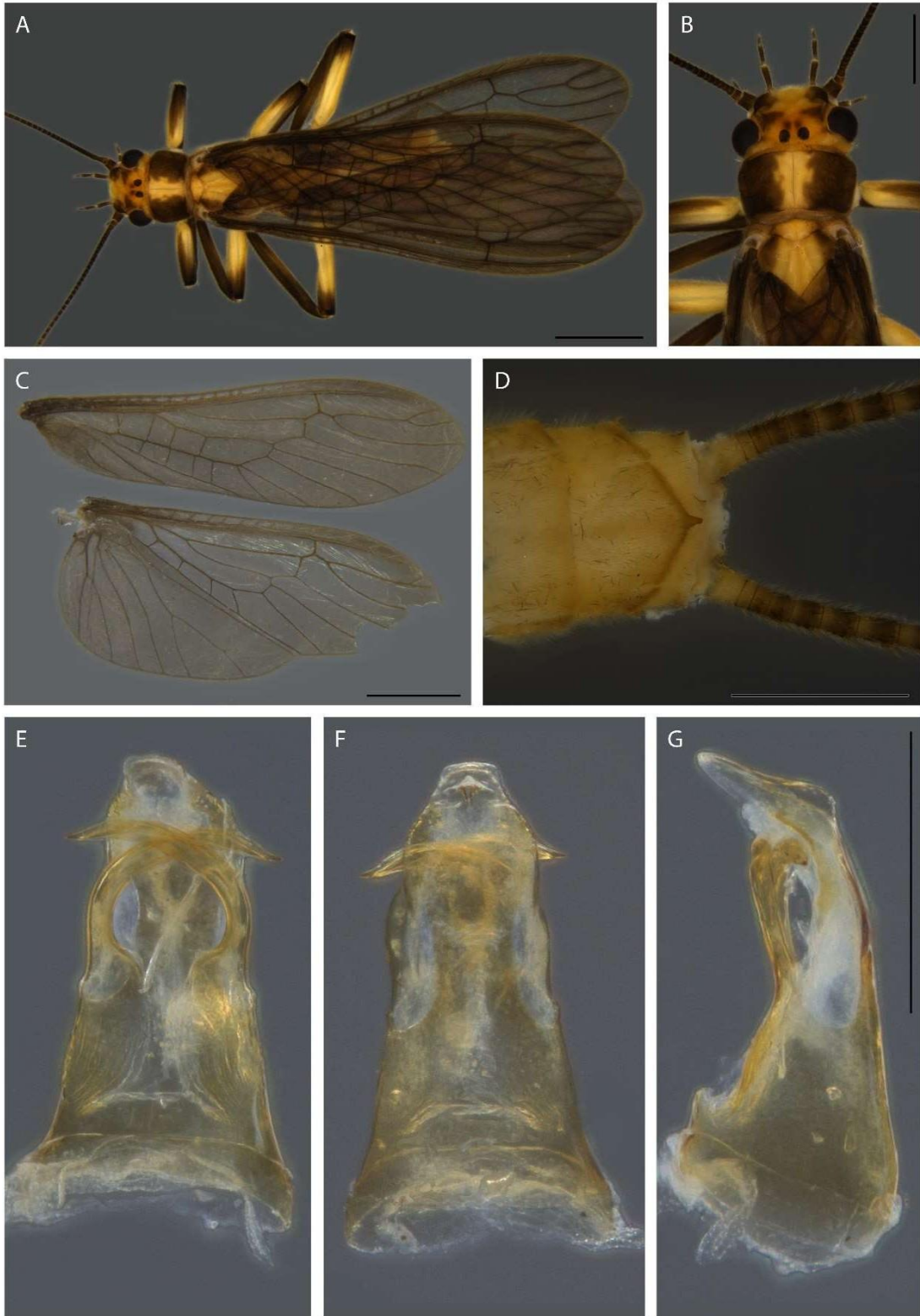


FIGURE 2. (A–G): *Anacroneuria atrifrons* male. A. Habitus; B. Head and pronotum; C. Forewing and Hindwing; D. Male sternum 9 and hammer; E. penial armature, ventral view; F. penial armature, dorsal view; G. penial armature, lateral view. Scales - Fig. 1: A and C. 2mm; B and D. 1mm; E, F and G. 0.2mm.

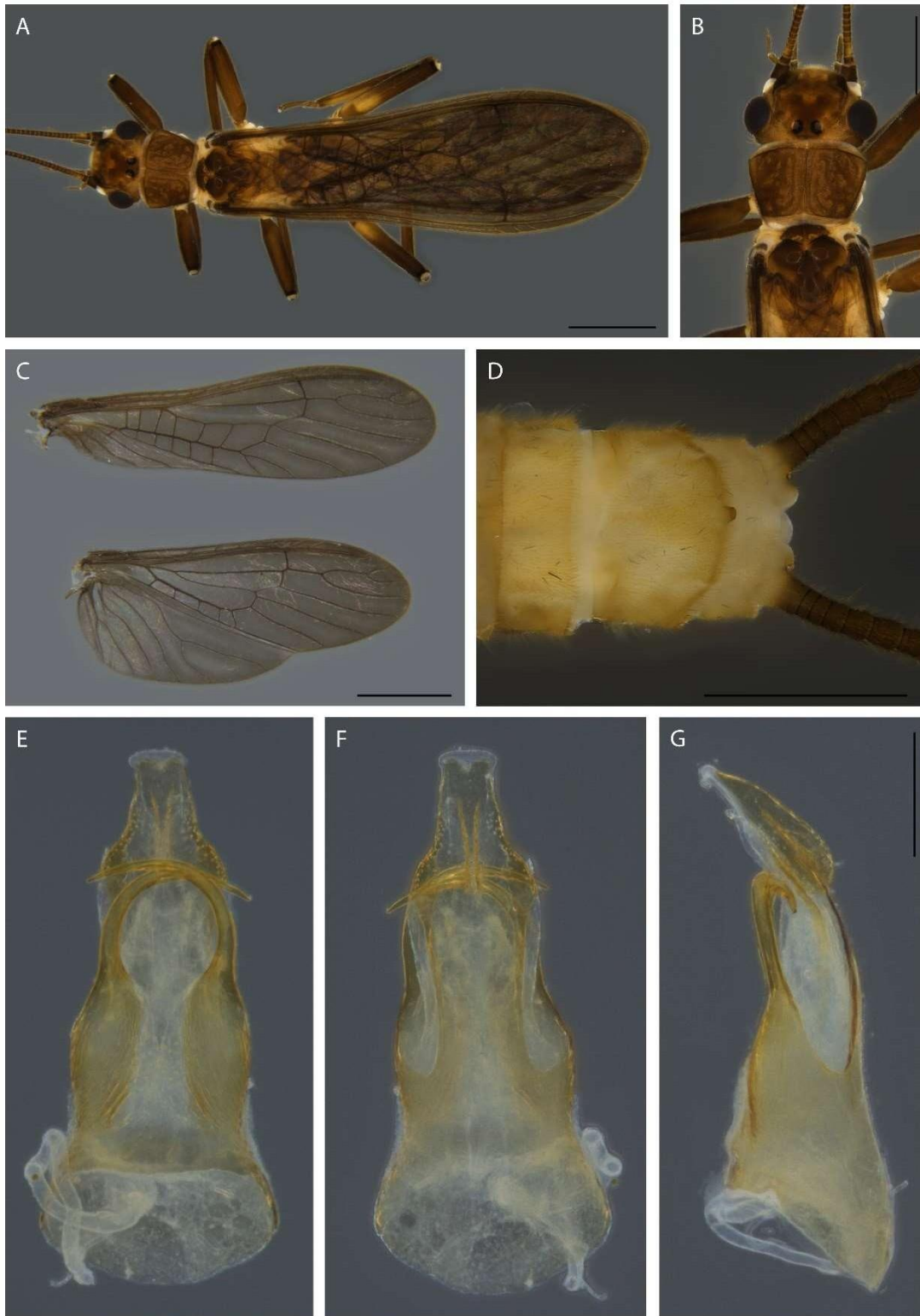


FIGURE 3. (A–G): *Anacroneuria mineira* male. A. Habitus; B. Head and pronotum; C. Forewing and Hindwing; D. Male sternum 9 and hammer; E. penial armature, ventral view; F. penial armature, dorsal view; G. penial armature, lateral view. Scales - Fig. 3: A and C. 2mm; B and D. 1mm; E, F and G. 0.2mm.



FIGURE 4. (A–G): *Anacroneuria itatiaiensis* male. A. Habitus; B. Head and pronotum; C. Forewing and Hindwing; D. Male sternum 9 and hammer; E. penial armature, ventral view; F. penial armature, dorsal view; G. penial armature, lateral view. Scales - Fig. 4: A and C. 2mm; B and D. 1mm; E, F and G. 0.2mm.



FIGURE 5. (A–G): *Anacroneuria piranga* sp. nov. male. A. Habitus; B. Head and pronotum; C. Forewing and Hindwing; D. Male sternum 9 and hammer; E. penial armature, ventral view; F. penial armature, dorsal view; G. penial armature, lateral view. Scales - Fig. 5: A and C. 2mm; B and D. 1mm; E, F and G. 0.2mm.

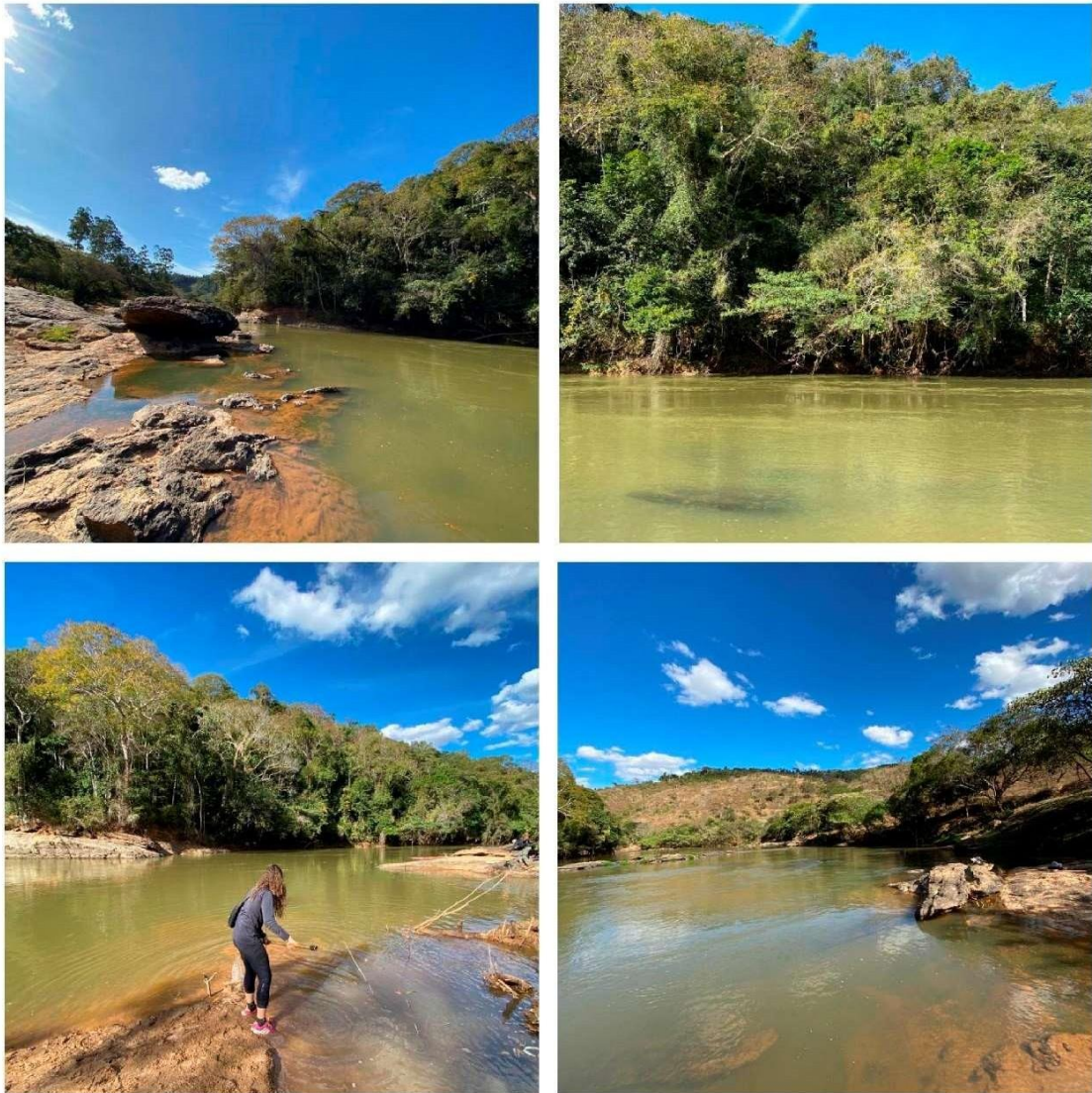


FIGURE 6. Photographs of the habitat of *Anacroneuria piranga* sp. nov. located on the Piranga River, Minas Gerais, Brazil.

APÊNDICE C - A review of the rearing of Plecoptera nymphs in Brazil and a new experience carried out in the laboratory

Rodolfo M. Castillo-Velásquez^{1,3*} & Frederico Falcão Salles²

¹ Programa de Pós-graduação em Entomologia, Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil. E-mail: rodolfo.velasquez@ufv.br

² Museu de Entomologia, Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil.

³ Laboratorio de Invertebrados Acuáticos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

* Autor de correspondência: rodolfo.velasquez@ufv.br

ORCID Frederico Falcão Salles <https://orcid.org/0000-0001-8331-5929>

ORCID Rodolfo Castillo Velásquez <https://orcid.org/0000-0003-0106-6792>

Abstract

Plecoptera is a small order of aquatic insects that includes over 3700 species worldwide. Comparing adults, knowledge regarding the immature stages is limited, due in part to the need to associate the nymph with the adult. The correct choice of methodologies for the collection, transport, rearing and feeding of the nymph is essential to obtain greater efficiency in the emergence of adults in the field or laboratory. The objective of this study is to discuss the rearing methodologies used until now in Brazil and to provide a way of transporting and rearing Plecoptera nymphs in the laboratory. A review of the publications was carried out that addressed rearing methodologies and association of Plecoptera nymphs in Brazil, such as nymph transport, rearing equipment, feeding, efficiency, habitat data, among others. All the information of articles published and their citations in indexed journals were investigated through searches carried out in Google Scholar, Scopus, Scielo, Web of Science and Portal Capes were compiled in a database. For the rearing of stoneflies, the nymphs were collected,

transferred, and placed in the rearing tanks; items offered for Perlidae were annelids and chironomids, while for Gripopterygidae algae and macrophytes. After emergence, the adults and their respective exuviae were fixed with 80° alcohol and deposited in the Museum of Entomology, Federal University of Viçosa. The identification of specimens was made with the help of keys and specialized taxonomic descriptions. A total of 40 associated and described species of Plecoptera in Brazil were listed, two uncertain nymph-adult associations and two species with descriptions of their nymphal exuviae. Among these associated species (28 Perlidae, 14 Gripopterygidae) their prevalence was generally observed in rivers and rapids with rocky substrates and/or with leaves, with a tendency to prey on aquatic insects (Perlidae) and plant material (composed of retained leaves, algae and bryophytes) or epilithic vegetation (Gripopterygidae). Twenty-six nymphs distributed in four species of Perlidae and one species of Gripopterygidae were collected. Concerning the transportation from field to laboratory (ca. 2h), efficiency was 100%. The efficiency values of the two rearings methods were 8.33% and 35.7%, respectively, with the main factors to control during rearing being feeding, water flow and dissolved oxygen. The transfer of nymphs, the rearing apparatus used, and observations made during rearing are described and discussed.

Keywords: aquatic insects, emergence, immature, rearing methods, stoneflies.

Introduction

Plecoptera includes more than 3,700 valid extant species (DeWalt & Ower, 2019), with six families and 505 valid species distributed in the Neotropical region (Pessacq *et al.*, 2019). Knowledge about the different stages of Plecoptera is a topic that has been more worked on in recent decades, both the diversity and taxonomy (Avelino-Capistrano *et al.* 2014, Novaes *et al.* 2016, 2018, Gonçalves *et al.* 2019, Duarte *et al.* 2022), as well the biology and feeding of aquatic nymphs (Costa *et al.* 2021, Váquiro-Capera *et al.* 2021, Sierra-Labastidas *et al.* 2017).

However, if we focus on the taxonomy and identification of Plecoptera species in the Neotropics, this is based on the characteristics of adults, mainly males (Avelino-Capistrano *et al.*, 2018), thus minimizing the taxonomic knowledge of nymphs, which is still incipient.

For the identification of nymphs, in turn, it is necessary to associate them with the adult, which can be done through different techniques, such as rearing mature nymphs or using molecular tools (Froehlich 2001, Bispo *et al.* 2013, Avelino-Capistrano *et al.* 2015, Almeida & Bispo 2020). The methodology for rearing Plecoptera nymphs includes transport from the natural habitat in plastic bottles and cups to their rearing in the laboratory in vials, refrigerators, tanks, or aquariums with or without water recirculation systems (Novaes *et al.* 2012, Ribeiro & Gorayeb 2015, Avelino-Capistrano *et al.* 2015, Mo *et al.* 2019). The nymphs' necessity for clean and oxygen-rich water and their sensitivity to temperature changes makes their transporting, rearing and the consequent association with their respective adults more difficult (Avelino-Capistrano *et al.* 2015, Almeida *et al.* 2019), with efficiency rearing values of less than 10% (Avelino-Capistrano *et al.* 2015). In addition, most works on rearing present little information or do not propose a methodology for rearing nymphs, further hindering this process.

The stoneflies, due to their sensitivity to pollution and environmental changes, are used as bioindicators of water quality in many studies, being frequently identified only at the family or genus level (Avelino-Capistrano *et al.* 2018, Mello *et al.* 2021). Being so important within the aquatic environment, it would be more important to create more efficient methodologies for obtaining the nymph-adult association and facilitate their identification at a specific level in ecological studies. Therefore, the objective of this study is to discuss the rearing methodologies used so far and to provide a way of transporting and rearing Plecoptera nymphs in the laboratory.

Material and methods

Literature review

As an initial step, a review of the publications that have information on rearing methods and association of Plecoptera nymphs in Brazil, such as nymph transport, rearing equipment, feeding, efficiency, habitat data, among others, was carried out. All data was initially organized in a dataset. All the articles published in indexed journals were searched through searches carried out on the Google Scholar, Scopus, Scielo, Web of Science and the Portal Capes. Some of the keywords used in the search were: Plecoptera, Perlidae, Gripopterygidae, nymph, larvae, taxonomy, new species, new record, rearing, creation, association, nymph-adult, tanks, feeding, efficiency. Furthermore, the publications cited in the articles obtained and records of nymphs and adults with associations close to the Brazilian border (<5km) were considered not intended to obtain a greater number of information relevant to the study.

To summarize all the data obtained, figures were prepared for each item considered in the database (nymphs described, method of association, transport and rearing equipment, food, habitat data). In the case of the subtract and food figures, each distinct type of item reported per species was counted as one occurrence.

Rearing immatures in the laboratory

Sampling was carried out at two points in Cachoeira do Boné, Araçuaia, Minas Gerais (E1: 20°39' 20" S 42°27'12"W; E2: 20°38'45.0"S 42°27 '26.0 "W) on two dates: September and October 2021. To carry out this step, last instar nymphs were collected and transported to the laboratory in a moistened mesh bag inside a thermal bag (Fig. 1A).

The rearing protocol was as follows: the nymphs were placed in a structure made of a black plastic drawer (40x20x30cm), with a polystyrene plate in the center, which contained six

plastic cups (Fig. 1B). The cups had a perforation at the top and bottom and were covered with soft mosquito netting to allow water and air to flow through the cup (Fig. 1C). Inside it, stones, leaves, branches, macrophytes, among other substrates, were placed, with the intention of simulating the original habitat as best as possible (Fig. 1D, 1E). During the rearing, the supply of live food (larvae of annelids, chironomids, Culicidae, algae and macrophytes) was daily and the food preferences of each nymph were observed. Once emerged, the adult was placed for 36-48h in the same place, but with the cup without substrate and upside down; so that its structures are well sclerotized, to later be preserved in 80% ethanol (Fig. 1F).

Two rearings methods were carried out: in the first, an aquarium air compressor model NS-F160 with a capacity of 200L/H was used for each rearing tank. In the second rearing, two important changes were made: the compressors per tank were increased by two (with the intention of increasing the dissolved oxygen values) and the compressors were placed in parallel and opposite directions, with the intention of generating a greater continuous flow and an increased turbulence inside the tank.

Processing and identification

For the identification of the material, structures of taxonomic value were observed (male genitalia, wings in adults and mouthparts, thorax, and legs in nymphs). The terminalia was extracted, clarified with 10% KOH, neutralized in glacial acetic acid and preserved in glycerin. The structures of nymphs and adults were examined using an OLYMPUS CX31 microscope and a LEICA M20 stereomicroscope. The identification of the species was made with the help of keys and specialized taxonomic descriptions, such as Stark *et al.* (2009), Froehlich (2009), Froehlich (2010a), Novaes & Bispo (2014), Avelino-Capistrano *et al.* 2018, Almeida & Bispo (2020), among others.

Results

Literature review

From the bibliographic review, 33 articles were found with data on the association and/or rearing of 49 species of Plecoptera nymphs in Brazil (Table 1).

From these data, 44 species were counted with a description of their nymphs (Perlidae: 30, Gripopterygidae: 14) and two species where only the nymph exuviae was described (Fig 2A). As for the descriptions of nymphs, the genera that presented a greater number of descriptions were *Anacroneuria* (14) e *Kempnyia* (10), of the family Perlidae and *Gripopteryx* (8), of the family Gripopterygidae (Fig 2B, 2C).

Among the 44 species with nymphs were described, 30 were associated with the adult through rearing in the field (5), laboratory (13), molecular association (5) or using two methodologies (7); for twelve species was not explained how the nymph was associated with the adult or it was only mentioned that it was reared; finally, for two species, the association and/or taxonomic identification is currently uncertain (Fig. 3A).

In the transport of nymphs, the following materials were mentioned in only six species of Plecoptera: jars, plastic vials and styrofoam bottles; always with some substrate collected in their respective habitat. As for the rearing equipment mentioned in the bibliography, the following equipments are mentioned for 17 species: aquariums (1), trays (2), petri dishes and polyethylene vials (4), rearing cages (7) and tanks (2). In the latter case, the use of air pumps is mentioned in one work, and in another it consisted of a system of multiple acrylic compartments, with a water recirculation system, creating a continuous flow in the system (Novaes *et al.* 2012) (Fig. 3B).

As for the habitat where the nymphs were collected, the areas of riffles prevailed (19), followed by riffles and pools (3) and riffles and runs (1). In the other species (20) the aquatic habitat is not specified (Fig. 4A). The most mentioned substrate was stones in their different

forms, followed by leaves and retained leaves (Fig. 4B). Finally, in terms of food, perlids preferred aquatic insects, mainly Ephemeroptera, Plecoptera and Diptera, while for Gripopterygidae, their diet consisted of leaves, algae and bryophytes (Fig. 4C).

Rearing and transport of Plecoptera nymphs

Collection and transport of nymphs.

Twenty-six nymphs belonging to five species were collected (Fig 5A-F). A single nymph of *Anacroneturia debilis* managed to emerge in the first experiment, while five nymphs of three species (*Anacroneturia debilis*, *Anacroneturia flintorum* and *Kempnyia obtusa*) managed to emerge in the second experiment (Table 2). As for transport from the field to the laboratory (ca. 2h), the efficiency was 100% in both experiments.

Rearing apparatus and efficiency.

In the first rearing, the initial water level was practically stable, with no need for water supply during the period. During rearing, the water inside the tank showed little movement and the cups fogged up inside during the hours of greatest solar radiation (11:00 am to 3:00 pm), deducing that there was a higher temperature inside the glass compared to the external environment.

In the second rearing, on the other hand, there was an increase in flow and greater turbulence in the water compared to the first one, generating a more humid environment inside the glass and larger wet areas on the walls of the tanks. The loss of water was greater, so it was necessary to level the initial volume of the tank each week with water taken from a pond or with filtered water. The rearing efficiency values were contrasting, with an increase of a little

more than 300% in the second experience compared to the first experience (First rearing: 8.33%, second rearing: 35.71%).

Nymphs emergence

In the case of Perlidae, the nymphs positioned themselves on fixed substrates before emerging (rocks, leaves), taking a few hours to fully extend their wings; others despite positioning themselves, did not release their exuviae, they became paralyzed and soon died. Gripopterygidae, on the other hand, preferred stable vertical surfaces, mainly on rocks with mosses and algae brought from their natural habitat. However, after a few hours they became agitated and tried to escape from the cup. After a few days, they became paralyzed, just moving their antennae. As much as we tried to recreate their original surroundings, they failed to emerge, having a 100% mortality in the first experience.

In the second experiment, only one Gripopterygidae was collected, which did not become agitated and did not try to escape. Despite surviving for a longer time compared to the nymphs of the previous experiment, it died before emerging. Furthermore, two females of *Anacronuria debilis* that emerged successfully had poorly developed and wrinkled wings (Fig. 5E, 5F) and died a few hours after emergence (8-12h). All emergences occurred between 23:00h and 07:00h.

Feeding and other observations.

During rearing, few perlid nymphs fed, preferring chironomids and then annelids as prey. In the case of Gripopterygidae, it was not possible to observe whether the insects fed on vegetable material, but fragments of vegetation were always placed throughout the experiment. The adults didn't eat, but many of them drank water after emerging.

When two nymphs of *Anacroneuria debilis* were placed together in the same cup, one of them behaved aggressively, devouring the other in a matter of hours. This same nymph was raised until it emerged, obtaining an adult male after 10 days. The opposite happened with the nymphs of *Kempnyia obtusa*, as they remained together in the cup without any problems, even during a week of observation.

Discussion

In the present study, if we disregard species with uncertain association, 42 species with associated and described nymphs of Plecoptera (Perlidae: 29, Gripopterygidae: 13), and two descriptions of nymphal exuviae of the family Gripopterygidae are compiled for Brazil. Almeida & Bispo (2020) mention that 28 species of Perlidae have nymphs with their adults associated and described, which coincides with what was obtained in the present study until that year, where we additionally included one more nymph of Perlidae (*A. bahiensis*) described by De Carvalho *et al.* (2021), in addition to list the species. As for the family Gripopterygidae, despite initially finding 15 species associated and described, one species would be provisionally disregarded, since in one of them the nymph initially described for *T. gracilis* would belong to another species that has not yet been identified (*Tupiperla* sp. D, Froehlich 1998). If we compare the total number of associated and described species with the approximately 200 species reported for Brazil (Pessacq *et al.* 2019), there is still much work to be done on the association and description of Plecoptera species.

Despite the little information compiled about the experiences and techniques of association used in Brazil, it is important to highlight that more than 60% of the studies have been carried out since 2010 (Table 1), which is a positive indicator of the advances made in recent years. Of these methodologies, the laboratory rearing was the most used in the nymph-

adult association of Plecoptera species in Brazil; the reliability of the association obtained, its easy implementation and low cost compared to other methodologies would be the main reasons for choosing this technique (Ramirez 2010). However, many works do not present details about the devices used in the different species reared (more than 50% of species), including this data in future works would be of vital importance to improve and optimize the use of this methodology.

In the present review, the transport process was reported in only five species, which is an important topic to obtain a greater number of individuals that can be reared in the laboratory. Having a lower lethality of nymphs during transport would depend on factors such as the sensitivity of the species to environmental changes (Avelino-Capistrano *et al.* 2015) or the stress produced by agitation and impacts suffered during transport (Boldrini & Cruz 2013). The use of insulating materials to avoid strong changes in temperature, the addition of water and substrates extracted from the habitat that do not hinder the movement or crush the nymph, and the use of air pumps in transfers of more than two hours, could be tips for utility to achieve greater survival of transported nymphs (Boldrini & Cruz 2013, Avelino-Capistrano *et al.* 2015, Castillo-Sanchez *et al.* 2018). In the present study, all individuals arrived alive after a journey of 2 hours on average, which suggests that most of the disorders suffered were alleviated with this method.

The proper combination of components that support aeration, increase recirculation, water flow and turbulence within the rearing apparatus would help produce optimal results in laboratory rearing experiments. Novaes *et al.* (2012) described a rearing apparatus that has multiple compartments and a water recirculation system, successfully associating and describing the nymph of *A. ofaye* Froehlich 2007, however, the work lacks data to assess the efficiency of the rearing apparatus. Avelino-Capistrano *et al.* (2015) described the nymph of *A. debilis* using aquariums, one air pump for each aquarium and placing substrates brought from

the same habitat, obtaining values of rearing efficiency of only 6%, a value similar to those obtained in the first experience of rearing of this work (8.33%). The placement of two air pumps per tank in opposite directions in the second rearing experience helped to form a horizontal recirculation and a greater outflow, which increased the level of oxygenation inside the tank, reflecting in the increase of emerged nymphs and, therefore, in the rearing efficiency values (35.71%). These results could suggest that, in addition to the factors mentioned at the beginning of this paragraph, it would be important to recreate the conditions of the natural habitat as best as possible, especially in the values of temperature and dissolved oxygen (Castillo-Sanchez *et al.* 2018).

Other factors that could be related to the success of rearing in the laboratory would be related to the number of nymphs collected in the field and the nymphal instar in which it was reared. Castillo-Sanchez *et al.* (2018) suggests that a greater collection of nymphs could increase the collection of adults in the laboratory, but this would not be achieved by analyzing the data collected in the present study (See additional data, Table 1). As for the stages, in some studies it is reported that only the mature nymphs managed to emerge successfully (Avelino-Capistrano *et al.* 2015), including a pre-selection of the nymphs to be reared based on the length of the exuviae collected in the field and the development and dark coloration of the wing pads (Turizo-Correa *et al.* 2006). In the present study, only the size of the wing pads was observed, but not the dark coloration, since many of the nymphs collected were black and it was not easy to observe this characteristic. From the first rearing experience in this study, which presented an efficiency of 6%, a single adult emerged that released its exuvia after almost a month and presented deformed wings and legs, suggesting that the pre-emergence period could be altered by unfavorable environmental conditions (Castillo-Sanchez *et al.* 2018), even affecting its optimal development.

Another point found in the bibliography consulted is the general preference of the Perlidae family for streams with currents and associated with rocky substrates and with retained leaves (Froehlich 1984, Bispo & Froehlich 2008, Dorvillé & Froehlich 2001, Avelino-Capistrano *et al.* 2011a, 2015, Almeida *et al.*, 2018), the Perlidae nymphs collected in the present study were also found in these substrates. In the case of the information obtained from the nymphs of the Gripopterygidae, mention is made mainly of areas of rocky rapids with the presence of vegetable substrate (twigs, leaf packs, epilithic vegetation), low water level and laminar flow in the case of the genus *Gripopteryx* (Froehlich 1990, 1993), similar areas are also described for the genus *Paragripopteryx*, but areas with the presence of bryophytes and algae or in cavities or crevices of stones are also mentioned (Froehlich 1969). In the present study, only *Gripopteryx* nymphs were collected, as the habitats mentioned for this genus were found mainly in the collected areas.

The revised bibliography in the present study on the intestinal contents and feeding habits of perlids confirms their affinity for the predation of aquatic insects in general, with a marked preference for Diptera larvae (Bispo & Froehlich 2008, Bispo *et al.* 2013). While the observations made during rearing in the laboratory, the bibliography presents results that agree with predation among plecopterans (Yule 1990, Dorvillé & Froehlich, 2001, Bispo & Froehlich 2008), even feeding on tissues of dead individuals (Hynes 1941). In the case of the work by Dorvillé & Froehlich (2001), they reported that the nymphs of *K. tijucana* can devour the adults if they are not properly separated during their rearing in the laboratory, which was not a problem in the present study since the nymphs were placed in individual cups. In the case of adults, the bibliography mentions that the most accepted idea is that most adults of Plecoptera that have an ephemeral life do not feed, but drink water (Hynes 1941, Tierno de Figueroa & López-Rodríguez 2019), especially Plecoptera larger, due, among other reasons, to the large amount

of body mass accumulated during the nymphal stage and its low metabolic rate (Tierno de Figueroa & Fochetti, 2001).

Finally, the present study listed 42 species of Plecoptera with nymph-adult association in Brazil, two species with descriptions of nymphal exuviae, and two species described with uncertain identification and/or association. Rearing in the laboratory was the most used to perform these associations due to its reliability, ease of implementation and low cost; however, the growth of molecular associations in recent years or their use with complementation of field-laboratory creation methods stands out. Among the associated species, there was a general preference for riffles, with rocky substrates and/or with retained leaves, and with a diet generally based on insects of the orders Ephemeroptera, Plecoptera and Diptera (Perlidae) or vegetal material (Gripopterygidae). It also compiles information on the collection, transport, rearing and emergence of stoneflies and a new rearing experience in the laboratory in the present study. Due to the little detail found in the majority of publications with the theme of creation, greater detail is recommended in future studies with the aim of improving the efficiency of this type of association methodologies.

Acknowledgements

Thanks to Dr. Ana Huamantinco Araújo, of the National University of San Marcos, Lima, Perú (UNMSM), for sending specialized bibliography and tips on transporting and rearing aquatic insects. To the Brazil Scholarships Program PAEC OAS-GCUB sponsored by the Organization of American States (OAS) and the International Cooperation Group of Brazilian Universities (GCUB) for the study opportunity and financial support. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

References

- Almeida, L.H., Gonçalves, M.C., Novaes, M.C., Paresqui, R. C., Bispo, P.C. 2018.** *Anacroneuria flintorum* Froehlich 2002 (Plecoptera: Perlidae): Notes, distribution, and life stages association using molecular tools. *Zootaxa* 4370(4), 409-420. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4370.4.6>
- Almeida, L.H., Cardoso-Leite, R., Deodato, M.F.B., Bispo, P.C. 2019.** *Anacroneuria iporanga* (Plecoptera: Perlidae): description of the nymph and biological notes. *Zootaxa* 4550(1), 141-145. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4550.1.9>
- Almeida, L.H., Bispo, P.C. 2020.** Perlidae (Plecoptera) from the Paranapiacaba Mountains, Atlantic Forest, Brazil: Diversity and implications of the integrative approach and teneral specimens on taxonomy. *PloS one* 15(12), e0243393, 1-30. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243393>
- Avelino-Capistrano, F., Barbosa, L.S., de Almeida, G.L. 2011a.** The nymph of *Anacroneuria debilis* (Pictet, 1841) (Plecoptera: Perlidae). *Zootaxa* 2882, 59-63. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2882.1.6>
- Avelino-Capistrano, F., Barbosa, L.S., de Almeida, G.L. 2011b.** Complementary descriptions of *Kempnyia gracilenta* (Enderlein 1909) and *Kempnyia reticulata* (Klapálek 1916) (Plecoptera: Perlidae). *Illiesia* 7(14), 142-147.
- Avelino-Capistrano, F., Nessimian, J. L., Santos-Mallet, J. R., Takiya, D. M. 2014.** DNA-based identification and descriptions of immatures of *Kempnyia* Klapálek (Insecta: Plecoptera) from Macaé River Basin, Rio de Janeiro State, Brazil. *Freshwater Science* 33(1), 325-337. <https://doi.org/10.1086/675226>
- Avelino-Capistrano, F., Barbosa, L.S., de Almeida, G.L. 2015.** Notas na criação de *Anacroneuria debilis* (Pictet, 1841) (Plecoptera: Perlidae) no Rio de Janeiro, Brasil. *Ciência Atual – Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário São José* 6(2), 1-7.

- Avelino-Capistrano, F., Barbosa, L.S., Takiya, D.M. 2016.** Description of a new *Kempnyia* Klapálek from Brazil (Plecoptera: Perlidae) with life stages associated using DNA barcodes. *Zootaxa* 4079(3), 372-380. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4079.3.5>
- Avelino-Capistrano, F., Pessacq, F.P., Barbosa, L.B. “Order Plecoptera”. 2018.** In: Hamada, N., J.H. Thorp & D.C. Rogers (Eds.). *Keys to Neotropical Hexapoda*. Academic Press. p. 119-141.
- Bispo, P.C., Froehlich, C.G. 2008.** Description of the larva and redescription of the adult of *Kempnyia neotropica* Jacobsen and Bianchi (Plecoptera: Perlidae) with biological notes. *Aquatic Insects* 30(1), 61-67. <https://doi.org/10.1080/01650420701829641>
- Bispo, P.C., Cardoso-Leite, R., Lecci, L.S. 2013.** Description of the larva of *Kempnyia colossica* (Navás) (Plecoptera: Perlidae) with biological notes. *Aquatic Insects*, v. 34, n. 3-4, p. 217-221, 2013. <https://doi.org/10.1080/01650424.2013.800559>
- Boldrini, R., Cruz, P.V. 2013.** Criação e Transporte de Ninfas de Ephemeroptera (Insecta) em Campo. *EntomoBrasilis* 6(2), 168–170.
- Castillo-Sánchez, K.N., Aguirre, Y.P., Ríos González, T.A., Bernal Vega, J.A. 2018.** *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) del río Caldera, Chiriquí, Panamá: nuevos registros de distribución, y comentarios sobre distribución altitudinal y variación estacional. *Revista de Biología Tropical* 66(1), 164-177. <https://doi.org/10.15517/rbt.v66i1.28924>
- Costa, B.G., Ferreira, R.L., Pellegrini, T.G. 2021.** Feeding in the dark: are stonefly nymphs good indicators of reference conditions for cave streams? A case study using gut content analysis in Brazilian quartzite caves. *Limnetica* 40(1), 79-91. <https://doi.org/10.23818/limn.40.06>
- De Carvalho, L.A.C., Almeida, L.H., Bispo, P.C. 2021.** 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* 5023(3), 433-441.

DeWalt, R.E., Ower, G.D. 2019. Ecosystem services, global diversity, and rate of stonefly species descriptions (Insecta: Plecoptera). *Insects* 10(4), 99, 1-13. <https://doi.org/10.3390/insects10040099>

Dorvillé, L.F., Froehlich, C.G. 1997. *Kempnyia tijucana* sp. n. from Southeastern Brazil (Plecoptera, Perlidae). *Aquatic Insects* 19(3), 177-181. <https://doi.org/10.1080/01650429709361652>

Dorvillé, L.F., Froehlich, C.G. 2001. Description of the nymph of *Kempnyia tijucana* Dorvillé and Froehlich (Plecoptera, Perlidae), with notes on its development and biology. In: Domínguez, E. (ed.) *Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera*. Springer, Boston, Massachusetts, p. 385-392.

Duarte, T., Novaes, M.C., Bispo, P.C. 2019. Five new species of *Tupiperla* Froehlich, 1969 (Plecoptera: Gripopterygidae). *Zootaxa* 4671(4), 511-526. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4671.4.3>

Duarte, T., Calor, A.R. Bispo, P.C. 2022. Systematic revision and phylogeny of *Paragripopteryx* Enderlein, 1909 (Plecoptera: Gripopterygidae). *PLoS ONE* 17(3), e0264264, 1-41. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264264>

Froehlich, C. G. 1969. Studies on Brazilian Plecoptera 1. Some Gripopterygidae from the biological station at Paranapiacaba, state of São Paulo. *Beitrage zur Neotropischen Fauna* 6(3), 17-39. <https://doi.org/10.1080/01650526909360412>

Froehlich, C.G. 1984. Brazilian Plecoptera 3. *Macrogynoplax veneranda* sp. n. (Perlidae: Acroneuriinae). *Annales de Limnologie* 20(1-2), 39-41. <https://doi.org/10.1051/limn/1984016>

- Froehlich, C.G. 1990.** Brazilian Plecoptera 6. *Gripopteryx* from Campos do Jordao, State of São Paulo (Gripopterygidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 25(4), 235-247. <https://doi.org/10.1080/01650529009360823>
- Froehlich, C.G. 1993.** Brazilian Plecoptera 7. Old and New Species of *Gripopteryx* (Gripopterygidae). *Aquatic Insects* 15(1), 21-38. <https://doi.org/10.1080/01650429309361496>
- Froehlich, C.G. 1998.** Seven new species of *Tupiperla* (Plecoptera: Gripopterygidae) from Brazil, with a revision of the genus. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 33(1), 19-36. <https://doi.org/10.1076/snfe.33.1.19.2170>
- Froehlich, C.G. 2001.** *Guaranyperla*, A New Genus in the Gripopterygidae (Plecoptera). In: Domínguez, E. (ed.) *Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera*. Springer, Boston, Massachusetts, p. 377-383.
- Froehlich, C.G. 2007.** Three new species of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Zootaxa* 1461, 15–24.
- Froehlich, C.G. 2009.** Plecoptera. In: Domínguez, E., Fernández, H.R. (ed.) *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos: Sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, 145-166.
- Froehlich, C. G. 2010a.** Catalogue of neotropical Plecoptera. *Illiesia* 6(12), 118-205.
- Froehlich, C.G. 2010b.** *Anacroneuria* (Plecoptera, Perlidae) from the Mantiqueira Mountains, São Paulo State, Brazil. *Zootaxa* 2365, 55-68.
- Froehlich, C.G. 2011.** *Kempnyia* (Plecoptera) from the Mantiqueira Mountains of Brazil. *Zootaxa* 2999, 20-32.
- Froehlich, C.G. 2015.** Taxonomic Notes on *Guaranyperla* (Plecoptera: Gripopterygidae). *Illiesia* 11(14), 175-178.
- Gonçalves, M.C., Novaes, M.C., Salles, F.F. 2017.** New species and records of Perlidae (Plecoptera) from Espírito Santo State, Brazil. *Zootaxa* 4273(1), 141-150.

- Hynes, H.B.N. 1941.** The taxonomy and ecology of the nymphs of British Plecoptera with notes on the adults and eggs. Transactions of the Royal Entomological Society of London 91(10), 459-557.
- Mello, L.C., Abessa, D.M. 2021.** Using the benthic macroinvertebrates as indicators of the water quality in the “Cachoeira do Paraíso” waterfall (Itinguçu State Park, Peruíbe, SP, Brazil). Brazilian Journal of Animal and Environmental Research 4(4), 5121-5140.
- Mo, R.R., Yan, Y.H., Wang, G.Q., Li, W.H., Muranyi, D. 2019.** Holomorphology of *Kamimuria peppapiggia* sp. n. (Plecoptera: Perlidae) from the foothills of Taihang Mountains, Henan Province of China. Zootaxa 4668(4), 575-587.
- Novaes, M.C., Bispo, P.C., Higuti, J. 2012.** A description of the nymph of *Anacroneuria ofaye* Froehlich (Plecoptera: Perlidae) and a apparatus for rearing neotropical stonefly species. Zootaxa 3547, 71-77. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3547.1.7>
- Novaes, M.C., Bispo, P.C. 2014.** Plecoptera from Minas Gerais State, southeastern Brazil. Zootaxa 3856(3), 433-442. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3856.3.8>
- Novaes, M.C., Bispo, P.C., Gonçalves, M.C. 2016.** A new species of *Anacroneuria* Klapálek 1909 (Plecoptera: Perlidae) from Espírito Santo State, southeastern Brazil and comments on additional species. Zootaxa 4208(1), 94-98. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4208.1.7>
- Novaes, M.C., Vilela, D.S., Lopez, V.M., Ferreira, R.G.N. 2018.** Certain species of Plecoptera from the headwater springs of National Integration River (São Francisco), Brazil. Zootaxa 4429(1), 195-200.
- Pessacq, P., Zuñiga, M.D.C., Duarte, T. 2019.** An updated checklist of Neotropical Plecoptera. Zoosymposia 16, 182–209.
- Ramírez, A. 2010.** Capítulo 2: Métodos de Recolección. En: Springer, M., Ramírez, A., Hanson, P. (Eds.), Macroinvertebrados de Agua Dulce de Costa Rica I. Revista Biología Tropical 58(2), 41-50.

- Ribeiro-Ferreira, A.C., Froehlich, C.G. 1999.** New Species of *Macrogynoplax* Enderlein 1909 from North Brazil (Plecoptera, Perlidae, Acroneuriinae). *Aquatic Insects* 21(2), 133-140.
- Ribeiro, J.M.F., Gorayeb, I.S. 2014.** Description of immatures and association with adults of three species of *Anacroneuria* Klapálek (Plecoptera: Perlidae) of the Brazilian Amazon. *Zootaxa* 3881(1), 17-32.
- Ribeiro, J.M.F., Gorayeb, I.S. 2015.** Description of immatures associated with adults of two species of *Macrogynoplax* Enderlein and one species of *Enderleina* Jewett (Plecoptera: Perlidae) of the Brazilian Amazon. *Zootaxa* 3948(1), 109-124.
- Ribeiro, J.M.F., Gorayeb, I.S., Bispo, P.C. 2015.** Description of the nymph of *Anacroneuria singularis* Righi-Cavallaro & Lecci (Plecoptera: Perlidae) and a new locality record for northern Brazil. *Zootaxa* 4057(2), 295-300.
- Righi-Cavallaro, K.O. Lecci, L.S. 2010.** Three new species of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from Centre-West and Southeast Brazil. *Zootaxa* 2683, 35-44.
- Righi-Cavallaro, K.O., Froehlich, C.G. 2013.** The nymph of *Anacroneuria payagua* froehlich (Plecoptera: Perlidae) from Brazil. *Zootaxa* 3635(5), 579-582.
- Rippel, M.L., Novaes, M.C., & Krolow, T.K. 2019.** First records of *Kempnyia* and *Macrogynoplax* (Plecoptera: Perlidae) from Tocantins State, Brazil with description of the immatures and the adult female. *Zootaxa* 4700(4), 471-478.
- Sierra-Labastidas, T.K., Tamaris-Turizo, C.E., Picón, S.A.R., Rueda-Delgado, G. 2017.** Densidad, biomasa y hábitos alimentarios de *Anacroneuria* Klapálek 1909 (Plecoptera: Perlidae) en un río tropical. *Actualidades Biológicas* 39(107), 66-74.
- Stark, B.P. 1989.** The Genus *Enderleina* (Plecoptera: Perlidae). *Aquatic Insects* 11(3), 153-160.

Stark, B.P., Froehlich, C.G., Zúñiga, M.C. 2009. South American Stoneflies (Plecoptera). In: Adis, J., Arias, J., Golovatch, S., Wantzen, M., Rueda-Delgado, G. (eds.). Aquatic Biodiversity in Latin America, Volume 5. Pensoft Publishers. 154 p.

Tierno de Figueroa, J.M., Fochetti, R. 2001. On the adult feeding of several European stoneflies (Plecoptera). Entomological News 112, 130–134.

Tierno de Figueroa, J.M., López-Rodríguez, M.J. 2019. Trophic ecology of Plecoptera (Insecta): a review. The European Zoological Journal 86(1), 79-102.
<https://doi.org/10.1080/24750263.2019.1592251>

Turizo-Correa, R., Tamarís-Turizo, C., Rueda-Delgado, G. 2006. Sistema de acuarios para la cría de plecópteros (Insecta: Perlidae). Intropica 3, 109-112.

Váquiro-Capera, C., Reinoso-Flórez, G., Guevara, G. 2020. Estadios ninfales de *Anacroneuria* spp. (Plecoptera: Perlidae) y su relación con variables fisicoquímicas en tres microcuencas del río Combeima, Ibagué, Colombia. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 44(171), 458-470.

Yule, C.M. 1990. The life cycle and dietary habits of *Illiesoperla mayi* Perkins (Plecoptera: Gripopterygidae) in Victoria, Australia. In: Campbell, I.C. (ed.). Mayflies and stoneflies: Life histories and biology. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. pp. 71–80.

List of tables and figures

Table 1. Collected information on nymphs associated and rearing in Brazil.

a) Perlidae

Genus	Method	Transport	Apparatus	Habitat/ Substrate	Food	References
Anacroneuria						
<i>A. bahiensis</i>	FID	-	-	- / stn	-	De Carvalho <i>et al.</i> 2021
<i>A. debilis</i>	LAB	Styrofoam bottles	Small aquarium	rif / stn, lea, sa, ro	Sim, Chi	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2011a Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2015
<i>A. flintorum</i>	FID/ MOA	-	-	rif / stn	-	Almeida <i>et al.</i> 2018
<i>A. iporanga</i>	FID	-	-	rif / -	Ba, Le, Sim	Almeida <i>et al.</i> 2019
<i>A. manauensis</i>	LAB	-	-	- / sa, lea	-	Ribeiro & Gorayeb 2014
<i>A. marlieri</i>	LAB /FID	-	Rearing tanks	- / lea	-	Ribeiro & Gorayeb 2014
<i>A. minuta</i>	LAB	-	Rearing tanks	- / -	-	Ribeiro & Gorayeb 2014
<i>A. ofayae</i>	LAB	Jars with water and leaf litter	Rearing apparatus	- / stn	-	Novaes <i>et al.</i> 2012
<i>A. otafroehlichii</i>	NA	-	-	rif / -	-	Righi-Cavallaro & Lecci 2010
<i>A. payagua</i>	FID	-	Rearing cages	rif / ro, av	-	Righi-Cavallaro & Froehlich 2013
<i>A. piti</i>	NA	-	-	- / -	-	Gonçalves <i>et al.</i> 2017
<i>A. saofrancisco</i>	NA	-	-	- / -	-	Novaes <i>et al.</i> 2018
<i>A. singularis</i>	FID	-	-	rif / sa, stn	-	Ribeiro <i>et al.</i> 2015
<i>A. tupi</i>	MOA	-	-	- / -	-	Almeida & Bispo 2020
Kempnyia						
<i>K. alterosarum</i>	MOA	-	-	- / -	-	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014
<i>K. colossica</i>	FID/ MOA	-	-	rif / -	Aquatic insects	Bispo <i>et al.</i> 2013 Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014
<i>K. couriaie</i>	MOA	-	-	- / -	-	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2016
<i>K. goiana</i>	NA	-	-	rif, po / ro	-	Rippel <i>et al.</i> 2019
<i>K. gracilentia</i>	LAB/ MOA	-	Rearing cages	- / -	-	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2011b Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014
<i>K. neotropica</i>	NA	-	-	rif, po / stn, lea	Ep/Ple/ Chi/Sim	Bispo & Froehlich 2008
<i>K. obtusa</i>	MOA	-	-	- / -	-	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014
<i>K. reticulata</i>	LAB	-	Rearing cages	- / -	-	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2011b
<i>K. tijucana</i>	LAB	-	-	rif, po / stn, lea	Ba, Le, Ple, Chi, Sim, Ad, Cer, Alg, Fu, mni	Dorvillé & Froehlich 1997 Dorvillé & Froehlich 2001
<i>K. varipes</i>	MOA	-	-	- / -	-	Avelino-Capistrano <i>et al.</i> 2014
Macrogynoplax						
<i>M. delicata</i>	LAB/ FID	-	Rearing cages	rif / ro, lo, lea	-	Ribeiro & Gorayeb 2015

<i>M. matogrossensis</i>	FID	-	-	rif/ lo, rt, lea, ro, gr, av	-	Rippel <i>et al.</i> 2019
<i>M. pulchra</i>	LAB/ FID	-	Trays	rif/ gr, stn, lea	-	Ribeiro & Gorayeb 2015
<i>M. veneranda</i>	LAB	-	-	-/ stn, lea	-	Froehlich 1984
<i>Enderleina</i>						
<i>E. froehlichii</i>	LAB/ FID	-	Trays	rif/ stn, lea	-	Ribeiro & Gorayeb 2015

b) Griptopterygidae

Genus	Method	Transport	Apparatus	Habitat/ Substrate	Food	References
<i>Griptopteryx</i>						
<i>Gr. cancellata</i>	NA	-	-	rif/ stn	-	Froehlich 1990
<i>Gr. coruja</i>	LAB	-	Rearing cages	-/ ev	-	Froehlich 1993
<i>Gr. garbei</i>	NA	-	-	rif/ lea	-	Froehlich 1990, Froehlich 1993
<i>Gr. juetah</i>	NA	-	-	rif/ -	-	Froehlich 1990
<i>Gr. liana</i>	NA	-	-	-/ bo, stn	-	Froehlich 1993
<i>Gr. pilosa</i>	NA	-	-	rif/ stn, lea, tw	-	Froehlich 1990
<i>Gr. pinima</i>	NA	-	-	rif/ ev, lea	-	Froehlich 1993
<i>Gr. reticulata</i>	NA	-	-	rif/ stn	-	Froehlich 1990
<i>Paragriptopteryx</i>						
<i>P. anga</i>	LAB	Plastic vials moss or leafs water.	Cylindrical vials of polyethylene or small petri dishes	rif/ ev, lea	lea, alg, bry	Froehlich 1969
<i>P. blanda</i>	LAB	Plastic vials moss or leafs water.	Cylindrical vials of polyethylene or small petri dishes	rif/ ev, lea	lea, alg, bry	Froehlich 1969
<i>P. klapaleki</i>	LAB	Plastic vials moss or leafs water.	Cylindrical vials of polyethylene or small petri dishes	rif/ ev, lea	lea, alg, bry	Froehlich 1969
<i>Guaranyperla</i>						
<i>Gu. guapiara</i>	LAB	-	Rearing cages	-/ stn	-	Froehlich 2001
<i>Gu. nitens</i>	LAB	-	Rearing cages	-/ -	-	Froehlich 2001, Froehlich 2015

c) Species with taxonomical identifications and/or associates currently uncertain:

Genus	Method	Transport	Apparatus	Habitat/ Substrate	Food	References
<i>E. flinti</i> (?)	DA	-	-	-/ -	-	Stark 1989
<i>T. gracilis</i> (?)	LAB	Plastic vials moss or leafs water.	Cylindrical vials of polyethylene	rif, ru/ sa, peb, lea	lea, alg, bry	Froehlich 1969

or small petri
dishes

d) Adicional data

Species with description of its nymphal exuviae:	- <i>Gr. serrensis</i> (Froehlich, 1993) - <i>P. intervalensis</i> (Duarte et. al. 2022)
Species without description of the nymph, but reared to obtain the adult:	- <i>A. tabatae</i> , <i>A. toriba</i> (Froehlich 2010b) - <i>M. poranga</i> , rearing in laboratory using trays. (Ribeiro-Ferreira & Froehlich, 1999). - An additional study of <i>Kempnyia</i> spp., in rearing cages (Froehlich 2011)
Rearing efficiency:	Perlidae: <i>A. debilis</i> : 6%, <i>K. tijucana</i> : 7.7% Gripopterygidae: <i>G. coruja</i> : 22.22%, <i>G. guapiara</i> : 25.00%

Method: LAB: Laboratory, FID: Field, MOA: Molecular association, NA: Does not specify how it was associated. DA: Provisionally associated by its altitudinal distribution. **Habitat:** rif: riffles, po: pools, ru: runs. **Substrate:** sa: sand, gr: gravel, peb: pebbles, stn: stones, bo: boulders, ro: rocks, tw: twigs, lo: logs, rt: roots, lea: leaves and/or leaf packs, av: aquatic vegetation, ev: epilithic vegetation. **Food:** alg: algae, bry: bryophytes, fu: fungi, Ep: Ephemeroptera, Ba: Baetidae, Le: Leptophlebiidae, Ple: Plecoptera, Dip: Diptera, Cer: Ceratopogonidae, Chi: Chironomidae, Sim: Simuliidae, mni: non-insect macroinvertebrates (include Crustacea; Acarina; Collembola; Oligochaeta and Nematoda), Ad: Adults of Diptera, Hymenoptera and Coleoptera. (?) Descriptions currently uncertain. Froehlich (1998) mentions that it is likely that the nymph de *T. gracilis*, described in Froehlich (1969) belongs to another species of the genus. In the case of the description of the *E. flinti* nymph, made by Stark (1989) with individuals collected in an area close to the Brazilian border (Serra da Neblina), the association was only tentative and based on altitudinal distribution (putative nymph).

Table 2. Species identified in the two rearing experiments:

Species	Experiment (1)		Experiment (2)	
	Reared	Emerged	Reared	Emerged
<i>Anacroneuria debilis</i>	4	1	4	2
<i>Anacroneuria flintorum</i>	0	0	1	1
<i>Gripopteryx reticulata</i>	6	0	1	0
<i>Kempnyia obtusa</i>	2	0	7	2
<i>Kempnyia</i> sp. 1	0	0	1	0
Total	12	1	14	5

List of figures

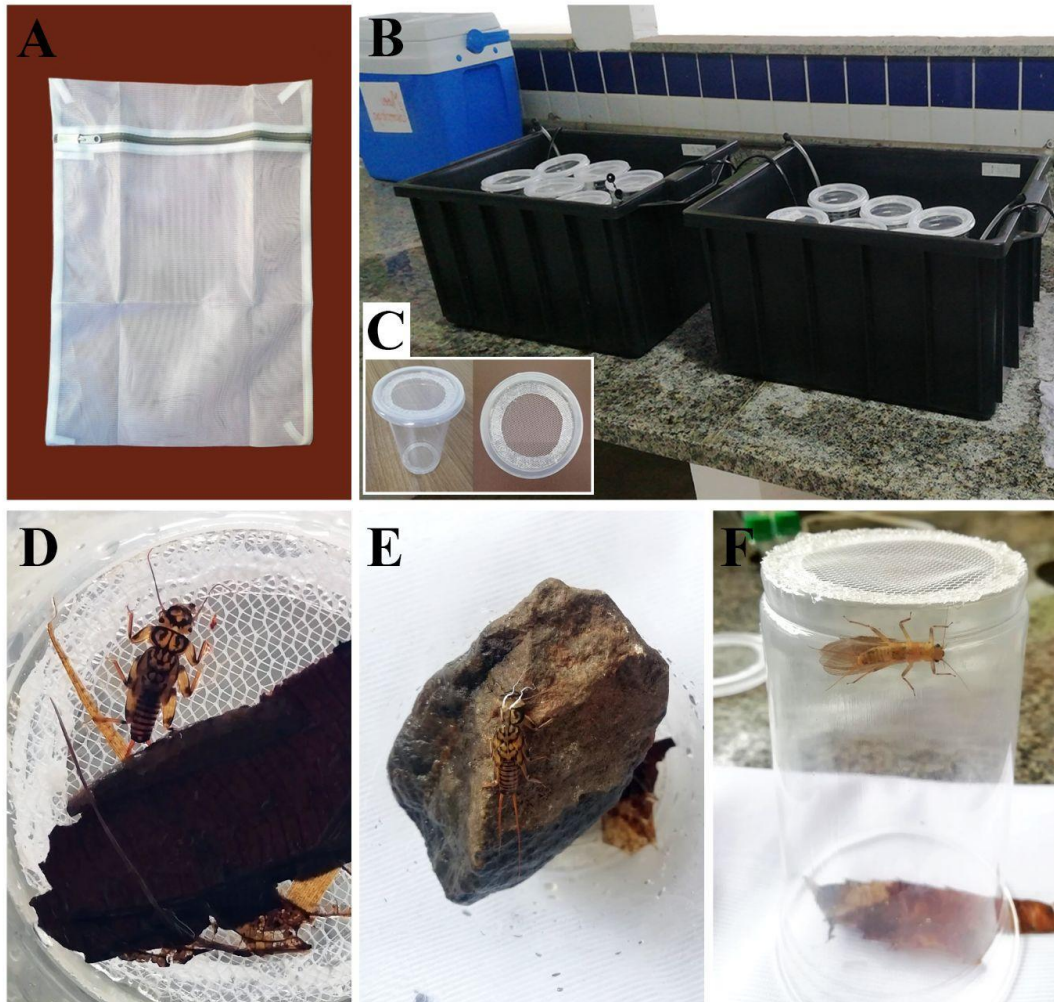


Figure 1. Details and materials used in the rearing of Plecoptera nymphs in the present study. (A) Mesh bag. (B) Thermal bag and rearing tanks. (C) Cups with lid and covered with a soft mosquito netting. (D), (E) Some substrates used during rearing. (F) Emerged adult of *Kempnyia obtusa*.

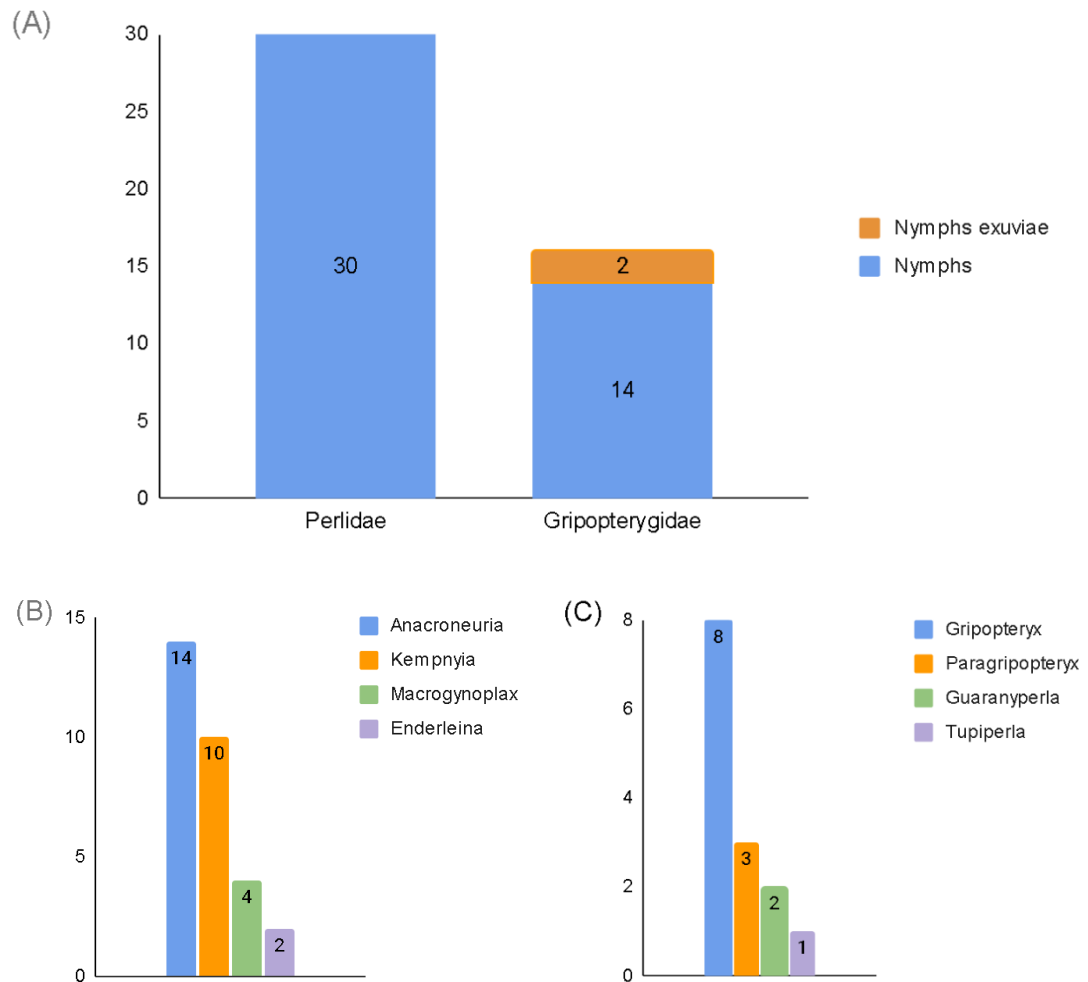


Figure 2. Number of descriptions found in the bibliography of Plecoptera in Brazil. (A) Number of descriptions by family of Plecoptera nymphs and nymphs exuviae. (B) Number of descriptions by genus found in the bibliography of Perlidae nymphs. (C) Number of descriptions by genus found in the bibliography of Gripopterygidae nymphs.

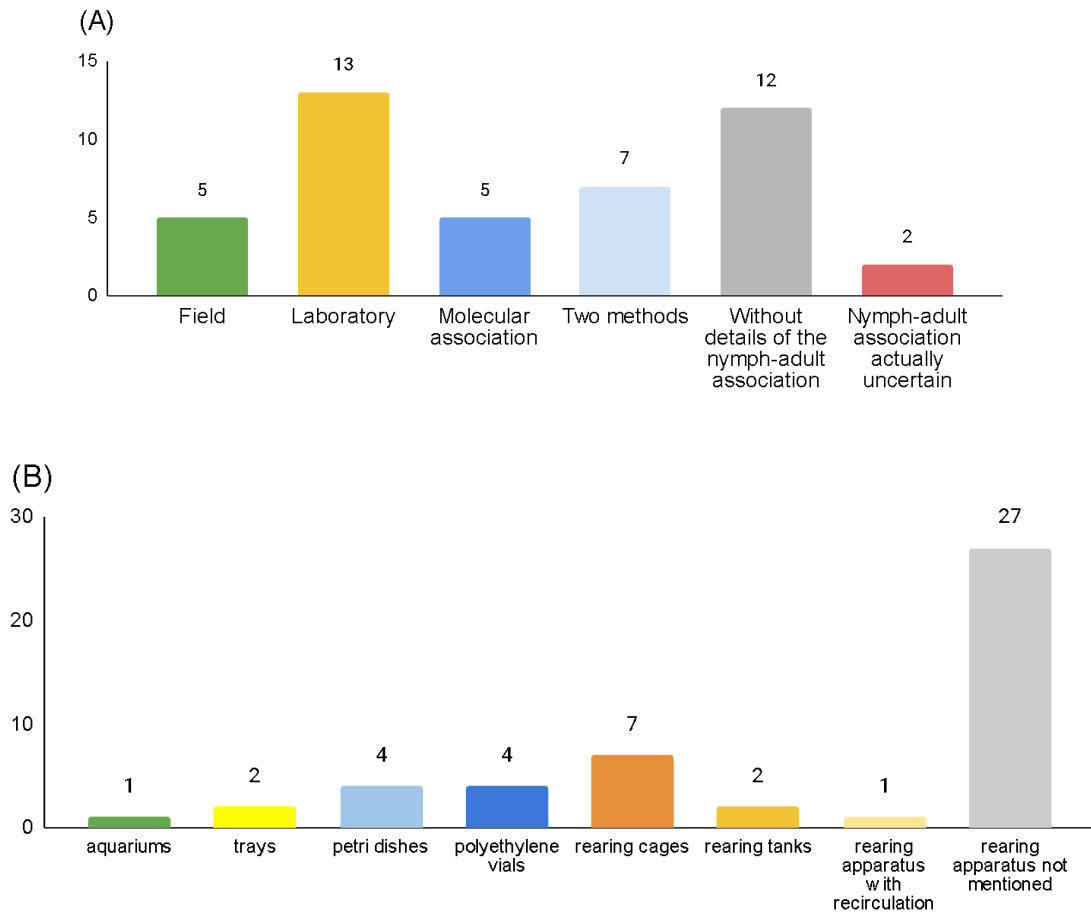


Figure 3. Methodology and rearing apparatus used in the nymph-adult association in Brazil.

(A) Methodologies used for the nymph-adult association of Plecoptera in Brazil. (B) Rearing apparatus used for nymph-adult association of Plecoptera in Brazil.

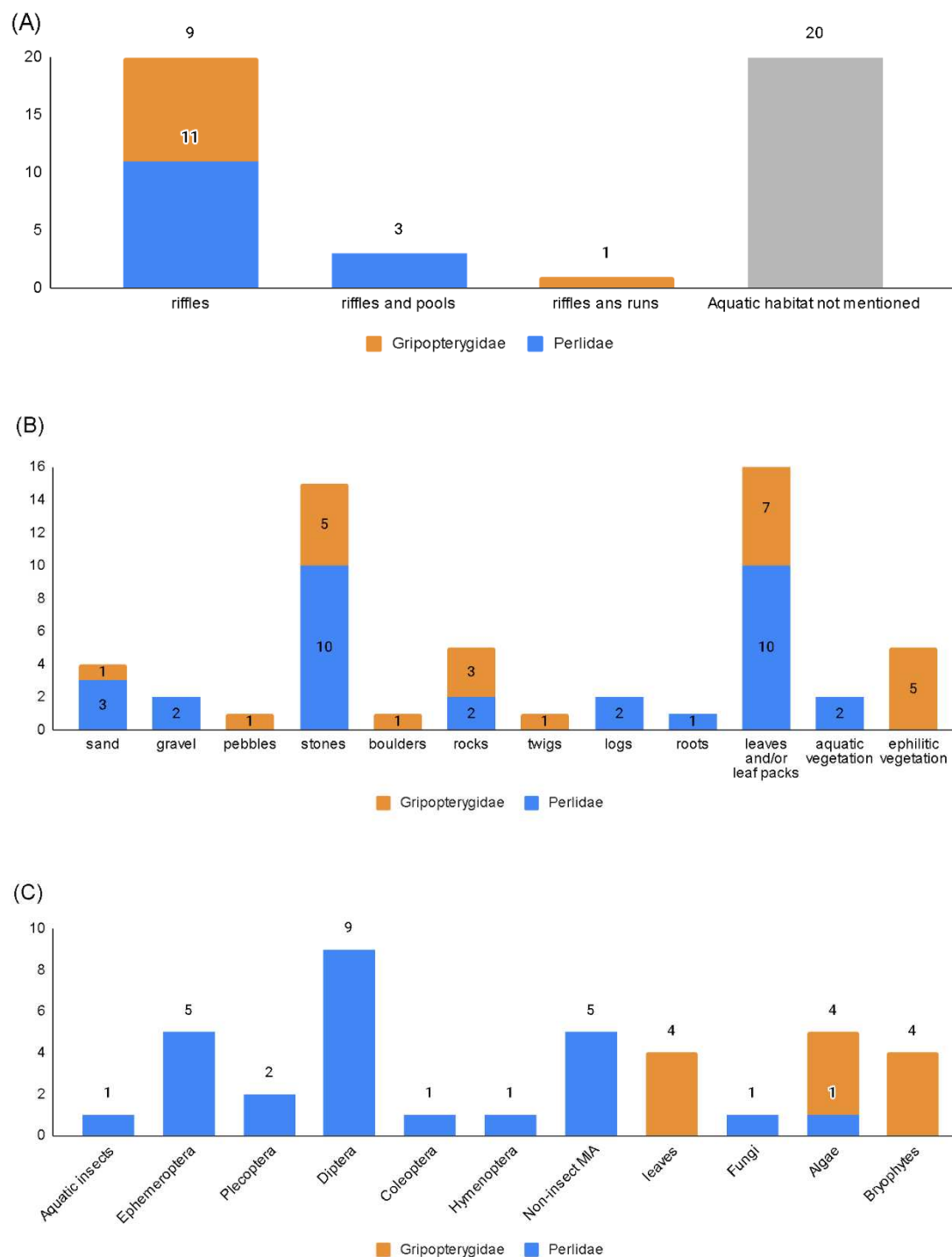


Figure 4. Aquatic habitat (A), substrate (B) and food (C) by species found in the bibliography related to rearing and association of nymphs of Plecoptera in Brazil.

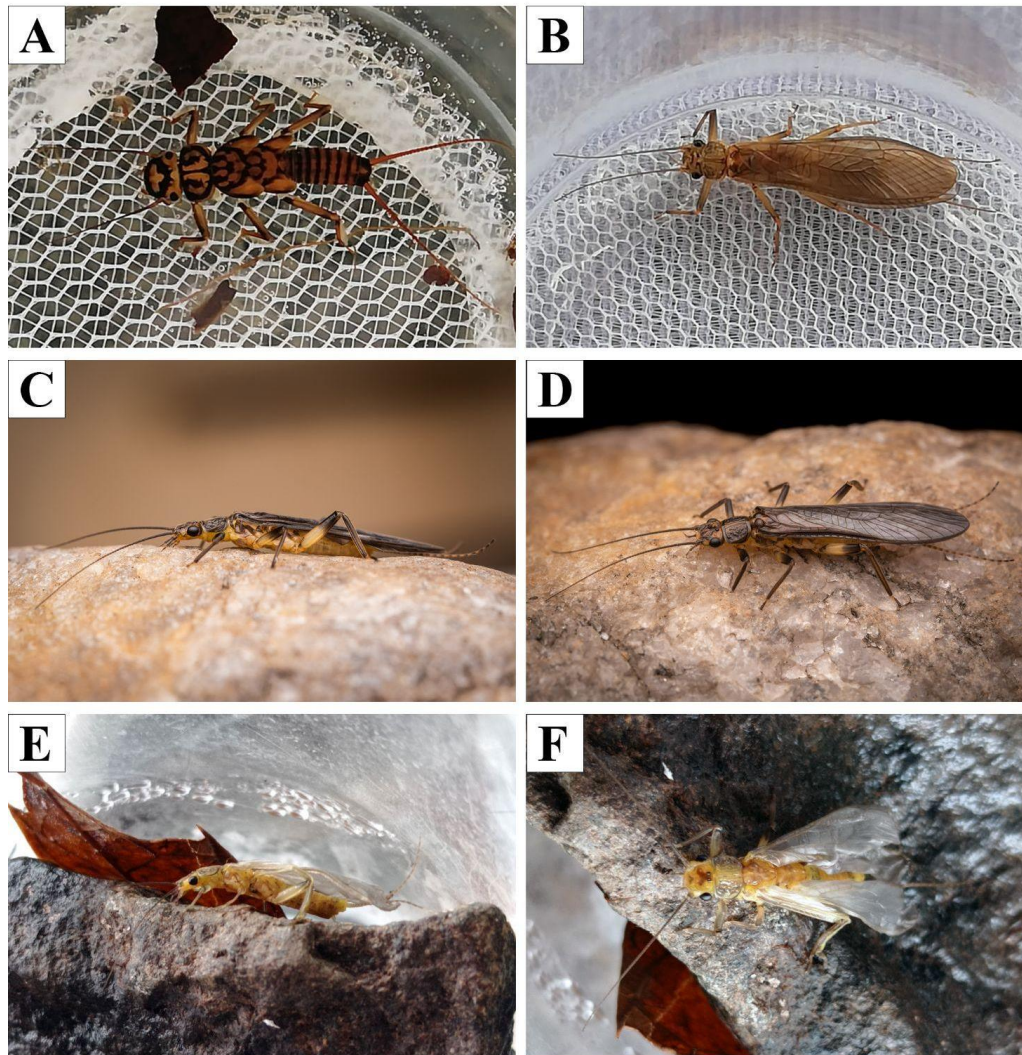


Figure 5. Photographs taken during the process of creating and obtaining adults in the laboratory. (A) and (B) Nymph and emerged adult of *Kempnyia obtusa*. (C) and (D) Adult emerged of *Anacroneuria debilis*. (D and (E) Adult emerged of *A. debilis* with malformed legs and wings.