

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

Luiza Figueiredo Camargo

Diversidade morfológica e molecular de Orthocentrinae  
(Hymenoptera, Ichneumonidae) em gradientes altitudinais no  
sudeste do Brasil.

São Carlos- SP

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

Luiza Figueiredo Camargo

Diversidade morfológica e molecular de Orthocentrinae  
(Hymenoptera, Ichneumonidae) em gradientes altitudinais no  
sudeste do Brasil.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais

Orientação: Prof. Dra. Angélica Maria Penteado Martins-Dias

São Carlos- SP

2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

---

**Folha de Aprovação**

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Luiza Figueiredo Camargo, realizada em 02/12/2019:

---

Profa. Dra. Angélica Maria Penteado Martins Dias  
UFSCar

---

Prof. Dr. Manoel Martins Dias Filho  
UFSCar

---

Profa. Dra. Lívia Maria Fusari  
UFSCar

---

Prof. Dr. Nelson Wanderley Peroto  
IB

---

Profa. Dra. Helena Carolina Onody  
UESPI

**“Mas o que salva a humanidade é que não há quem cure a curiosidade” (Tom Zé)**

**Dedico essa tese à curiosidade que move a vida e nos faz buscar um mundo melhor para se viver. Que o conhecimento seja motor e, que o que aqui se encontra, possa contribuir para a manutenção da natureza.**

## **Agradecimentos**

A conclusão desse trabalho e junto dele o encerramento de um importante ciclo de minha vida não seria possível sem a presença de diversas pessoas. Assim eu agradeço imensamente:

Ao universo, que me possibilitou esta oportunidade,

A Profa. Dra. Angélica M. Martins Penteado- Dias, pela confiança, incentivo e maestria.

A CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio financeiro.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia dos Hymenoptera Parasitoides da região Sudeste Brasileira, pela estrutura e apoio financeiro.

A todos os professores e funcionários do programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, que muito me ensinaram e ajudaram.

A Alejandro Zaldívar Riverón por ter me ajudado com as análises moleculares.

A Gavin Broad por ter me enviado material e bibliografia essenciais para o meu aprendizado.

Aos integrantes da banca de qualificação: Prof. Dr. Manoel Martins Dias Filho, Eduardo Mitio Shimbori e Luciana Bueno dos Reis Fernandes pelas sugestões e contribuições.

Aos integrantes da banca de Defesa: Prof. Dr. Manoel Martins Dias Filho, Profa. Dra. Helena Onody, Profa. Dra Lúvia Maria Fusari, Prof. Dr. Nelson Wanderley Periotto pelas sugestões e contribuições.

A Luciana Bueno dos Reis Fernandes pelas fotos desse trabalho.

Ao amigo Eduardo Mitio Shimbori, por todas as provocações que geraram bons questionamentos para a tese que aqui se encontra.

A todos os amigos do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Hymenoptera Parasitoide da Região Sudeste Brasileira pelos dias convividos.

A todos os técnicos do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Hymenoptera Parasitoide da Região Sudeste Brasileira que realizaram partes essenciais para que o material pudesse ser coletado, trabalhado e analisado.

Aos gerentes dos parques de conservação: Reserva Privada do Patrimônio Cultural de Itamonte, Reserva Biológica da Serra do Japi, Parque Nacional da Serra da Bocaina, Parque Nacional do Itatiaia por possibilitarem as coletas.

A meus pais, por me educarem com amor e coragem, me instigando a ter olhos curiosos sobre a vida, que me permitiu chegar até aqui.

Aos amigos e familiares que são minha rede de apoio, em especial meu padrinho Ruy Camargo, minha tia Maria Constança Figueiredo, minha “mãe japonesa” Ildete Furakawa, e meus amigos queridos, Helena Vieira, Caio César Pires de Paula, Fernanda Tibério, Julia Benincasa e Ivy Frizo de Melo.

Ao meu marido, parceiro, companheiro, meu grande amor, Dante Cieto de Ferreira, que me dá o sorriso necessário a seguir em frente dia após dia.

Meu muito obrigada!

**“- Me explique – perguntei a um estudioso em entomologia. Me explique, por favor, o que é que faz de um ser humano um entomologista: um homem que dedica sua vida aos insetos, em vez de ser astronauta, em vez de desbravador de selvas, em vez de...**

**O cientista jovem que estava diante de mim sorriu. Um desses sorrisos cheios de uma complacência humilde diante do meu ignorar. Não disse uma só palavra. Colocou um inseto no microscópio e fez um único gesto, indicando-me que devia olhar. Olhei. A resposta ali estava. Aquele mesquinho ser, aquela pequenina criatura de Deus, provavelmente incomoda em seu esvoaçar, talvez portadora de males e desgraças, era um atordoante arco-íris caótico, realizando concretamente os mais belos quadros abstratos de pobres sonhadores, julgando-se artistas capazes de uma recriação da natureza.**

**Só então o jovem cientista falou:**

**- Cada dia que começa é um mistério novo, entende?**

**Seus olhos se iluminaram. Seu sorriso se espairou.**

**Era isso. Então era essa a chave! ”**

**Vida e obra de Ângelo Moreira da Costa Lima – Pedro Bloch (1968)**

## Resumo

A subfamília Orthocentrinae é uma das subfamílias menos estudadas entre os Ichneumonidae, apesar de possuírem distribuição cosmopolita e compreenderem cerca de 30% dos Ichneumonidae coletados em armadilhas Malaise, indicando serem abundantes e diversos. Por serem pouco estudados, principalmente na região Neotropical, o grupo tem muitos problemas taxonômicos já tendo passado por muitas classificações e sinonímias. Sabe-se muito pouco sobre sua biologia, mas todas as fontes confiáveis reportam parasitismo de *fungus gnats*, dípteros fungívoros responsáveis por causar danos nas raízes das plantas, além de disseminarem fungos patogênicos. Atualmente, os Orthocentrinae contam com 478 espécies descritas em 29 gêneros, sendo apenas 55 espécies de 14 gêneros para a região neotropical e 4 espécies de 3 gêneros para o Brasil, não havendo uma chave organizada para a identificação de tais gêneros. Este trabalho buscou conhecer a fauna desta subfamília em ambientes de altitude, nos parques de conservação Reserva Privada do Patrimônio Cultural de Itamonte, MG, Reserva Biológica da Serra do Japi, SP, Parque Nacional da Serra da Bocaina, SP, Parque Nacional do Itatiaia, RJ, através de coletas com armadilhas Malaise, Moericke, Varredura e Luminosa, com a intenção de compreender sua composição, fornecendo subsídios para o manejo e conservação dessas áreas que, apesar de sua importância, encontram-se ameaçadas. Objetivou-se também, compreender melhor a classificação do grupo e a identificação de novas espécies utilizando, para isso, ferramentas moleculares. Além disso, buscou-se entender quais métodos de coletas se mostram mais eficazes para a subfamília, os padrões de distribuição e a possibilidade de endemismo, além de desenvolver uma chave para os gêneros encontrados. Foram encontradas 130 espécies identificadas molecularmente em 12 gêneros, das quais foram descritas 21 espécies novas, dos gêneros *Megastylus*, *Gnathochorisis*, *Proclitus*, *Eusterinx* e *Pantisarthrus*. Os gêneros *Plectiscus*, *Picrsotigeus* e *Pantisarthrus* são reportados pela primeira vez na região Neotropical, enquanto que *Stenomacrus*, *Batakmacrus*, *Megastylus*, *Gnathochorisis*, *Proclitus*, *Eusterinx*, *Symplecis* e a espécie *Gnathochorisis khalaimi*, Humala, 2017, são reportados pela primeira vez para o Brasil. Uma chave para todas as espécies conhecidas do gênero *Pantisarthrus* foi desenvolvida, além de uma chave para os gêneros encontrados no trabalho. O grupo possui ampla distribuição entre os diferentes gradientes altitudinais, algumas espécies demonstraram ocorrer em todas as altitudes estudadas, porém,

algumas outras indicaram endemismo em altitudes acima de 1900 m. A Armadilha Moericke mostrou-se mas eficaz para coleta-los.

**Palavras chaves:** Taxonomia, Vespas Parasitoides, Montanhas.

## Abstract

The Orthocentrinae is one of the least studied subfamilies among the Ichneumonidae, although they have a cosmopolitan distribution and comprise about 30% of the Ichneumonidae collected in Malaise traps, indicating that they are abundant and diverse. Because they are poorly studied, especially in the Neotropical region, the group has many taxonomic problems and has already gone through many classifications and synonyms. Very little is known about their biology, but all reliable sources report parasitism of fungus gnats, fungivorous dipterans responsible for damaging plant roots and spreading pathogenic fungi. Currently, Orthocentrinae have 478 described species in 29 genera, of which only 55 species from 14 genera occur in the Neotropics and 4 species of 3 genera occur in Brazil, there is no organized key to the identification of such genera. This work sought to know the fauna of this subfamily in high altitude environments, at Reserva Privada do Patrimônio Cultural de Itamonte, MG, Reserva Biológica da Serra do Japi, SP, Parque Nacional da Serra da Bocaina, SP, Parque Nacional do Itatiaia, RJ, through insect sampling using sweeping net, light, Malaise and Moericke traps, with the intention of understanding its composition, providing subsidies for the management and conservation of these threatened areas. The objective was also to improve the knowledge of group classification and to identify new species using molecular tools. Besides that, we sought to understand which collection methods are most effective for the subfamily, the distribution patterns and the possibility of endemism, and to develop a key to the genera found. 130 species molecularly identified in 12 genera were found, of which 21 new species of the genera *Megastylus*, *Gnathochorisis*, *Proclitus*, *Eusterinx* and *Pantisarthrus* were described. The genera *Plectiscus*, *Picrsotigeus* and *Pantisarthrus* are first reported in the Neotropical region, while *Stenomacrus*, *Batakmacrus*, *Megastylus*, *Gnathochorisis*, *Proclitus*, *Eusterinx*, *Symplecis* and the species *Gnathochorisis khalaimi*, Humala, 2017, are reported for the first time to Brazil. A key for all described species of the genus *Pantisarthrus* was developed, as well as a key for the genera found in the work. The group has a wide distribution among the different altitudinal gradients, some species showed to occur in all studied altitudes, but some others indicated endemism at altitudes above 1900 m. The Moericke Trap proved to be the most effective collected method.

**Key words:** Taxonomy, Parasitic wasp, Mountains

## Lista de Figuras

Figura 1: Asa anterior de Ichneumonidae.....	3
Figura 2: Metassoma de Ichneumonidae com tergitos 2 e 3 separados .....	3
Figura 3: <i>Orthocentrus sp.</i> Face mostrando mandíbulas delgadas e escapo mais longo do que largo, característicos de Orthocentrinae .....	5
Figura 4: <i>Orthocentrus sp.</i> feixe de cerdas na tíbia posterior .....	5
Figura 5: Cladograma para os Pimpliformes retirado de Wahl, 1990.....	7
Figura 6: Análise filogenética proposta por Quicke et al. (2015) mostrando os grupos atuais que formam a subfamília Orthocentrinae.....	8
Figura 7: Mapa com as localidades de coleta .....	14
Figura 8: Armadilha Malaise montada no campo. ....	15
Figura 9: Armadilha de Moericke no campo. ....	15
Figura 10: Rede para Varredura de Vegetação .....	16
Figura 11: Armadilha Luminosa Luiz de Queiroz .....	17
Figura 12: Esquema demonstrando os extratos altitudinais considerando a variação total das 4 montanhas estudadas, divididos em baixo, médio e alto.....	22
Figura 13-14: Terminologia das estruturas da cabeça de Ichneumonidae: 13, <b>Cabeça vista anterior</b> : 1, vértice; 2, fronte; 3: face; 4, espaço malar; 5, clípeo; 6, sulco entre a face e o clípeo; 7, fóvea clipeal; 8, labro; 9, órbita vertical; 14, órbita frontal; 11, órbita facial; 13, <b>Cabeça vista posterior</b> : 14, órbita temporal; 13, vértice; 14, occipício; 15, forame magno; 16 e 17, carena occipital; 17, carena genal; 18, carena oral; 19, têmpora (TOWNES, 1969). ....	25
Figura 15: Asas anterior e posterior de Ichneumonidae. <b>Asa Anterior, nervuras</b> : AB, costa; CD, subcosta; EFG, metacarpo; HIJF, radio; LMNO, cúbito; PQRW, discoideo; CP, média; UV, submédia; VWX, braquial; BEH, estigma; DP, basal; IL, 1° intercubital; JN, 2° intercubital; QL, discocubital; K, râmulo; QK, 1ª recorrente; MS, 2ª recorrente; Y, bula; PV, nervulo; QRW, pós-nervulo. <b>Asa Anterior, células</b> : 1, radial; 2, mediana; 3, discocubital; 4, areolete; 5, 3ª cubital; 6, 2ª discoidal; 7, 3ª discoidal; 8, submediana; 9, 1ª braquial; 10, 2ª braquial; 11, anal. <b>Asa Posterior, nervuras</b> : ab, costela; cde, subcostela; ef, metacarpela; dgh, radiela; jkl, cubitela; mn, discoidela; kg, intercubitela; ij, mediela; op, submediela; pq, braquiela; bh, hâmulos basal; dh, hâmulos distais; rs, axila; jmp, nervelo. <b>Asa Posterior, células</b> : 12,	

costelana; 13, radielana; 14, medielana; 15, cubitelana; 16, discoidelana; 17, submedielana; 18, braquielana; 19, anelana; 20, pos-anelana (TOWNES, 1969).....	25
Figura 16: Mesossoma de Ichneumonidae vistas lateral e dorsal: áreas, carenas e sulcos. <b>Áreas:</b> 1, lobo mediano do mesoscuto; 2, lobo lateral do mesoscuto; 1 e 2, mesoscuto; 3, escutelo; 4, pós-escutelo; 5, margem posterior do metanoto; 6, tégula; 7, ruga subtegular; 8, colar; 8,9,10, pronoto; 10, ângulo posterior do pronoto; 11,12,18, mesopleura; 12, espéculo; 13, mesepimero; 14, divisão superior da metapleura; 15, metapleura; 16, área justacoxal; 17, propleura; 18, prepecto; 19, mesosterno; 20, coxa anterior; 21, coxa mediana; 22, coxa posterior; 23-28, propódeo; 23, 1 <sup>a</sup> área lateral; 24, 2 <sup>a</sup> área lateral; 25, 3 <sup>a</sup> área lateral; 26, 1 <sup>a</sup> área pleural; 27, 2 <sup>a</sup> área pleural; 28, 3 <sup>a</sup> área pleural; 29, espiráculo propodeal; 30, área basal; 31, aréola; 32, área peciolar; 33, sulco axilar do mesonoto; 34, sulcoaxilar do metanoto. <b>Carenas e sulcos:</b> A, notáulice; B, epomia; C, carena prepectal; D, fóvea mesopleural; E, sutura mesopleural; F, esternáulo; G, carena prospectal; H, carena justacoxal; I, carena submetapleural; J, carena pleural; K, carena lateral longitudinal; L, carena mediana longitudinal; M, carena basal transversa; N, carena apical transversa; O, apófise propodeal ou crista; P, cóstula (TOWNES 1969).....	26
Figura 17: Gráfico com o número total de indivíduos por gênero coletado .....	27
Figura 18: Gráfico com a abundância de cada gênero coletados nos quatro pontos de coleta. ....	28
Figura 19: Gráfico com a abundância de cada gênero coletado por altitude com armadilha Malaise no PARNA Itatiaia, RJ.....	30
Figura 20: Gráfico com a abundância de cada gênero por método de coleta no PARNA de Itatiaia, RJ. ...	30
Figura 21: Gráfico com a abundância de cada gênero coletado com Armadilha Malaise, em cada altitude no PARNA Serra da Bocaina, São José do Barreiro, SP .....	32
Figura 22: Gráfico com a abundância de cada gênero por método de coleta no PARNA Serra da Bocaina, São José do Barreiro, SP.....	33
Figura 23: Gráfico com a abundância de cada gênero coletado por altitude na Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiaí, SP. ....	34
Figura 24: Gráfico com a abundância de cada gênero por tipo de armadilha de coleta na Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiaí, SP. ....	35
Figura 25: Gráfico demonstrando a preferência altitudinal de gêneros coletados na RPPN Alto Montana, Itamonte, MG.....	37
Figura 26: Gráfico com a abundância de cada gênero por método de coleta na RPPN Alto Montana, Itamonte, MG.....	38
Figura 27: Gráfico com as unidades taxonômicas dos gêneros pertencentes ao grupo Orthocentrus.....	40

Figura 28: Fêmea de <i>Orthocentrus spp.</i> : <b>a</b> , hábito; <b>b</b> , asa posterior, indicando nervelo vertical ou reclinado; <b>c</b> , Face. ....	45
Figura 29: <i>Batakomacrus spp.</i> : <b>a</b> , hábito da fêmea; <b>b</b> , face; <b>c</b> , metassoma vista dorsal; <b>d-e</b> , ovipositor vista lateral, indicando a capacidade de articulação; <b>f</b> , genitália macho, vista lateral. ....	48
Figura 30: Macho de <i>Picrostigeus spp.</i> : <b>a</b> , hábito; <b>b</b> , detalhe genitália, vista lateral. ....	50
Figura 31: Fêmea de <i>Plectiscus spp.</i> : <b>a</b> , hábito; <b>b</b> , mesossoma, vista lateral. ....	52
Figura 32: <i>Stenomacrus spp.</i> : <b>a</b> , hábito de fêmea com clípeo levemente curvo e propódeo sem carenas; <b>b</b> , hábito de fêmea com clípeo reto e propódeo com carenas, <b>c</b> , face com clípeo levemente curvo; <b>d</b> , face com clípeo reto; <b>e</b> , propódeo sem carenas, vista dorsal; <b>f</b> , propódeo com carenas, vista dorsal. ....	56
Figura 33: Fêmea de <i>Chilocyrtus sp.</i> : <b>a</b> , hábito; <b>b</b> , face; <b>c</b> , propódeo, vista dorsal. ....	58
Figura 34: Face de <i>Pantisarthrus sp.</i> , demonstrando o clípeo separado da face característicos ao grupo de gêneros Helictes. ....	59
Figura 35: Gráfico com o número de <i>MOTUs</i> dos gêneros pertencentes ao grupo Helictes. ....	60
Figura 36: <i>Megastylus sp.</i> : Detalhe do escapo oval, inflado e com membrana proeminente, característico do gênero. ....	61
Figura 37: <i>Megastylus sp. nov. 1</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma, lateral view; <b>d</b> , propodeum, dorsal view; <b>e</b> , metasoma, dorsal view; <b>f</b> , male habitus. ....	65
Figura 38: <i>Megastylus sp. nov. 2</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma, lateral view; <b>d</b> , mesoscutum, dorsal view; <b>e</b> , propodeum, dorsal view; <b>f</b> , metasoma, dorsal view; ....	67
Figura 39: <i>Megastylus sp. nov. 3</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma, lateral view; <b>d</b> , mesoscutum, dorsal view; <b>e</b> , propodeum, dorsal view; <b>f</b> , metasoma, dorsal view; ....	69
Figura 40: <i>Megastylus sp. nov. 4</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma, lateral view; <b>d</b> , mesosoma and metasoma dorsal view; <b>e</b> , propodeum, dorsal view. ....	71
Figura 41: <i>Megastylus sp. nov. 5</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma, lateral view; <b>d</b> , Mesosoma dorsal view; <b>e</b> , propodeum, dorsal view; <b>f</b> , metasoma, dorsal view; ....	74
Figura 42: <i>Megastylus sp. nov. 6</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma, lateral view; <b>d</b> , Mesosoma dorsal view; <b>e</b> , propodeum, dorsal view; <b>f</b> , metasoma, dorsal view; ....	76
Figura 43: <i>Megastylus sp. nov. 7</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma, lateral view; <b>d</b> , Mesosoma dorsal view; <b>e</b> , propodeum, dorsal view; <b>f</b> , metasoma, dorsal view; ....	78
Figura 44: <i>Megastylus sp. nov. 8</i> : <b>a</b> , face; <b>b</b> , propodeum, dorsal view; <b>c</b> , metasoma, dorsal view; ....	80
Figura 45: <i>Megastylus sp. nov. 9</i> : <b>a</b> , face; <b>b</b> , mesosoma, lateral view; <b>c</b> , mesosoma dorsal view; <b>d</b> , propodeum, dorsal view; ....	81

Figura 46: <i>Megastylus sp. nov. 10</i> : <b>a</b> , male habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma, lateral view; <b>d</b> , mesosoma dorsal view; <b>e</b> , propodeum, dorsal view; <b>f</b> , metasoma, dorsal view; .....	83
Figura 47: <i>Gnathochorisis khalaimi</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , male habitus; <b>c</b> , male face; <b>d</b> , male mesosoma dorsal view; <b>e</b> , metasoma dorsal view. ....	85
Figura 48: <i>Gnathochorisis sp. nov. 1</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma lateral view; <b>d</b> , propodeum dorsal view; <b>e</b> , metasoma dorsal view; <b>f</b> , ovipositor, lateral view. ....	87
Figura 49: <i>Gnathochorisis sp. nov. 2</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> face, <b>c</b> , mesosoma lateral view; <b>d</b> , propodeum dorsal view; <b>e</b> , ovipositor, lateral view. ....	89
Figura 50: <i>Proclitus sp. nov. 1</i> : <b>a</b> , male habitus, <b>b</b> , face, <b>c</b> , mesosoma lateral view, <b>d</b> , mesosoma dorsal view, <b>e</b> , propodeum dorsal view, <b>f</b> , metasoma dorsal view. ....	92
Figura 51: <i>Proclitus sp. nov. 2</i> : <b>a</b> , female habitus, <b>b</b> , face, <b>c</b> , mesosoma lateral view, <b>d</b> , mesosoma dorsal view, <b>e</b> , propodeum dorsal view, <b>f</b> , metasoma dorsal view. ....	94
Figura 52: <i>Proclitus sp. nov. 3</i> : <b>a</b> , female habitus, <b>b</b> , face, <b>c</b> , mesosoma lateral view, <b>d</b> , propodeum dorsal view, <b>e</b> , male habitus.....	96
Figura 53: <i>Eusterinx (Eusterinx) sp. nov 1</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face, <b>c</b> , mesosoma lateral view; <b>d</b> , mesosoma dorsal view; <b>e</b> , propodeum dorsal view; <b>f</b> , metasoma dorsal view.....	100
Figura 54: <i>Eusterinx (Eusterinx) sp. nov. 2</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face, <b>c</b> , mesosoma lateral view; <b>d</b> , mesosoma dorsal view; <b>e</b> , propodeum dorsal view; <b>f</b> , metasoma dorsal view.....	102
Figura 55: <i>Eusterinx (Eusterinx) sp. nov. 2</i> : <b>a</b> , male habitus; <b>b</b> , male metasoma dorsal view. ....	103
Figura 56: <i>Eusterinx (Ischyrae) sp. nov. 3</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , mesosoma, lateral view; <b>d</b> , mesosoma dorsal view; <b>e</b> , propodeum dorsal view; <b>f</b> , metasoma dorsal view.....	105
Figura 57: <i>Eusterinx (Divinatrix) sp.:</i> <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , face; <b>c</b> , metasoma dorsal view. ....	106
Figura 58: <i>Symplecis sp.:</i> <b>a</b> , Female habitus; <b>b</b> , face.....	107
Figura 59: <i>Pantisarthrus sp. nov 1</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> and <b>c</b> , color variation on clypeus ; <b>d</b> , mesosoma, lateral view ; <b>e</b> metasoma, dorsal view; .....	110
Figura 60: <i>Pantisarthrus sp. nov. 1</i> : <b>a</b> , carinae of pronotum and mesopleuron, lateral view; <b>b</b> , propodeum, dorsal view; <b>c</b> and <b>d</b> , sculpture variation on metasomal tergite 1, dorsal view. ....	111
Figura 61: <i>Pantisarthrus sp. nov. 2</i> : <b>a</b> , female habitus; <b>b</b> , mesosoma, lateral view; <b>c</b> , metasoma, dorsal view; <b>d</b> , face, frontal view; <b>e</b> , carinae of pronotum and mesopleuron, lateral view; <b>f</b> , propodeum, dorsal view.....	113
Figura 62: <i>Pantisarthrus sp. nov.2</i> : <b>a</b> , male habitus; <b>b</b> , metasomal tergite 1, dorsal view. ....	114

Figura 63: *Pantisarthrus sp. nov.* 3: **a**, female habitus; **b**, head, frontal view; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, carinae of pronotum and mesopleuron, lateral view; **e**, propodeum, dorsal view; **f**, metasomal tergite 1, dorsal view; **g**, setae on flagellomeres. .... 116

## Lista de Tabelas:

Tabela 1: Pontos de coleta no PARNA Itatiaia.....	18
Tabela 2: Pontos de Coleta em RPPN Alto Montana, Itamonte, MG.....	19
Tabela 3: Pontos de Coleta no PARNA Serra da Bocaina.....	20
Tabela 4: Pontos de Coleta na Reserva Biológica Serra do Japi.....	21
Tabela 5: Protocolo de codificação de dados para cada espécime e seu respectivo <i>DNA</i> com referência a sua amostra de coleta, onde XX refere ao número dado ao espécime. ....	23
Tabela 6: Número de indivíduos coletados por gênero, por altitude, por método de coleta no PARNA Itatiaia, RJ .....	29
Tabela 7: Número de indivíduos coletados por gênero, por altitude, por método de coleta no PARNA Serra da Bocaina em São José do Barreiro, SP. ....	31
Tabela 8: Número de indivíduos coletados por gênero, por altitude, por método de coleta na Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiaí-SP. ....	34
Tabela 9: Número de indivíduos por gêneros coletados em cada armadilha e em cada altitude na RPPN Alto Montana, Itamonte, MG.....	36
Tabela 10: Distribuição de <i>MOTUs</i> do gênero <i>Orthocentrus</i> entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A).....	42
Tabela 11: Distribuição de <i>MOTUs</i> do gênero <i>Batakomacrus</i> entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A).....	47
Tabela 12: Distribuição de <i>MOTUs</i> do gênero <i>Plectiscus</i> entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A. ....	51
Tabela 13: Distribuição de <i>MOTUs</i> do gênero <i>Stenomacrus</i> entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M e vermelho em altas, A. ....	54
Tabela 14: Distribuição de <i>MOTUs</i> do gênero <i>Chilocytrus</i> entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M e vermelho em altas, A. ....	57
Tabela 15: Distribuição de <i>MOTUs</i> do gênero <i>Megastylus</i> entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A).....	62
Tabela 16: Estimativa de Divergência Evolucionária entre Sequências de <i>Megastylus spp</i> .....	63
Tabela 17: Distribuição de <i>MOTUs</i> do gênero <i>Gnathochorisis</i> entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M e vermelho em altas, A).....	84
Tabela 18: Distribuição de <i>MOTUs</i> do gênero <i>Proclitus</i> entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A).....	90

Tabela 19: Distribuição de <i>MOTUs</i> do gênero <i>Eusterinx</i> entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A).....	98
---	----

## Sumário

<b>Resumo</b> .....	i
<b>Abstract</b> .....	iii
<b>Lista de Figuras</b> .....	iv
<b>Lista de Tabelas</b> .....	ix
<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>1.1. Biodiversidade</b> .....	1
<b>1.2. Hymenoptera Parasitoide</b> .....	1
<b>1.3. Ichneumonidae</b> .....	3
<b>1.4. A subfamília Orthocentrinae</b> .....	4
<b>1.5. DNA Barcoding</b> .....	9
<b>1.6 Áreas de Estudo</b> .....	10
<b>2. Objetivos</b> .....	11
<b>2.1. Objetivo geral:</b> .....	11
<b>2.2. Objetivos específicos:</b> .....	11
<b>3. Justificativas</b> .....	12
<b>4. Material e Métodos</b> .....	13
<b>4.1. Coletas</b> .....	13
<b>4.2. Áreas de Coletas</b> .....	17
<b>4.2.1. Parque Nacional (PARNA) de Itatiaia</b> .....	18
<b>4.2.2. Reserva Privada do Patrimônio Natural (RRPN) Alto- Montana - Itamonte, MG</b> ....	19
<b>4.2.3. Parque Nacional (PARNA) da Serra da Bocaina</b> .....	19
<b>4.2.4. Reserva Biológica da Serra do Japi</b> .....	20
<b>4.3. Análise da Distribuição altitudinal</b> .....	21
<b>4.4. Análise Molecular</b> .....	22
<b>4.5. Descrição das espécies</b> .....	24
<b>5. Resultados e Discussão</b> .....	27
<b>5.1. Resultados gerais de Abundância</b> .....	27
<b>5.1.1 Parque Nacional de Itatiaia, RJ</b> .....	28
<b>5.1.2. PARNA Serra da Bocaina – São José do Barreiro, SP</b> .....	31
<b>5.1.3. Reserva Biológica da Serra do Japi – Jundiá, SP</b> .....	33
<b>5.1.4. RPPN Alto Montana – Itamonte, MG</b> .....	35

<b>5.2. Grupo de gêneros <i>Orthocentrus</i></b> .....	39
<b>5.2.1. <i>Orthocentrus</i> Gravenhorst, 1829 (Fig. 28)</b> .....	40
<b>5.2.2. <i>Batakomacrus</i> Kolarov, 1986 (Fig. 29)</b> .....	45
<b>5.2.3. <i>Picrostigeus</i> Förster, 1869 (Fig. 30)</b> .....	49
<b>5.2.4. <i>Plectiscus</i> Gravenhorst, 1829 (Fig. 31)</b> .....	51
<b>5.2.5. <i>Stenomacrus</i> Förster, 1869 (Fig. 32)</b> .....	53
<b>5.2.6. <i>Chilocyrtrus</i> Townes, 1971 (Fig. 33)</b> .....	57
<b>5.3. Grupo de Gêneros <i>Helictes</i></b> .....	58
<b>5.3.1. <i>Megastylus</i> Schiodte, 1838</b> .....	60
<b>5.3.2. <i>Gnathochorisis</i> Forster, 1869</b> .....	83
<b>5.3.3. <i>Proclitus</i> Forster, 1869</b> .....	89
<b>5.3.4. <i>Eusterinx</i> Forster, 1869</b> .....	97
<b>5.3.5. <i>Symplecis</i> Forster, 1869 (Fig. 58)</b> .....	106
<b>5.3.6. <i>Pantisarthrus</i> Forster, 1871</b> .....	107
<b>5.4. Chave preliminar para os gêneros encontrados nesse estudo (baseada em Broad, 2010 e Dash, 1992)</b> .....	118
<b>6. Considerações Finais</b> .....	119
<b>Referências Bibliográficas:</b> .....	122
<b>Apêndice 1 – <i>Neighbord Joining tree</i></b> .....	131

## **1. Introdução**

### **1.1. Biodiversidade**

A biodiversidade refere-se a toda variação biótica presente nas múltiplas escalas biológicas, dos genes aos ecossistemas (PURVIS; HECTOR 2000). O estudo da biodiversidade envolve a análise da diversidade dos organismos, a ocorrência de diferentes espécies e a relação entre riqueza e abundância dessas populações dentro de uma comunidade e em determinado habitat (ALHO, 2008). Tal estudo é essencial para a conservação, o que tem sido uma das questões mais relevantes da atualidade, dado o aumento das taxas de extinção, fragmentação e perda de habitats por conta do impacto humano na Terra (RODRÍGUEZ-ESTRELLA; MORENO, 2006).

Grande parte da biodiversidade faunística é composta pelos insetos, considerado o grupo mais rico, com estimativa de mais de 5 milhões de espécies. Os insetos estão entre os primeiros animais a habitar a terra, resistindo a vários eventos de extinção em massa. O sucesso evolutivo está relacionado, entre outras coisas, à rápida taxa de reprodução e às diversas estratégias de sobrevivência, atuando como herbívoros, predadores, parasitas, polinizadores e decompositores. Por conta disso, trata-se de um grupo megadiverso fundamental para a conservação dos ambientes (GRIMALDI; ENGEL, 2005; SCHOWALTER, 2006).

A correta identificação das espécies é essencial para que outros estudos biológicos possam se desenvolver, dessa forma, a taxonomia é o alicerce de qualquer investigação biológica. Porém, a taxonomia ainda é uma ciência pouco reconhecida (BOERO, 2010; CARBAYO; MARQUES, 2011; WHEELER *et al.*, 2004). A falta de conhecimento taxonômico de grupos considerados megadiversos, como é o caso dos insetos, gera distorções nas estimativas de biodiversidade e conseqüentemente nas estratégias de conservação já que ignora grande parte da fauna que está entre as que mais contribuem para os processos ecossistêmicos (COLWELL; CODDINGTON, 1994; SILVA; BRANDÃO, 1999; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2002).

### **1.2. Hymenoptera Parasitoide**

A ordem Hymenoptera, compreendendo os insetos comumente conhecidos como abelhas, formigas e vespas, é considerada uma das quatro ordens consideradas megadiversa, com cerca de

115.000 espécies descritas e estima-se de que existam cerca de 1.000.000 de espécies (FERNÁNDEZ; SHARKEY, 2006). Essa riqueza traduz-se em ampla diversidade morfológica e biológica, sendo que o grupo possui espécies herbívoras, predadoras, onívoras, parasitoides e cleptoparasitoides, executando uma variedade de funções ecológicas importantes, como polinização, dispersão de sementes, areação do solo e controle populacional. Assim, além de serem essenciais para a manutenção dos ecossistemas, são importantes economicamente (HANSON; GAULD, 2006; FERNÁNDEZ; SHARKEY, 2006).

A ordem é didaticamente dividida em duas subordens: Symphyta, é o grupo mais primitivo e caracteriza-se pela ausência da constrição abdominal, asas com nervação completa, larvas do tipo euruciforme e fitófaga, são organizados em 7 superfamílias; Apocrita, caracteriza-se pela forte constrição abdominal, e larvas vermiformes. São organizados em 14 superfamílias, divididas em dois grupos, os Aculeata, que possuem ferrão, e parasítica, que possuem o ferrão modificado em ovipositor (SHARKEY, 2007).

Os Hymenoptera parasitoides, caracterizam-se por completar seu desenvolvimento larval utilizando outro indivíduo, geralmente outro inseto ou artrópode, como seu hospedeiro, levando-o à morte (GODFRAY, 1994). Por conta desse hábito, têm grande importância ecológica e econômica, visto que atuam como reguladores populacionais, o que os torna bons indicadores ambientais (LASALLE; GAULD, 1993; GRISSEL, 1999).

São classificados de acordo com o mecanismo de oviposição, se colocam seus ovos dentro do corpo do hospedeiro, são chamados endoparasitoides, ou se colocam seus ovos sobre o corpo do hospedeiro, são chamados ectoparasitoides. Outra classificação é com relação à forma de exploração do hospedeiro. O parasitoide pode matar ou paralisar o hospedeiro no momento da oviposição, interrompendo o desenvolvimento do mesmo. Neste caso, chamamos de parasitoide idiobionte. Ou pode ser cenobionte, quando o hospedeiro continua a se desenvolver mesmo depois da oviposição, vindo a morrer apenas após o desenvolvimento do parasitoide (GODFRAY, 1994; QUICKE, 1997; GALLO, 2002).

Dentre os Hymenoptera parasitoides, a superfamília Ichneumonoidea é a maior, com cerca de 47.000 espécies descritas (YU *et al.*, 2016). Esta é dividida nas famílias Braconidae e Ichneumonidae, sendo esta última o objetivo de nosso estudo.

### 1.3. Ichneumonidae

A família Ichneumonidae constitui um dos grupos mais diversos de todo planeta, e possivelmente, é a maior família dentre os animais (PORTER, 1980) com cerca de 25.000 espécies descritas (YU & HORTSMANN, 2016) estimando-se que existam ao menos 100.000 (GAULD *et al.*, 2002). Junto com os Braconidae, forma um grupo monofilético caracterizado, principalmente, pela fusão das nervuras C e R das asas anteriores (Fig. 1).

Ichneumonidae caracteriza-se, ainda, pela presença da célula 1M+1R1 e a presença da veia 2m-cu na asa anterior (Fig. 1), além de possuir os tergitos 2 e 3 separados (Fig. 2).

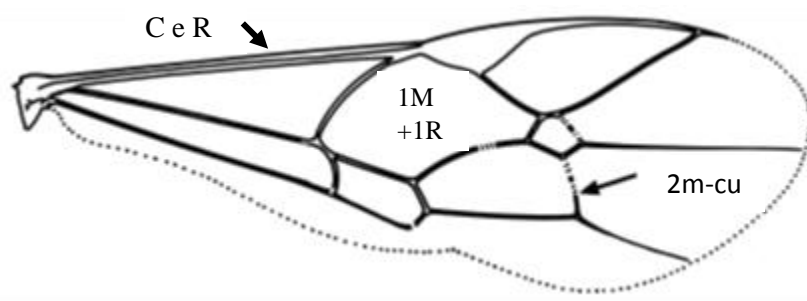


Figura 1: Asa anterior de Ichneumonidae

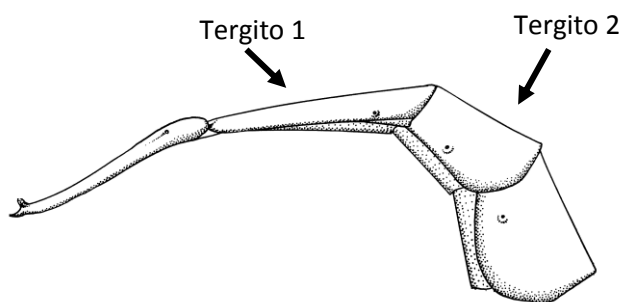


Figura 2: Metassoma de Ichneumonidae com tergitos 2 e 3 separados

Possuem certa plasticidade na seleção de hospedeiros, podendo uma mesma espécie ocorrer associado a muitos gêneros, famílias e até mesmo ordens distintas. Essa plasticidade favorece a ampla distribuição da família (PORTER, 1980). Devido à abundância de espécies,

distribuição e importância potencial no controle biológico de pragas, muitos estudos têm sido desenvolvidos com esses insetos. Porém, é cada vez mais evidente que a magnitude dessa família é subestimada (GAULD *et al.*, 2002) e que se conhece muito pouco sobre sua biologia e sistemática (TOWNES; TOWNES, 1966; TOWNES, 1969; GAULD, 1991).

As dificuldades taxonômicas se explicitam nas constantes e importantes mudanças quanto ao número de subfamílias incluídas no grupo. Historicamente, a primeira tentativa de se agrupar as subfamílias do grupo foi feita por Gravenhorst (1815, 1829), que reconheceu 14 subfamílias, divididas em 4 grupos baseado nas combinações do metassoma ser comprimido dorsoventralmente ou lateroventral e o primeiro tergito ser ou não sessil. Gauld (1991, 1997, 2000) apresentou amplas divisões do grupo, porém deixando algumas subfamílias como “*unplaced taxa*”. Estudos moleculares feitos por Belshaw *et al.* (1998) corroboraram muitas das divisões propostas por Gauld, utilizando apenas 56 amostras de Ichneumonidae. Em 2009, Quicke *et al.* fizeram uma grande análise filogenética com 1001 sequências moleculares, e hoje o grupo está organizado em 38 subfamílias, porém ainda com possibilidades de reclassificações (QUICKE, 2015). Dentre essas, a subfamília Orthocentrinae é o objetivo do nosso trabalho.

#### **1.4. A subfamília Orthocentrinae**

A subfamília Orthocentrinae caracteriza-se por indivíduos de tamanho pequeno e com distribuição cosmopolita. São extremamente numerosos, compreendendo cerca de 30% dos Ichneumonidae coletados em armadilhas Malaise (HANSON; GAULD, 1995; HUMALA, 2003).

Pertencem ao grupo pimpliniforme, juntamente com as subfamílias Pimplinae, Collyriinae, Acaentinae, Diacritinae, Diplazontinae, Rhyssinae, Poemiinae e Cylloceriinae. Os Orthocentrinae são endoparasitoides de larvas de Diptera, o que sugere uma mudança no grupo de hospedeiros dos Pimpliniformes, que são parasitoides de diversos outros grupos como Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera e Aracnídeos (QUICKE, 2015). São identificados por seu tamanho diminuto, mandíbulas delgadas, antenas com escapos mais longos do que largos e cilíndricos e um feixe de pêlos densos e delicados no ápice da tíbia posterior (Figs 3 e 4). Além disso, a maioria apresenta um sulco subocular profundo (HANSON; GAULD, 2006).

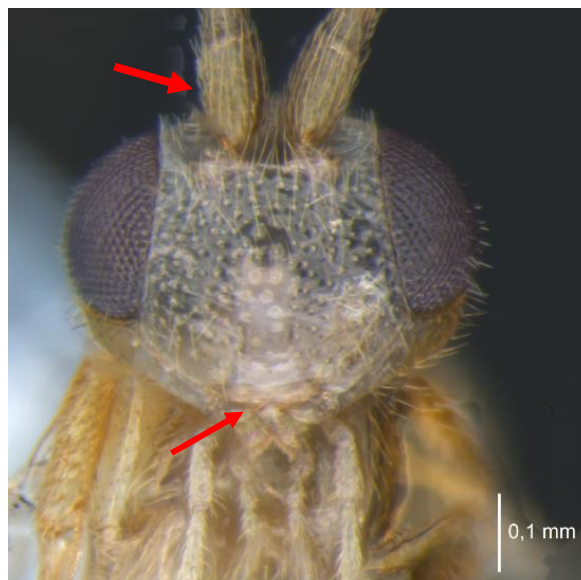


Figura 3: *Orthocentrus* sp. Face mostrando mandíbulas delgadas e escapo mais longo do que largo, característicos de Orthocentrinae.



Figura 4: *Orthocentrus* sp., feixe de cerdas na tíbia posterior

Sabe-se muito pouco sobre sua biologia, mas todas as fontes confiáveis reportam parasitismo sobre *fungus gnats* (HUMALA, 2008, 2017; VEIJALAINEN, 2012). *Fungus gnats* é um grupo da ordem Diptera composto principalmente pelas famílias Mycetophilidae, Keroplatidae e Sciaridae (SCHÜHLI *et al.*, 2014) que se caracterizam por desenvolver-se em ambiente úmido, rico em matéria orgânica, como fungos e algas (GORSKA-DRABIK *et al.*, 2011). Algumas espécies desse grupo são totalmente fungívoros, alimentando-se de raízes de plantas, podendo minar hastes de herbáceas, o que pode facilitar a penetração de patógenos como *Pythium*, *Botrytis*,

*Verticillium*, *Fusarium*, *Thielaviopsis*, *Cylindrocladium* e *Sclerotinia* (HUNGERFORD, 1916; LEITE *et al.*, 2007; CLOYD, 2015), causando sérios danos aos cultivos de morango, cogumelo shiitake e orquídeas (HUMALA, 2016; DUARTE *et al.*, 2018; MUKAI; KITAJIMA 2019). Além disso, *fungus gnats* carregam em seu corpo estruturas de fungos patogênicos sendo, portanto, disseminadores de doenças (EL-HAMALAWI, 2008). Dessa maneira, o aumento no conhecimento da subfamília Orthocentrinae é importante para melhoria de trabalhos no controle biológico exercido por esse grupo.

Há poucos estudos para a região Neotropical. Em 2012, Veijalainen *et al.*, realizaram um estudo nas florestas da América Central e descobriram 177 novas espécies, com o uso da Biologia Molecular e 31 possíveis espécies crípticas, as quais não foram todas descritas. Esse resultado é três vezes mais o número de espécies descritas para a região e demonstra a necessidade de estudos para esse táxon. Atualmente, os Orthocentrinae possuem 478 espécies descritas em 29 gêneros, sendo apenas 55 espécies de 14 gêneros ocorrendo na região Neotropical e 4 espécies de 3 gêneros para o Brasil (YU *et al.* 2016).

O grupo já passou por muitas classificações: Townes (1971) agrupou a maioria dos gêneros hoje pertencentes à Orthocentrinae na subfamília Microleptinae, (*Megastylus*, *Microleptes*, *Oxytorus*, *Tatogaster*, *Hemiphanes*, *Acaenitellus*, *Hyperacmus*, *Aperileptus*, *Kentrotryphon*, *Entypoma*, *Allomacrus*, *Apoclima*, *Cylloceria*, *Aniseres*, *Pantisarthrus*, *Sphingozona*, *Dialipsis*, *Plectiscidea*, *Eusterinx*, *Helictes*, *Proclitus*, *Blapticus*, *Symplecis* e *Catastenus*) ficando a subfamília Orthocentrinae formada apenas pelo o grupo de gênero *Orthocentrus*. Wahl (1986, 1990), com base na morfologia das larvas, reorganizou as subfamílias Microleptinae e Oxytorinae definindo que em Microleptinae ficaria apenas o gênero *Microleptes*, criou a subfamília Cylloceriinae com os gêneros *Cylloceria* e *Allomacrus*, criou a subfamília Tatogastrinae, com o gênero *Tatogaster*. A subfamília Oxytorinae ficaria apenas com gênero *Oxytorus*; os demais gêneros, chamados de “*derived Oxytorinae*” (*Catastenus*, *Eusterinx*, *Gnathochorisis*, *Symplecis*, *Dialipsis*, *Helictes*, *Megastylus*, *Plectiscidea*, *Proclitus*, *Sphingozona*), Wahl propôs que fossem considerados Orthocentrinae (Fig. 5). Estes incluíam no Cluster A: *Aniseres*, *Aperileptus*, *Atabulus*, *Entypoma*, *Kentrotryphon*, *Pantisarthrus*; Cluster B *Dialipsis*, *Helictes*, *Hemiphanes*, *Megastylus*, *Phosphoriana*, *Plectiscidea*, *Proclitus*, *Proliator*; *Orthocentrus* group *Chilocyrtus*, *Leipaulus*, *Neurateles*, *Orthocentrus*, *Picrostigeus*, *Plectiscus*, *Stenomacrus*; *Eusterinx* group incluindo *Catastenus*, *Eusterinx*, *Gnathochorisis*, *Sphingozona*, *Symplecis*. Todos estes gêneros,

com exceção daqueles do *Orthocentrus group*, foram tratados como Helictinae (GUPTA, 1987; GAULD, 1991; DASH, 1992).

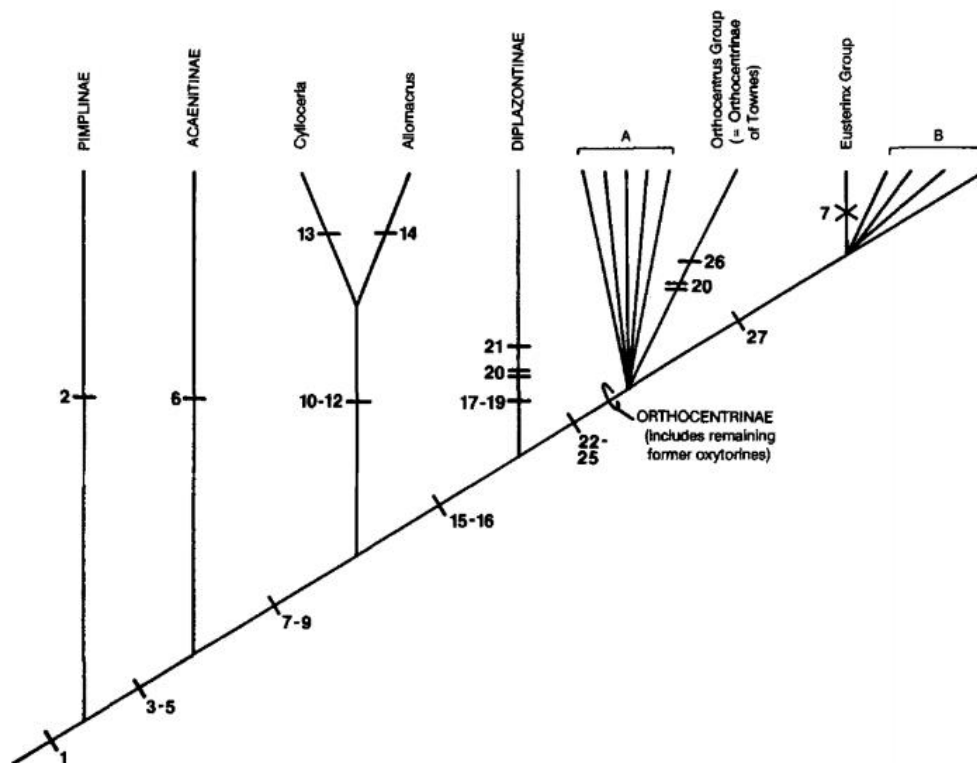


Figura 5: Cladograma para os Pimpliformes retirado de Wahl, 1990.

Em 1998, Wahl e Gauld sinonimizaram Helictinae com Orthocentrinae, demonstrando que *Orthocentrus group* é a linhagem mais basal do grupo monofilético que inclui *Aperileptus*, *Entypoma*, *Gnathochorisis*, *Catatstenus*, *Symplecis*, *Aniseres*, *Atabulus*, *Apoclima*, *Pantisarthrus*, *Sphingozona*, *Helictes*, *Megastylus*, *Proclitus*, *Proeliator*, *Eusterinx*, *Plectiscidea*, *Dialipsis*, *Hemiphanes* e *Hyperacmus*. *Kentrotryphon* foi sinonimizado como *Allomacrus*, pertencendo à subfamília Cyllocerianae, *Phosphoriana* foi sinonimizado com *Diacritus* pertencendo à Diacritinae, *Leipaulus* foi sinonimizado com *Plectiscus* e *Hyperacmus* foi sinonimizado como *Tarqia*.

Os dados do trabalho de Quicke (2009) corroboraram a análise de Wahl (1990, 1998), através de análises morfológicas, moleculares e filogenéticas, como demonstrado na figura 6.

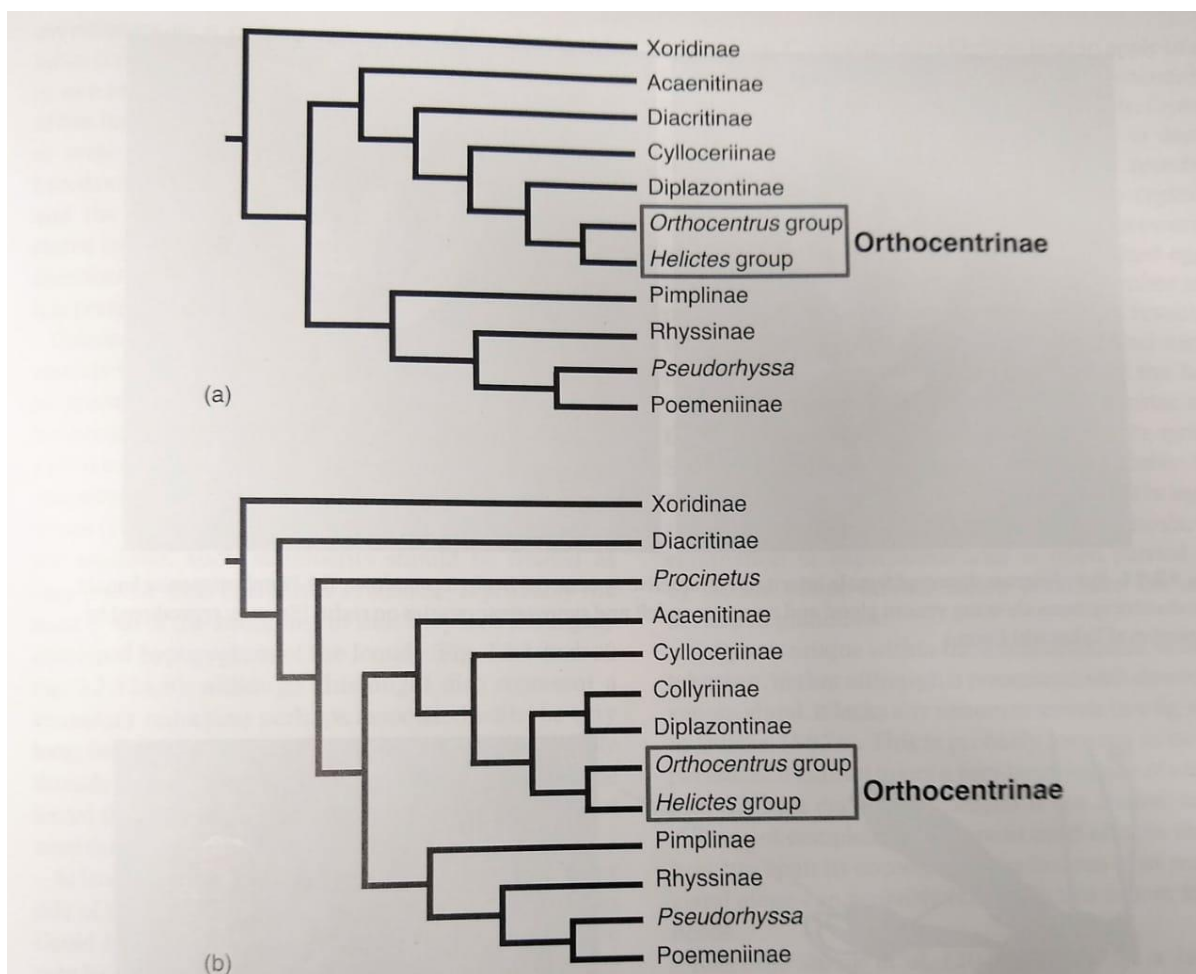


Figura 6: Análise filogenética mostrando os grupos atuais que formam a subfamília Orthocentrinae, conforme sumarizado por Quicke, 2015

Dash (1992) cita a separação em três grupos feita por Wahl (1990) (A, B e *Eusterinx group*), e descreve que tal separação se deve por:

- Grupo A: primeiro segmento metassomal com glima, esterno do primeiro segmento abdominal separado do tergo, esterno usualmente terminando antes do espiráculo.

- Grupo B: primeiro segmento metassomal sem glima, com esterno e tergo fundidos, cóstula e carena basal transversa do própodeo ausentes.

- *Eusterinx group*: primeiro segmento metassomal sem glima, com esterno e tergo fundidos, cóstula e carena basal transversa do própodeo presentes.

Atualmente Orthocentrinae reúne os grupos Helictes e *Orthocentrus* (QUICKE, 2015). Após a análise de Wahl e Gauld (1998) conta atualmente com os gêneros: *Aniseres*, *Aperileptus*, *Apoclima*, *Atabulus*, *Batakocomacrus*, *Catastenus*, *Chilocyrtus*, *Dialipsis*, *Entypoma*, *Fennomacrus*, *Gnathochorisis*, *Helicites*, *Hemiphanes*, *Megastylus*, *Neoproclitus*, *Neurateles*, *Orthocentrus*,

*Pantisarthrus, Picrostigeus, Plectiscidea, Plectiscus, Proclitus, Proeliator, Scutellator, Sphingozona, Stenomacrus, Symplecis, Tariqia, Terminator, Eusterinx* (YU *et al.*, 2016).

Para a região Neotropical há ocorrência apenas dos gêneros *Apoclima, Batakomacrus, Catastenus, Chilocyrtus, Gnathochorisis, Helictes, Megastylus, Orthocentrus, Plectiscidea, Proclitus, Sphingozona, Stenomacrus, Symplecis*, para o Brasil são citados *Chilocyrtus, Orthocentrus* e *Sphingozona*.

### **1.5.DNA Barcoding**

*DNA Barcoding* é uma ferramenta eficiente que utiliza a diversidade na sequência de aminoácidos no gene Cytocromo C oxidase subunidade 1 (COI) para categorizar taxonomicamente as espécies com segurança (FLOYD, 2002; HEBERT, 2003; SMITH, 2009). Testes iniciais de *DNA Barcoding* mostraram que 658 pares de bases de fragmento do gene mitocondrial COI são usualmente efetivos, provendo mais de 95% de resolução em nível específico (HEBERT *et al.*, 2003, 2004a; HAJIBABAEI *et al.*, 2006; SMITH *et al.*, 2006). Hebert (2003) estudou cerca de 13000 pares de espécies congênicas, e mostrou que mais de 98% desse material possuem ao menos 2% de divergência entre suas sequências permitindo a discriminação de espécies de Lepidoptera intimamente relacionadas, um grupo com alta diversidade e moderadas taxas de evolução molecular. A partir desses estudos, padronizou-se a variação de 2% entre os aminoácidos das sequências do gene COI para o reconhecimento de táxons em nível específico. Tal gene é bom para a discriminação das espécies, por possuir uma taxa de evolução molecular três vezes maior que genes ribossômicos, como 12S e 16S, além de aumentar a velocidade, objetividade e eficiência das identificações (FOLMER *et al.*, 1994; ZHANG; HEWITT, 1997; MEYER; PAULAY, 2005).

Revisões recentes das subfamílias Agathidinae e Microgastrinae (Ichneumonoidea: Braconidae) investigaram o uso do *DNA Barcoding* para a delimitação de espécies, utilizando também análises morfológicas e ecológicas. Nesses estudos, primeiramente foram criadas *MOTUs* (*molecular operational taxonomic units*) usando árvores formadas pelas análises de *Neighbor joining* e *Maximum likelihood*, que agruparam as *MOTUs* com os limites de divergências entre as sequências de 2%. Em seguida as *MOTUs* foram comparadas com as separações de espécies utilizando a morfologia e os dados ecológicos, como escolha de hospedeiro. Em todos os casos as *MOTUs* corroboraram as delimitações de espécies através da morfologia e além disso, distinguiu

com precisão espécies morfologicamente crípticas, mas ecologicamente distintas (SMITH *et al.*, 2008; FERNADÉZ-TRIANA *et al.*, 2014; ACHTERBERG *et al.*, 2014; TUCKER *et al.*, 2015; SHARKEY *et al.*, 2015, 2018; SHARKEY & CHAPMAN, 2016; KANG *et al.*, 2017).

Em um trabalho polêmico, Meierotto *et al.* (2019), propõem a descrição de espécies utilizando apenas a sequência do COI como diagnose, uma foto do hábito e as informações do holótipo requeridas pelo Código Zoológico de Nomenclatura. Para a separação das espécies os autores utilizam a padronização de 2% de variação nucleotídica, além de características morfológicas e biológicas. Porém não descreveram morfologicamente cada espécie, apenas usaram a diagnose molecular e uma foto. Os autores justificam essa abordagem como uma forma de prover uma hipótese de espécies mais sólida, que possa refinar as hipóteses já existentes, dando maior robustez na delimitação de centenas de espécies similares, o que aumentaria as informações dos grupos megadiversos e das espécies já descritas, possibilitando discussões científicas dos grupos tratados. Nesse trabalho, os autores organizam 336 indivíduos em 20 espécies de dois gêneros

## **1.6 Áreas de Estudo**

As montanhas ocupam aproximadamente um quinto da superfície terrestre, e são componentes importantes na manutenção da vida na Terra. Um terço da diversidade de plantas terrestres e a presença de água suficiente para abastecer metade da população humana se encontram nelas, mas devido às ações antrópicas e mudanças climáticas, estão ameaçadas (KÖRNER, 2007).

As variações de altitude condicionam mudanças em uma série de variáveis, como pressão atmosférica, temperatura, umidade e radiação solar. O clima pode variar gradativamente, formando zonas de microclima, da mesma forma como ocorre com a vegetação, sem apresentar um padrão, o que se reflete nas características particulares de cada região (MALHI *et al.* 2010). Seu potencial de endemismo é muito elevado devido ao seu histórico de mudanças e processos evolutivos que ocorreram no espaço e no tempo, favorecendo uma série de fenômenos como a especiação (MARTINELLI, 2007). Além disso, o conjunto de diferenças ecológicas mais pronunciadas e características e o grau de severidade das condições ambientais, podem promover um alto grau de especialização das suas comunidades (CASPER, 1970). A diversidade de espécies em cada gradiente altitudinal pode variar de acordo com uma série de fatores ecológicos e evolutivos, além dos efeitos da amostragem (LOMOLINO, 2001).

Estudos com gradientes altitudinais podem facilitar o entendimento de como as espécies respondem aos fatores geofísicos e suas influências no processo evolutivo (KÖRNER, 2007). Além disso, tais ambientes têm servido de modelo para estudos sobre o impacto do aquecimento global nas espécies (COLWELL *et al.*, 2008; DIRNBÖCK; ESSL; RABITSCH, 2011).

O declínio na riqueza de espécies com o aumento da altitude é reconhecido como um padrão para a maioria dos organismos (WHITTAKER, 1960; STEVENS, 1992), o qual pode ser explicado pela redução na área do habitat, na produtividade primária e na diversidade de recursos, o aumento da adversidade ambiental e a menor complexidade ambiental nas maiores altitudes (LAWTON; MACCARVIN; HEADS, 1987; MCCAIN; GRYTNES, 2010). Para os insetos, a riqueza tem-se demonstrado maior nas altitudes intermediárias (JANZEN, 1973; JANZEN *et al.*, 1976; MCCOY, 1990; GUEVARA; AVILÉS, 2009), o que pode ser explicado pela maior produtividade nessas altitudes por conta da maior taxa de fotossíntese, melhores condições ambientais, principalmente com relação a pluviosidade e temperatura, efeitos de zona de transição ou ecótonos que favorecem o aumento da diversidade e história evolutiva dos táxons, já que existem evidências que altitudes médias favorecem um balanço entre especiação e extinção (JANZEN *et al.*, 1976; LOMOLINO, 2001; COLWELL; RAHBEK; GOTELLI, 2004; MCCAIN; GRYTNES, 2010).

Estudos mais simples, que mostrem a variação da riqueza e abundância nessas áreas, também são importantes para o entendimento de como as interações tróficas se alteram ao longo do gradiente, para a compreensão dos processos que geram e mantêm a biodiversidade e como base para estudos mais complexos (HODKINSON, 2005; ARAÚJO, 2014).

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo geral:**

Contribuir para o conhecimento taxonômico da subfamília Orthocentrinae, caracterizando a fauna presente nos ambientes de altitude estudados.

### **2.2. Objetivos específicos:**

- Identificar e descrever novas espécies, delimitadas através da morfologia e do *DNA Barcoding*;
- ampliar os registros de ocorrências para a região Neotropical e para o Brasil;
- confeccionar uma chave de identificação para os gêneros encontrados nesse estudo e uma chave para todas as espécies do gênero *Pantisarthurus*;
- comparar os métodos de coletas varredura de vegetação, Armadilha Malaise, Armadilha Moericke e Armadilha Luminosa, utilizados nesse trabalho;
- verificar a distribuição, abundância e a riqueza nos gradientes altitudinais.

### 3. Justificativas

Este é o primeiro estudo taxonômico realizado com os Orthocentrinae no Brasil. O grupo é pouco estudado, possuindo muitos problemas taxonômicos e de identificação. Por conta disso, pouco se conhece de sua biologia e dos potenciais usos e importâncias agrícola e econômica que a subfamília possa vir a ter. Alguns trabalhos desenvolvidos já demonstraram efetividade no uso da subfamília para o controle das pragas conhecidas como *fungus gnats*, possibilitando melhorias em cultivos como o morango e o cogumelo Shitake (DUARTE *et al.*, 2018; MUKAI; KITAJIMA 2019).

Estudar os Orthocentrinae, principalmente na região Neotropical onde eles quase não foram estudados, é importante para aumentar o conhecimento sobre sua morfologia, resolvendo os problemas taxonômicos do grupo o que possibilita uma identificação mais acurada essencial para que estudos sobre a Biologia possam ser desenvolvidos. Além disso, estudos taxonômicos são essenciais para o desenvolvimento de projetos que visem a conservação ambiental, assim como para a avaliação dos efeitos da extinção de espécies (LA SALLE; GAULD, 1991). O entendimento da sistemática e da diversidade de grupos de invertebrados é importante também para a interpretação do estado funcional das comunidades ecológicas. No caso dos himenópteros parasitoides, a avaliação dos padrões de distribuição e sazonalidade é ainda mais relevante, pois estes representam um dos maiores componentes da fauna terrestre, podendo constituir mais de 20% dos insetos. Além disso, estes animais atuam como reguladores populacionais de diversos artrópodos, servindo de indicadores ambientais e da presença ou ausência dessas populações. Sem a ação dos himenópteros parasitoides poderia haver um aumento na população de herbívoros que

levaria a destruição das espécies vegetais por eles consumidos, o que demonstra a importância desse grupo para o equilíbrio ecológico e para a diversidade de espécies insetos, reforçando a relevância de serem estudados (LA SALLE; GAULD, 1993; GODFRAY, 1994).

Este trabalho foi realizado em áreas de Mata Atlântica com altitudes elevadas. São biomas altamente impactados pela ação antrópica, restando apenas 7% da cobertura original da Mata Atlântica e 1% das florestas Ombrófilas Mistas, que também compõem as áreas estudadas (SÃO PAULO, 2006). As regiões montanhosas caracterizam-se por sua importância hidrológica, além das altas taxas de endemismo e diversidade biológica (KÖRNER, 2007), somado à importância de esforços para mitigar os impactos nessas áreas, justificando ainda mais a importância desse trabalho.

#### **4. Material e Métodos**

##### **4.1. Coletas**

As coletas foram realizadas no Parque Nacional do Itatiaia, RJ, com altitudes variando de 786 a 2.451 metros; no Parque Nacional da Serra da Bocaina, em São José do Barreiro, SP, com altitudes variando de 1149 a 1969 metros; na Serra do Japi, Jundiaí, SP, com altitudes variando de 895 a 1.190 metros e na Reserva Privada do Patrimônio Cultural de Itamonte, MG, com altitudes variando de 1.400 a 2.149 metros (Fig.7). Esta variação altitudinal foi dividida em cotas altitudinais de coleta baixa, média e alta. Os pontos de cada armadilha, e as cotas altitudinais serão melhor explanados no próximo tópico, onde falaremos de cada localidade de coleta.

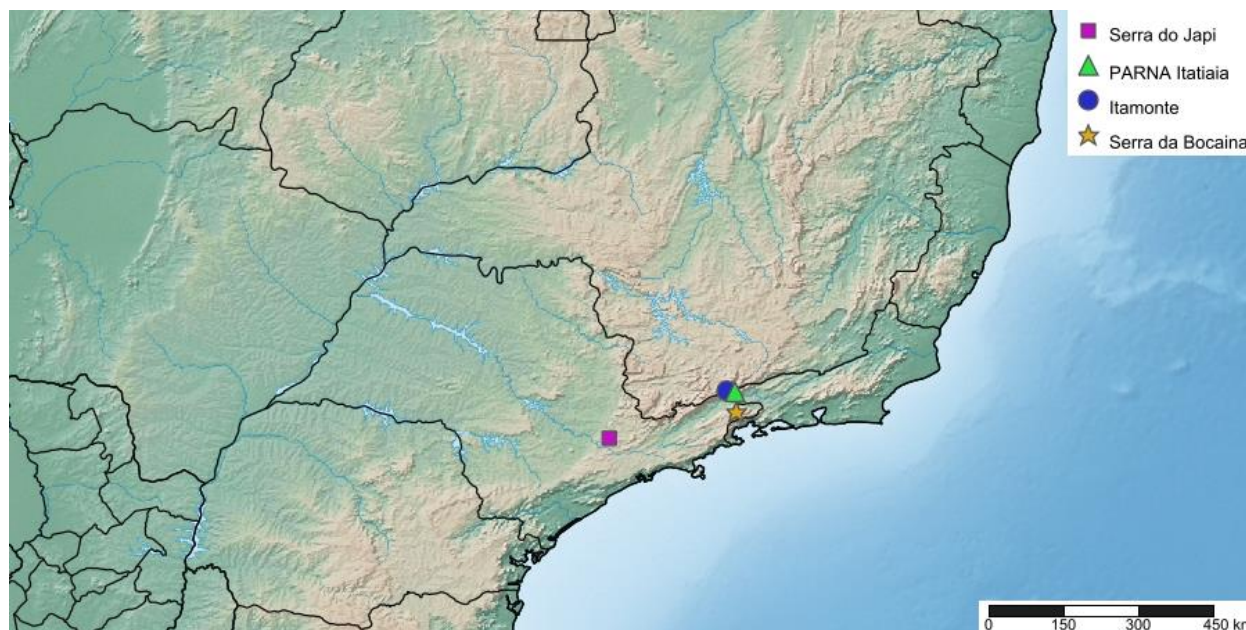


Figura 7: Mapa com as localidades de coleta

Para a amostragem os métodos utilizados foram: Armadilhas Malaise (TOWNES, 1972); Armadilhas Moericke (MOERICKE, 1950), “varredura” da vegetação e Armadilhas Luminosas.

A Armadilha Malaise (TOWNES, 1972) (Fig. 8) trata-se de um método de coleta passivo, constituída por uma tenda fina, que intercepta o voo dos insetos por ela capturados. Estes insetos naturalmente tendem a subir e acabam caindo no frasco coletor localizado no topo da tenda. O frasco coletor com álcool 92% fica em campo por apenas uma semana, para que o álcool não seque e o material se mantenha preservado. Foram disponibilizadas 3 armadilhas em cada cota altitudinal, totalizando 9 armadilhas em cada localidade.



Figura 8: Armadilha Malaise montada no campo.

As Armadilhas Moericke (MOERICKE, 1950) (Fig. 9) constituem-se de pratos amarelos colocados no solo, contendo água, detergente, álcool 96% e sal. O álcool e o sal preservam o material e o detergente quebra a tensão superficial da água. Os insetos são atraídos para a armadilha por conta da coloração amarela, e ao pousarem na solução caem no líquido. Foram dispostos 100 pratos em cada ponto, com coletas que duraram 10 dias, sendo que a cada 3 dias o material era retirado e uma nova solução colocada nos pratinhos.



Figura 9: Armadilha de Moericke no campo.

A Varredura de Vegetação (Fig. 10) trata-se de um método ativo de coleta. Uma rede entomológica resistente é presa em um aro de metal e em um cabo de madeira, o que é batido na vegetação durante 15 minutos em cada ponto de coleta. Posteriormente, o material coletado é anestesiado e fixado inicialmente em álcool 92% e depois em álcool 100% para estocagem em freezer.



Figura 10: Rede para Varredura de Vegetação

Para coleta noturna, foi utilizada uma armadilha luminosa (Fig.11) em cada ponto onde esse método foi usado. Os insetos são atraídos pela luz e acabam caindo no frasco, que contém álcool 100% para conservação do material. Estas armadilhas ficaram por 9 dias em campo.



Figura 11: Armadilha Luminosa Luiz de Queiroz adaptada

Todo o material coletado foi preservado em álcool 100% e estocado em freezer no laboratório, onde foi triado e identificado sob microscópio estereoscópico, utilizando-se Hanson & Gauld (2006), Broad (2010) e Townes (1971), Broad (2010) e Dash (1992).

#### 4.2. Áreas de Coletas

As quatro localidades coletadas são Unidades de Conservação pertencentes ao bioma Mata Atlântica (MMA, 2011), que é uma das formações florestais mais antigas do Brasil, com mais de 70 milhões de anos, constituída por um conjunto de formações florestais: ombrófila densa, ombrófila mista, estacional semidecidual, estacional decidual e ombrófila aberta (LEITÃO FILHO, 1987).

Encontra-se bastante degradada, restando menos de 15% de sua formação original, sendo que estas áreas estão fragmentadas (RIBEIRO *et al.*, 2009). Possui muitas espécies endêmicas que estão ameaçadas por conta da ação antrópica, constituindo, portanto, um *hotspot* mundial (MYERS, *et al.*, 2000).

#### 4.2.1. Parque Nacional (PARNA) de Itatiaia

O Parque Nacional do Itatiaia foi o primeiro Parque Nacional criado no Brasil, em 1937. Localiza-se no centro do Serra da Mantiqueira, na divisa entre os Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, e protege uma área de 30.000 hectares (BRASIL, 2013). Possui um relevo montanhoso com altitudes variando entre 390- 2791m, o que influencia no clima, no solo e consequentemente em toda flora e fauna. Essa variação pode concentrar áreas de endemismo, principalmente nas cotas acima de 2000 metros (ICMBIO, 2013).

As coletas no Parque Nacional de Itatiaia foram realizadas entre os dias 11-18/XII/2015, nos seguintes pontos:

Tabela 1: Pontos de coleta no PARNA Itatiaia.

Armadilha	Coordenada Geográfica	Altitude	Cota Altitudinal
Malaise 1	S 22°26'55" W 44°36'40"	881m	Primeira Altitude
Malaise 2	S 22°26'45" W 44°36'38"	921m	
Malaise 3	S 22°26'42" W 44°36'39"	934m	
Malaise 4	S 22°25'41" W 44°37'34"	1.389m	Segunda Altitude
Malaise 5	S 22°25'44" W 44°37'43"	1.446m	
Malaise 6	S 22°25'35" W 44°37'52"	1.499m	
Malaise 7	S 22°22'24" W 44°42'14"	2.451m	Terceira Altitude
Malaise 8	S 22°22'25" W 44°42'08"	2.449m	
Malaise 9	S 22°22'28" W 44°42'01"	2.449m	
Moericke 1	S 22°27'06" W 44°36'35"	786m	Primeira Altitude
Moericke 2	S 22°27'11" W 44°36'26"	807m	
Moericke 3	S 22°27'04" W 44°36'40"	790m	
Luminosa 1	S 22°27'08" W 44°36'35"	788m	Primeira Altitude
Luminosa 2	S 22°27'09" W 44°36'35"	781m	
Luminosa 3	S 22°27'03" W 44°36'40"	798m	
Luminosa	S 22°27'06" W 44°36'35"	786m	Primeira Altitude
Varredura 01	S 22°25'41" W 44°37'34"	1.389m	Segunda Altitude
Varredura 02	S 22°27'09" W 44°36'35"	781m	Primeira Altitude

#### 4.2.2. Reserva Privada do Patrimônio Natural (RRPN) Alto- Montana - Itamonte, MG

Trata-se de uma Reserva Privada, localizada no município de Itamonte, MG, na Serra da Mantiqueira, próximo da divisa entre o Estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro. Possui uma área de 625 hectares, com altitudes variando entre 1400 e 2500 metros.

As coletas foram realizadas entre os dias 13-22/IX/2015 nos seguintes pontos:

Tabela 2: Pontos de Coleta em RPPN Alto Montana, Itamonte, MG.

Armadilha	Coordenada Geográfica	Altitude	Cota Altitudinal
Malaise 01	S 22°21'16" W 44°47'56"	1.443m	Primeira Altitude
Malaise 02	S 22°21'29" W 44°47'63"	1.498m	
Malaise 03	S 22°21'35" W 44°47'57"	1.605m	
Malaise 04	S 22°21'46" W 44°48'01"	1.612m	Segunda altitude
Malaise 05	S 22°21'51" W 44°48'00"	1.637m	
Malaise 06	S 22°21'52" W 44°48'02"	1.652m	
Malaise 07	S 22°22'24" W 44°48'56"	2.131m	Terceira Altitude
Malaise 08	S 22°22'26" W 44°48'59"	2.133m	
Malaise 09	S 22°22'25" W 44°48'41"	2.149m	
Moericke 01	S 22°21'13" W 44°47'49"	1.399m	Primeira Altitude
Moericke 02	S 22°21'12" W 44°47'55"	1.412m	
Moericke 03	S 22°21'16" W 44°47'56"	1.443m	
Luminosa 01	S 22°21'12" W 44°47'47"	1.403m	Primeira Altitude
Luminosa 02	S 22°21'13" W 44°47'49"	1.399m	
Varredura 01	S 22°21'13" W 44°47'48"	1.399m	Primeira Altitude
Varredura 02	S 22°21'11" W 44°47'55"	1.412m	

#### 4.2.3. Parque Nacional (PARNA) da Serra da Bocaina

O Parque localiza-se na Serra do Mar, entre os municípios de Areias (SP), São José do Barreiro (SP), Ubatuba (SP), Cunha (RJ), Angra dos Reis (RJ) e Paraty (RJ) com uma área de 104.000 hectares e altitudes variando entre 0 e 2.132 metros. Dessa forma, possui grande diversidades de fauna e de flora (BATISTA; SANTOS; SANTOS, 2009; GUIMARÃES *et al.*,

2000). As coletas foram realizadas entre os dias 12-20/XI/2015 , no município de São José do Barreiro, nos seguintes pontos de coleta:

Tabela 3: Pontos de Coleta no PARNA Serra da Bocaina

Armadilha	Coordenada Geográfica	Altitude	Cota Altitudinal
Malaise 01	S 22°47'05" W 44°36'09"	1.184m	Primeira Altitude
Malaise 02	S 22°47'04" W 44°36'07"	1.161m	
Malaise 03	S 22°46'59" W 44°36'09"	1.149m	
Malaise 04	S 22°44'02" W 44°37'04"	1.489m	Segunda Altitude
Malaise 05	S 22°44'02" W 44°37'03"	1.495m	
Malaise 06	S 22°44'01" W 44°36'56"	1.504m	
Malaise 07	S 22°45'12" W 44°38'32"	1.969m	Terceira Altitude
Malaise 08	S 22°45'16" W 44°38'35"	1.961m	
Malaise 09	S 22°45'17" W 44°38'36"	1.943m	
Moericke 01	S 22°47'05" W 44°36'09"	1.184m	Primeira Altitude
Moericke 02	S 22°46'59" W 44°36'09"	1.149m	
Moericke 03	S 22°43'57" W 44°36'58"	1.446m	Segunda Altitude
Moericke 04	S 22°44'04" W 44°36'55"	1.473m	
Luminosa 01	S 22°44'02" W 44°36'59"	1.504m	Segunda Altitude
Luminosa 02	S 22°43'59" W 44°36'59"	1.528m	
Luminosa 03	S 22°44'22" W 44°37'01"	1.480m	
Varredura 01	S 22°47'05" W 44°36'09"	1.184m	Primeira Altitude
Varredura 02	S 22°46'59" W 44°36'09"	1.149m	
Varredura 03	S 22°45'12" W 44°38'32"	1.969m	Terceira Altitude

#### 4.2.4. Reserva Biológica da Serra do Japi

A Serra do Japi localiza-se no interior do Estado de São Paulo, entre os municípios de Jundiaí, Cajamar, Cabeúva e Pirapora, constituindo umas das maiores áreas de floresta contínua do Estado de São Paulo, com 2100 hectares (LOMABARDI *et al.*, 2012). Sua localização, altamente urbanizada, faz da Reserva uma área prioritária de conservação, sendo que mais da metade de sua área foi tombada pelo CONDEPHAAT (Conselho de Defesa do Patrimônio Histórico, e Turístico do Estado de São Paulo) (CARDOSO-LEITE *et al.*, 2005). As coletas na

Serra do Japi foram realizadas, no município de Jundiáí, entre os dias 12-22/X/2015, nos seguintes pontos:

Tabela 4: Pontos de Coleta na Reserva Biológica Serra do Japi

Armadilha	Coordenada Geográfica	Altitude	Cota Altitudinal
Malaise 1	S 23°13'47" W 46°55'23"	896m	Primeira Altitude
Malaise 2	S 23°13'49" W 46°55'23"	896m	
Malaise 3	S 23°13'53" W 46°55'24"	895m	
Malaise 4	S 23°14'33" W 46°56'10"	1.082m	Segunda Altitude
Malaise 5	S 23°14'32" W 46°56'12"	1.136m	
Malaise 6	S 23°14'30" W 46°56'14"	1.134m	
Malaise 7	S 23°13'54" W 46°56'22"	1.191m	Terceira Altitude
Malaise 8	S 23°13'55" W 46°56'29"	1.191m	
Malaise 9	S 23°13'56" W 46°56'29"	1.190m	
Moericke 1	S 23°13'53" W 46°55'24"	895m	Primeira Altitude
Moericke 2	S 23°14'33" W 46°56'10"	1.082m	Segunda Altitude
Moericke 3	S 23°13'55" W 46°56'27"	1.183m	Terceira Altitude
Luminosa 1	S 23°13'53" W 46°55'24"	895m	Primeira Altitude
Luminosa 2	S 23°13'53" W 46°56'05"	1.036m	Segunda Altitude
Luminosa 3	S 23°13'56" W 46°56'20"	1.177m	Terceira Altitude
Varredura 1	S 23°13'47" W 46°55'23"	896m	Primeira Altitude
Varredura 2	S 23°14'33" W 46°56'10"	1.082m	Segunda Altitude

### 4.3. Análise da Distribuição altitudinal

Dado que o esforço amostral não foi igual entre as localidades e nem entre as altitudes em uma mesma localidade, não foi feito nenhum teste estatístico para análise da riqueza e distribuição. Cada localidade foi analisada separadamente, observando a abundância de cada gênero coletado por altitude (analisando apenas as armadilhas utilizadas em todas as altitudes) e a abundância coletada por cada tipo de armadilha (analisando apenas a altitude em que todas as armadilhas foram utilizadas).

As *MOTUs* (*Molecular Operational Taxonomic Units*) encontradas em cada gênero tiveram sua distribuição espacial analisada, para que pudéssemos observar a existência de espécies endêmicas de topo de montanhas, ou se estas se distribuíam por todo o gradiente altitudinal. Para isso, a variação altitudinal total existente entre as 4 montanhas (895- 2451m) estudadas foi dividida em estratos altitudinais chamados de Baixo, Médio e Alto.

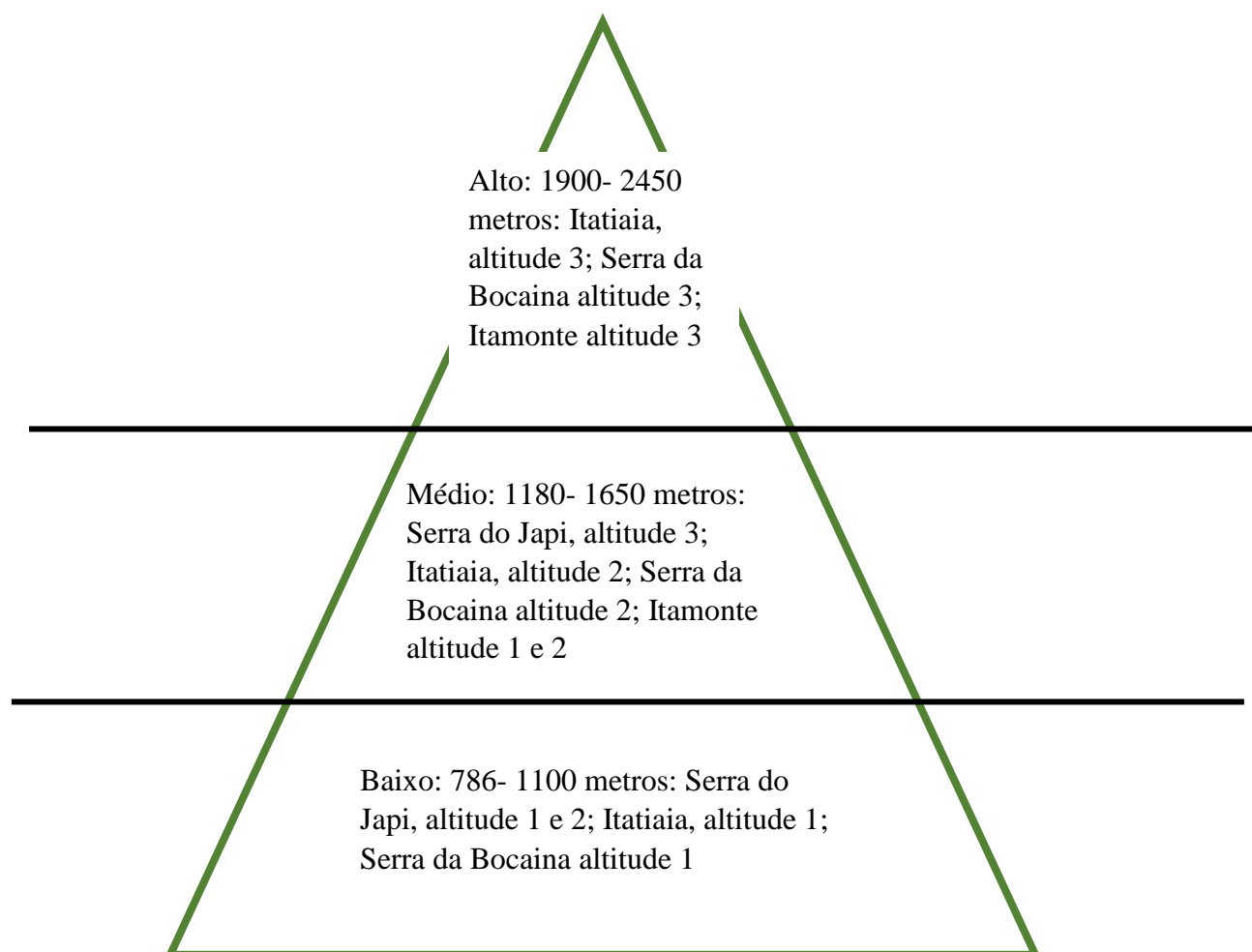


Figura 12: Esquema demonstrando os estratos altitudinais considerando a variação total das 4 montanhas estudadas, divididos em baixo, médio e alto

#### 4.4. Análise Molecular

Todos os espécimes tiveram seu *DNA* extraído, de maneira não degradativa com o indivíduo inteiro, utilizando o *kit* comercial de extração *DNeasy tissue kit* (QIAGEN Inc., Valencia,

California) e ressuspendido em 100 *ul* do tampão de eluição. Posteriormente, o *DNA* foi purificado com precipitação de Etanol (SAMBROOK; RUSSELL, 2001). Para isso, cada espécime recebeu um código individual que indicava seu local de coleta, demonstrado na tabela a seguir.

Tabela 5: Protocolo de codificação de dados para cada espécime e seu respectivo *DNA* com referência a sua amostra de coleta, onde XX refere ao número dado ao espécime.

	Itamonte (I)			ITATIAIA (T)			Serra da Bocaina (B)			Serra do Japi (J)		
	Altitude 1	Altitude 2	Altitude 3	Altitude 1	Altitude 2	Altitude 3	Altitude 1	Altitude 2	Altitude 3	Altitude 1	Altitude 2	Altitude 3
Malaise – MA	IMA 1-3.XX	IMA 4-6.XX	IMA 7-9.XX	TMA 1-3.XX	TMA 4-6.XX	TMA 7-9.XX	BMA 1-3.XX	BMA 4-6.XX	BMA 7-9.XX	JMA 1-3.XX	JMA 4-6.XX	JMA 7-9.XX
Moericke – MO	IMO 1-3.XX			TMO 1-3.XX			BMO 1-2.XX	BMO 3-4.XX		JMO 1.XX	JMO 2.XX	JMO 3.XX
Varredura-VA	IVA 1-3.XX			TVA 1.XX	TVA 2.XX		BVA 1-2.XX		BVA 3.XX	JVA 1.XX	JVA 2-3.XX	
Luminosa -LA	ILA 1.XX			TLA 1.XX				BLA 1.XX		JLA 1.XX	JLA 2.XX	JLA 3.XX

O fragmento de pares de bases do gene mitocondrial citocromo oxidase I (COI) aplicado em estudos de *DNA Barcoding* foi obtido de grande parte dos exemplares, que foram escolhidos de maneira aleatória.

As sequências foram amplificadas usando os *Primers* HCO 2198 e LCO 1490 (FOLMER *et al.*, 1994) através do processo de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) que resultou em um volume final de 25  $\mu$ L (2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2,5 mM dNTP Mix, 0,2  $\mu$ M de cada primer, 1X HOT FIREPol® Buffer B1 e 1U HOT FIREPol® *DNA Polymerase*, Solis Biodyne) que no termociclador passou pelo seguinte ciclo: desnaturação inicial a 95°C por 15 minutos; 35 ciclos de desnaturação a 95°C por 45 segundos, anelamento a 56°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 1 minuto; e para finalizar, extensão a 72°C por 5 minutos. O produto final da PCR foi purificado por

precipitação com *PEG (Polyethylene Glycol)* (LIS; SCHLEIF, 1975) e enviadas para a empresa Macrogen® para sequenciamento.

A edição das sequências foram feitas utilizando o programa Sequencher 4.1.4®, o alinhamento utilizando o programa MAFFT *version7*® e as análises moleculares utilizando o software MEGAX® (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) (KUMAR, *et al.*, 2018) que permite, inferir histórias filogenéticas e conduzir análises evolutivas moleculares, com o qual foram feitas as análises utilizando o teste *Neighbor-Joining* e método *Bootstrap* com 500 réplicas, que gerou a topologia e agrupou os espécimes em *Molecular Operational Taxonomic Units (MOTUs)* do apêndice 1. A divergência genética entre as sequências foi calculada através do método *Maximum composite likelihood* (TAMURA *et al.*, 2004). Com essas análises as espécies foram delimitadas, e as espécies novas foram descritas.

Os produtos da amplificação por *PCR* e o *DNA* extraído foram mantidos em freezer a -80o, os *vouchers* foram usados para a descrição das espécies e incorporados à Coleção Entomológica DCBU do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva (DEBE) na Universidade Federal de São Carlos, e as sequências serão depositadas no *Genebank*.

#### **4.5. Descrição das espécies**

Após a extração do *DNA* os espécimes foram todos secos utilizando o Ponto Crítico (CPD, Leica EM-CPD030), em seguida montados em alfinetes entomológicos, mantendo seus códigos de identificação. A partir dos resultados moleculares, cada *MOTU* foi comparada com a bibliografia existente para seu gênero, a fim de identificar sua espécie. As *MOTUs* que não concordaram com as espécies existentes para seu gênero, foram descritas como novas espécies.

As descrições das espécies foram feitas em inglês, com base na terminologia de Townes (1969) (Figs 13-16) enquanto que a nomenclatura para a esculturação baseou-se em Eady (1968).

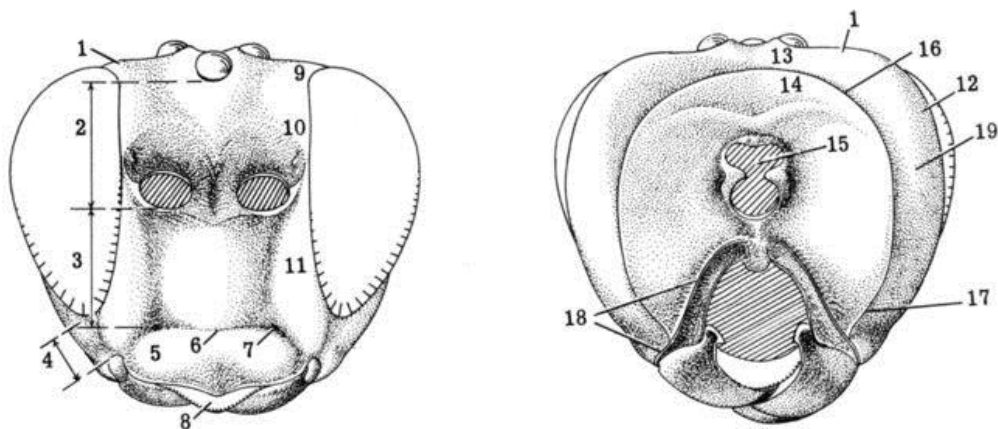


Figura 13-14: Terminologia das estruturas da cabeça de Ichneumonidae: 13, **Cabeça vista anterior**: 1, vértice; 2, frente; 3, face; 4, espaço malar; 5, clipeo; 6, sulco entre a face e o clipeo; 7, fôvea clipeal; 8, labro; 9, órbita vertical; 10, órbita frontal; 11, órbita facial; 13, **Cabeça vista posterior**: 13, vértice; 14, occipício; 15, forame magno; 16 e 17, carena occipital; 17, carena genal; 18, carena oral; 19, têmpora (TOWNES, 1969).

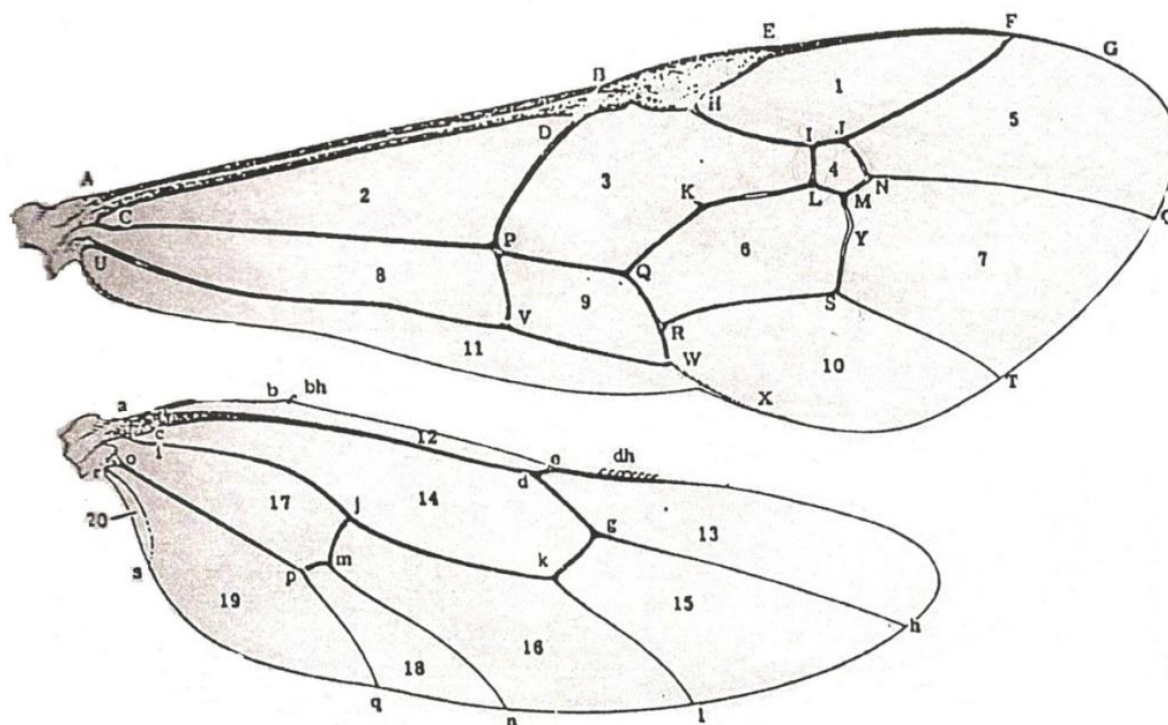


Figura 15: Asas anterior e posterior de Ichneumonidae. **Asa Anterior, nervuras**: AB, costa; CD, subcosta; EFG, metacarpo; HIJF, radio; LMNO, cúbito; PQRW, discoideo; CP, média; UV, submédia; VWX, braquial; BEH, estigma; DP, basal; IL, 1° intercubital; JN, 2° intercubital; QL, discocubital; K, râmulo; QK, 1ª recorrente; MS, 2ª recorrente; Y, bula; PV, nervulo; QRW, pós-nervulo. **Asa Anterior, células**: 1, radial; 2, mediana; 3, discocubital; 4, areolete; 5, 3ª cubital; 6, 2ª discoidal; 7, 3ª discoidal; 8, submediana; 9, 1ª braquial; 10, 2ª braquial; 11, anal. **Asa Posterior, nervuras**: ab, costela; cde, subcostela; ef, metacarpela; dgh, radiela; jkl, cubitela; mn, discoidela; kg, intercubitela; ij, mediela; op, submediela; pq, braquiela; bh, hâmulos basais; dh, hâmulos distais; rs, axila; jmp, nervelo. **Asa Posterior, células**: 12, costelana; 13, radielana; 14, medielana; 15, cubitelana; 16, discoidelana; 17, submedielana; 18, braquielana; 19, anelana; 20, pos-anelana (TOWNES, 1969).

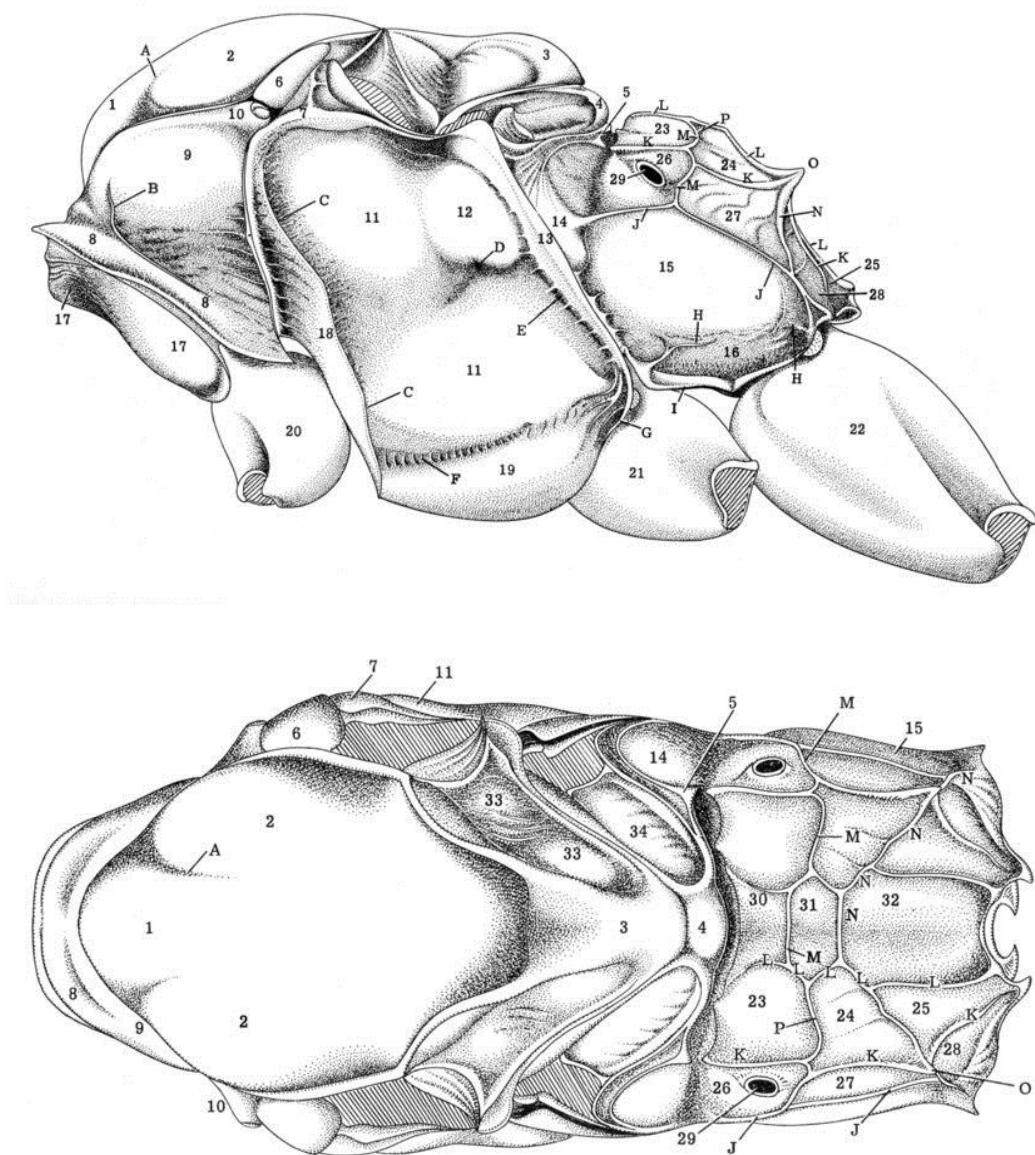


Figura 16: Mesossoma de Ichneumonidae vistas lateral e dorsal: áreas, carenas e sulcos. **Áreas:** 1, lobo mediano do mesoscuto; 2, lobo lateral do mesoscuto; 1 e 2, mesoscuto; 3, escutelo; 4, pós-escutelo; 5, margem posterior do metanoto; 6, tégula; 7, ruga subtegular; 8, colar; 8,9,10, pronoto; 10, ângulo posterior do pronoto; 11,12,18, mesopleura; 12, espéculo; 13, mesepimero; 14, divisão superior da metapleura; 15, metapleura; 16, área justacoxal; 17, propleura; 18, prepecto; 19, mesosterno; 20, coxa anterior; 21, coxa mediana; 22, coxa posterior; 23-28, propódeo; 23, 1ª área lateral; 24, 2ª área lateral; 25, 3ª área lateral; 26, 1ª área pleural; 27, 2ª área pleural; 28, 3ª área pleural; 29, espiráculo propodeal; 30, área basal; 31, aréola; 32, área peciolar; 33, sulco axilar do mesonoto; 34, sulcoaxilar do metanoto. **Carenas e sulcos:** A, notáulice; B, epomia; C, carena prepectal; D, fóvea mesopleural; E, sutura mesopleural; F, esternáulo; G, carena prospectal; H, carena justacoxal; I, carena submetapleural; J, carena pleural; K, carena lateral longitudinal; L, carena mediana longitudinal; M, carena basal transversa; N, carena apical transversa; O, apófise propodeal ou crista; P, cóstula (TOWNES 1969).

A ilustração das espécies incluiu fotografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura FEI Quanta 250 SEM operando em baixo vácuo, fotografias digitais coloridas obtidas em estereomicroscópio Leica® MC 170 HD video camera anexado a Leica® M205C com a lente planapo objetiva 1.0×, and editadas usando Adobe Photoshop.

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1. Resultados gerais de Abundância

Foram coletados 1246 espécimes de Orthocentrinae, identificados em 12 gêneros: *Orthocentrus*, *Stenomacrus*, *Chilocytrus*, *Plectiscus*, *Batakamacrus*, *Picrostigeus*, *Megastylus*, *Gnathochorisis*, *Proclitus*, *Eusterinx*, *Symplecis* e *Pantisarthrus*. Com exceção dos gêneros *Orthocentrus* e *Chilocytrus*, todos os restantes configuram novas ocorrências para o Brasil, e os gêneros *Plectiscus*, *Picrostigeus* e *Pantisarthrus* são registrados pela primeira vez para a região Neotropical. Portanto, são 10 novas ocorrências para o Brasil e 3 novas ocorrências para a região Neotropical. A abundância de cada gênero coletado é demonstrada no gráfico abaixo:

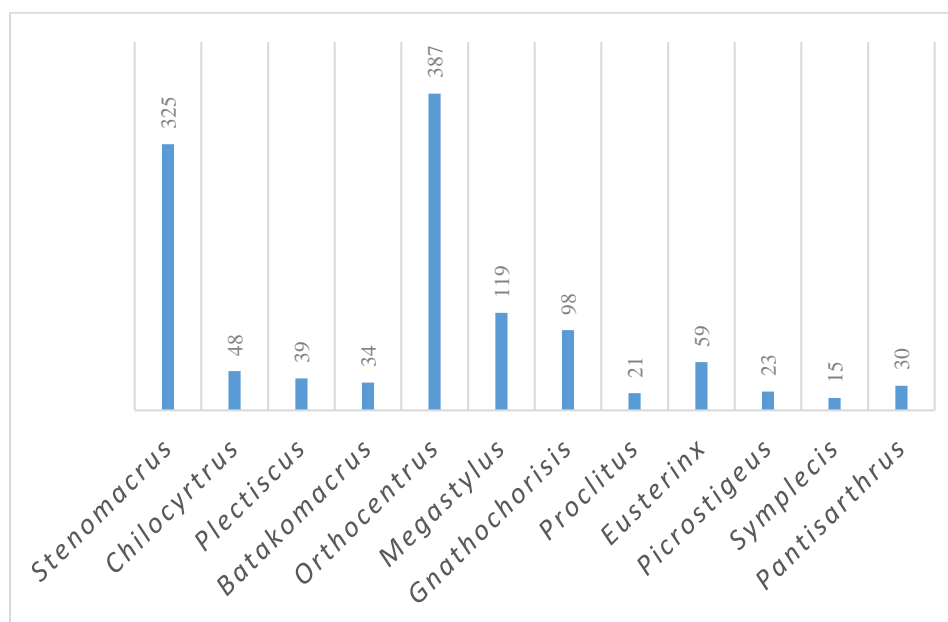


Figura 17: Gráfico com o número total de indivíduos por gênero coletado

*Orthocentrus* e *Stenomacrus* foram os mais abundantes, sendo o primeiro 32,25% dos indivíduos coletados, enquanto *Stenomacrus* é 27,25% das coletas.

A abundância de cada gênero coletado em cada localidade é demonstrada no gráfico abaixo:

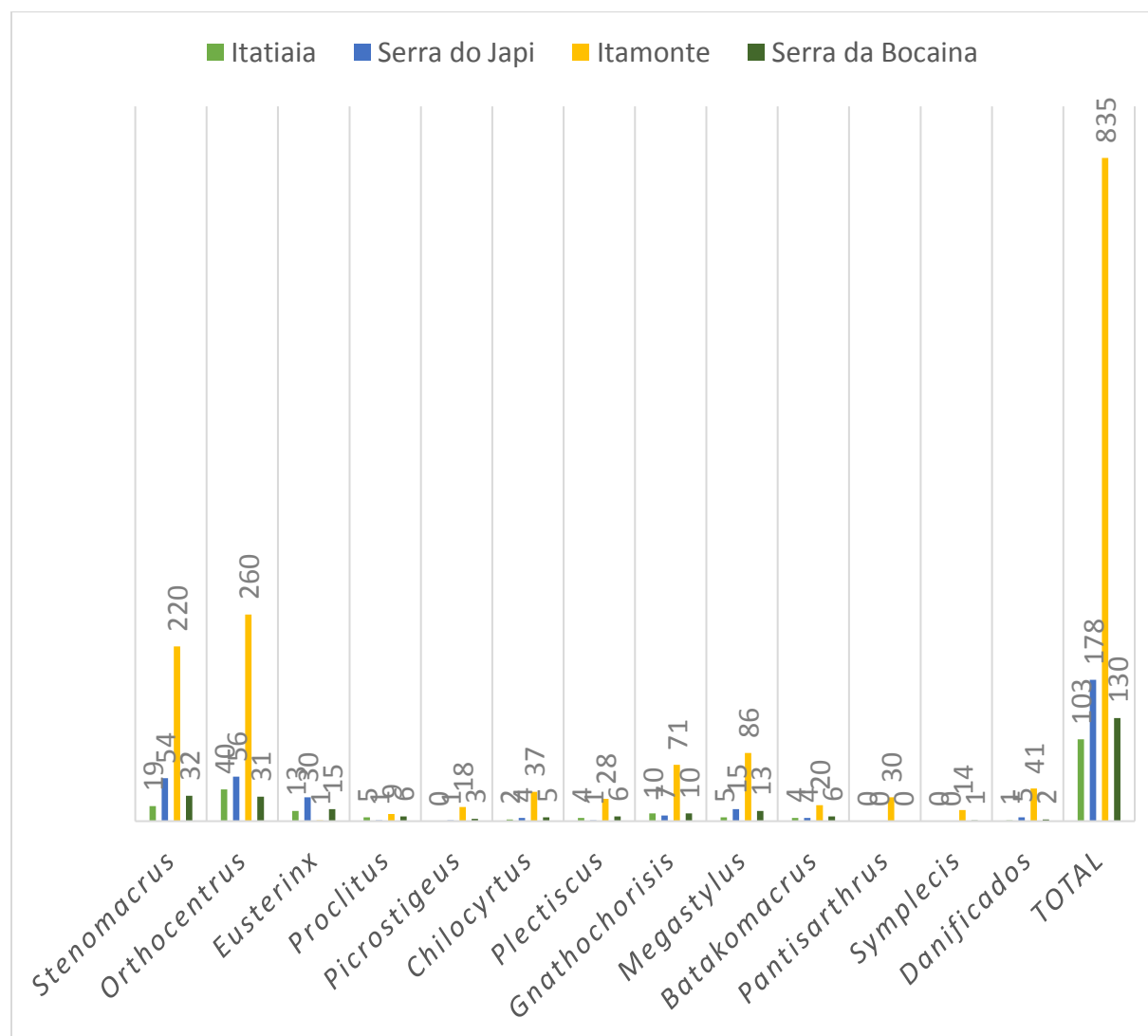


Figura 18: Gráfico com a abundância de cada gênero coletados nos quatro pontos de coleta.

### 5.1.1 Parque Nacional de Itatiaia, RJ.

No PARNA de Itatiaia foram encontrados um total de 109 Orthocentrinae. O número de indivíduos por gêneros coletados em cada armadilha e em cada altitude, encontram-se na tabela abaixo:

Tabela 6: Número de indivíduos coletados por gênero, por altitude, por método de coleta no PARNA Itatiaia, RJ

PARNA Itatiaia, RJ								
	Altitude 1 (786 - 934)				Altitude 2 (1443 -1652)		Altitude 3 (2131- 2451)	total
	Malaise	Moericke	Varredura	Luz	Varredura	Malaise	Malaise	
<i>Stenomacrus</i>	13	1	0	1	0	4	0	19
<i>Orthocentrus</i>	27	5	0	0	0	7	1	40
<i>Eusterinx</i>	2	10	0	1	0	0	0	13
<i>Proclitus</i>	3	1	0	0	0	0	1	5
<i>Picrostigeus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chilocyrtus</i>	1	0	0	0	0	1	0	2
<i>Plectiscus</i>	0	0	0	0	0	1	3	4
<i>Gnathochorisis</i>	4	1	0	0	0	1	4	10
<i>Megastylus</i>	3	0	0	1	0	1	0	5
<i>Batakamacrus</i>	1	0	0	1	0	2	0	4
<i>Pantisarthrus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Symplecis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
Danificados	0	0	0	0	0	1	0	1
<b>TOTAL</b>	<b>54</b>	<b>18</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>18</b>	<b>9</b>	<b>103</b>

Observa-se que *Orthocentrus* é o gênero mais abundante, representando 39% dos indivíduos coletados, seguido por *Stenomacrus* com 18,4% dos indivíduos coletados.

Com relação a abundância por altitude, a análise foi feita apenas para dados coletados com armadilha Malaise, a qual foi amostrada para as três altitudes. A figura 19 nos mostra que a altitude 1, com variação entre 786–934 metros, foi a mais abundante, sendo encontrados 54 indivíduos identificados em 8 dos 9 gêneros encontrados para essa localidade. Desses, o gênero *Eusterinx* ocorreu apenas nessa faixa de altitude. O gênero *Plectiscus* foi o único que não foi encontrado na primeira altitude e se mostrou mais abundante na terceira altitude (2131 – 2451 m).

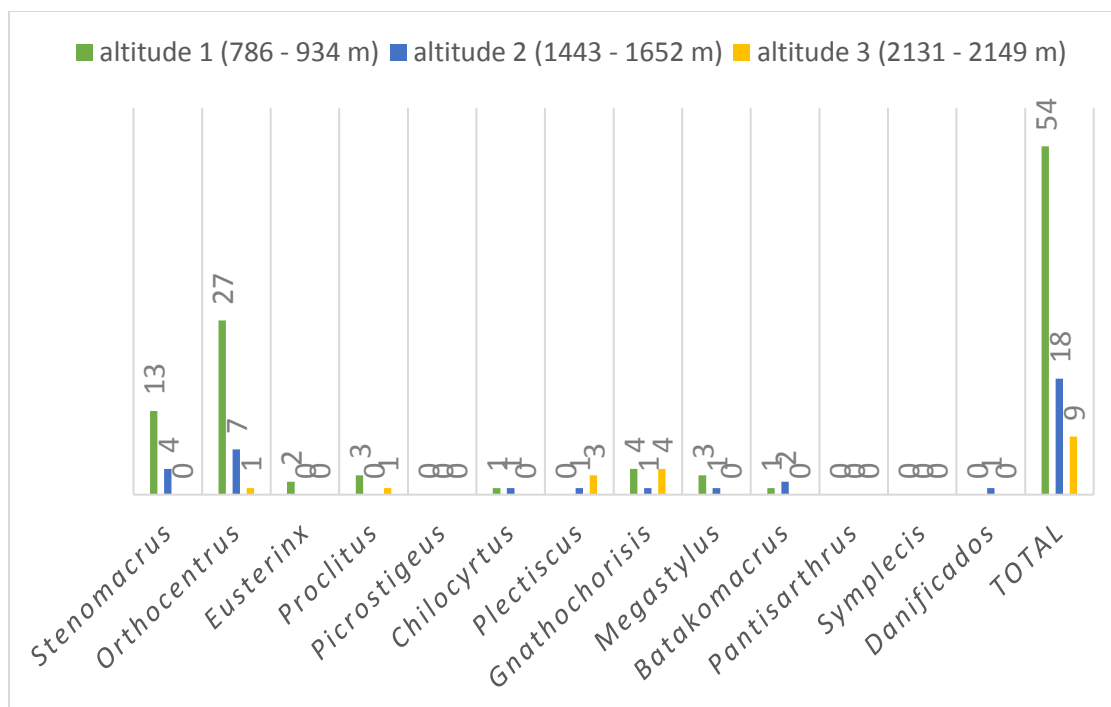


Figura 19: Gráfico com a abundância de cada gênero coletado por altitude com armadilha Malaise no PARNA Itatiaia, RJ.

A análise do método de coleta mais eficiente foi realizada apenas com os dados da primeira altitude, na qual todos os métodos de coleta foram realizados.

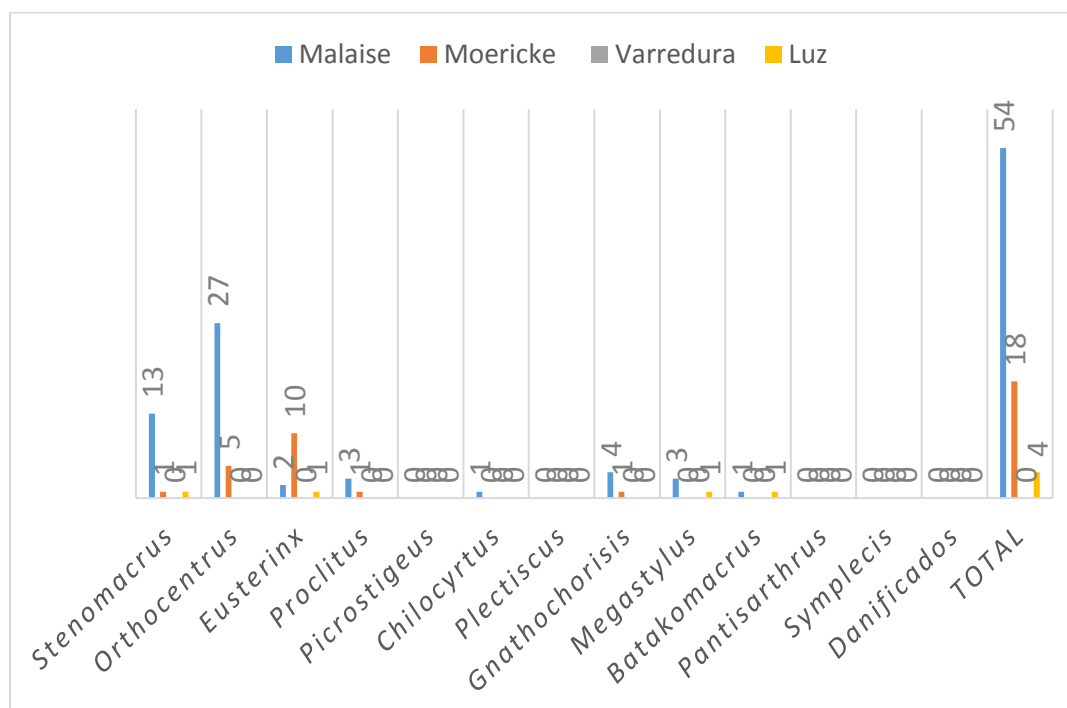


Figura 20: Gráfico com a abundância de cada gênero por método de coleta no PARNA de Itatiaia, RJ.

Observa-se que a armadilha Malaise foi o método mais eficiente para coleta de Orthocentrinae, porém, alguns gêneros como *Eusterinx*, demonstraram ser melhor amostrados através da Armadilha Moericke. A armadilha luminosa e a Varredura de Vegetação não demonstraram ser eficientes para a coleta de Orthocentrinae.

### 5.1.2. PARNA Serra da Bocaina – São José do Barreiro, SP

As armadilhas utilizadas na Serra da Bocaina capturaram 130 Orthocentrinae. Os números de indivíduos por gêneros coletados em cada armadilha e em cada altitude, encontram-se na tabela abaixo:

Tabela 7: Número de indivíduos coletados por gênero, por altitude, por método de coleta no PARNA Serra da Bocaina em São José do Barreiro, SP.

PARNA Serra da Bocaina - São José do Barreiro, SP									
	Altitude 1 (1149 - 1184 m)			Altitude 2 (1446 - 1528 m)			Altitude 3 (1943 - 1969 m)		Total
	Moericke	Malaise	varredura	Moericke	Malaise	Luz	Malaise	varredura	
<i>Stenomacrus</i>	1	3	1	10	8	2	6	1	32
<i>Orthocentrus</i>	1	7	0	3	6	0	12	2	31
<i>Eusterinx</i>	3	0	0	11	0	0	1	0	15
<i>Proclitus</i>	0	0	0	6	0	0	0	0	6
<i>Picrostigeus</i>	2	0	0	1	0	0	0	0	3
<i>Chilocyrtus</i>	1	0	0	1	0	1	2	0	5
<i>Plectiscus</i>	0	0	0	5	0	0	1	0	6
<i>Gnathochorisis</i>	1	0	0	6	1	1	1	0	10
<i>Megastylus</i>	1	0	0	0	1	2	9	0	13
<i>Batakomacrus</i>	0	0	0	0	1	1	4	0	6
<i>Pantisarthrus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Symplecis</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Danificados	0	0	1	0	0	0	1	0	2
<b>TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>2</b>	<b>44</b>	<b>17</b>	<b>7</b>	<b>37</b>	<b>3</b>	<b>130</b>

O gênero *Stenomacrus* foi o mais abundante, com 24,6% dos indivíduos coletados, seguido de *Orthocentrus*, com 23,8%.

A figura 21 nos mostra a abundância coletada em cada altitude, com as Armadilhas Malaise utilizadas em todos os estratos dessa localidade. Observa-se que a terceira altitude, com variação entre 1943–1969m foi a mais abundante, com 37 indivíduos coletados, enquanto a primeira altitude (1149–1184 m) obteve a menor abundancia.

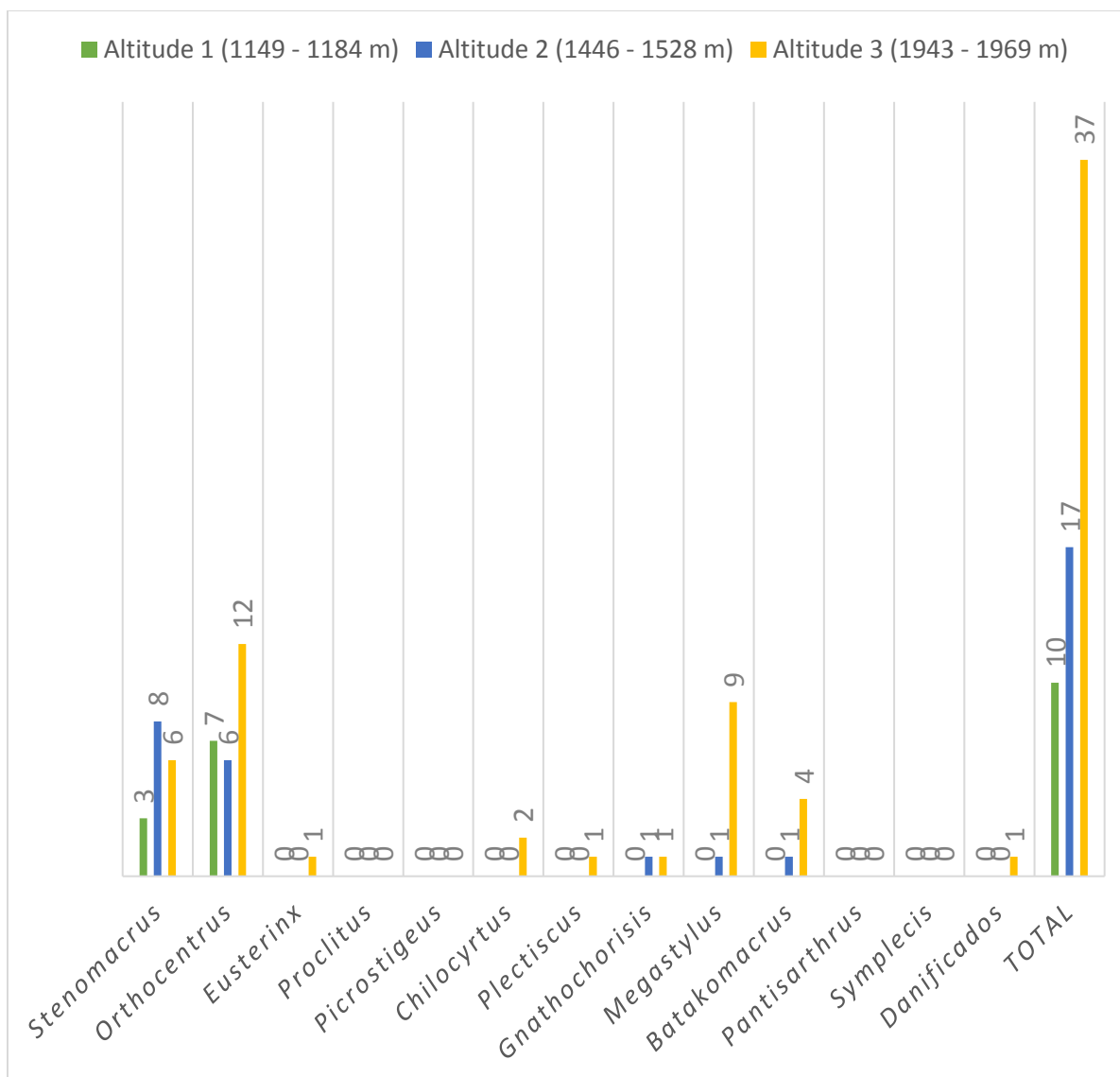


Figura 21: Gráfico com a abundância de cada gênero coletado com Armadilha Malaise, em cada altitude no PARNA Serra da Bocaina, São José do Barreiro, SP

Nenhum extrato do gradiente altitudinal da Serra da Bocaina teve todos os métodos de coleta realizados. Analisando a tabela 7, com as abundancias coletadas, observa-se que o método de coleta Varredura foi menos eficiente que a Armadilha Luminosa, coletando um menor número de espécimes, mesmo tendo sido realizada em duas altitudes, ao invés de uma, como é o caso da Armadilha Luminosa. Por conta dessa análise, o gráfico da figura 22 foi realizado com os dados da segunda altitude, comparando os métodos Moericke, Malaise e Luminosa.

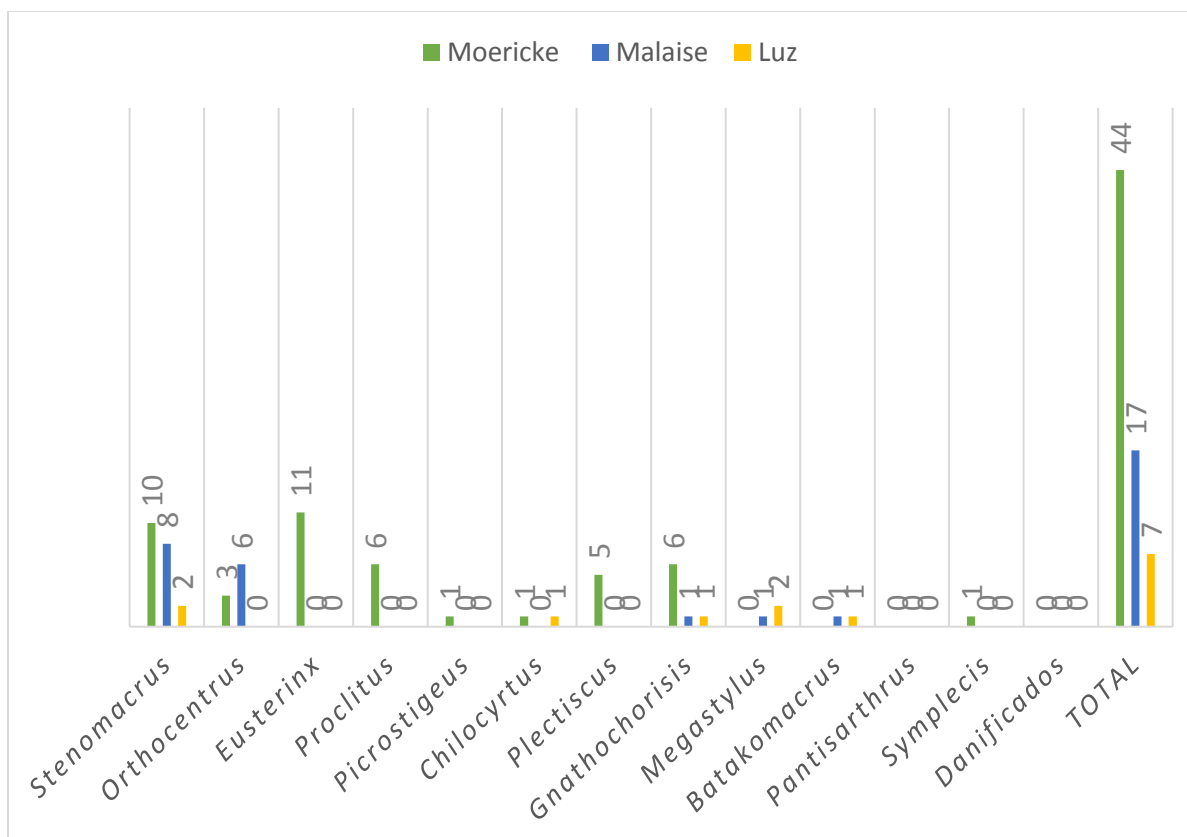


Figura 22: Gráfico com a abundância de cada gênero por método de coleta no PARNA Serra da Bocaina, São José do Barreiro, SP.

Observa-se que o método de Armadilha Moericke é o mais eficiente, e que determinados gêneros, como *Eusterinx*, *Proclitus*, *Picrostigeus* e *Proclitus* só foram coletados nessa altitude com esse método.

### 5.1.3. Reserva Biológica da Serra do Japi – Jundiá, SP

As amostras da Serra do Japi coletaram um total de 178 Orthocentrinae. O número de indivíduos por gênero coletados em cada armadilha e em cada altitude, encontram-se na tabela 8.

Tabela 8: Número de indivíduos coletados por gênero, por altitude, por método de coleta na Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiá-SP.

Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiá, SP												
	Altitude 1 (895 m)				Altitude 2 (1036- 1134 m)				Altitude 3 (1183- 1190 m)			Total
	Moericke	Malaise	Luz	varredura	Moericke	Malaise	Varredura	Luz	Malaise	Luz	Moericke	
<i>Stenomacrus</i>	4	1	0	2	18	8	8	3	0	0	10	54
<i>Orthocentrus</i>	6	21	0	1	16	8	2	0	0	0	2	56
<i>Eusterinx</i>	18	0	0	0	8	0	1	0	0	0	3	30
<i>Proclitus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Picrostigeus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Chilocyrtus</i>	2	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	4
<i>Plectiscus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Gnathochoris</i>	2	0	0	0	1	0	2	2	0	0	0	7
<i>Megastylus</i>	1	3	0	0	4	0	1	3	0	0	3	15
<i>Batakamacrus</i>	11	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	4
<i>Pantisarthrus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Symplecis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Danificados	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	5
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>26</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>49</b>	<b>17</b>	<b>16</b>	<b>12</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>19</b>	<b>178</b>

Observa-se que *Orthocentrus* e *Stenomacrus* foram os gêneros mais abundantes, representando 31,28% e 30,16% das coletas respectivamente, seguidos de *Eusterinx* e *Megastylus*.

O gráfico representado na figura 23, mostra a abundancia em cada gradiente altitudinal, referente as coletas realizadas com as Armadilhas Moericke, Malaise e Luz, utilizadas nas três altitudes.

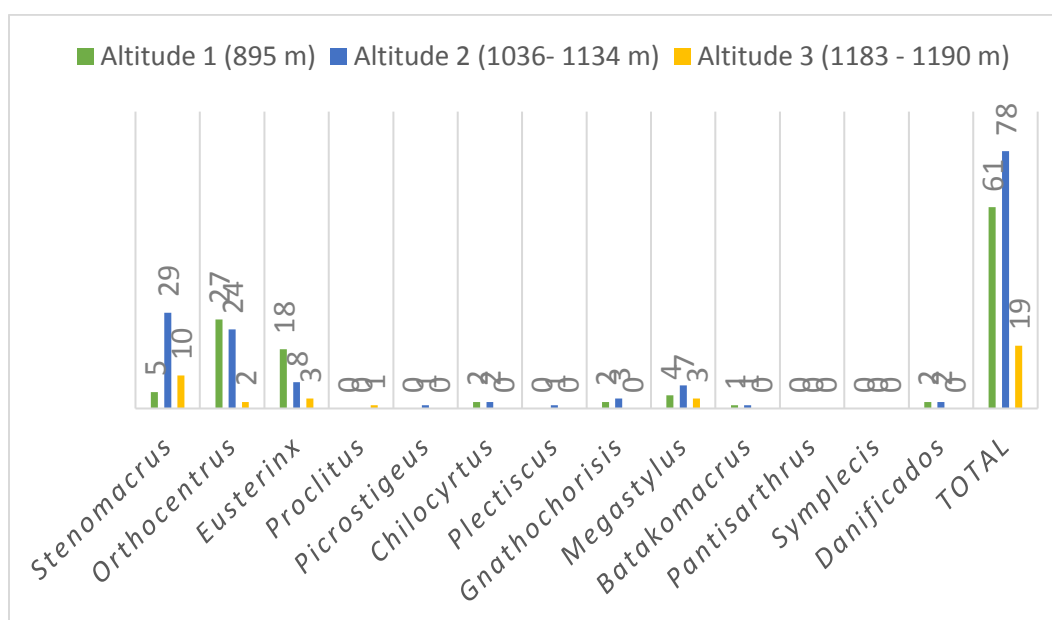


Figura 23: Gráfico com a abundância de cada gênero coletado por altitude na Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiá, SP.

A segunda altitude (1036–1134 m) foi a mais abundante para essa localidade.

Afim de verificar o método de coleta mais eficiente, foram utilizados os dados da segunda altitude onde todos os métodos de coleta foram realizados.

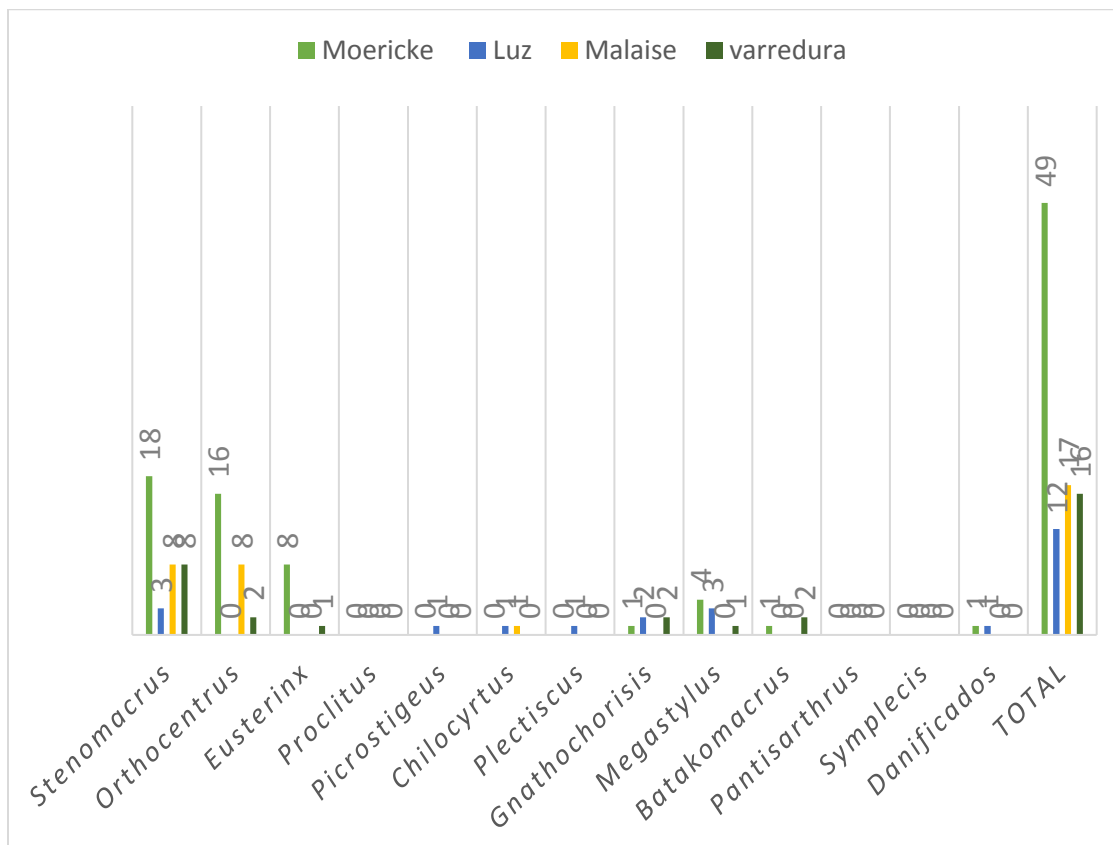


Figura 24: Gráfico com a abundância de cada gênero por tipo de armadilha de coleta na Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiá, SP.

A armadilha Moericke foi a mais eficiente, coletando 49 dos 89 indivíduos amostrados nessa altitude.

#### 5.1.4. RPPN Alto Montana – Itamonte, MG

As amostras coletadas em Itamonte foram as mais abundantes entre todas as localidades, obtendo-se 835 espécimes de Orthocentrinae. O número de indivíduos por gêneros coletados em cada armadilha e em cada altitude, encontram-se na tabela abaixo:

Tabela 9: Número de indivíduos por gêneros coletados em cada armadilha e em cada altitude na RPPN Alto Montana, Itamonte, MG

RPPN Alto Montana, Itamonte, MG							
	Altitude 1 (1399-1606)				Altitude 2 (1612-1652)	Altitude 3 (2047-2149)	TOTAL
	Moericke	Luz	Malaise	Varredura	Malaise	Malaise	
<i>Stenomacrus</i>	43	0	23	27	17	110	220
<i>Orthocentrus</i>	143	0	58	11	21	27	260
<i>Eusterinx</i>	1	0	0	0	0	0	1
<i>Proclitus</i>	9	0	0	0	0	0	9
<i>Picrostigeus</i>	12	0	0	6	0	0	18
<i>Chilocyrtus</i>	18	0	1	7	3	8	37
<i>Plectiscus</i>	17	1	3	3	2	2	28
<i>Gnathochorisis</i>	48	0	4	16	3	0	71
<i>Megastylus</i>	77	0	3	4	2	0	86
<i>Batakomacrus</i>	10	0	3	1	0	6	20
<i>Pantisarthrus</i>	29	0	0	0	1	0	30
<i>Symplecis</i>	13	0	0	1	0	0	14
Danificados	37	0	1	3	0	0	41
<b>TOTAL</b>	<b>457</b>	<b>1</b>	<b>96</b>	<b>79</b>	<b>49</b>	<b>153</b>	<b>835</b>

*Orthocentrus* e *Stenomacrus* foram os gêneros mais abundantes para essa localidade, representando 31,13% e 26,34 % das amostras coletadas, respectivamente, além disso, Itamonte foi a única localidade em que o gênero *Pantisarthrus* foi coletado.

Para analisar o gradiente altitudinal mais abundante, utilizamos apenas os dados da coleta Malaise, realizada nas três altitudes:

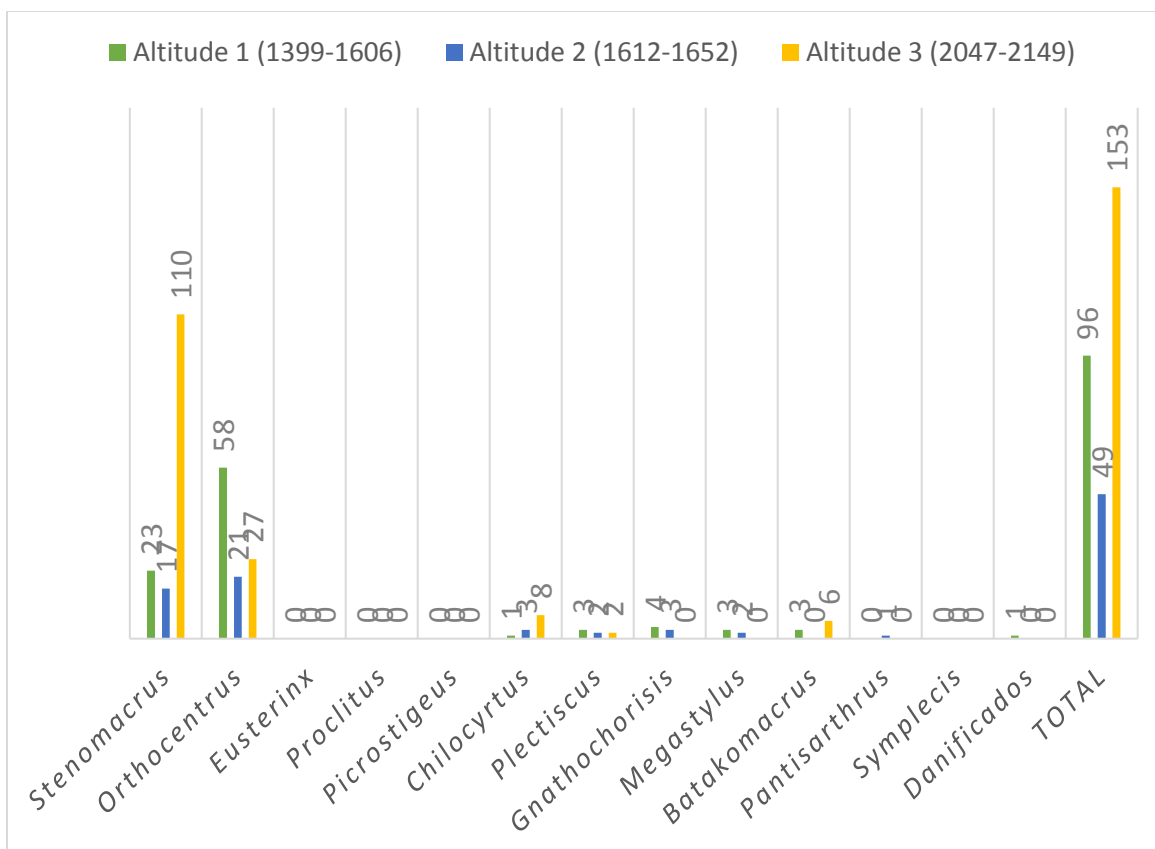


Figura 25: Gráfico demonstrando a preferência altitudinal de gêneros coletados na RPPN Alto Montana, Itamonte, MG.

A terceira altitude, com 2047–2149 m, foi a mais abundante sendo coletados 153 espécimes dos 298 analisados, sendo *Stenomacrus* o gênero mais abundante. O gênero *Pantisarthurus* foi o único que ocorreu apenas na segunda altitude (1612-1652m).

A análise do método de coleta com maior eficácia foi realizada apenas com os dados da primeira altitude, onde todos os métodos foram realizados.

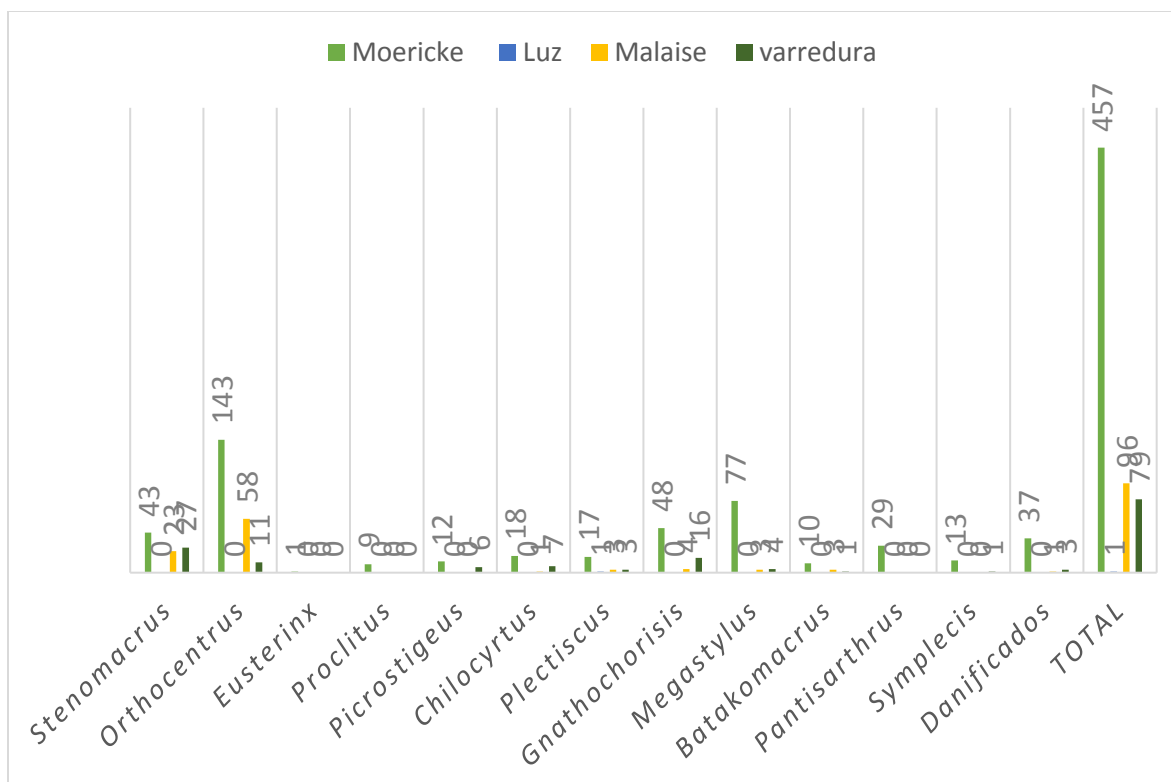


Figura 26: Gráfico com a abundância de cada gênero por método de coleta na RPPN Alto Montana, Itamonte, MG.

A armadilha Moericke foi o método mais eficaz para coletar exemplares da maioria dos gêneros de Orthocentrinae. Com essa metodologia foram coletados 72% dos indivíduos nesse ponto de coleta. A armadilha luminosa teve baixa eficácia para a coleta de Orthocentrinae em geral.

A Armadilha Moericke foi o método de coleta mais eficaz para coletar Orthocentrinae. Apenas em Itatiaia a armadilha Malaise coletou mais. Isso pode estar relacionado ao fato dos hospedeiros de Orthocentrinae, larvas de Diptera pertencentes as famílias Mycetophilidae, Keroplastidae e Sciaridae, desenvolverem-se em ambientes úmidos e escuros, ricos em matéria orgânica em decomposição, com a presença de fungos, encontrando-se associadas aos corpos de frutificação de fungos e micélios, em troncos de árvores mortas e no solo úmido (GORSKA-DRABIK *et al.*, 2011). Assim, os Orthocentrinae podem ser mais facilmente localizados próximos ao solo, onde encontra-se a Armadilha Moericke.

Com relação a preferência altitudinal, não foi encontrado nenhum padrão. Apesar de todas as áreas serem de Mata Atlântica, outras variações bióticas e abióticas que não foram medidas

devem influenciar para a ecologia de cada uma dessas regiões. O esforço amostral de apenas uma semana de coleta em cada localidade com abundância de cerca de 2 mil espécimes coletados nos indicam que esse grupo vive bem em regiões de altitude. Itamonte, MG e São José do Barreiro, SP, foram pontos que tiveram maior abundância nas maiores altitudes o que nos demonstra tal indicação.

Observa-se também diferenças nas altitudes e métodos de coletas entre os gêneros coletados, indicando as possíveis variações de hábitos entre eles.

## 5.2. Grupo de gêneros *Orthocentrus*

O grupo de gêneros *Orthocentrus*, foi considerado por Townes (1971) como a subfamília Orthocentrinae, composta pelos gêneros *Orthocentrus*, *Picrostigeus*, *Stenomacrus*, *Chilocytrus*, *Leipaulus*, *Plectiscus* e *Neurateles*. *Leipaulus* foi sinonimizado como *Plectiscus* (AUBERT, 1981) e o gênero *Batakmacrus* Kolarov, 1986 foi descrito. Essas foram as alterações feitas nesse grupo de gêneros, desde Townes (1971). O grupo é identificado pela face uniformemente convexa, clípeo não separado da face e mandíbulas delgadas (BROAD, 2010).

Broad (2010), apresentou uma chave baseada em Townes (1971) e uma matriz de caracteres morfológicos com a intenção de tentar estabelecer as diferenças entre os gêneros desse grupo. Nesse trabalho, ele deixa claro a necessidade de revisão desse grupo de gêneros que foram mal definidos e utilizando apenas espécimes da região temperada. Um dos exemplos citados são as espécies do gênero *Stenomacrus* Förster que da maneira como são definidas hoje, não possuem nenhuma característica que de fato exclua outros gêneros. Nesse trabalho, o autor considera que o grupo *Stenomacrus* possui muitas variações morfológicas, enquanto os gêneros *Neurateles*, *Plectiscus* e *Chilocytrus* têm poucas características que os definem, fazendo com que *Stenomacrus* pareça um “grupo lixo” com espécies que não podem ser colocadas em nenhum outro gênero. O autor sugere a possível sinonimização dos gêneros *Neurateles*, *Plectiscus* e *Chilocytrus* em *Stenomacrus*, mas reforça a necessidade de realização de maiores estudos, principalmente com a fauna Neotropical.

Pertencentes a esse grupo, e com base em Broad (2010) foram coletados 387 indivíduos de *Orthocentrus*, 325 indivíduos de *Stenomacrus*, 48 indivíduos de *Chilocytrus*, 23 indivíduos de *Picrostigeus*, 39 indivíduos de *Plectiscus* e 34 indivíduos de *Batakmacrus*.

Desses, 182 de *Orthocentrus*, 187 de *Stenomacrus*, 10 de *Chilocytrus*, 11 de *Plectiscus* e 13 de *Batakmacrus* tiveram seu DNA extraído e o gene COI sequenciado, a topologia com os resultados indicando as *MOTUs*, com base nos limites de 2% de divergência molecular, encontram-se no Apêndice 1. A figura 27 nos mostra o número de *MOTUs* de cada gênero encontrado:

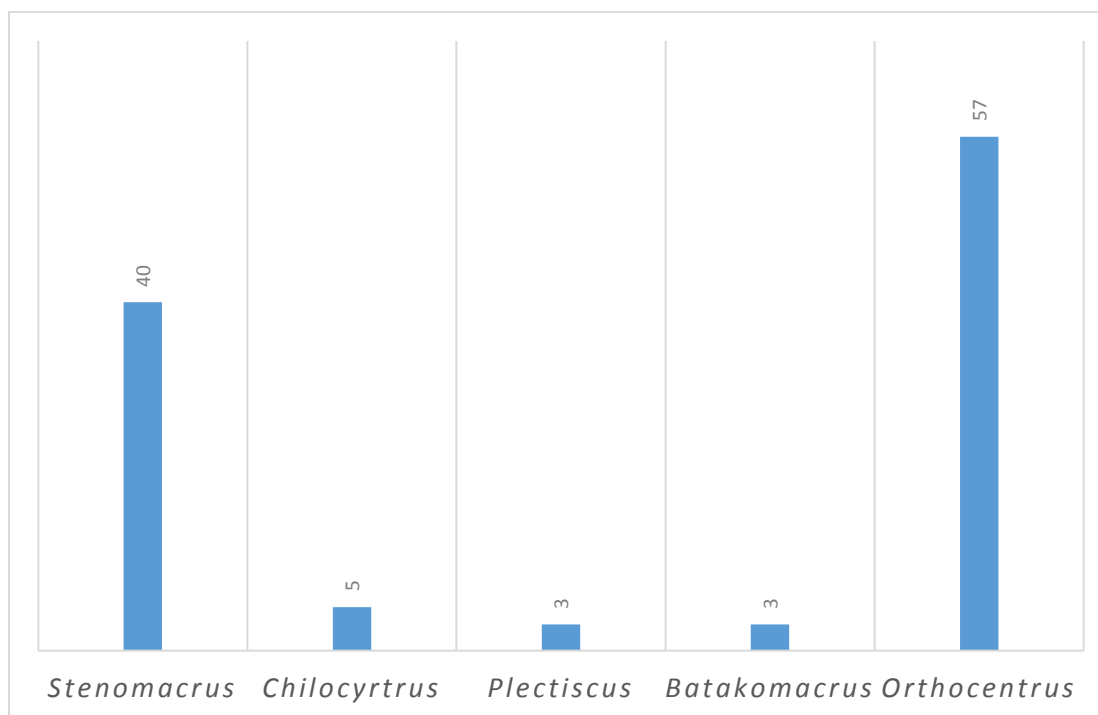


Figura 27: Gráfico com as unidades taxonômicas dos gêneros pertencentes ao grupo *Orthocentrus*

Os resultados indicam a riqueza e diversidade desses grupos e a importância de estudá-los. A análise dos agrupamentos moleculares, deixa clara a necessidade de revisão desses gêneros, uma vez que alguns espécimes identificados em gêneros diferentes se encontravam nas mesmas unidades taxonômicas. Isso nos mostrou a dificuldade de definição desses gêneros e a necessidade de revisão, corroborando Broad (2010).

### 5.2.1. *Orthocentrus* Gravenhorst, 1829 (Fig. 28)

Espécie Tipo: *Orthocentrus anomalus* Gravenhorst, 1829

**Diagnose:** O gênero é caracterizado pelo clipeo não separado da face, com o ápice convexo. Mandíbulas reduzidas e asa posterior com nervelo usualmente reclinado ou vertical (Figs

28 b, c). Além disso, as mandíbulas não se sobrepõem e o labro nunca é aparente (Fig. 28 b) (BROAD, 2010; VEIJALAINEN, 2014).

Alguns espécimes analisados não apresentam mandíbulas reduzidas, porém o labro é ausente e nervelo reclinado. Outros espécimes estudados apresentam o labro aparente, o que o identificaria como *Batakomacrus*, porém eles não possuíam outras características do gênero, como ovipositor longo, maior que a altura do ápice do metassoma e asa posterior com discoidela presente.

Com isso, as principais características utilizadas para identificar *Orthocentrus* foram: mandíbulas que não se sobrepõem, ausência de labro (na maioria dos casos) e asa posterior com nervelo reclinado.

**Biologia:** Kolarov; Bechev (1995) e Šedivý; Ševčík (2003) reportaram emergência de *Orthocentrus sp.* diretamente da pupa do hospedeiro (*Sciophila*, Diptera: Mycetophilidae). Mukai & Kitajima (2019) encontraram *Orthocentrus sp.* parasitando *Neoempheria* Osten Sacken (Diptera: Mycetophilidae) em cultivos de cogumelos Shitake, demonstrando um efetivo controle de larvas de *Neoempheria carinata* Sueyoshi, 2014, uma importante praga nos cultivos do Japão. Veijalainen *et al.* (2014), sugerem que o corpo robusto e a face convexa podem indicar que esses insetos forcem sua saída do substrato, como acontece em alguns Metopiinae (Hymenoptera, Ichneumonidae) que também possuem a face convexa.

**Distribuição:** O gênero possui 97 espécies descritas para todas as regiões do mundo, dessas, 34 pertencem a região Neotropical e apenas 2 foram reportadas para o Brasil.

**Comentários:** Dos 387 indivíduos encontrados, 187 tiveram seu *DNA* analisado, o que nos resultou em 57 *MOTUs*. Esse resultado estende consideravelmente o que se conhece para a região Neotropical.

A tabela 10 nos mostra quantos indivíduos de cada *MOTUs* foram obtidos em cada ponto de coleta. Dessa forma podemos avaliar como estão distribuídos.

Tabela 10: Distribuição de *MOTUs* do gênero *Orthocentrus* entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A)

	Reserva Biológica Serra do Japi			PARNA Itatiaia			RPPN Alto Montana Itamonte			PARNA Serra da Bocaina			Distribuição	
	895m	1036- 1134 m	1183 - 1190 m	786 - 934m	1443 -1652 m	2131- 2451 m	1399-1606m	1612-1652m	2047-2149m	1149 - 1184 m	1446 - 1528 m	1943 - 1969 m		
<i>Orthocentrus</i> M1	3			1			4		1				786-2149m	B/M/A
<i>Orthocentrus</i> M2							1					1	1399-1969m	M/A
<i>Orthocentrus</i> M3							2	1					1399-1652m	M
<i>Orthocentrus</i> M4							1	2	1			1	1399-2149m	M/A
<i>Orthocentrus</i> M5					1							1	1443-1969m	M/A
<i>Orthocentrus</i> M6	1			1					2	1	2		786-2149m	B/M/A
<i>Orthocentrus</i> M7									2				2047-2149m	A
<i>Orthocentrus</i> M8												1	1943-1969m	A
<i>Orthocentrus</i> M9				1							2	1	786-1969m	B/M/A
<i>Orthocentrus</i> M10					2					1			1149-1652m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M11								2					1612-1652m	M
<i>Orthocentrus</i> M12		2					2						1036-1606m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M13	3	1											895-1134m	B
<i>Orthocentrus</i> M14							3		1				1399-2149m	M/A
<i>Orthocentrus</i> M15				1									786-934m	B
<i>Orthocentrus</i> M16								1					1612-1652m	M
<i>Orthocentrus</i> M17				1									786-934m	B
<i>Orthocentrus</i> M18							11						1399-1606m	M

<i>Orthocentrus</i> M19						1						1399- 1606m	M
<i>Orthocentrus</i> M20			1			5						786- 1606m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M21			1									786- 934m	B
<i>Orthocentrus</i> M22		1				4	1	2				1036- 2149m	B/M/A
<i>Orthocentrus</i> M23									1			1149- 1184m	B
<i>Orthocentrus</i> M24					1							1443- 1652m	M
<i>Orthocentrus</i> M25	2			1			1				1	756- 1652m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M26				1								786- 934m	B
<i>Orthocentrus</i> M27							2					1399- 1606m	M
<i>Orthocentrus</i> M28										1		1149- 1184m	B
<i>Orthocentrus</i> M29				1								786- 934m	B
<i>Orthocentrus</i> M30	1			1			1					786- 1606m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M31							1	1			1	1399- 1969m	M/A
<i>Orthocentrus</i> M32								1				2047- 2149m	A
<i>Orthocentrus</i> M33	1			1			1					786- 1606m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M34										1		1149- 1184m	B
<i>Orthocentrus</i> M35							1					1399- 1606m	M
<i>Orthocentrus</i> M36							1					1399- 1606m	M
<i>Orthocentrus</i> M37							9					1399- 1606m	M
<i>Orthocentrus</i> M38							1					1399- 1606m	M
<i>Orthocentrus</i> M39		1					6	1				1036- 1652m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M40	1	4					22	1				895- 1652m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M41				1								786- 934m	B

<i>Orthocentrus</i> M42	2																	895m	B
<i>Orthocentrus</i> M43	1																	895m	B
<i>Orthocentrus</i> M44								1			1							1149- 1652m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M45							1	2	1									1399- 2149m	M/A
<i>Orthocentrus</i> M46				1														786- 934m	B
<i>Orthocentrus</i> M47																	1	1943- 1969m	A
<i>Orthocentrus</i> M48								1										1399- 1606m	M
<i>Orthocentrus</i> M49				1														786- 934m	B
<i>Orthocentrus</i> M50				1	2													786- 1652m	B/M
<i>Orthocentrus</i> M51																		2047- 2149m	A
<i>Orthocentrus</i> M52																		2047- 2149m	A
<i>Orthocentrus</i> M53				1		1												1183- 1652m	M
<i>Orthocentrus</i> M54								1										1399- 1606m	M
<i>Orthocentrus</i> M55						1		1	1									1399- 1652m	M
<i>Orthocentrus</i> M56																		1446- 1528m	M
<i>Orthocentrus</i> M57	1																	895m	B

As espécies M1, 6, 9 e 22 têm ampla distribuição, ocorrendo em todos os estratos altitudinais, enquanto M 7, 8, 32, 47, 51, 52 ocorreram na maior altitude, podendo indicar preferência para altitudes acima de 1.900 metros. A altitude mediana poderia ser considerada preferencial, porém o esforço amostral foi maior nessa altitude, o que impede que façamos essa afirmação.

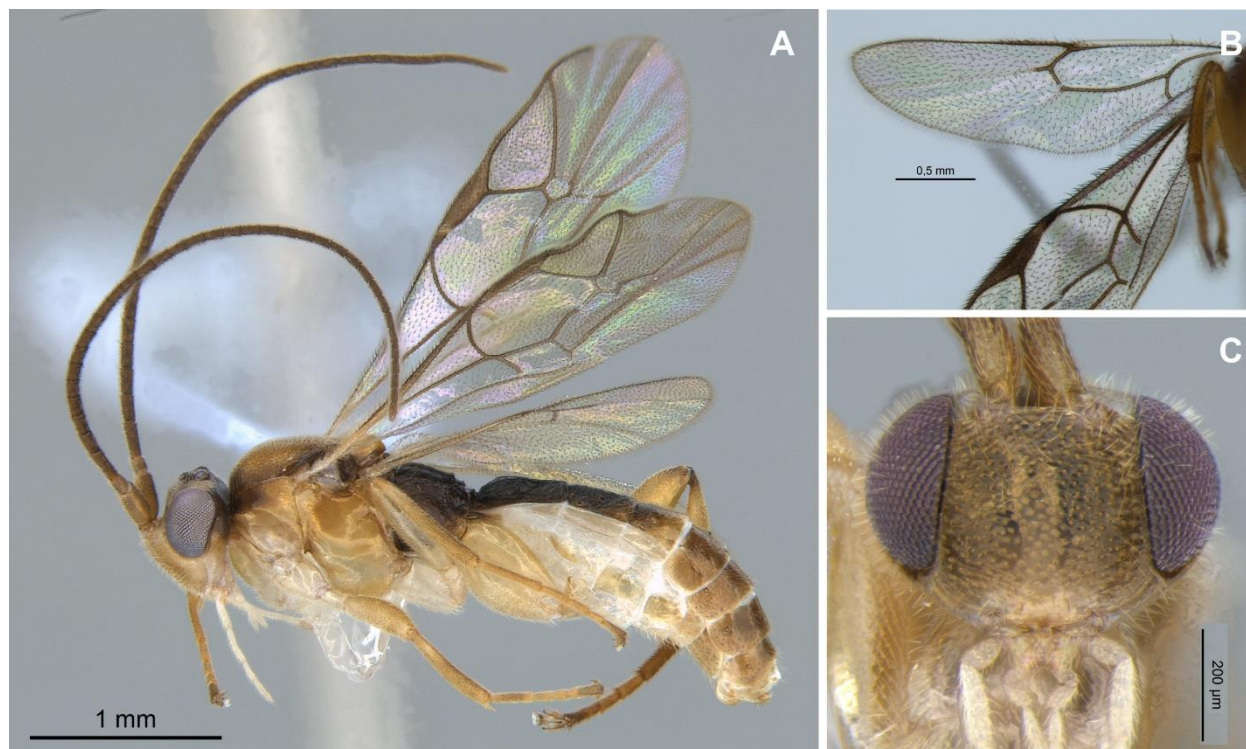


Figura 28: Fêmea de *Orthocentrus* spp.: a, hábito; b, asa posterior, indicando nervelo vertical ou reclinado; c, Face.

### 5.2.2. *Batakomacrus* Kolarov, 1986 (Fig. 29)

Espécie Tipo: *Batakomacrus crassicaudatus* Kolarov, 1986

**Diagnose:** O gênero é reconhecido pela presença do dente inferior na mandíbula, pequeno e rotacionado 45 graus em relação ao dente superior (Fig. 29 b). Asa posterior com discoidela presente, espaço malar com sulco, metassoma alongado T3 maior que T2 (Fig. 29 c), tergitos apicais capazes de se estender, ovipositor e bainhas originando-se longe do ápice anterior do metassoma, capazes de serem articulados para o exterior (Fig. 29 d-e) (BROAD, 2010).

Espécimes de *Batakomacrus* foram muitas vezes confundidos com *Orthocentrus* pela dificuldade em se visualizar o labro, e por que na asa posterior o nervelo pode ser vertical em *Batakomacrus*, como em *Orthocentrus*, não os diferenciando se o labro não for visualizado.

As características do metassoma são as principais para a identificação das fêmeas, principalmente o ovipositor originando-se longe do ápice do metassoma com capacidade de se articular, além do tergito metassomal 3 maior que o 2. Segundo Broad (2010), *Batakomacrus* difere de *Picrostigeus* pelo ovipositor longo, reto e sem articulação em *Picrostigeus*; bainhas curtas que

surgem sub-apicalmente na parte ventral do metassoma em *Batakomacrus*; e no caso dos machos, os parâmeros que são grandes em *Picrostigeus* e pequenos (terminando antes do ápice do metassoma) em *Batakomacrus*. Os resultados de nossas análises moleculares agruparam machos com parâmeros grandes (Fig. 29 f), que por conta disso haviam sido identificados como *Picrostigeus*, com fêmeas com o ovipositor como o de *Batakomacrus*. Na matriz de caracteres (BROAD, 2010) as únicas características que são diferentes entre *Picrostigeus* e *Batakomacrus*, além das características do metassoma ser articulado e capaz de girar em *Batakomacrus*, são sulco malar presente em *Batakomacrus* e uma linha coriácea em *Picrostigeus*, discoídeia ausente em *Picrostigeus* e asa anterior com segunda nervura intercubital presente em *Batakomacrus* e ausente em *Picrostigeus*. Foram também estudados espécimes com o metassoma e todas as outras características de *Batakomacrus* porém sem a segunda nervura intercubital na asa anterior. Outra característica dessa matriz de dados é o tergito metassomal 2 coriáceo ou pustulado e encontramos espécimes com este liso.

**Biologia:** Não há dados sobre a biologia do grupo, porém Broad (2010) chama a atenção para as características do metassoma e do ovipositor descritas na diagnose que indicam estratégias de parasitismo. Além disso, as fotos tomadas pelo autor utilizando Microscópio Eletrônico de Varredura indicam que há depósito de metais nas mandíbulas, o que costuma ser associado à parasitoides que emergem do substrato.

**Distribuição:** Existem 8 espécies descritas para as regiões Paleártica e Neotropical (YU *et al.*, 2016). Na região Neotropical existe apenas uma espécie, *B. hidalgo* Humala, 2010, encontrada no México.

**Comentários:** Dos 34 indivíduos encontrados, 13 tiveram seu DNA analisado, o que nos resultou em 3 MOTUs que foram comparadas com os caracteres da chave apresentada por Humala (2010).

*Batakomacrus* M1 é uma nova espécie com a relação entre o comprimento e a largura apical de T1 menor que 1.2, porção alargada da bainha do ovipositor menor que o segundo segmento tarsal, o que não define nenhuma espécie já conhecida. *Batakomacrus* M2 está próxima de *B. sylvicola*, Humala, 2010, mas não foi confirmada pois a descrição original está escrita em russo. Nessa identificação foram importantes a presença de carenas dorsais no tergito 1, não tão evidentes por conta da escultura rugosa do tergito. *B. sylvicola* tem ocorrência na região Paleártica, na Noruega e Rússia, o que torna menos possível que nossa espécie seja *B. sylvicola*. *Batakomacrus*

M3 também é uma espécie nova, T1 é 1.8 vezes mais longo que largo e a parte larga bainha é mais longa que o segundo segmento tarsal.

A distribuição das *MOTUs* nas localidades e gradientes altitudinais encontram-se na tabela 11:

Tabela 11: Distribuição de *MOTUs* do gênero *Batakomacrus* entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A)

	Reserva Biológica da Serra do Japi			PARNA Itatiaia			RPPN Alto Montana Itamonte			PARNA Serra da Bocaina			Distribuição	
	895m	1036- 1134 m	1183 - 1190 m	786 - 934m	1443 -1652 m	2131- 2451 m	1399-1606m	1612-1652m	2047-2149m	1149 - 1184 m	1446 - 1528 m	1943 - 1969 m		
<i>Batakomacrus</i> M1					1		1		3			3	1399-2047m	M/A
<i>Batakomacrus</i> M2							1				1	1	1399-1969m	M/A
<i>Batakomacrus</i> M3				1	1								786-1652m	B/M

Os espécimes do gênero foram coletados em todo gradiente altitudinal.

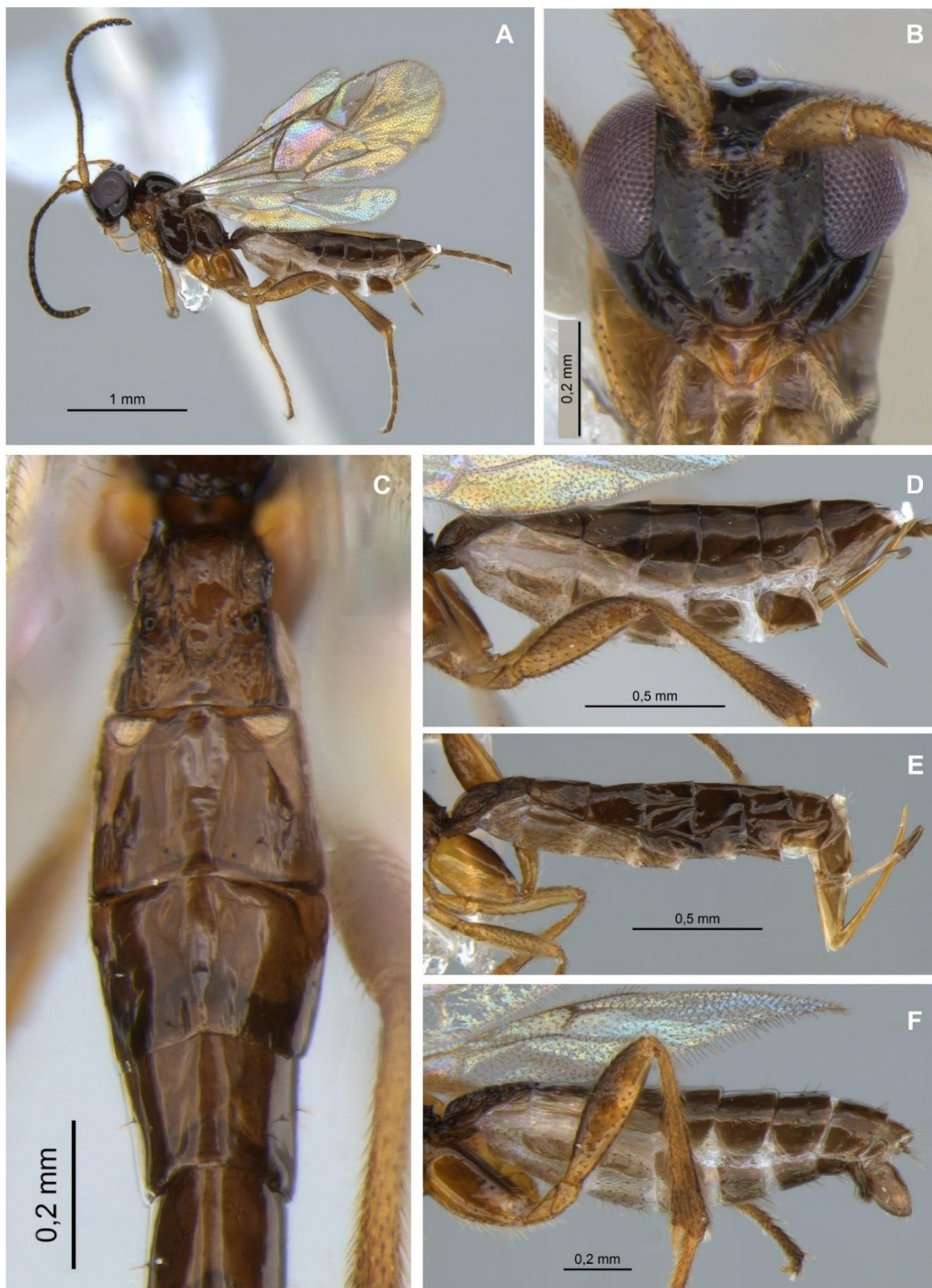


Figura 29: *Batakomacrus* spp.: **a**, hábito da fêmea; **b**, face; **c**, metassoma vista dorsal; **d-e**, ovipositor vista lateral, indicando a capacidade de articulação; **f**, genitália macho, vista lateral.

### 5.2.3. *Picrostigeus* Förster, 1869 (Fig. 30)

Espécie Tipo: *Orthocentrus setiger* Brischike; incluído por Thomson, 1898.

**Diagnose:** Clípeo pequeno, um pouco mais convexo que a face, truncado, expondo o labro. Mandíbulas com dois dentes. Parte lateral da carena prepectal presente. Areolete usualmente presente e séssil. Nervo vertical com discoidela pouco definida. Tergitos 2 – 6 da fêmea curtos e largos, Ovipositor reto com a bainha 1.9 vezes o comprimento da tíbia posterior (TOWNES, 1971).

Assim como em *Batakocrus*, *Picrostigeus* possui uma série de problemas de identificação, sendo esses dois gêneros separados principalmente pelo metassoma, ovipositor e parâmeros dos machos. Nota-se também algumas diferenças nas características elencadas por Broad (2010) para a diagnose de Townes, como a presença de areolete e da discoidela, que Broad considera ausente nesse gênero.

Os principais caracteres para identificar *Picrostigeus* foram o ovipositor e parâmeros dos machos (Fig. 30 b), junto com as nervações da asa. Todos os espécimes encontrados foram machos, o que a análise molecular nos mostrou não ser confiável, dado que indivíduos com parâmeros grandes são da mesma espécie de indivíduos com ovipositor curtos, curvados e articulados, como de *Batakocrus*.

**Biologia:** Não há nenhuma informação sobre a biologia do grupo.

**Distribuição:** Regiões Paleártica e Neártica, com oito espécies descritas. A última revisão foi feita por Horstmann (1994).

**Comentários:** Não foi feita a análise molecular para nenhum espécime desse gênero e uma revisão cuidadosa se mostra necessária.

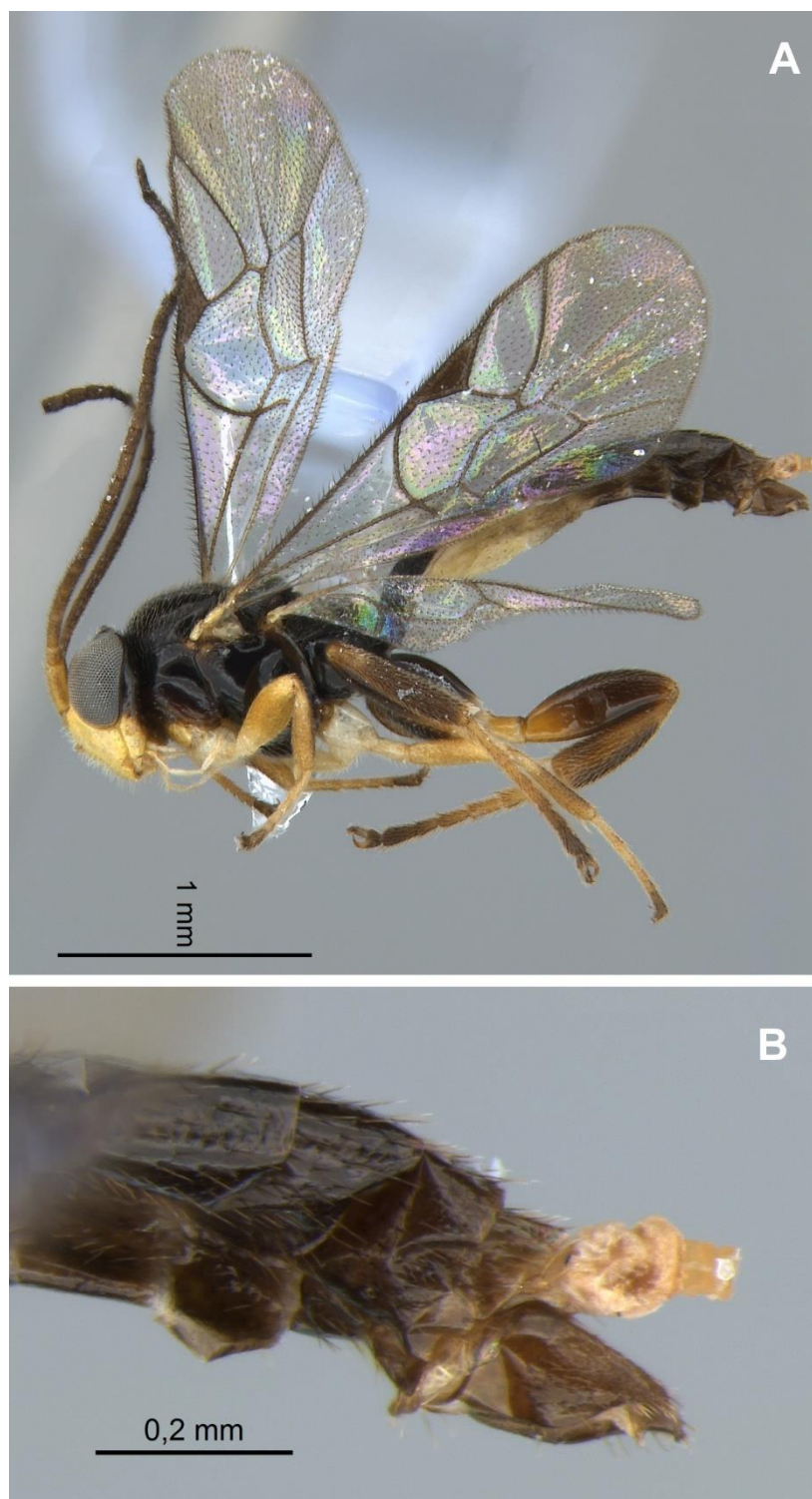


Figura 30: Macho de *Picrostigeus* spp.: **a**, hábito; **b**, detalhe genitália, vista lateral.

#### 5.2.4. *Plectiscus* Gravenhorst, 1829 (Fig. 31)

Espécie Tipo: *Plectiscus impurator* Gravenhorst, 1829

**Diagnose:** A principal característica que separa esse gênero de todos os outros pertencentes ao grupo *Orthocentrus* é a ausência da carena prepectal e a presença da carena pleural do propódeo (Fig. 31 b), o ovipositor é curto e reto, o que junto com a carena pleural do propódeo separa *Plectiscus* de *Neurateles*. Outras características são mesossoma uniformemente setoso, T2 coriáceo ou aciculado e asa anterior com veia 2 rs-m longa e vertical (TOWNES, 1971; BROAD, 2010). Os indivíduos encontrados concordam com essas características.

**Biologia:** Não há informações sobre a biologia do grupo.

**Distribuição:** O gênero tem ocorrência para as regiões Afrotropical, Paleártica e Neártica, com 11 espécies descritas (YU *et al.*, 2016).

**Comentários:** Dos 39 indivíduos coletados, 13 tiveram seu DNA extraído e analisado. Esses foram separados em 3 MOTUs caracterizadas como novas espécies. A tabela 12 nos mostra a distribuição por localidade e gradiente altitudinal dessas MOTUs.

Tabela 12: Distribuição de MOTUs do gênero *Plectiscus* entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A).

	Reserva Biológica Serra do Japi			PARNA Itatiaia			RPPN Alto Montana Itamonte			PARNA Serra da Bocaina			Distribuição	
	895m	1036-1134 m	1183 - 1190 m	786 - 934m	1443 -1652 m	2131- 2451 m	1399-1606m	1612-1652m	2047-2149m	1149 - 1184 m	1446 - 1528 m	1943 - 1969 m		
<i>Plectiscus M1</i>					1	3	2	1	1				1399-2149m	M/A
<i>Plectiscus M2</i>								1	1				1612-2149m	M/A
<i>Plectiscus M3</i>												1	1943-1969m	A

Os resultados indicam uma preferência do gênero por altitudes maiores de 1400 metros.

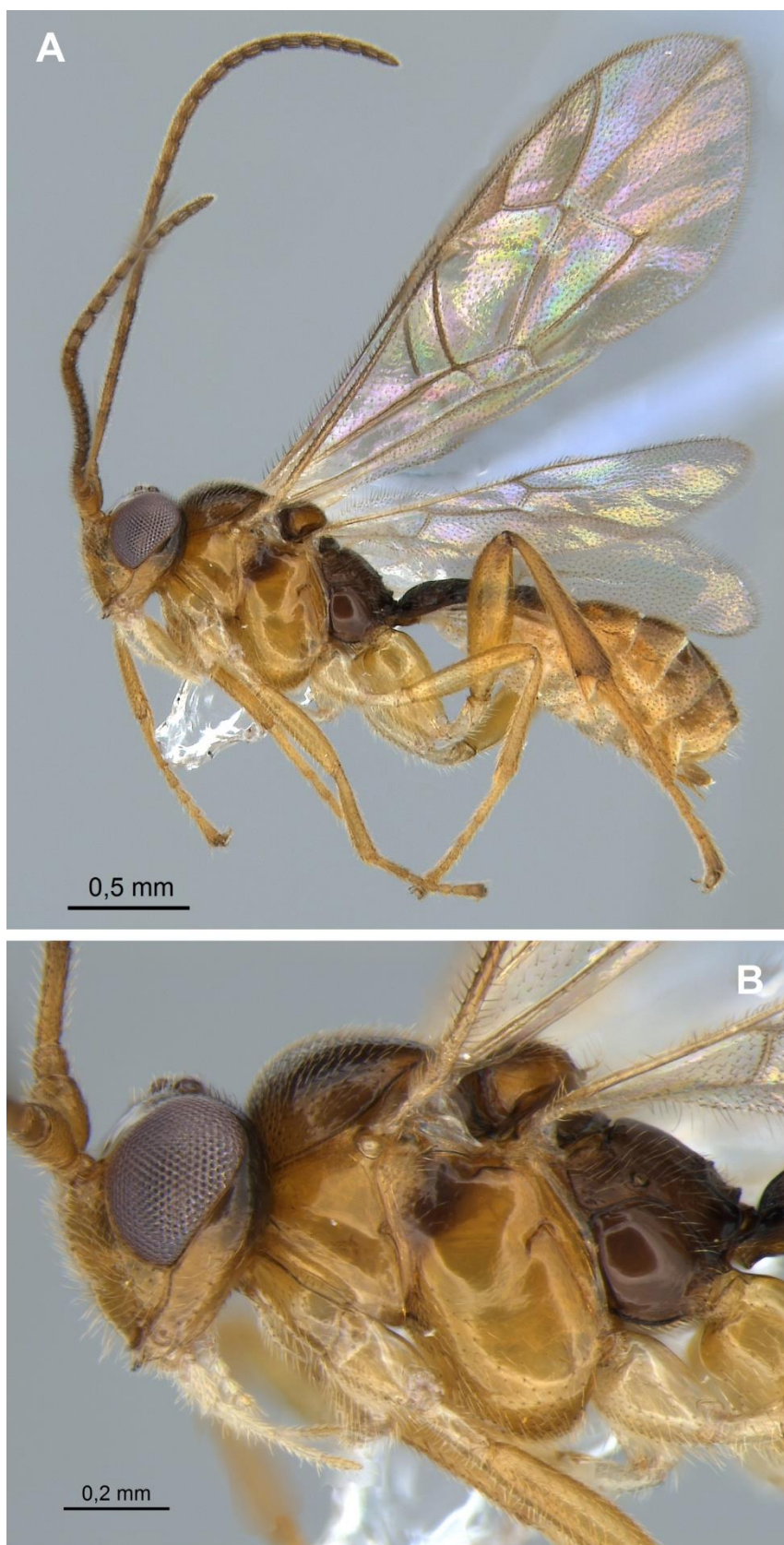


Figura 31: Fêmea de *Plectiscus* spp.: a, hábito; b, mesossoma, vista lateral.

### 5.2.5. *Stenomacrus* Förster, 1869 (Fig. 32)

Espécie Tipo: *Orthocentrus silvaticus* (Holmgren, 1858)

**Diagnose:** Clípeo um pouco mais convexo que a face, de perfil um pouco incurvado, ápice truncado, expondo o labro. Mandíbulas torcidas, dente inferior presente internamente, mas muito pequeno e difícil de ser visualizado (Figs 32 c-d). Carena prepectal presente lateral e dorsolateralmente; propódeo usualmente com carenas na área peçolar, mas ausentes em algumas espécies (Figs 32 e-f). Areolete presente ou ausente, nervelo inclinado ou vertical, sem discoidela. Ovipositor curvo ou reto (TOWNES, 1971). Broad (2010) chamou atenção para espécies de *Stenomacrus* com o metassoma e o ovipositor como o de *Batakomacrus*, capazes de articular e girar. Também coloca como característica do grupo o espaço malar com sulco coriáceo, T2 liso ou estriado longitudinalmente.

O gênero é bastante semelhante à *Chilocyrtus* e, segundo Broad (2010), não há nenhuma característica que os separe de fato, sendo separados pelo clípeo fortemente incurvado em *Chilocyrtus*, a presença do dente interno em *Stenomacrus* (difícilmente visualizado se as mandíbulas estiverem fechadas) e a presença, na maioria das espécies, das carenas do propódeo em *Stenomacrus*. Muitos espécimes foram encontrados sem a carena do propódeo, e com o clípeo levemente incurvado, o que dificultou a identificação (Fig. 32 a). Segundo Broad (2010), esculturação do T2 em *Chilocyrtus* é coriácea ou estriada, e o espaço malar é um sulco liso, o que também foi usado para separar os grupos, porém encontramos espécimes em com o clípeo é reto, espaço malar é um sulco profundo, propódeo com carenas presentes e T2 é coriáceo (Fig. 32 b). O clípeo levemente incurvado, ou reto foi usado como melhor caráter para a identificação.

**Biologia:** Não há nenhuma informação sobre a biologia do grupo.

**Distribuição:** O gênero tem distribuição mundial com 73 espécies descritas, das quais apenas *S. meridionalis* Ashmead, 1900, ocorre na região Neotropical, no Caribe (YU *et al.*, 2016).

**Comentários:** Com base nas características do clípeo, foram encontrados 325 indivíduos, dos quais 187 tiveram seu *DNA* extraído e analisado, o que nos resultou em 40 *MOTUs*. Os resultados demonstram a enorme riqueza ainda desconhecida desse gênero e a importância de um estudo aprofundado.

A tabela 13 nos mostra a distribuição das *MOTUs* em cada localidade e em cada gradiente altitudinal.

Tabela 13: Distribuição de *MOTUs* do gênero *Stenomacrus* entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M e vermelho em altas, A).

	Reserva Biológica Serra do Japi			PARNA Itatiaia			RPPN Alto Montana Itamonte			PARNA Serra da Bocaina			Distribuição	
	895m	1036- 1134 m	1183 - 1190 m	786 - 934m	1443 - 1652 m	2131- 2451 m	1399-1606m	1612-1652m	2047-2149m	1149 - 1184 m	1446 - 1528 m	1943 - 1969 m		
<i>Stenomacrus</i> M1				2				4				1	786-1969m	B/M/A
<i>Stenomacrus</i> M2											1		1446-1528m	M
<i>Stenomacrus</i> M3				1									786-934m	B
<i>Stenomacrus</i> M4				1									786-934m	B
<i>Stenomacrus</i> M5							1	1					1399-1652m	M
<i>Stenomacrus</i> M6	1												895m	B
<i>Stenomacrus</i> M7				1									786-934m	B
<i>Stenomacrus</i> M8							1		8				1399-2149m	M/A
<i>Stenomacrus</i> M9							1						1399-1606m	M
<i>Stenomacrus</i> M10				1									786-934m	B
<i>Stenomacrus</i> M11							11	6	10				1399-2149m	M/A
<i>Stenomacrus</i> M12		1					1						1036-1606m	B/M
<i>Stenomacrus</i> M13				4				1				1	786-1969m	B/M/A
<i>Stenomacrus</i> M14							1						1399-1606m	M
<i>Stenomacrus</i> M15							1						1399-1606m	M
<i>Stenomacrus</i> M16							1			1			1149-1606m	B/M
<i>Stenomacrus</i> M17								1					1612-1652m	M
<i>Stenomacrus</i> M18		3	2										1036-1190m	B/M

<i>Stenomacrus</i> M19		3		1								786- 1134m	B
<i>Stenomacrus</i> M20			2									1183- 1190	M
<i>Stenomacrus</i> M21		1										1036- 1134m	B
<i>Stenomacrus</i> M22								2				2047- 2149m	A
<i>Stenomacrus</i> M23											1	1943- 1969	A
<i>Stenomacrus</i> M24								2				2047- 2149m	A
<i>Stenomacrus</i> M25							1					1612- 1652m	M
<i>Stenomacrus</i> M26								1				20147- 2149m	A
<i>Stenomacrus</i> M27							1	13		2	2	1446- 2149m	M/A
<i>Stenomacrus</i> M28								1				2047- 2149m	A
<i>Stenomacrus</i> M29								1				2047- 2149m	A
<i>Stenomacrus</i> M30										1		1149- 1184m	B
<i>Stenomacrus</i> M31							1	1				1612- 2149m	M/A
<i>Stenomacrus</i> M32								1				2047- 2149m	A
<i>Stenomacrus</i> M33										1		1446- 1528m	M
<i>Stenomacrus</i> M34		2					7	13				1036- 2149m	B/M/A
<i>Stenomacrus</i> M35										1		1446- 1528m	M
<i>Stenomacrus</i> M36						1	1					1399- 1652m	M
<i>Stenomacrus</i> M37		1	2									1036- 1190m	B/M
<i>Stenomacrus</i> M38						1		5				1399- 2149m	M/A
<i>Stenomacrus</i> M39				1		1		3				786- 2149m	B/M/A
<i>Stenomacrus</i> M40								38			1	1943- 2149m	A

As *MOTUs* M1, 13, 34 e 39 se distribuem em todos os gradientes altitudinais, possuindo ampla distribuição. M 22,23,24,26,28,29,32 e 40 ocorreram apenas nas altitudes acima de 1900 metros, indicando a possibilidade de serem endêmicas. A altitude mediana poderia ser considerada preferencial, porém o esforço amostral foi maior nessa altitude, o que impede que façamos essa afirmação.



Figura 32: *Stenomacrus* spp.: **a**, hábito de fêmea com clipeo levemente curvo e propódeo sem carenas; **b**, hábito de fêmea com clipeo reto e propódeo com carenas; **c**, face com clipeo levemente curvo; **d**, face com clipeo reto; **e**, propódeo sem carenas, vista dorsal; **f**, propódeo com carenas, vista dorsal.

### 5.2.6. *Chilocytrus* Townes, 1971 (Fig. 33)

Espécie Tipo: *Chilocytrus carinatus* Townes, 1971

**Diagnose:** Townes (1971) descreveu o gênero como semelhante à *Stenomacrus*, diferenciando-se pelo clipeo fortemente convexo, com o ápice fortemente impresso, pela ausência do dente inferior na mandíbula e ausência das carenas medianas e apical do propódeo (Fig. 33). Broad (2010) considerou para a identificação o clipeo como apicalmente incurvado, espaço malar como sulco, T2 coriáceo ou estriado e ovipositor longo e curvo.

Como já discutido, o gênero é bastante semelhante a *Stenomacrus*, dessa maneira, a principal característica para identificar *Chilocytrus* é o clipeo fortemente incurvado apicalmente (Fig. 33 b).

**Biologia:** Não há nenhuma informação sobre a biologia do grupo.

**Distribuição:** O gênero possui duas espécies descritas, *C. carinatus* Townes, 1971, para a região Neotropical, incluindo o Brasil, e *C. hortorum* Seyrig, 1934, para a região Afrotropical. Esta última tinha sido inicialmente identificada como *Stenomacrus*. Após Townes, 1971, nenhum outro trabalho foi feito para o grupo.

**Comentários:** Foram coletados 48 indivíduos, dos quais 10 tiveram seu *DNA* extraído e analisado, resultando em 5 *MOTUs*. A distribuição dessas entre as localidades e os gradientes altitudinais encontram-se na tabela 14.

Tabela 14: Distribuição de *MOTUs* do gênero *Chilocytrus* entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M e vermelho em altas, A).

	Reserva Biológica Serra do Japi			PARNA Itatiaia			Instituto Alto Montana Itamonte			Serra da Bocaina			Distribuição	
	895m	1036- 1134 m	1183 - 1190 m	786 - 934m	1443 -1652 m	2131- 2451 m	1399-1606m	1612-1652m	2047-2149m	1149 - 1184 m	1446 - 1528 m	1943 - 1969 m		
<i>Chilocytrus M1</i>									1				2047-2149m	A
<i>Chilocytrus M2</i>									1				2047-2149m	A
<i>Chilocytrus M3</i>		1		1	1							2	786-1969m	B/M/A
<i>Chilocytrus M4</i>	1												895m	B
<i>Chilocytrus M5</i>								1	1				1612-2149m	M/A

A *MOTU* 3 distribui-se por todo gradiente altitudinal, as *MOTUs* 1 e 2 ocorrem na maior altitude, podendo indicar endemismo.



Figura 33: Fêmea de *Chilocyrtus* sp.: a, hábito; b, face; c, propódeo, vista dorsal.

### 5.3. Grupo de Gêneros *Helictes*

Todos os gêneros pertencentes à subfamília Orthocentrinae, exceto os pertencentes ao grupo de gêneros *Orthocentrus*, foram reagrupados em Microleptinae, Oxytorinae e depois em Helictinae, sendo finalmente sinonimizados em Orthocentrinae. Estes, pertencentes ao que Quicke (2009) chamou de *Helictes group* encontram-se na chave para a subfamília Helictinae do trabalho de Dash (1992) e caracterizam-se por possuírem o clipeo separado da face por um sulco, o que os difere do grupo de gêneros *Orthocentrus* (Fig. 34).



Figura 34: Face de *Pantisarthrus* sp., demonstrando o cíleo separado da face característicos ao grupo de gêneros *Helictes*

Os gêneros desse grupo que hoje pertencem e completam a subfamília Orthocentrinae são: *Aniseres*, *Aperileptus*, *Apoclima*, *Atabulus*, *Dialipsis*, *Entypoma*, *Fennomacrus*, *Gnathochorisis*, *Helictes*, *Hemiphanes*, *Megastylus*, *Neoproclitus*, *Pantisarthrus*, *Plectiscidea*, *Plectiscus*, *Proclitus*, *Proliator*, *Sphingozona*, *Symplecis*.

Desses gêneros, estudamos 189 indivíduos de *Megastylus*, 98 de *Gnathochorisis*, 21 de *Proclitus*, 59 de *Eusterinx*, 15 de *Symplecis* e 30 de *Pantisarthrus*. Desses, 28 *Megastylus*, 17 *Gnathochorisis*, 5 *Proclitus* e 6 *Eusterinx* tiveram seu DNA extraído e o COI sequenciado. Estes resultados encontram-se na topologia no Apêndice 1. A figura 48 mostra o número de *MOTUs* de cada gênero encontrado:

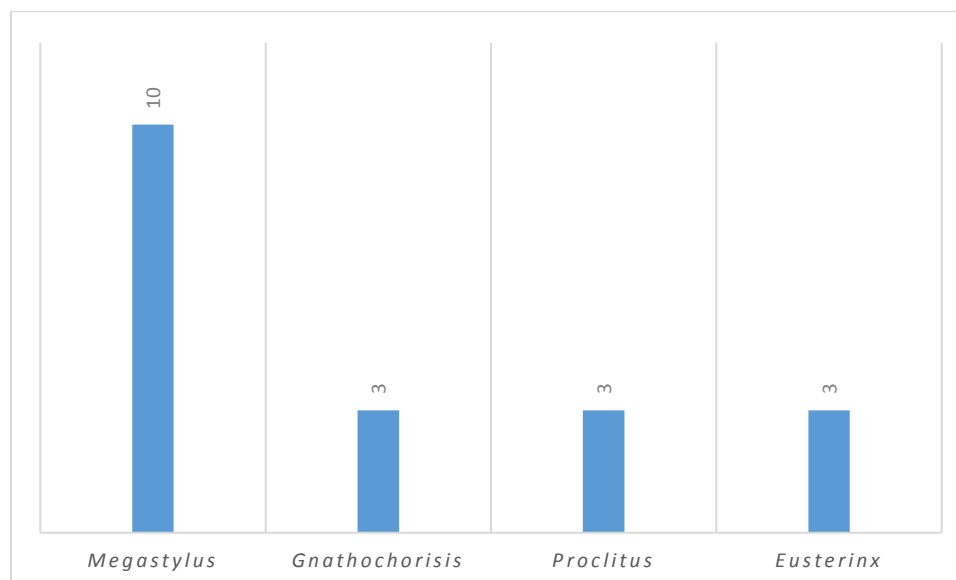


Figura 35: Gráfico com o número de *MOTUs* dos gêneros pertencentes ao grupo *Helictes*

A seguir discutiremos mais de cada um dos gêneros.

### 5.3.1. *Megastylus* Schiodte, 1838

Espécie Tipo: *Megastylus curentator* Schiodte, 1838

**Diagnose:** A principal característica é o escapo grande e oval, inflado e com uma membrana proeminente em espécimes secos (Fig. 36). Clípeo fortemente convexo, esterno do T1 fundido ao tergo, glima ausente, epipleura do segundo e terceiro segmentos separadas dos respectivos tergos por uma carena, areolete ausente e ovipositor 0.2–0.4x o comprimento da tíbia posterior.

O gênero possui dois subgêneros: *Megastylus* e *Dicolus* que se diferenciam pela presença de um sulco transversal no propódeo que em *Dicolus* localiza-se distante do pós-escutelo à 0.25-0.30 do comprimento do propódeo, em *Megastylus* este sulco fica bem próximo ao pós-escutelo (DASH, 1992).

Tipo de *Dicolus*: *Dicolus insectator* Foerster, 1871



Figura 36: *Megastylus* sp.: Detalhe do escapo oval, inflado e com membrana proeminente, característico do gênero.

**Biologia:** Wahl (1996), descreveu a espécie *Megastylus panamenis* que emergiu de *Procelopratus beluus* (Diptera: Keroplastidae). Humala, (2017) descreveu espécies de *Megastylus* que emergiram de larvas de Keroplastidae encontradas em raízes de orquídeas de um viveiro, *Lyprauta chacoensis*, *Lyprauta cambria* e *Procelopratus trinidadensis* e o autor não soube especificar se o parasitoide é de todas essas espécies ou de uma delas por que as pupas dos hospedeiros eram muito semelhantes. *Megastylus* mostrou-se endoparasitoide cenobionte e solitário. O autor descreveu a pupa como marrom, semi-translúcida, firme e com 4.5 mm de comprimento e 1.3 mm de diâmetro. O hospedeiro foi totalmente consumido. As raízes das orquídeas encontravam-se danificadas, provavelmente causado pelas larvas de Keroplastidae.

**Distribuição:** O gênero possui distribuição mundial com 38 espécies descritas (YU *et al.*, 2016), sendo três para a região Neotropical: *Megastylus (Megastylus) panamenis* Wahl, 1997, *Megastylus (Dicolus) kasparyani* Humala, 2014 e *Megastylus (Dicolus) pectoralis* (Foerster, 1871). Nenhuma espécie já foi citada para o Brasil.

**Comentários:** Os 28 indivíduos que tiveram seu DNA analisado foram organizados em 10 MOTUs. A análise da morfologia desses indivíduos mostrou que todos são pertencentes ao subgênero *Megastylus* e ao serem comparadas com a descrição de *Megastylus panamenis*

comprovou-se que estas caracterizam espécies novas. A distribuição dessas espécies entre as localidades e o gradiente altitudinal encontram-se na tabela abaixo:

Tabela 15: Distribuição de *MOTUs* do gênero *Megastylus* entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A)

	Reserva Biológica Serra do Japi			PARNA Itatiaia			RPPN Alto Montana Itamonte			PARNA Serra da Bocaina			Distribuição	
	895m	1036-1134 m	1183 - 1190 m	786 - 934m	1443 -1652 m	2131- 2451 m	1399-1606m	1612-1652m	2047-2149m	1149 - 1184 m	1446 - 1528 m	1943 - 1969 m		
<i>Megastylus M1</i>							10					1	1399-1969m	M/A
<i>Megastylus M2</i>							1						1366-1606m	M
<i>Megastylus M3</i>							1	1					1399-1652m	M
<i>Megastylus M4</i>											1		1446-1528m	M
<i>Megastylus M5</i>		1					1	1				1	1036-1969m	B/M/A
<i>Megastylus M6</i>												3	1943-1969m	A
<i>Megastylus M7</i>	1												895m	B
<i>Megastylus M8</i>				1									786-934m	B
<i>Megastylus M9</i>					1								1443-1652m	M
<i>Megastylus M10</i>							3						1399-1606m	B

Constatamos que o gênero possui distribuição em todo gradiente altitudinal, com indicação que a espécie M1 tem preferência por habitats acima de 1400 m, e que M6 é tem preferência para altitudes a cima 1900 m.

#### **Comentários Gerais das espécies de *Megastylus*:**

As 10 espécies encontradas não apresentaram grandes diferenças morfológicas entre si. Todas possuem o corpo inteiro coriáceo, variando a intensidade da esculpturação, algumas um pouco mais lisas e outras que tem um pouco de rugosidade junto. A coloração também sempre ficou em um padrão de tons de amarelo e tons de marrom, no geral com a região lateral e ventral

amarela e o dorso mais marrom. Com exceção das espécies M5 e M7 que possuem a região dorsal amarelada e um padrão bandeado de cores, sendo a primeira com bandas em quase todo o corpo e a segunda apenas nas pernas traseiras.

As maiores variações encontradas foram no tamanho da antena e de seus flagelos, relação entre o comprimento e a largura do apice do primeiro tergito metassomal e o tamanho do ovipositor, além da presença ou ausência de epomia, esternaulo e notaulice. A carena epicnemial só estava ausente na M10.

Apesar da variação morfológica não ser tão evidente, a variação molecular foi relativamente grande. Com exceção de M2 e M3 que ficaram no limite da separação de espécies, com 0.02 (2%) de divergência entre seus nucleotídeos, o restante se mostrou uma diferença de até 20%, como mostra a tabela à seguir, gerada a partir do modelo de análise *Maximum composite likelihood* (TAMURA, *et al.*, 2004).

Tabela 16: Estimativa de Divergência Evolucionária entre Sequências de *Megastylus spp.*

	M10	M7	M9	M4	M5	M6	M3	M2	M1
Megastylus_M10									
_Megastylus_M7	0,1585								
Megastylus_M9	0,1774	0,2009							
Megastylus_M4	0,1635	0,0898	0,2086						
Megastylus_M5	0,1751	0,1116	0,2224	0,0850					
_Megastylus_M6	0,1831	0,1482	0,2049	0,1280	0,1453				
Megastylus_M3	0,1751	0,1293	0,2216	0,1332	0,1490	0,1546			
Megastylus_M2	0,1691	0,1276	0,2192	0,1251	0,1384	0,1438	0,0208		
Megastylus_M1	0,1923	0,1252	0,2133	0,1006	0,1204	0,1364	0,1080	0,1066	
_Megastylus_M8	0,2069	0,1593	0,2238	0,1397	0,1366	0,1785	0,1825	0,1756	0,1672

### ***Megastylus sp. nov. 1 (Fig. 37)***

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379096) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21’13’’W44°47’49’’ Armadilha Moericke 01 (1.399m) 13-16.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M Soares col. Paratypes: 8F# (DCBUMO 379094, 379097, 379100, 379104) same information as holotype, (DCBUMO 379095, 379099) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21’13’’W44°47’49’’ Armadilha Moericke 01 (1.399m) 16-19.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M Soares col., (DCBUMO 379102) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21’16’’W44°47’56’’ Armadilha Malaise 01 (1.443m) 13-

21.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M Soares col., (DCBUMO 379101) “São José do Barreiro, SP, Brasil PARNA da Serra da Bocaina S22°45’17’’W44°38’36’’ Armadilha Malaise 09 (1943m) 12-20.XI.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares, 2M# (DCBUMO 379098) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21’13’’W44°47’49’’ Armadilha Moericke 01 (1.399m) 13-16.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M Soares col. (DCBUMO 379103) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21’13’’W44°47’49’’ Armadilha Moericke 01 (1.399m) 16-19.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M Soares col.,

*Diagnosis:* This species can be identify by having the face yellow, anterior gena white, posterior gena and head dark brown, metasomal tergites 3 and 4 whitish and antennae with 37 flagellomeres, first flagellomere length 4.0-4.8x width.

*Description of holotype* F# (Fig. 37 a): body length 3.62 mm.

*Color.* Face, scape and pedicel, pronotum, mesopleura, and legs mostly yellow. Mandibles yellow with teeth apex brown; palpi and anterior gena white; posterior gena and head brown to dark brown; antennae flagellomeres, mesoscutum, scutellum and propodeum brown. Fore and middle coxae, trochanter and trochantellus yellow whitish, apex of hind tibia and hind tarsomeres light brown. Metasomal tergite 1 dark brown, tergite 2 light brown, tergite 3 and 4 whitish, tergite 5-8 light brown. Sternites 1 and 4 white remaining light brown, ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings yellow.

*Head.* Antennae with 37 flagellomeres; first flagellomere length 4.8x width, second flagellomere length 1.8x width. Face and head coriaceous with sparse setae, face width 1.6x height, malar space 2.5x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.25x height (Fig. 37 b). Eye–ocellar distance 0.8x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous without epomia. Mesopleuron coriaceous, with epicnemial carina and sternaulus, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth to slightly coriaceous, (Fig. 37 c). Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus absent, prescutellar groove coriaceous without carinae. Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 37 d).

*Metasoma.* All tergites coriaceous, the last ones lighter. Tergite 1 length 2x apical width (Fig. 37 e). Ovipositor 0.27x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.6 mm, hind wing length 1.8 mm. Areolete absent.

*Variation:* Some specimens can be darker, with head black, pronotum, mesopleuron

anterior and hind coxae light brown, mesoscutum and scutellum dark brown and propodeum black. Body length: 3.5- 4.03 mm. Fore wing length 2.3- 2.6 mm, hind wing length 1.8-2.2. mm. first flagellomere length 4.1- 4.8x width, second flagellomere length 1.8-2.1x width; face width 1.5- 1.6x height, malar space 2.1- 2.5x basal width of mandible, Clypeus width 1.2- 1.7x height. Eye-ocellar distance 0.7- 0.8x greatest diameter of lateral ocellus. Tergite 1 length 1.7- 2x apical width

*Male.* Similar to female, except by the color lighter. Face, mandible, palpi, fore and middle coxae pale. Head brown; antennae flagellomeres, mesoscutum, scutellum, propodeum and metasomal tergite 1 light brown. Body length: 3.0 mm; Fore wing length: 2.4 mm, hind wing length: 1.7 mm (Fig. 37 f).

*Distribution:* Brazil, Minas Gerais and São Paulo.

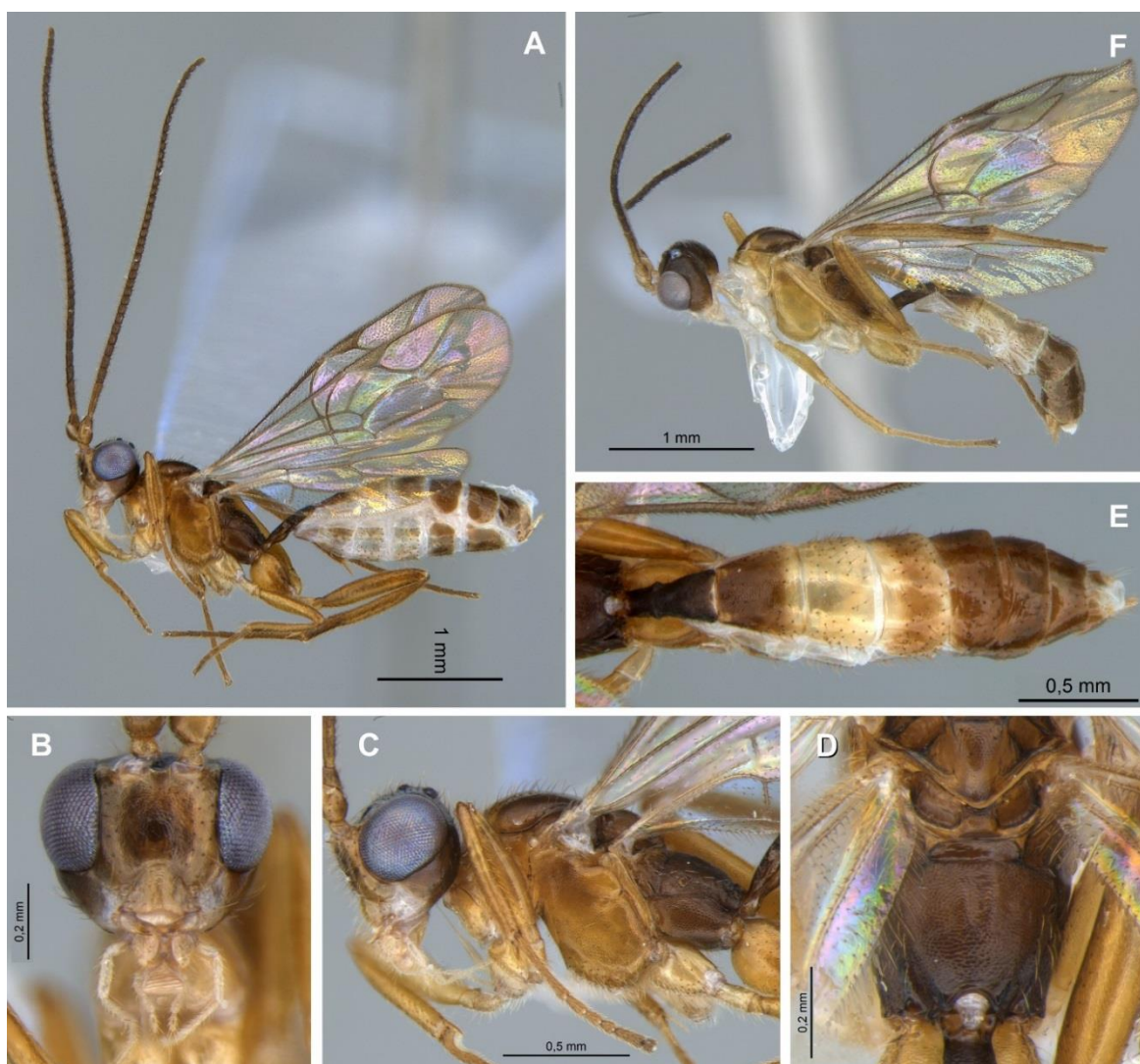


Figura 37: *Megastylus sp. nov.* 1: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, propodeum, dorsal view; **e**, metasoma, dorsal view; **f**, male habitus

***Megastylus sp. nov. 2 (Fig. 38)***

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379105) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21’35’’W44°47’57’’ Armadilha Malaise 03 (1.605m) 03-21.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M Soares col. (Antennae broken)

*Diagnosis:* This species can be identify by the face light brown, head dark brown, anterior gena white, remaining gena dark brown, and tergite 2 brown with apex pale yellow, tergite 3 pale yellow, epomia, sternaulus and notaulus present.

*Description of holotype* F# (Fig. 38 a): body length 2.9 mm.

*Color.* Face, scape, pedicel and antennae flagellomeres light brown; clypeus and mandibles light brown to yellow with teeth apex brown; palpi white; genae mostly dark brown, with part between eyes and mandible forming a white triangle; head dark brown; pronotum and mesopleuron yellow, mesoscutum and scutellum brown, propodeum dark brown. Legs mostly yellow, hind legs with coxae apex, dorsal tibia and all tarsomeurus light brown. Metasomal tergite 1 dark brown, tergite 2 brown with apex pale yellow, tergite 3 pale yellow, remaining brown. Sternites whitish with light brown spots, ovipositor sheets pale yellow. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae broken; first flagellomere length 4.8x width, second flagellomere length 1.8x width. Face and head coriaceous with sparse setae, face width 1.7x height, malar space 2.5x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.3x height (Fig. 38 b). Eye–ocellar distance 1.0x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous with epomia small presente only anteriorly. Mesopleuron coriaceous, with epicnemial carina and sternaulus, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth to slightly coriaceous, (Fig. 38 c). Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus present, but shallow, prescutellar groove coriaceous without carinae (Fig. 38 d). Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 38 e).

*Metasoma.* All tergites coriaceous. Tergite 1 length 2x apical width (Fig. 38 f). Ovipositor very short, 0.13x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.3 mm, hind wing length 1.2 mm. Areolete absent.

*Male.* Unknow

*Distribution:* Brazil, Minas Gerais.



Figura 38: *Megastylus sp. nov. 2*: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, mesoscutum, dorsal view; **e**, propodeum, dorsal view; **f**, metasoma, dorsal view;

***Megastylus sp. nov. 3 (Fig. 39)***

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379106) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21’35’’W44°47’57’’ Armadilha Malaise 03 (1.605m) 03-21.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M Soares col. Paratype: F# (DCBUMO 379107) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21’52’’W44°48’02’’ Armadilha Malaise 06 (1.652m) 03-21.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M Soares col. (legs broken)

*Diagnosis:* This species can be identified by face and head all brown to dark brown, epomia, sternaulus and notaulus absent.

*Description of holotype* F# (Fig. 39 a): body length 3.3 mm.

*Color.* Face, scape, pedicel and antennae flagellomeres, gena, head brown to dark brown; clypeus and mandibles yellow; palpi white; pronotum and mesopleuron yellow, mesoscutum, scutellum and propodeum brown to dark brown. Legs mostly yellow, hind coxae apex, tibia and tarsomerus light brown. Metasomal tergite 1 and 2 brown to dark brown, apex of tergite 2 and tergite 3 pale yellow, remaining brown. Sternites whitish with light brown spots, ovipositor sheets pale yellow. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae with 40 flagellomeres; first flagellomere length 4.2x width, second flagellomere length 2.0x width. Face and head coriaceous with sparse setae, face width 1.7x height, malar space 3.5x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.95x height (Fig. 39 b). Eye–ocellar distance 0.6x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous epomia absent. Mesopleuron coriaceous, with epicnemial carina present and sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove coriaceous, (Fig. 39 c). Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus absent, prescutellar groove slightly crenulate without carinae (Fig. 39 d). Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 39 e).

*Metasoma.* All tergites coriaceous. Tergite 1 length 2,6x apical width (Fig. 39 f). Ovipositor very small, 0.16x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.2 mm, hind wing length 1.2 mm. Areolete absent.

*Male.* Unknow

*Distribution:* Brazil, Minas Gerais.

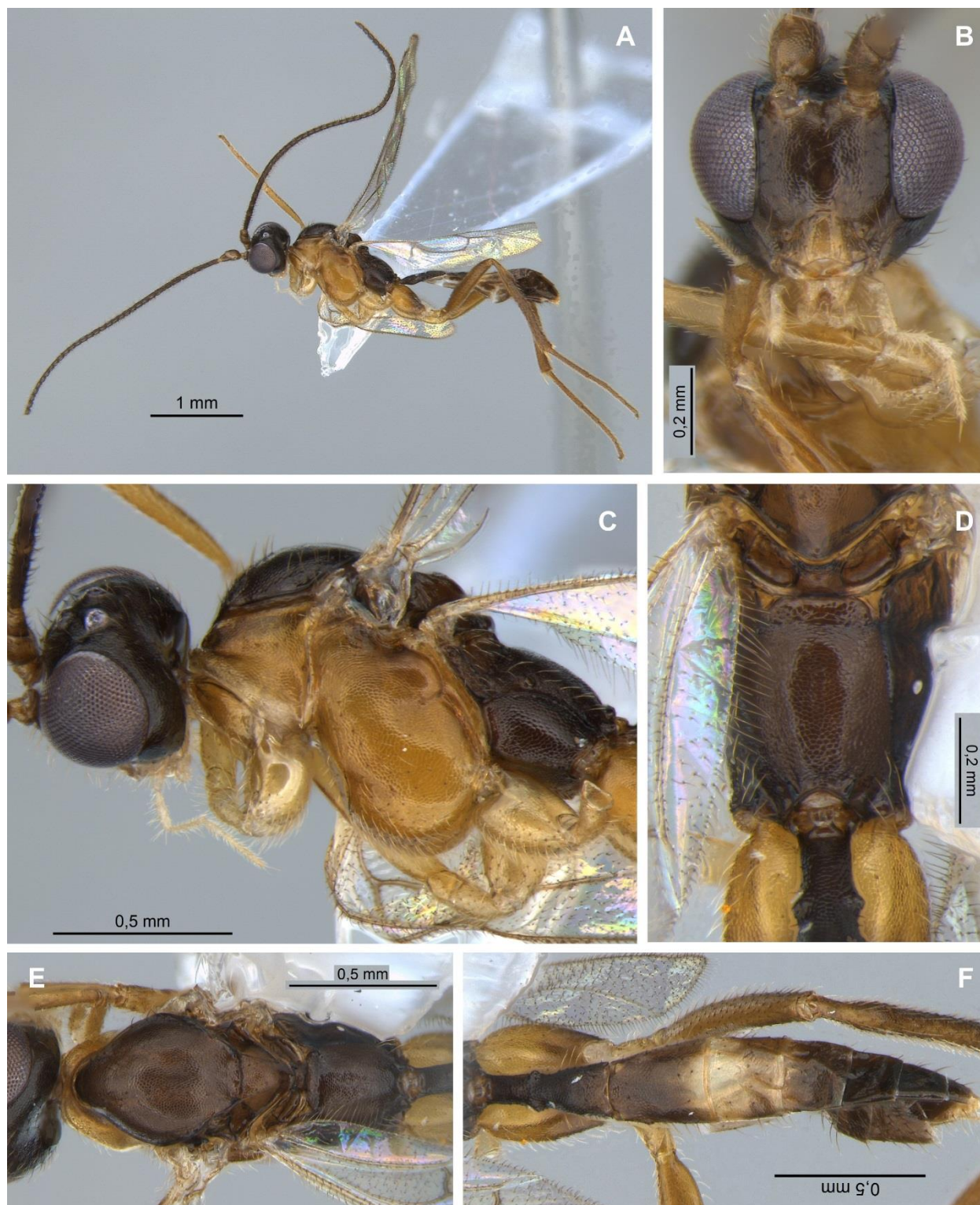


Figura 39: *Megastylus sp. nov. 3*: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, mesoscutum, dorsal view; **e**, propodeum, dorsal view; **f**, metasoma, dorsal view;

***Megastylus sp. nov. 4 (Fig. 40)***

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379108) “São José do Barreiro, SP, Brasil PARNA da Serra da Bocaina S22°44'02''W44°37'04'' Armadilha Malaise 04 (1489m) 12-20.XI.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares

*Diagnosis:* this species can be identify by the presence of a pale spot in half moon format on tergite 3, which has the lateral and the apex light brown, also antennae with 44 flagellomeres, first flagellomere length 6.5x width.

*Description of holotype* F# (Fig. 40 a): body length 4.2 mm.

*Color.* Face, scape, pedicel and antennae flagellomeres light brown; clypeus and mandibles light brown to yellow with teeth apex brown; palpi white; genae brown, head brown to dark brown; pronotum and mesopleuron yellow, mesoscutum and scutellum light brown, pos scutellum brown and propodeum dark brown to black. Legs mostly yellow, fore and middle coxae and middle trochanter whitish, hind coxae with base dark yellow and apex brown, hind femur with base and apex light brown, dorsal hind tibia and all tarsomeres brown. Metasomal tergite 1 dark brown, tergite 2 brown with apex pale, tergite 3 with a spot pale and the lateral and apex light brown, remaining light brown. Sternites 1-4 whitish with light brown spots remaining light brown, ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings yellow.

*Head.* Antennae with 44 flagellomeres; first flagellomere length 6.5x width, second flagellomere length 1.5x width. Face and head coriaceous with sparse setae, face width 1.8x height, malar space 1.6x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.5x height (Fig. 40 b). Eye–ocellar distance 1.0x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous with epomia small present only anteriorly. Mesopleuron coriaceous, with epicnemial carina and sternaulus present, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth to slightly coriaceous, (Fig. 40 c). Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus present, but shallow, prescutellar groove coriaceous without carinae (Fig. 40 d). Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 40 e).

*Metasoma.* All tergites coriaceous. Tergite 1 length 2x apical width (Fig. 40 d). Ovipositor very short, 0.16x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.5 mm, hind wing length 2.0 mm. Areolete absent.

*Male.* Unknow

*Distribution.* Brazil, São Paulo.

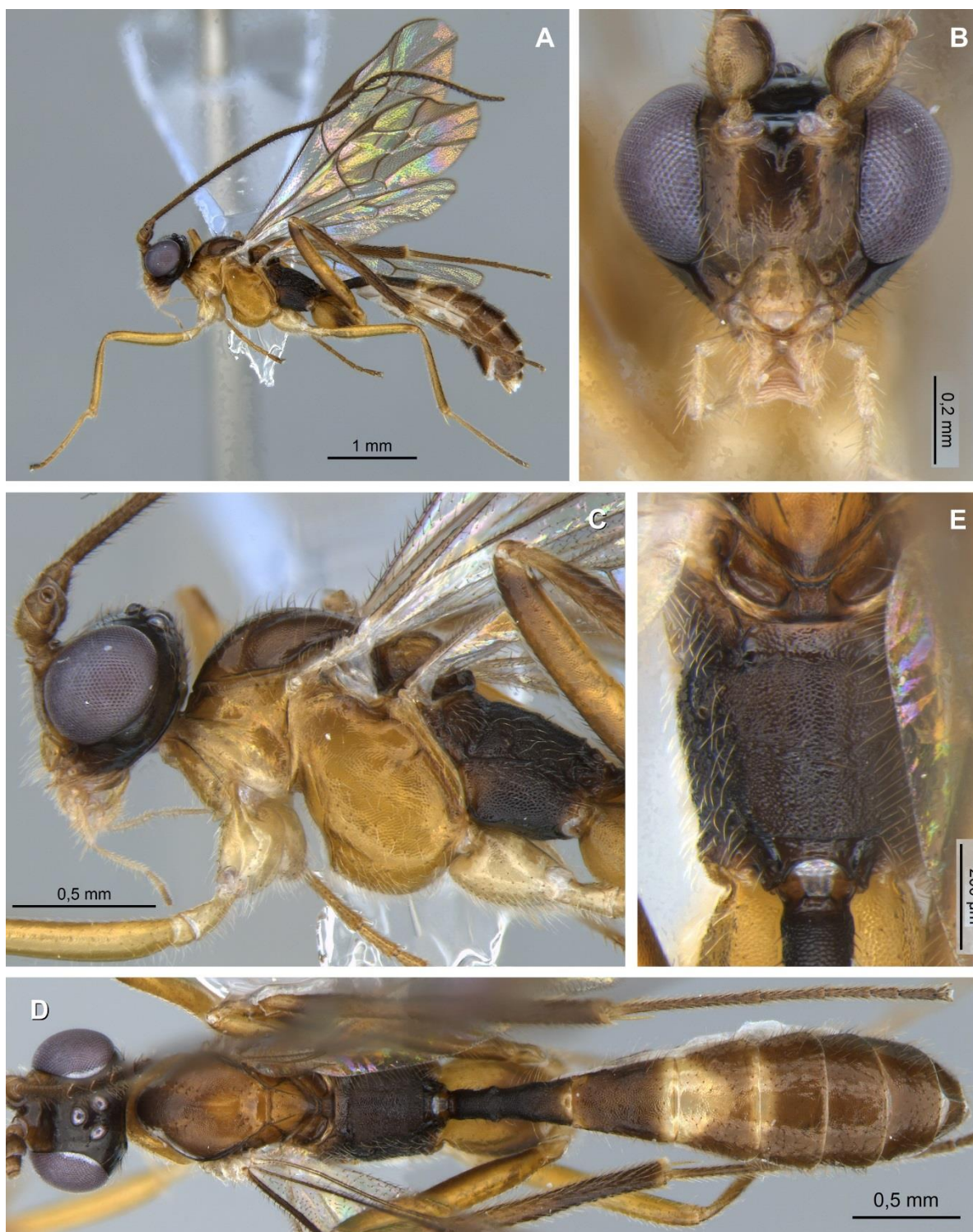


Figura 40: *Megastylus sp. nov. 4*: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, mesosoma and metasoma dorsal view; **e**, propodeum, dorsal view

***Megastylus sp. nov. 5 (Fig. 41)***

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379111) “Jundiaí, SP, Brasil Reserva Biol. Da Serra do Japi S23°14'32''W46°56'12'' Armadilha Moericke 02 (1136m) 18-21.X.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares. Paratype 3 F#: (DCBUMO 379109) Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21'13''W44°47'49'' Armadilha Moericke 01 (1.399m) 16-19.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares col. (DCBUMO 379112) Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21'51''W44°48'00'' Armadilha Malaise 05 (1.637m) 03-21.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares col. (DCBUMO 379110) São José do Barreiro, SP, Brasil, PARNA da Serra da Bocaina S22°45'16''W44°38'35'' Armadilha Malaise 08 (1961m) 12-20.XI.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares col.

*Diagnosis:* This species can be recognize by bandaged coloration on head, propodeum and hind legs, also antennae long, with 44 flagellomeres.

*Description of holotype* F# (Fig. 41 a): body length 5.0 mm.

*Color.* Face, clypeus, mandibles and palpi mostly whitish; fovea region and teeth apex brown; antennae light brown; genae and head brown to dark brown; anterior pronotum whitish, remaining pronotum and mesopleuron yellow, mesoscutum, scutellum and pos scutellum yellow to dark yellow; propodeum with basal, petiolar and antero-lateral area brown, lateral and pleural areae yellow, except ventral part of pleura which is brown. All coxae, trochanter and trochantellus whitish, except apex of hind coxae which is brown, anterior and middle femur, tibia and tarsomerus yellow to light brown, hind femur pale with apex and base brown, hind tibia with base pale followed by a brown band, then another pale band and then the apex brown, hind tarsomerus brown. Metasomal tergite 1 and 2 brown, tergite 3 light brown with base pale, remaining light brown. Sternites 1-4 whitish with light brown spots remaining light brown, ovipositor sheets pale. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae with 44 flagellomeres; first flagellomere length 4.5x width, second flagellomere length 1.8x width. Face and head coriaceous with setae, face width 1.6x height, malar space 1.0x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.5x height (Fig. 41 b). Eye–ocellar distance 0.36x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous with epomia small presente only anteriorly. Mesopleuron coriaceous, with epicnemial carina and sternaulus present, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth to slightly coriaceous, (Fig. 41 c). Mesoscutum and scutellum

coriaceous, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 41 d). Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 41 e).

*Metasoma.* All tergites coriaceous. Tergite 1 length 1.9x apical width (Fig. 41 f). Ovipositor very short, 0.15x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 3.0 mm, hind wing length 2.6 mm. Areolete absent.

*Variation:* Body length 4.0- 6.0 mm; first flagellomere length 3.4- 4.5x width, second flagellomere length 1.0-1.8x width. Face width 1.6-2.0x height, malar space 1.0- 2.0x basal width of mandible, clypeus width 1.5-1.75x height; eye–ocellar distance 0.36-0.6x greatest diameter of lateral ocellus. Tergite 1 length 1.9-2.4x apical width.

*Male.* Unknow

*Distrubution.* Brazil, São Paulo, Minas Gerais.

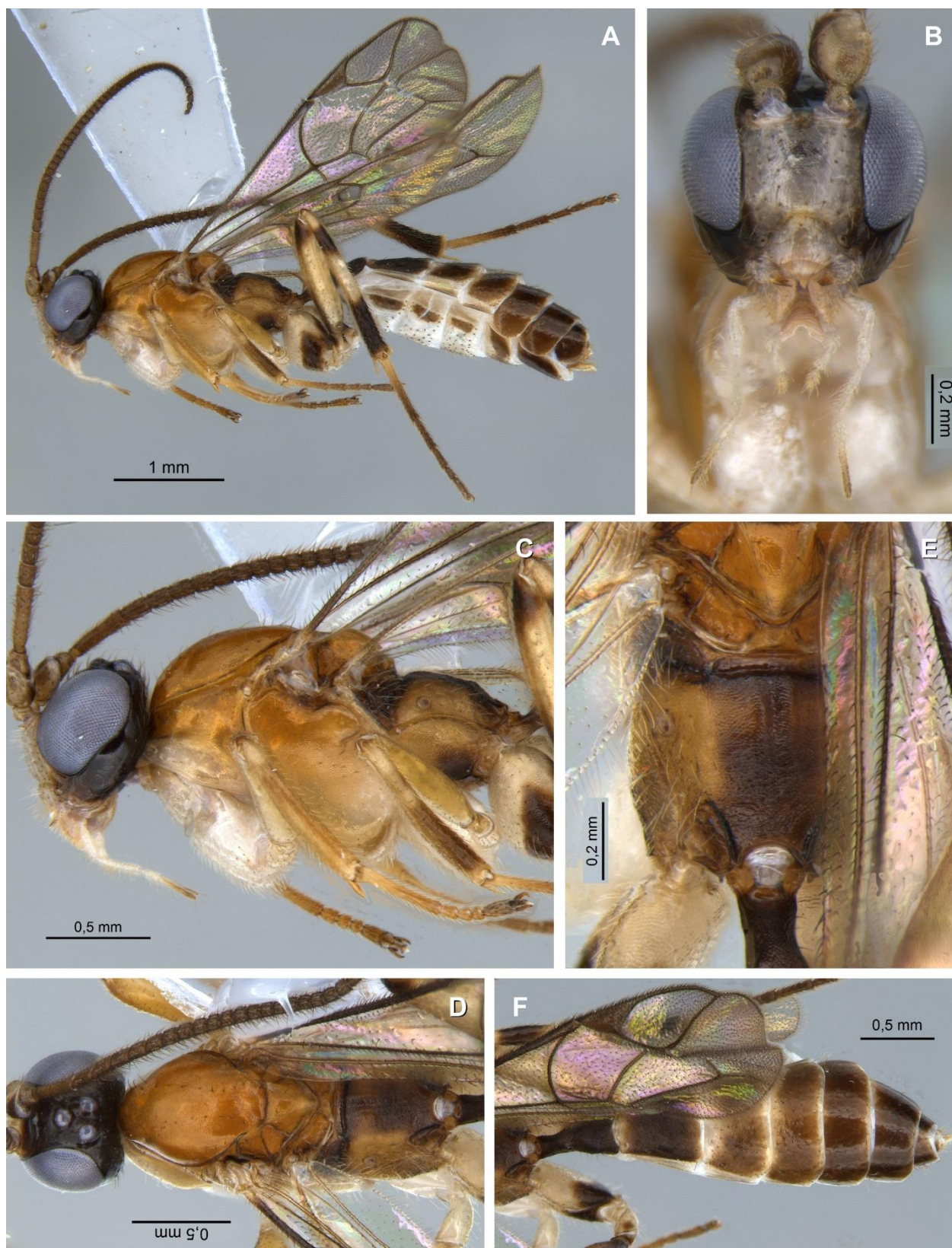


Figura 41: *Megastylus sp. nov. 5*: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, Mesosoma dorsal view; **e**, propodeum, dorsal view; **f**, metasoma, dorsal view;

***Megastylus sp. nov. 6 (Fig. 42)***

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379115) São José do Barreiro, SP, Brasil, PARNA da Serra da Bocaina S22°45'17''W44°38'36'' Armadilha Malaise 09 (1943m) 12-20.XI.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares col. Paratype 2 F#: (DCBUMO 379113, 379114) Same information as holotype

*Diagnosis:* This species can be identify by having the face yellow, anterior gena white, posterior gena and head dark brown, metasomal tergites 3 light yellow and 4 light yellow with apex light brown and antennae with 40 flagellomeres, first flagellomere length 3.5-4.3x width.

*Description of holotype* F# (Fig. 42 a): body length 3.25 mm.

*Color.* Face, clypeus, scape and pedicel light yellow, mandibles and palpi mostly whitish; antennae flagellomeres brown; anterior genae whitish, remaining genae and head dark brown to black; pronotum and mesopleuron yellow, mesoscutum, scutellum and pos scutellum brown to dark brown; propodeum dark brown to black. Legs mostly yellow, middle coxae whitish, hind tibia and tarsomerus light brown. Metasomal tergite 1 dark brown to black, tergite 2 light brown with apex light yellow, tergite 3 light yellow, tergite 4 light yellow with apex light brown, remaining light brown. Sternites light brown, ovipositor sheets pale. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae with 40 flagellomeres; first flagellomere length 3.5x width, second flagellomere length 1.14x width. Face and head coriaceous with setae, face width 1.5x height, malar space 2.2x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.7x height (Fig. 42 b). Eye–ocellar distance 1.3x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous without epomia. Mesopleuron coriaceous, with epicnemial carina present and sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth (Fig. 42 c). Mesoscutum and scutellum coriaceous, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 42 d). Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 42 e).

*Metasoma.* All tergites coriaceous. Tergite 1 length 2.1x apical width (Fig. 42 f). Ovipositor very short, 0.17x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.3 mm, hind wing length 1.5 mm. Areolete absent.

*Variation:* Body length 3.2- 3.5 mm; first flagellomere length 3.5- 4.3x width, second flagellomere length 1.1-1.6x width. Malar space 1.6- 2.2x basal width of mandible, clypeus width

1.4-1.7x height; eye–ocellar distance 0.8-1.3x greatest diameter of lateral ocellus. Tergite 1 length 1.6-2.1x apical width. Ovipositor 0.17- 0.25x length of hind tibia.

*Male.* Unknow

*Distribution.* Brazil, São Paulo.

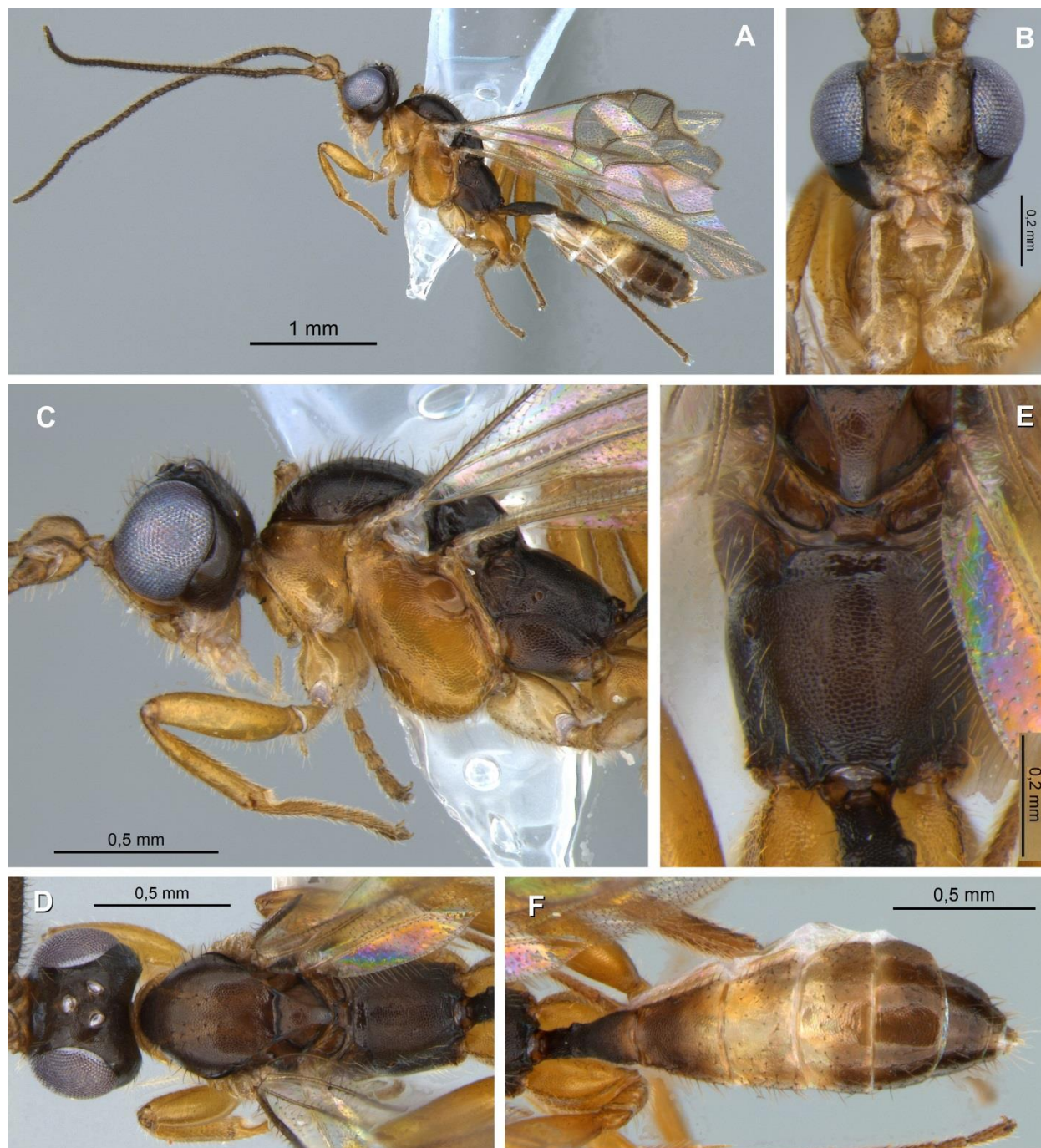


Figura 42: *Megastylus sp. nov.* 6: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, Mesosoma dorsal view; **e**, propodeum, dorsal view; **f**, metasoma, dorsal view;

***Megastylus sp. nov.* 7 (Fig. 43)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379117) “Jundiaí, SP, Brasil Reserva Biol. Da Serra do Japi S23°13’47’’W46°55’23’’ Armadilha Malaise 01 (896m) 13-22.X.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares.

*Diagnosis:* This species can be recognize by the hind legs bandaged, antennae short, with 36 flagellomeres.

*Description of holotype* F# (Fig. 43 a): body length 3.9 mm.

*Color.* Face and head brown to dark brown; clypeus and mandibles pale, palpi whitish; antennae light brown; anterior pronotum whitish, posterior pronotum yellow to light brown, mesopleuron mostly yellow superior region light brown; mesoscutum, scutellum and poscutellum yellow; propodeum mostly brown, superior pleural region yellow. All coxae, trochanter and trochantellus whitish, except hind coxae apex and hind trochantellus apex which is brown, anterior and middle femur, tibia and tarsomerus yellow, hind femur light brown with apex and base brown, hind tibia with base pale followed by a brown band, then another pale band and then the apex brown, first tarsomerus base pale, remaining brown. Metasomal tergite 1 and 2 brown, tergite 3 light brown with base whitish, remaining light brown. Sternites 1-4 whitish with light brown spots remaining light brown, ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae with 36 flagellomeres; first flagellomere length 4.5x width, second flagellomere length 2.0x width. Face and head bright and slightly coriaceous with sparse setae, face width 1.3x height, malar space 0.9x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, smooth to slightly coriaceous, width 1.8x height (Fig. 43 b). Eye–ocellar distance 0.5x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous epomia absente. Mesopleuron coriaceous, with epicnemial carina present and sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth (Fig. 43 c). Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 43 d). Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 43 e).

*Metasoma.* All tergites coriaceous. Tergite 1 length 2.3x apical width (Fig. 43 f). Ovipositor very short, 0.18x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 3.0 mm, hind wing length 2.0 mm. Areolete absent.

*Male.* Unknow

*Distribution.* Brazil, São Paulo.

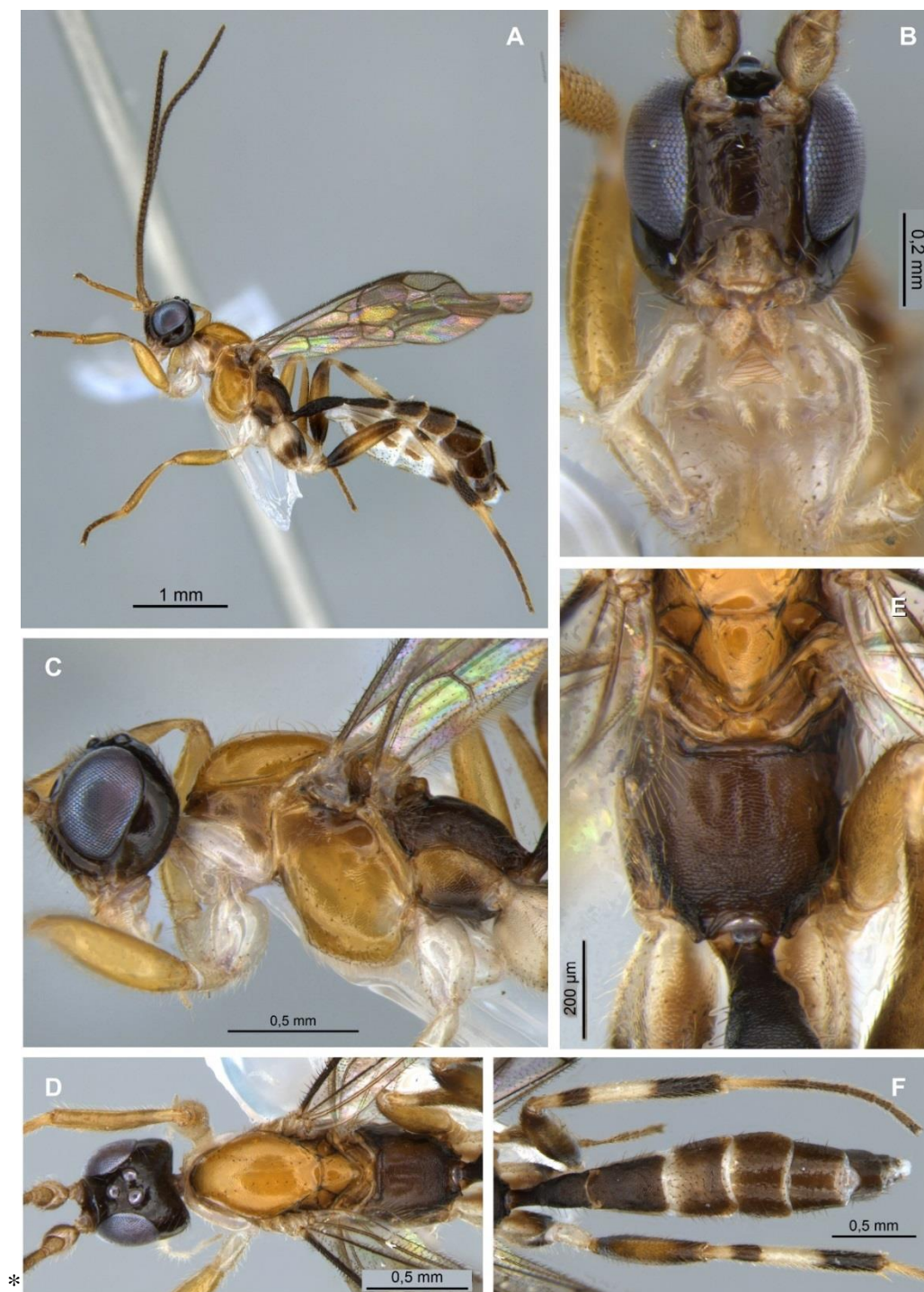


Figura 43: *Megastylus sp. nov.* 7: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, Mesosoma dorsal view; **e**, propodeum, dorsal view; **f**, metasoma, dorsal view;

***Megastylus sp. nov.* 8 (Fig. 44)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379116) “Itatiaia, RJ, Brasil, PARNA de Itatiaia S22°26’45’’W44°36’38’’ Armadilha Malaise 02 (921 m) 11-18.XII.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares (head and legs broken).

*Diagnosis:* This species can be identify by the face light brown, head gena dark brown, and tergite 2 dark brown, tergite 3 light yellow with a brown strip near apex, epomia present, ovipositor 0.27x hind tibia length.

*Description of holotype* F#: body length 4.8 mm.

*Color.* Face, scape and pedicel, clypeus and mandibles light brown, palpi pale; antennae flagellomeres, gena and head dark brown; pronotum and mesopleuron yellow; mesoscutum scutellum and pos scutellum brown to dark brown; propodeum dark brown to black. Anterior legs missing, middle coxae, trochanter and trochantellus whitish trochanter and trochantellus whitish, middle femur, tibia and tarsomeres yellow; hind coxae with base yellow and apex brown, trochanter light brown, trochantellus brown, femur, tibia and tarsomeres light brown. Metasomal tergite 1 and 2 dark brown to black, tergite 3 light yellow with a light brown strip near apex, remaining tergites brown. Sternites 1-4 light brown, remaining brown, ovipositor sheets pale. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae with 37 flagellomeres; first flagellomere length 5.7x width, second flagellomere length 2.4x width. Face bright and coriaceous, head mat and coriaceous, face width 1.76x height, malar space 2.0x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.5x height (Fig. 44 a).

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous epomia absente. Mesopleuron coriaceous, with epicnemial carina present and sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth. Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae. Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 44 b).

*Metasoma.* All tergites coriaceous. Tergite 1 length 2.1x apical width (Fig. 44 c). Ovipositor 0.27x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 3.3 mm, hind wing length 2.4 mm. Areolete absent.

*Male.* Unknow

*Distribution.* Brazil, Rio de Janeiro.

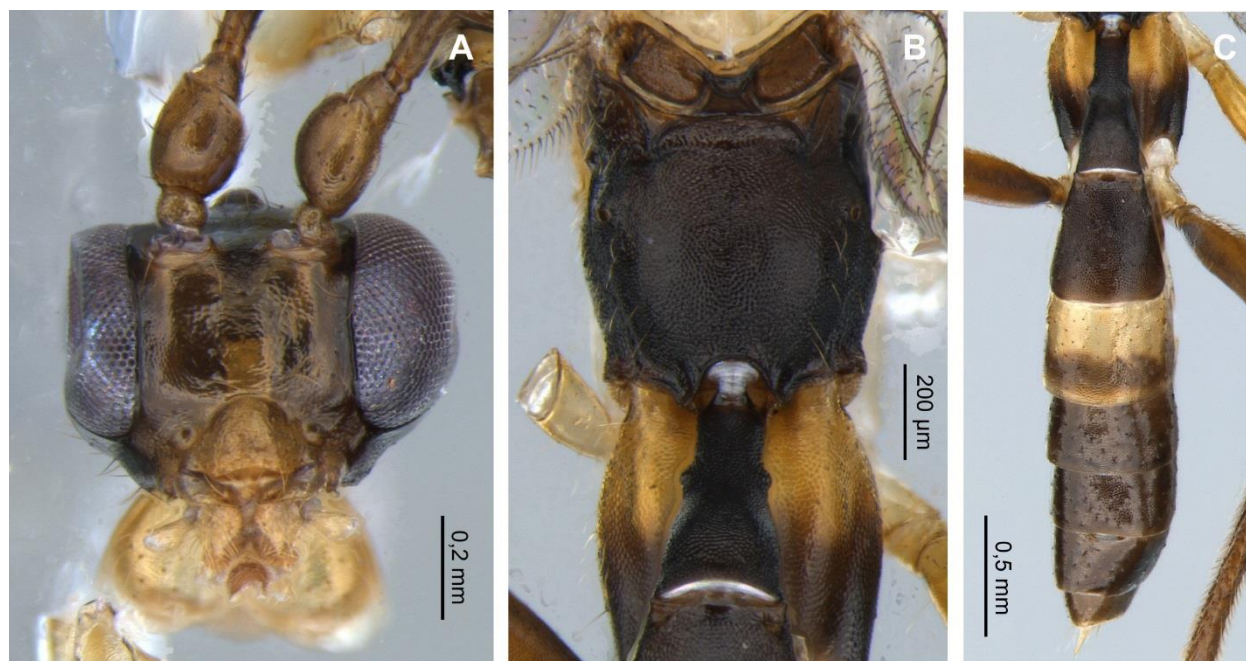


Figura 44: *Megastylus sp. nov.* 8: **a**, face; **b**, propodeum, dorsal view; **c**, metasoma, dorsal view;

***Megastylus sp. nov.* 9 (Fig. 45)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379118) “Itatiaia, RJ, Brasil PARNA Itatiaia S22°25’44’’W44°37’43’’ Armadilha Malaise 05 (1.446m) 11-18.XII.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares. (antennae, head and mesoscutum broken)

**Diagnosis:** This species can be identify by the face and head brown to dark brown, and tergite 2 brown, tergite 3 and 4 pale light brown, ovipositor 0.17x hind tibia length.

**Description of holotype F#:** body length 3.6 mm.

**Color.** Face and head brown to dark brown; clypeus and mandibles yellow, palpi whitish; antennae missing; pronotum yellow, mesopleuron mostly yellow superior region light brown; mesoscutum, scutellum and pos scutellum brown to dark brown; propodeum dark brown. Legs mostly yellow, pro and middle coxae, trochanter and trochantellus whitish, hind tibia and tarsomerus light brown. Metasomal tergite 1 dark brown, tergite 2 brown, tergite 3 and 4 pale light brown, remaining light brown. Sternites light brown, ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings yaline.

**Head.** Antennae missing. Face and head coriaceous with sparse setae, face width 1.67x height, malar space 2.6x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.47x height (Fig. 45 a). Eye–ocellar distance 1.8x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous epomia absente. Mesopleuron coriaceous, with epicnemial carina present and sternaulus absent, mesopleural groove smooth (Fig. 45 b). Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 45 c). Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 45 d).

*Metasoma.* All tergites coriaceous. Tergite 1 length 2.6x apical width. Ovipositor very short, 0.17x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.0 mm, hind wing length 1.45 mm. Areolete absent.

*Male.* Unknow

*Distribution.* Brazil, Rio de Janeiro.

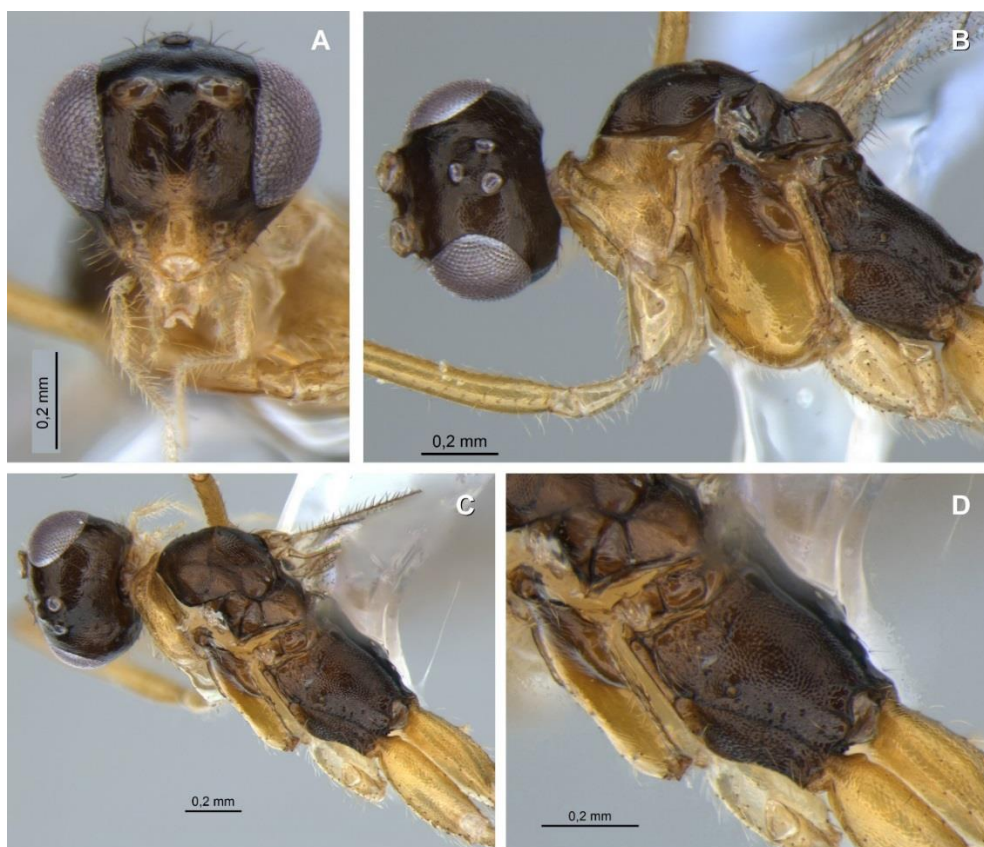


Figura 45: *Megastylus sp. nov.* 9: **a**, face; **b**, mesosoma, lateral view; **c**, mesosoma dorsal view; **d**, propodeum, dorsal view;

***Megastylus sp. nov.* 10 (Fig. 46)**

**Examined material:** Holotype: M# (DCBUMO 379119) “Itamonte, MG, Brasil, Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S22°21’13’’W44°47’49’’ Armadilha Moericke 01 (1399m) 16-

19.IX.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares. Paratype: 2M# DCBUMO (379120- 379121) Same information as holotype

*Diagnosis:* this species can be recognize by the sculpture coriaceous with some rugulosity, antennae short with longer flagellomeres, carena epicnemial absent and sternaulus present and deep.

*Description of holotype* M# (Fig. 46 a): body length 3.5 mm.

*Color.* Face, antennae and head brown to dark brown; clypeus and mandibles yellow, palpi pale; anterior pronotum whitish, superior region of pronotum and mesopleuron light brown, remaining pronotum and mesopleuron yellow; mesoscutum, scutellum, pos scutellum and propodeum brown to dark brown. All legs yellow. Metasomal tergite 1 dark brown, tergite 2 brown light brown with base lighter, remaining tergites light brown. Sternites light brown; Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae with 25 flagellomeres; first flagellomere length 8.1x width, second flagellomere length 4.5x width. Face and head coriaceous with some rugulosity and sparse setae, face width 1.9x height, malar space 2.1x basal width of mandible, mandible with two teeth, twisted. Clypeus convex, smooth to slightly coriaceous, width 1.3x height (Fig. 46 b). Eye–ocellar distance 1.3x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum coriaceous and a little rugulose epomia presente. Mesopleuron coriaceous, without epicnemial carina and sternaulus, mesopleural fovea absent, mesopleural groove smooth (Fig. 46 c). Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus present, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 46 d). Propodeum coriaceous, only with carinae pleural (Fig. 46 e).

*Metasoma.* All tergites coriaceous with some rugulosity. Tergite 1 length 2.9x apical width (Fig. 46 f).

*Wings.* Fore wing length 3.0 mm, hind wing length 1.95 mm. Areolete absent.

*Female.* Unknow

*Distribution.* Brazil, Minas Gerais.

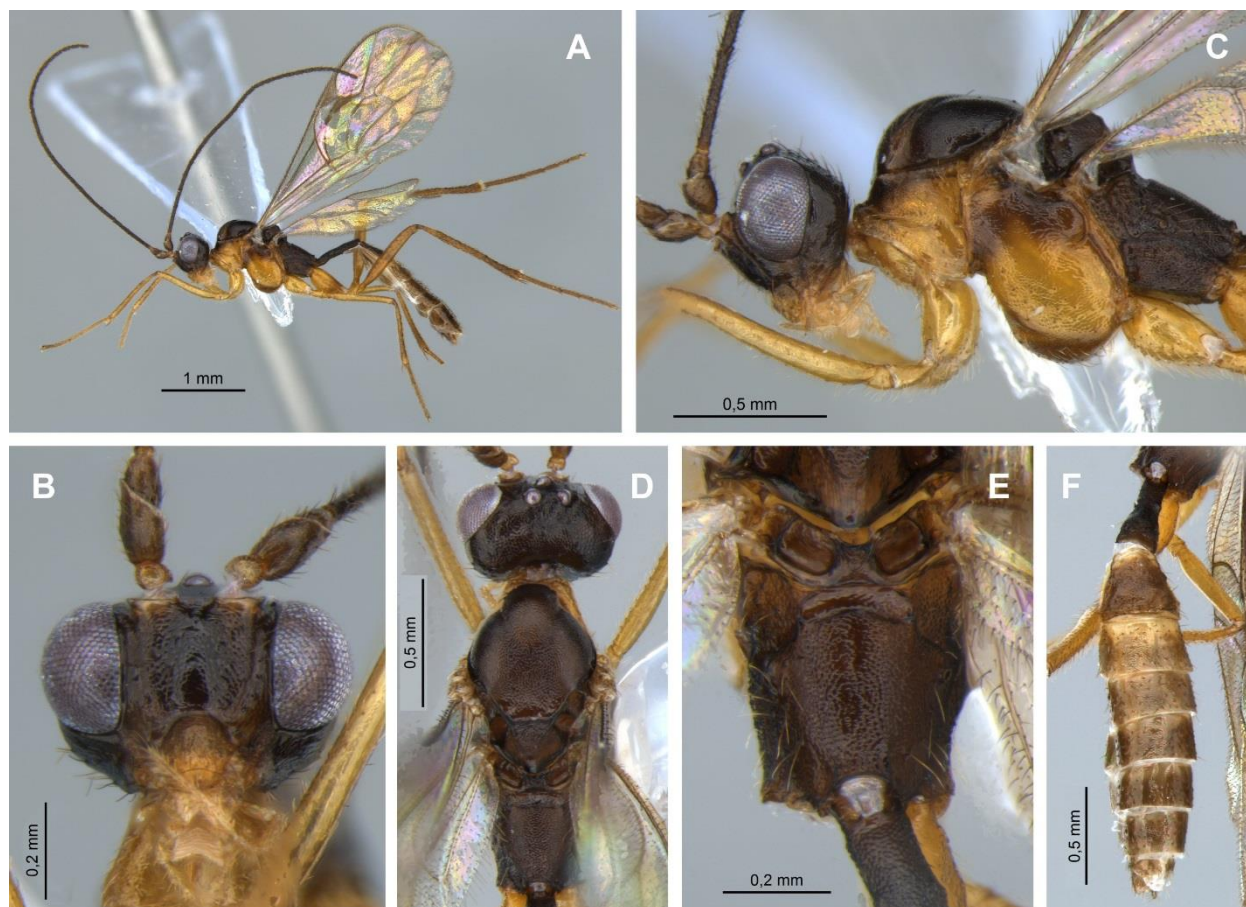


Figura 46: *Megastylus sp. nov.* 10: **a**, male habitus; **b**, face; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, mesosoma dorsal view; **e**, propodeum, dorsal view; **f**, metasoma, dorsal view;

### 5.3.2. *Gnathochorisis* Forster, 1869

Espécie tipo: *Gnathochorisis flavipes* Forster, 1871

**Diagnose:** O grupo possui clipeo pequeno, separado da face por um sulco, esterno do T1 fundido ao tergo, glima ausente; epipleuras do T2 e T3 com uma carena que as separam dos tergos; mandíbula com os dois dentes presentes, não rotacionadas, areolete usualmente presente e sésstil; margem da face subparalela, discoidela presente, ovipositor 0.65- 1.1x o comprimento da tíbia posterior, curvo e usualmente com sulco apical.

**Biologia:** A única informação sobre a biologia do grupo, refere-se à *G. flavipes* Forster, 1871, parasitando *Neoempheria striata* Meigen (Diptera: Mycetophilidae) (HUMALA, 2017).

**Distribuição:** O grupo tem distribuição mundial com 23 espécies descritas, das quais 9 são neotropicais, porém nenhuma com registro para o Brasil (HUMALA, 2017).

**Comentários:** Os 17 indivíduos que tiveram seu *DNA* analisado foram separados em 3 *MOTUs* (Tabela 17). Seguindo Humala (2017), identificamos que a *MOTU* de *Gnathochorisis* M1 como *G. khalaimi* Humala, 2017, caracterizando nova ocorrência dessa espécie para o Brasil. As outras duas *MOTUs* caracterizam-se como novas espécies por não possuírem o mesoesquito escuro e as carenas do propódeo não serem bem desenvolvidas.

Tabela 17: Distribuição de *MOTUs* do gênero *Gnathochorisis* entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M e vermelho em altas, A)

	Reserva Biológica Serra do Japi			PARNA Itatiaia			RPPN Alto Montana Itamonte			PARNA Serra da Bocaina			Distribuição	
	895m	1036-1134 m	1183 - 1190 m	786 - 934m	1443 -1652 m	2131- 2451 m	1399-1606m	1612-1652m	2047-2149m	1149 - 1184 m	1446 - 1528 m	1943 - 1969 m		
<i>Gnathochorisis khalaimi</i>						4	7	2			1		1399-2451m	M/A
<i>Gnathochorisis M2</i>				1	1								786-1652m	B/M
<i>Gnathochorisis M3</i>				1									786-934m	B

O gênero tem distribuição em todo gradiente altitudinal; *G. khalaimi* tem ocorrência a cima de 1400 m. concordando com os dados já publicados entre 570 – 1600m (HUMALA, 2017).

O macho de *G. khalaimi* é aqui citado pela primeira vez. As variações encontradas no macho para a descrição original encontram-se abaixo, assim como as descrições das outras duas espécies.

#### *Gnathochorisis khalaimi* (Fig. 47)

**Examined material: Male:** (DCBUMO 379134) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN–APA–UCF) S22°21’13’’W44°47’49’”, armadilhas Moericke 01 (1399m), 16–19.IX.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.”

Body Length 3.32 mm (Fig. 47 b). Face white gena yellow (Fig. 47 c). Antennae with 22 flagellomeres. Hind coxae yellow. Scutellum dark yellow with regions anterior and lateral brown, prescutellar groove without carinae (Fig. 47 d). Tergite 1 yellow, coriaceous to rugulose, with two median longitudinal carinae, length 2.14x width. Tergite 2 all yellow, smooth to slightly

coriaceous, the remaining brown smooth to slightly coriaceous (Fig. 47 e). Sternites white and brown. Fore wing length 3.3 mm, hind wing length 2.3mm.

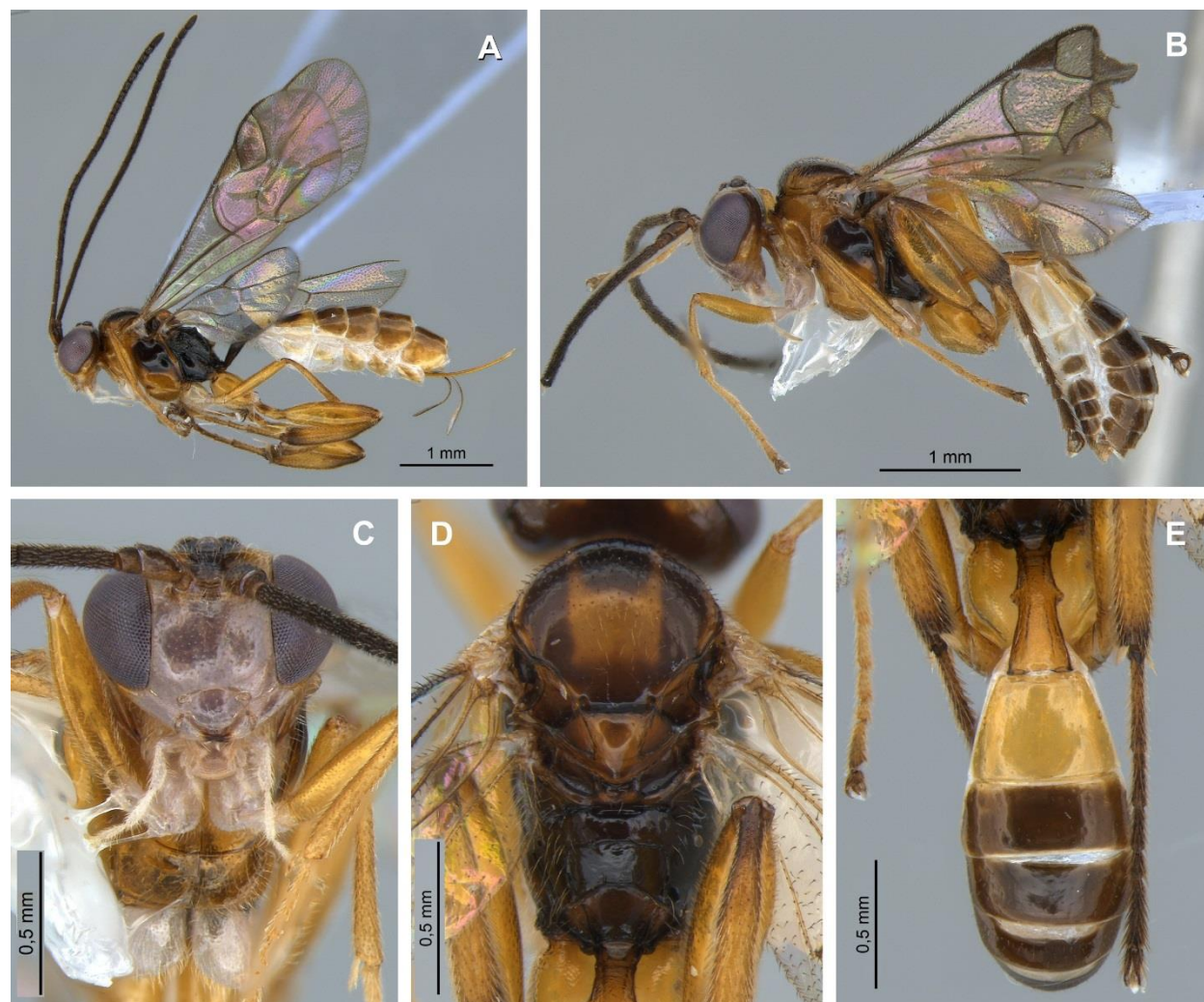


Figura 47: *Gnathochorisis khalaimi*: **a**, female habitus; **b**, male habitus; **c**, male face; **d**, male mesosoma dorsal view; **e**, metasoma dorsal view.

***Gnathochorisis* sp. nov. 1 (Fig. 48)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379136) “Itatiaia, RJ, Brasil PARNA de Itatiaia S22°25’44’’W44°37’43’’, Armadilhas Malaise 05 (1.446m), 11–18.XII.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.” Paratypes: 1F# (DCBUMO 379137) “Itatiaia, RJ, Brasil PARNA de Itatiaia S22°26’42’’W44°36’39’’, Armadilhas Malaise 03 (934m), 11–18.XII.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.”

**Diagnosis:** body mostly yellow and coriaceous, ovipositor 0.5x hind tibia length, whitout a notch apophysis present.

**Description of holotype** F# (Fig. 48 a): body length 4.0 mm.

*Color.* Face, head, pronotum, mesopleura, mesoscutum and legs mostly yellow. Mandibles whitish with teeth brown, palpi white, antennae with scape and pedicel yellow, first flagellomeres light brown remaining brown. Area interocellar dark brown. Legs mostly yellow, hind tibia brown from the half to the apex. Scutellum brown. Propodeum mostly brown, pleural region yellow. Tergite 1 dark brown to black, tergite 2 brown, with apex yellow, tergite 3 yellow, tergite 4 and 5 light brown, tergite 6 and 7 yellow. Sternites 2 and 3 white remaining yellow whitish, ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae with 18 flagellomeres; first flagellomere length 5x width, second flagellomere length 4.3x width. Face and head coriaceous with sparse setae, face width 2.0x height, malar space 0.65x basal width of mandible, mandible with two teeth, not twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 2.0x height (Fig. 48 b). Eye–ocellar distance 1.3x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth without epomia. Mesopleuron smooth, with epicnemial carina, sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth, (Fig. 48 c). Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus absent, prescutellar groove coriaceous without carinae. Propodeum smooth laterally and slightly coriaceous in the middle, with carinae pleural, lateral longitudinal and median longitudinal present, the median longitudinal is converge and form a little areolete in the base, apophyses present and small (Fig. 48 d).

*Metasoma.* Tergite 1 and 2 coriaceous to rugulose with few short setae laterally, length 1.5x apical width (Fig. 48 e). Tergites 3-7 slightly coriaceous. Ovipositor 0.5x length of hind tibia, upcurved without a notch in the apex (Fig. 48 f).

*Wings.* Fore wing length 3.27 mm, hind wing length 2.0 mm. Areolete present and sessile.

*Male.* unknow

Distribution: Brazil, Rio de Janeiro.

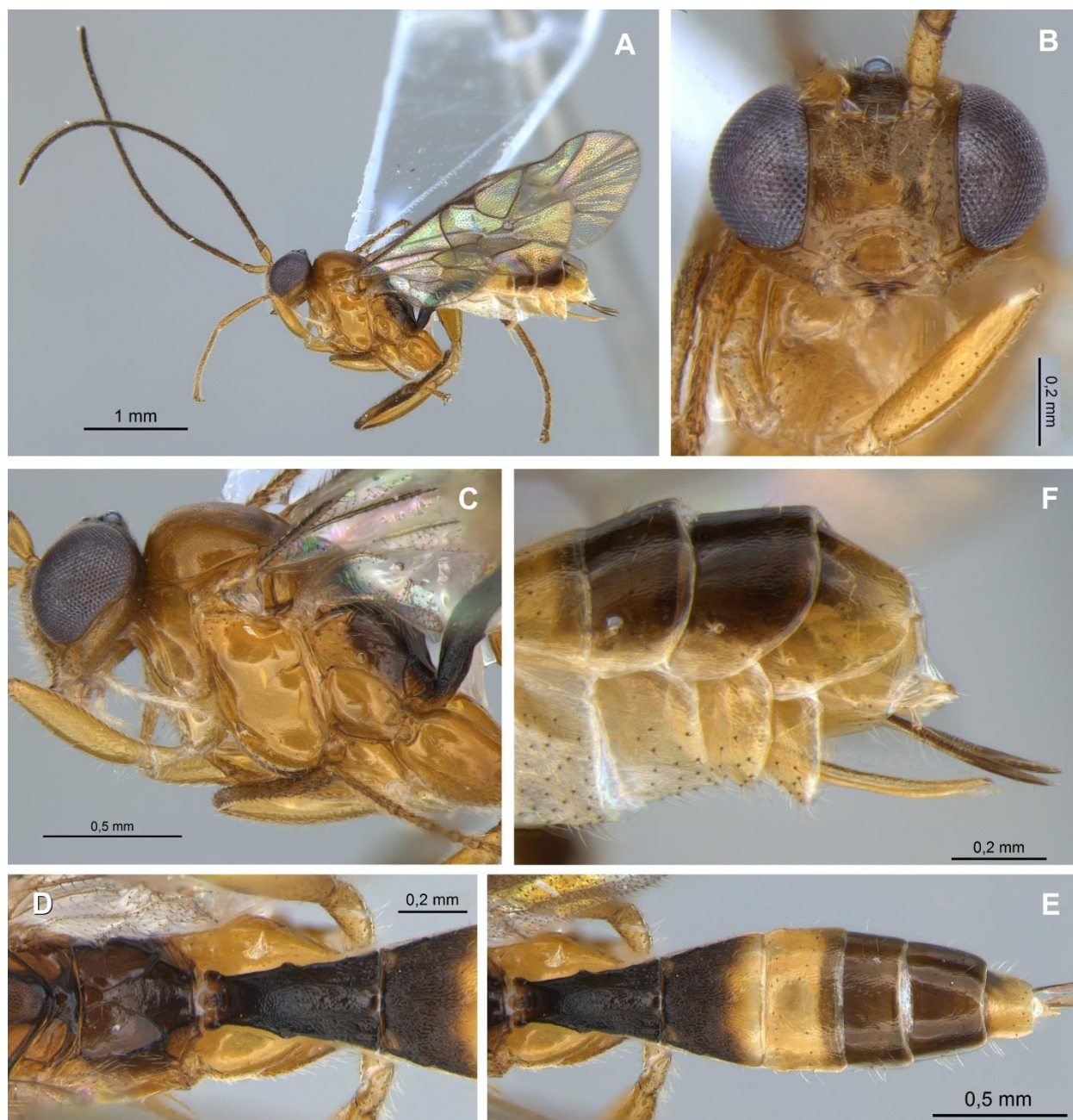


Figura 48: *Gnathochorisis sp. nov. 1*: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma lateral view; **d**, propodeum dorsal view; **e**, metasoma dorsal view; **f**, ovipositor, lateral view.

***Gnathochorisis sp. nov. 2* (Fig. 49)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379138) “Itatiaia, RJ, Brasil PARNA de Itatiaia S22°26’45’’W44°36’38’’, Armadilhas Malaise 02 (921m), 11–18.XII.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.”

**Diagnosis:** body mostly yellow and coriaceous, ovipositor 1.05x hind tibia length, with notch, apophysis absent.

*Description of holotype* F# (Fig. 49 a): body length 4.0 mm.

*Color.* Face, head, pronotum, mesopleura, mesoscutum, scutellum and legs mostly yellow. Mandibles whitish with teeth brown, palpi white, antennae with scape and pedicel yellow, first flagellomeres light brown remaining brown. Area interocellar dark brown. Legs mostly yellow, hind tibia brown from the half to the apex. Propodeum mostly light brown, pleural region yellow. Tergite 1 dark brown to black, tergite 2 brown, with apex yellow, tergite 3 yellow, tergite 4, 5 and the base of 6 light brown, remaining of tergite 6, 7 and 8 yellow. Sternites light yellow, ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae with 18 flagellomeres; first flagellomere length 6x width, second flagellomere length 5.5x width. Face and head coriaceous with sparse setae, face width 1.86x height, malar space 0.46x basal width of mandible, subocular groove shallow, mandible with two teeth, not twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.6x height (Fig 49 b). Eye–ocellar distance 1.25x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum slightly coriaceous without epomia. Mesopleuron slightly coriaceous, with epicnemial carina, sternaulus present anteriorly, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth, (Fig. 49 c). Mesoscutum e scutellum coriaceous, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae. Propodeum slightly coriaceous, with carinae pleural, lateral longitudinal and median longitudinal present, the median longitudinal is converge and form a little areolete in the base, apophyses absent (Fig. 49 d).

*Metasoma.* Tergite 1 coriaceous, rugulose posteriorly, with few short setae laterally, length 1.6x apical width, tergite 2 rugulose, tergites 3-8 slightly coriaceous to punctate. Ovipositor originating in the apex of metasoma, upcurved with a notch in the apex, 1.05x hind tibia length (Fig. 49 e).

*Wings.* Fore wing length 3.23 mm, hind wing length 2.10 mm. Areolete present and sessile.

*Male.* unknow

*Comments.* This species is very similar to *Gnathochorisis sp. nov. 1* but they differ specially in the ovipositor length and it's position on metasoma and apophysis absent. The molecular divergence between this two species is 3%.

*Distribution:* Brazil, Rio de Janeiro.

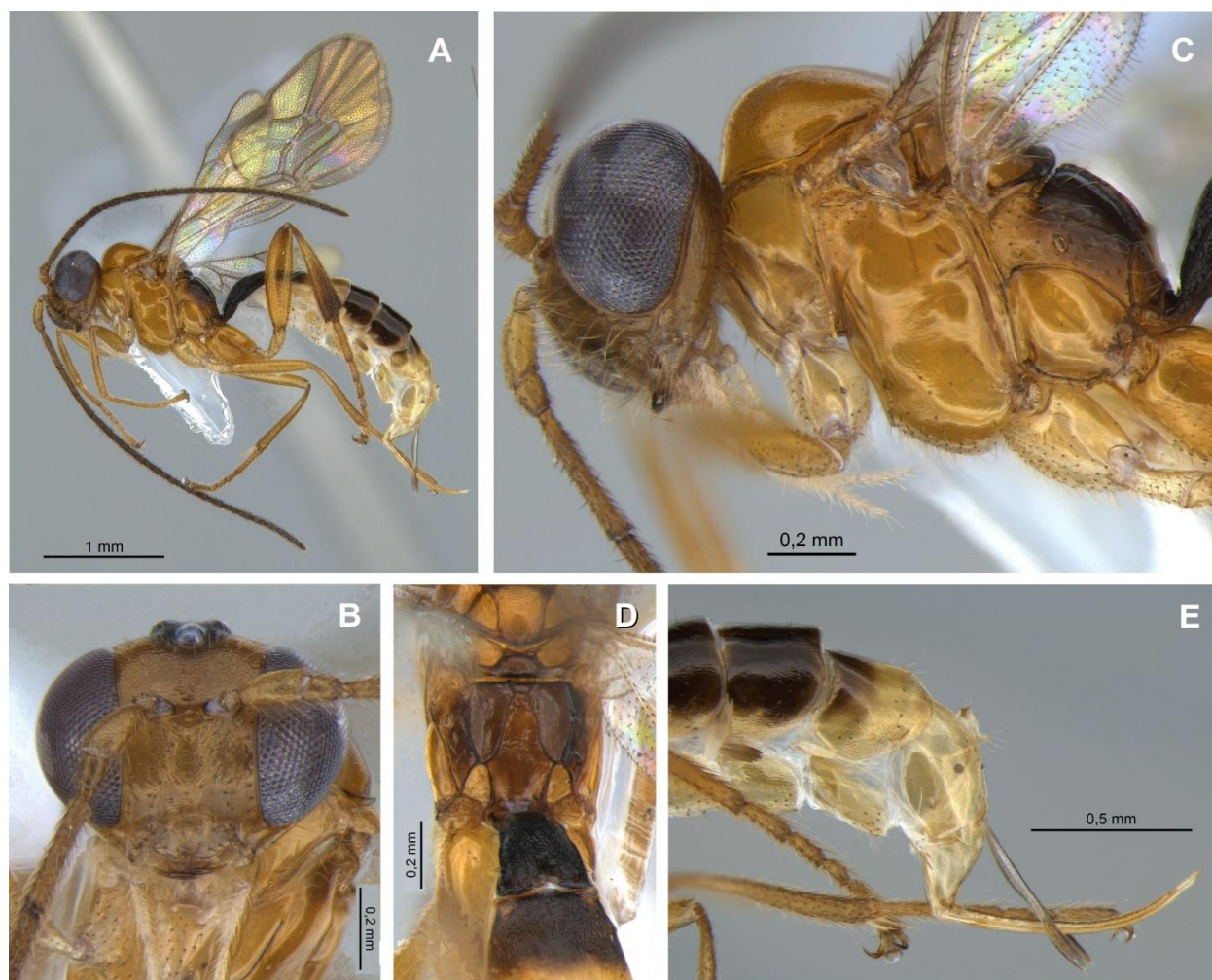


Figura 49: *Gnathochorisis* sp. nov. 2: **a**, female habitus; **b** face, **c**, mesosoma lateral view; **d**, propodeum dorsal view; **e**, ovipositor, lateral view.

### 5.3.3. *Proclitus* Forster, 1869

Espécie tipo: *Proclitus grandis* Forster, 1871

**Diagnose:** O gênero possui clipeo separado da face por um sulco, esterno do T1 fundido ao tergo, glima ausente; epipleura do T2 e T3 com uma carena que as separam dos tergos; mandíbulas não rotacionadas, espaço malar com sulco profundo, areolete ausente; mesoescuto polido, discoidela presente, porém fraca. Ovipositor 1.10-2.10x comprimento da tíbia posterior (DASH, 1992). Constatamos que o ovipositor pode ter entre 0.5- 1.1x o comprimento da tíbia posterior.

**Biologia:** Espécies desse gênero foram registradas parasitando Mycetophilidae (DASH, 1992).

**Distribuição:** O gênero tem ocorrência mundial com 29 espécies descritas (YU, *et al.* 2016), sendo apenas duas espécies para a região Neotropical – *Proclitus floridanus* Dash, 1992 e *Proclitus fulvicornis* Forster, 1871.

**Comentários:** Os 5 indivíduos que tiveram seu DNA analisado foram separados em 3 *MOTUs*. A distribuição dessas espécies entre as localidades e o gradiente altitudinal encontram-se na tabela 18:

Tabela 18: Distribuição de *MOTUs* do gênero *Proclitus* entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A)

	Reserva Biológica Serra do Japi			PARNA Itatiaia			RPPN Alto Montana Itamonte			PARNA Serra da Bocaina			Distribuição	
	895m	1036-1134 m	1183 - 1190 m	786 - 934m	1443 -1652 m	2131- 2451 m	1399-1606m	1612-1652m	2047-2149m	1149 - 1184 m	1446 - 1528 m	1943 - 1969 m		
<i>Proclitus M1</i>						1							2131-2451m	A
<i>Proclitus M2</i>							1						1399-1606m	M
<i>Proclitus M3</i>			1	1									786-1190m	B/M

O gênero também possui distribuição ampla, ocorrendo em todos os gradientes altitudinais.

A análise da morfologia, comparada com as descrições das espécies da região Neotropical comprovaram que são três espécies novas, as descrições encontram-se abaixo.

***Proclitus sp. nov. 1 (Fig. 50)***

**Examined material:** Holotype: M# (DCBUMO 379139) “Itatiaia, RJ, Brasil, PARNA de Itatiaia S22°22’24’’W44°42’14’’, armadilhas Malaise 07 (2.451m), 11–18.XII.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.”

**Diagnosis:** This species can be identify by having antennae with 19 flagellomeres and propodeum rugulose.

**Description of holotype M# (Fig. 50 a):** body length 3.6 mm.

**Color.** Head, mesopleuron, mesoscutum, propodeum and tergite 1 mostly black, face dark brown, clypeus brown with apex and mandible yellow, palpi light yellow, antennae scape, pedicel

and first flagellomere yellow to light brown, remaining flagellomeres brown. Pronotum light brown, scutellum and postscutellum brown. Legs yellow. Metasomal tergite 2 brown with apex yellow, tergite 3 with apex and base light yellow and center light brown, the other tergites light brown to brown. Sternites light brown. Tegulae white, wings hyaline.

*Head.* Antennae with 19 flagellomeres; first flagellomere length 8.0x width, second flagellomere length 5.5x width. Face polished with sparse setae, width 1.6x height, malar space 1.0x basal width of mandible, mandible with two teeth, not twisted. Clypeus convex, polished with sparse puncture, width 2x height (Fig. 50 b). Eye–ocellar distance 1.0x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth with epomia. Mesopleuron smooth, with epicnemial carina and sternaulus present, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove crenulate, posterior transverse carina of mesosternum present (Fig. 50 c). Mesoscutum and scutellum smooth and polished, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 50 d). Propodeum rugulose with long setae, with carinae pleural, posterior transverse and lateral longitudinal complete, median longitudinal present and incomplete (Fig. 50 e).

*Metasoma.* Tergite 1 with two median longitudinal carinae, mostly slightly rugulose, with long setae laterally, length 4.4x apical width (Fig. 50 f). Tergites 2–7 smooth with sparse setae.

*Wings.* Fore wing length 3.1 mm, hind wing length 2.4 mm. portion of cubitus between intercubitus and second recurrent vein 0.45x of second recurrent vein; section *dg* of radiella in hind wing 0.37x of length section *gh*; nervellus inclivous.

*Female.* Unknown

*Distribution:* Brazil, Rio de Janeiro.

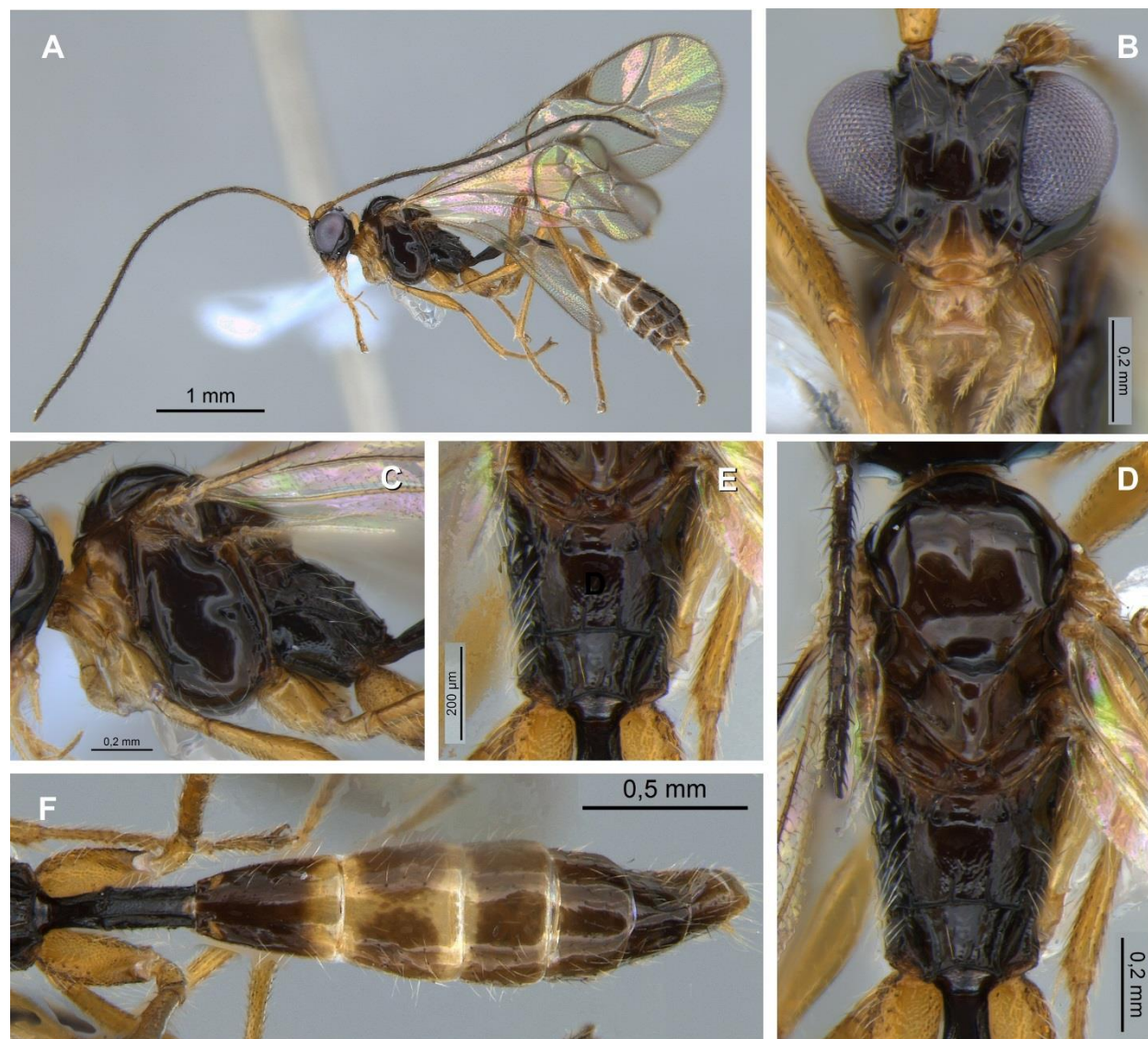


Figura 50: *Proclitus sp. nov. 1*: a, male habitus, b, face, c, mesosoma lateral view, d, mesosoma dorsal view, e, propodeum dorsal view, f, metasoma dorsal view.

***Proclitus sp. nov. 2* (Fig. 51)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379140) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN–APA–UCF) S22°21’13’’W44°47’49’”, armadilhas Moericke 01 (1399m), 13–16.IX.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.”

**Diagnosis:** This species can be identify by having antennae with 23 flagellomeres, propodeum polished.

**Description of holotype F#** (Fig. 51 a): body length 4 mm.

**Color.** Head, mesosoma and tergite 1 mostly black, face dark brown, mandible whitish, with teeth brown, palpi whitish, antennae all brown. Pronotus light yellow. Fore and middle coxae,

trochanter, trochantellus and femur whitish, fore and middle tibia and tarsomerus brown yellowish, hind legs with coxae whitish with a brown spot at apex, trochanter and trochantellus whitish, femur whitish with base and apex brown, tibia yellow with base and apex brown, tarsomerus brown. Tergite 2 dark brown with apex white, tergite 3 white with a light brown spot at its lateral, the others tergites light brown, sternites and ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings hyaline.

*Head.* Antennae with 23 flagellomeres; first flagellomere length 7.0x width, second flagellomere length 4.1x width. Face polished with sparse setae, width 1.74x height, malar space 1.0x basal width of mandible, mandible with two teeth, not twisted. Clypeus convex, polished with sparse puncture, width 1.9x height (Fig. 51 b). Eye–ocellar distance 1.0x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth without epomia. Mesopleuron smooth, with epicnemial carina, sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural crenulate, posterior transverse carina of mesosternum present (Fig. 51 c). Mesoscutum and scutellum smooth and polished with sparse setae, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 51 d). Propodeum polished with long setae, with carinae pleural, posterior transverse, lateral longitudinal complete, and median longitudinal present but incomplete (Fig. 51 e).

*Metasoma.* Tergite 1 with two weak median longitudinal carinae, mostly slightly rugulose, with long setae laterally, length 3.3x apical width (Fig. 51 f). Tergites 2–7 smooth with sparse setae. Ovipositor 1.09x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 3.8 mm, hind wing length 2.4 mm. portion of cubitus between intercubitus and second recurrent vein 0.48x of second recurrent vein; section *dg* of radiella in hind wing 0.25x of length section *gh*; nervellus inclivous.

*Male.* Unknown

*Distribution:* Brazil, Minas Gerais.

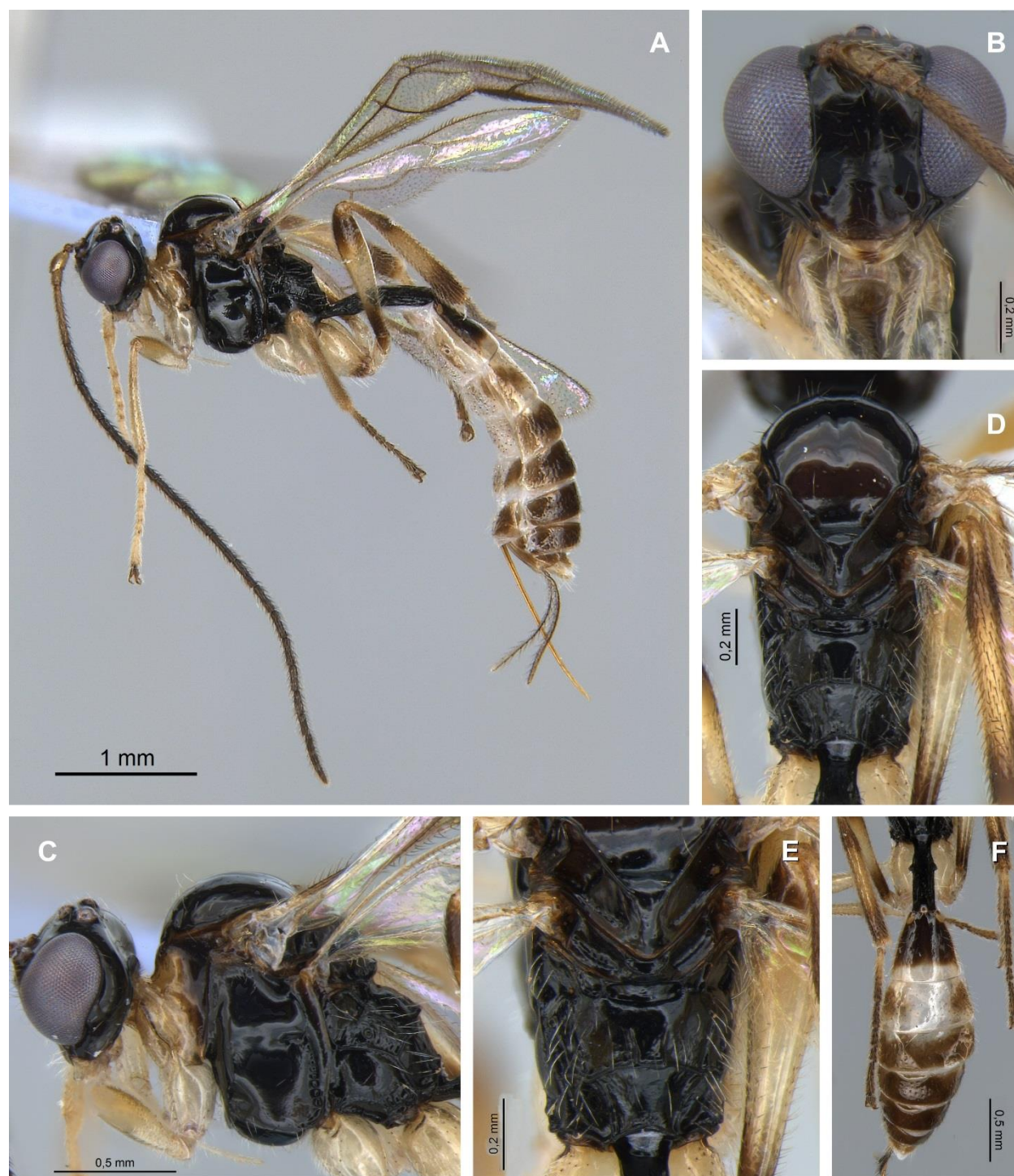


Figura 51: *Proclitus sp. nov.* 2: **a**, female habitus, **b**, face, **c**, mesosoma lateral view, **d**, mesosoma dorsal view, **e**, propodeum dorsal view, **f**, metasoma dorsal view.

***Proclitus sp. nov.* 3 (Fig. 52)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379142) “Jundiaí, SP, Brasil. Reserva Biol. Da Serra do Japi S23°13’56’’W46°56’29’’ Armadilha Moericke 03 (1190m) 13-16.X.2015 A.S.

Soares e L.A.M. Soares col.” Paratype: 1F# (DCBUMO 379141) “Itatiaia, RJ, Brasil PARNA de Itatiaia S22°26’45’’W44°36’38’’ Armadilha Malaise 02 (921 m) 11-18.XII.2015 A.S. Soares e L.A.M. Soares col.” 1M# (DCBUMO 379143) “Itatiaia, RJ, Brasil PARNA de Itatiaia S22°26’45’’W44°36’38’’ Armadilha Malaise 02 (921 m) 11-18.XII.2015 A.S. Soares e L.A.M.

*Diagnosis:* This species can be identify by having antennae with 17 flagellomeres, propodeum slightly rugulose, with carinae pleural and posterior transverse complete, and median longitudinal only at base.

*Description of holotype* F# (Fig. 52 a): body length 4.7 mm.

*Color.* Head, mesosoma and tergite 1 black, face dark brown, clypeus brown with apex light brown, mandible yellowish, palpi whitish, antennae with scape, pedicel and segment 1 and 2 yellow, reminder light brown. Legs mostly light yellow, hind legs with femur light and tibia yellow with base and apex light, tarsomerus brownish. Tergite 2 brown with apex yellow, reminder tergites brown sternites white, ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings hyaline.

*Head.* Antennae with 17 flagellomeres; first flagellomere length 6.6x width, second flagellomere length 6.2x width. Face polished with sparse setae, width 1.58x height, malar space 1.8x basal width of mandible, mandible with two teeth, not twisted. Clypeus convex, polished with sparse puncture, width 1.6x height (Fig. 52 b). Eye–ocellar distance 1.27x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth with epomia. Mesopleuron smooth, with epicnemial carina ventrally, sternaulus present in anterior part, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth, posterior transverse carina of mesosternum present (Fig. 52 c). Mesoscutum and scutellum smooth and polished with few sparse setae, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae. Propodeum slightly rugulose, with few setae, with carinae pleural and posterior transverse complete, and median longitudinal only at base (Fig. 52 d).

*Metasoma.* Tergite 1 with two weak median longitudinal carinae, mostly slightly rugulose, with long setae laterally, length 3.3x apical width. Tergites 2–7 smooth with sparse setae. Ovipositor 0.5x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 4.18 mm, hind wing length 2.8 mm. portion of cubitus between intercubitus and second recurrent vein 0.8x of second recurrent vein; section *dg* of radiella in hind wing 0.4x of length section *gh*; nervellus inclivous.

*Variations:* Mesopleural groove rugulose, propodeum smooth, tergite 1 length 2.78- 3.3x

width.

*Male* (Antennae broken) (Fig. 52 e). Clypeus all dark brown, mandible with one tooth. Antennae with scape and pedicel yellow brownish, flagellomeres brown. Hind leg with coxae brown, trochanter and trochantellus whitish, femur and tibia yellow with base and apex brown. Mesopleural groove slightly crenulate, propodeum smooth. Remainder same as female.

*Distribution:* Brazil, Rio de Janeiro and São Paulo.

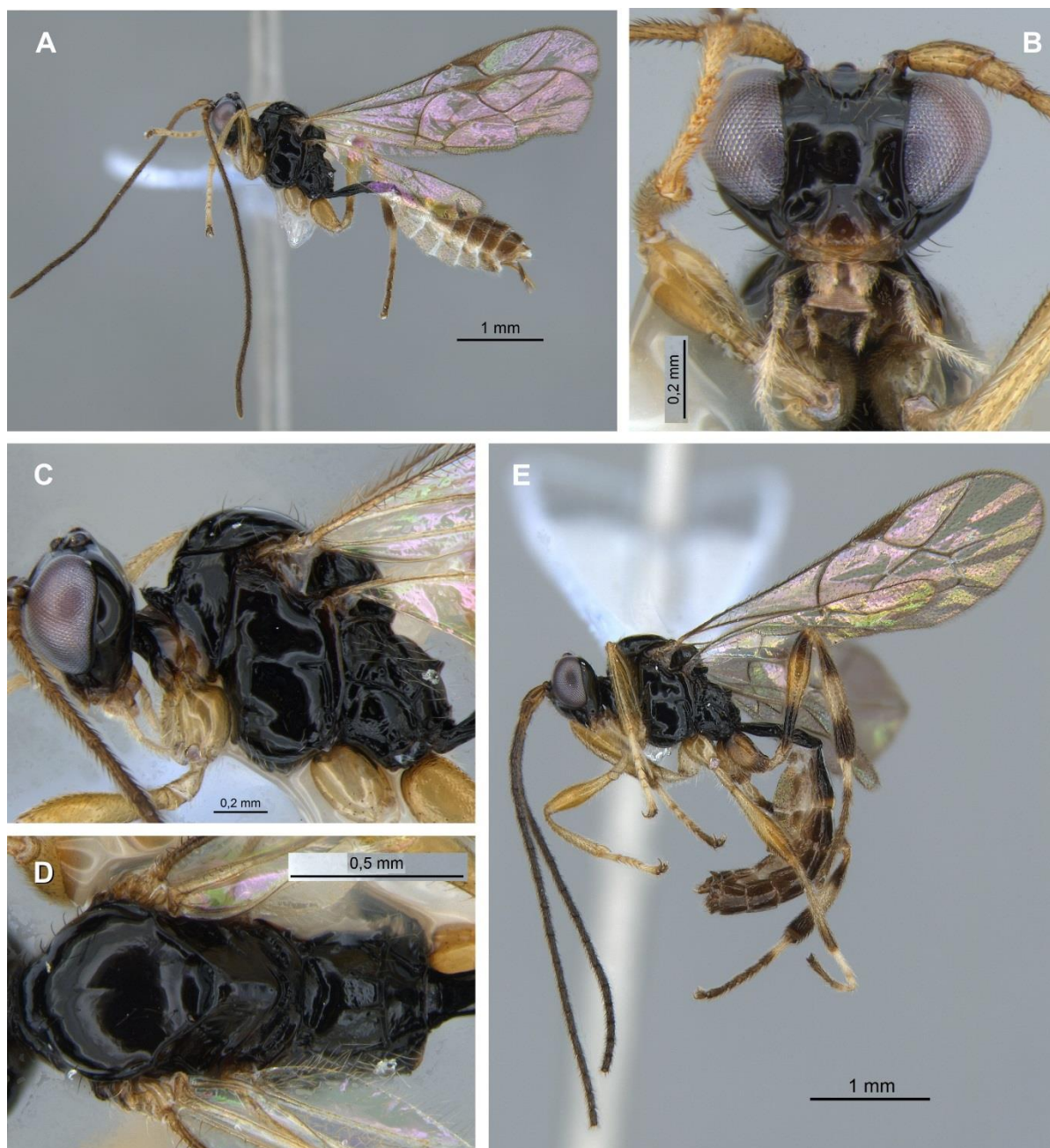


Figura 52: *Proclitus sp. nov. 3*: a, female habitus, b, face, c, mesosoma lateral view, d, propodeum dorsal view, e, male habitus.

#### 5.3.4. *Eusterinx* Forster, 1869

Espécie tipo: *Eusterinx oligomera* Forster, 1871

**Diagnose:** O gênero é bastante diverso e foi dividido por Van Rossem (1987) em 6 subgêneros, posteriormente, Dash (1992) acrescentou mais um subgênero. É caracterizado por possuir o clipeo separado da face por um sulco, esterno do T1 fundido ao tergo, glima ausente, epipleura do T2 e T3 separadas dos tergos por uma carena, mandíbulas rotacionadas, disciodela ausente, ovipositor 0.5-1.25x o comprimento da tibia posterior.

Subgêneros:

*Divinatrix*: Caracterizam-se pelas margens internas dos olhos convergentes e abdômen com sulcos transversais profundos nos segmentos 1-4 (Fig 56)

*Catomicrus*: Margens internas do olhos convergentes, abdômen sem sulcos transversais, propódeo com apófises pequenas ou ausentes.

*Dallatorrea*: Margens internas dos olhos convergentes, abdômen sem sulcos transversais, propódeo com apófises proeminentes, areolete presente.

*Ischracis*: Margens internas dos olhos convergentes, abdômen sem sulcos transversais, propódeo com apófises proeminentes, areolete ausente.

*Holomeristus*: Margens internas dos olhos paralelos, areolete presente.

*Eusterinx*: Margens internas dos olhos paralelos, areolete ausente, propódeo com apófises ausente ou pequenas.

*Solida*: Margens internas dos olhos paralelos, areolete ausente, propódeo com apófises proeminentes.

**Biologia:** Segundo Dash (1992) todos os hospedeiros do grupo são Mycetophilidae (Diptera).

**Distribuição:** O grupo tem distribuição mundial com 52 espécies descritas (YU *et al.*, 2016; HUMALA, 2016). Na região Neotropical existem três espécies: *Eusterinx (solida) solida* Dash, 1992; *Eusterinx (Divinatrix) longipes* Humala, 2017 e *Eusterinx (Ischracis) tenuiventris* Humala, 2017.

**Comentários:** Foram coletados espécimes identificados nos grupos *Divinatrix*, *Eusterinx* e *Ischracis*. Desses, apenas espécimes dos grupos *Eusterinx* e *Ischracis* foram analisados molecularmente, e estas análises resultaram em 3 MOTUs, duas com espécimes do grupo *Eusterinx* e uma com espécimes do grupo *Ischracis*. Os espécimes do grupo *Ischracis* foram comparados

com a descrição de *Eusterinx (Ischraxis) tenuiventris* Humala, 2017 e se diferenciaram principalmente pela escultura lisa no T2. As outras duas *MOTUs* caracterizam-se como espécies novas pela ausência de espécies do grupo *Eusterinx* para a região Neotropical. A distribuição dessas espécies nas localidades e no gradiente altitudinal encontram-se a seguir:

Tabela 19: Distribuição de *MOTUs* do gênero *Eusterinx* entre as localidades e estratos altitudinais (amarelo indica ocorrência em baixas altitudes, B, laranja em médias, M, e vermelho em altas, A)

	Reserva Biológica Serra do Japi			PARNA Itatiaia			RPPN Alto Montana Itamonte			PARNA Serra da Bocaina			Distribuição	
	895m	1036-1134 m	1183 - 1190 m	786 - 934m	1443 -1652 m	2131- 2451 m	1399-1606m	1612-1652m	2047-2149m	1149 - 1184 m	1446 - 1528 m	1943 - 1969 m		
<i>Eusterinx M1</i>	1												895m	B
<i>Eusterinx M2</i>	1	1											895-1134m	B
<i>Eusterinx M3</i>	1			2									786-934m	B

Todas es espécies ocorreram preferencialmente nas baixas altitudes.

***Eusternix (Eusterinx) sp. nov. 1 (Fig. 53)***

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379144) “Jundiaí, SP, Brasil, Reserva Biol. Da Serra do Japi S23°14’00’’W46°55’24’’”, Armadilhas Moericke 01 (824m), 16–19.X.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.” (antennae broken)

*Diagnosis:* This species can be identify by the rugulose sculpturation at face and the propodeum with carinae posterior transverse present and the median longitudinal parallel.

*Description of holotype* F# (Fig. 53 a): body length 3.0 mm.

*Color.* Face, head, mesopleura, mesoscutum, scutellum, propodeum and metasomal tergite 1 dark brown to black. Clypeus, mandible and pronotum brown. Palpi light yellow; Antennae with scape, pedicel and flagelomeres 1 and 2 light brown to yellow, remaining flagellomeres dark brown. Legs mostly yellow. Tergite 2 light brown with apex yellow, remaining light brown. Sternites and ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae broken; first flagellomere length 3x width, second flagellomere length 2x width. Face rugulose with setae, face width 1.8x height, malar space 1.6x basal width of mandible, mandible with two teeth, not twisted. Clypeus convex, rugulose, width 1.3x height (Fig. 53 b).

Head smooth with slightly coriaceous; eye–ocellar distance 1.5x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth without epomia. Mesopleuron smooth, with epicnemial carina, sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth, (Fig. 53 c). Mesoscutum e scutellum smooth with sparse setae, notaulus present, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 53 d). Propodeum smooth but slightly rugulose, with carinae pleural, lateral longitudinal, median longitudinal and anterior e posterior transverse (Fig. 53 e).

*Metasoma.* Tergite 1 rugose with few short setae laterally, length 2.5x apical width (Fig. 53 f). Tergite 2 with reticulate sculturation at anterior half, remaining tergite and metasoma smooth with sparse setae. Ovipositor 0.8x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.23 mm, hind wing length 1.48 mm.

*Male.* unknow

*Distribution:* Brazil, São Paulo.

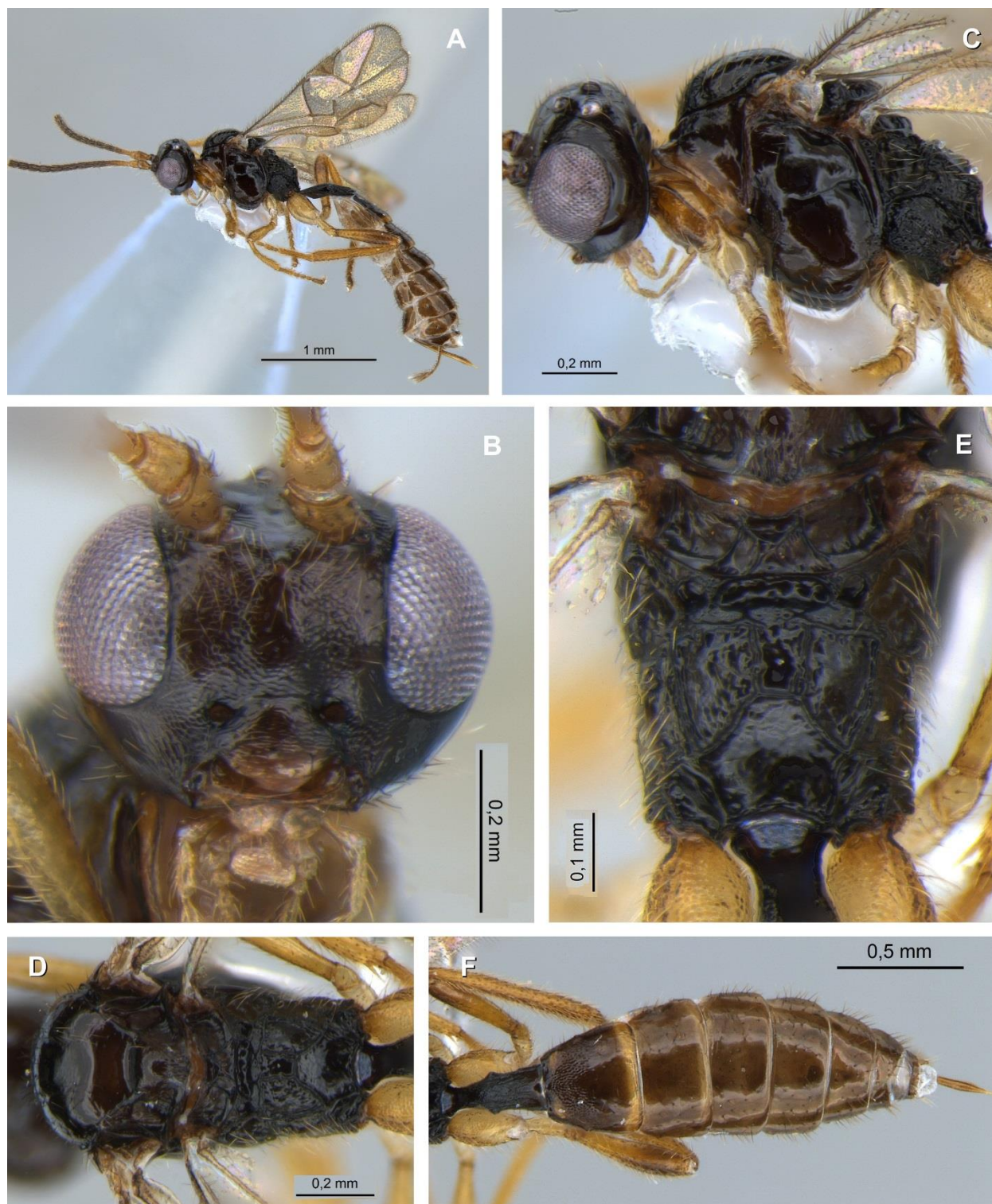


Figura 53: *Eusterinx (Eusterinx) sp. nov. 1*: **a**, female habitus; **b**, face, **c**, mesosoma lateral view; **d**, mesosoma dorsal view; **e**, propodeum dorsal view; **f**, metasoma dorsal view.

***Eusternix (Eusterinx) sp. nov. 2 (Fig. 54)***

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379146) “Jundiaí, SP, Brasil, Reserva Biol. Da Serra do Japi S23°14’32’’W46°56’12’”, Armadilhas Moericke 02 (1.136m), 18–21.X.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.” (head and antennae broken). Paratype: M# (DCBUMO 379145) “Jundiaí, SP, Brasil, Reserva Biol. Da Serra do Japi S23°14’00’’W46°55’24’”, Armadilhas Moericke 01 (824m), 16–19.X.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.”

*Diagnosis:* This species can be identify by the face coriaceous and propodeum without carinae posterior transverse and the median longitudinal divergent posteriorly.

*Description of holotype* F# (Fig. 54 a): body length 3.0 mm.

*Color.* Face, head, mesosoma, all brown, clypeus and mandible lighter. Propodeum and metasomal tergite 1 black. Palpi whitish; Antennae with scape, pedicel and flagellomeres 1 yellow, remaining flagellomeres dark brown. Legs yellow. Tergite 2 light brown with apex yellow, remaining light brown. Sternites and ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings yaline.

*Head.* Antennae broken; first flagellomere length 6x width, second flagellomere length 3.8x width. Face and head coriaceous with sparse setae, face width 2.2x height, malar space 1.3x basal width of mandible, mandible with two teeth, not twisted. Clypeus convex, coriaceous, width 1.5x height (Fig. 54 b); Eye–ocellar distance 1.2x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth with epomia. Mesopleuron smooth, with epicnemial carina, sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth, (Fig. 54 c). Mesoscutum and scutellum smooth with sparse setae, notaulus present, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 54 d). Propodeum slightly rugulose but pleural region with strong rugosity, carinae pleural, lateral longitudinal, median longitudinal and anterior transverse present. The carinae median longitudinal are parallel anteriorly and divergent posteriorly (Fig. 54 e).

*Metasoma.* Tergite 1 slightly rugolosity with few short setae laterally, length 2.4x apical width (Fig. 54 f). Tergite 2 with slightly reticulate sculturation at anterior half, remaining tergite and metasoma smooth with sparse setae. Ovipositor 0.7x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.0 mm, hind wing length 1.56 mm.

*Male.* Similar to female, but Tergite 2 has not the apex yellow (Fig 55).

*Comments.* This species is very similar to *Eusterinx (Eusterinx) sp. nov. 1* differing by the face sculpturation, flagellomeres length and propodeum carination. Molecularly this two species has only 2% of divergence.

*Distribution:* Brazil, São Paulo.



Figura 54: *Eusterinx (Eusterinx) sp. nov. 2*: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma lateral view; **d**, mesosoma dorsal view; **e**, propodeum dorsal view; **f**, metasoma dorsal view.

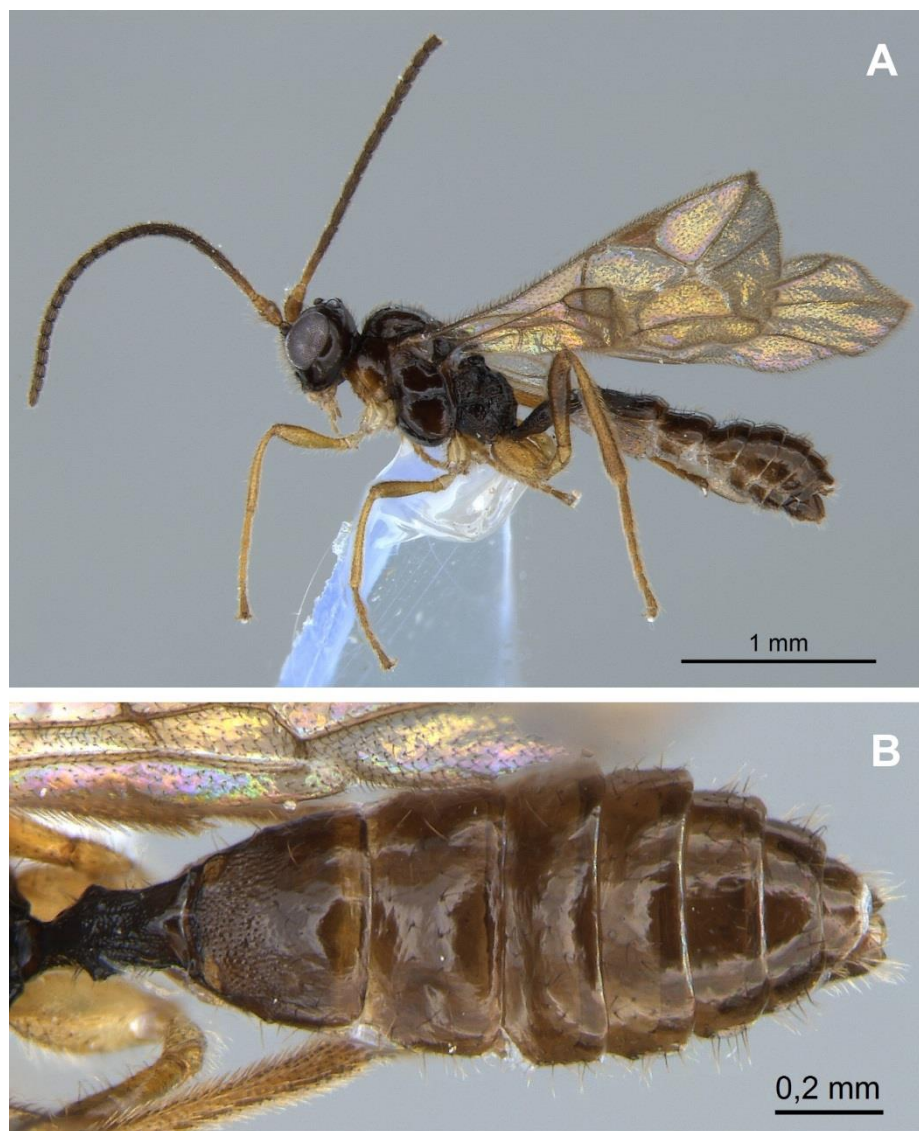


Figura 55: *Eusterinx (Eusterinx) sp. nov. 2*: **a**, male habitus; **b**, male metasoma dorsal view.

***Eusternix (Ischyracis) sp. nov. 3 (Fig. 56)***

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379147) “Jundiaí, SP, Brasil, Reserva Biol. Da Serra do Japi S23°14'00”W46°55'24””, Armadilhas Moericke 01 (824m), 16–19.X.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.” Paratype: 2F# (DCBUMO 379148, 379149) “Itatiaia, RJ, Brasil, PARNA de Itatiaia S22°25'45”W44°36'38””, Armadilhas Malaise 02 (921 m), 11–18.XII.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.”

**Diagnosis:** This species can be recognize by pleural and peciolar area of propodeum rugose and with many long setae, carinae pleural, lateral longitudinal, median longitudinal and anterior transverse present. The carinae median longitudinal is hourglass shape at areola and basal area, and divergent at peciolar area, apophysis present.

*Description of holotype* F# (Fig. 56 a): body length 3.0 mm.

*Color.* Face, head, mesosoma and propodeum all dark brown, clypeus and mandible lighter. Palpi whitish; Antennae with scape, pedicel light brown, flagellomeres 1 and posterior half of 2 white, anterior half of 2 light brown, 3, 4 and posterior half of 5 brown, 6, 7 and posterior half of 8 white, remaining flagellomeres brown. Legs mostly yellow, fore coxae whitish, hind legs mostly light brown, tarsomeres brown. Metasomal tergite 1 dark brown with apex lighter, tergite 2 light brown with apex yellow, remaining light brown. Sternites and ovipositor sheets light brown. Tegula white, wings yellow.

*Head.* Antennae 16 flagellomeres; first flagellomere length 3.3x width, second flagellomere length 3.6x width. Face punctate with setae, head smooth with sparse setae, lateral margin of face convergent, face width 1.74x height, malar space 1.6x basal width of mandible, mandible with one tooth, twisted. Clypeus convex, smooth with setae, width 1.3x height (Fig. 56 b); Eye–ocellar distance 1.0x greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth without epomia. Mesopleuron smooth, with epicnemial carina, sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove smooth, (Fig. 56 c). Mesoscutum e scutellum smooth with sparse setae, notaulus present, prescutellar groove smooth without carinae (Fig. 56 d). Propodeum smooth, but pleural and petiolar area rugose and with many long setae, carinae pleural, lateral longitudinal, median longitudinal and anterior transverse present. The carinae median longitudinal is hourglass shape at areaola and basal area, and divergent at petiolar area, apophysis present (Fig. 56 e).

*Metasoma.* Tergite 1 striate, length 2.7x apical width, remaining tergites smooth with sparse setae (Fig. 56 f). Ovipositor 0.8x length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.0 mm, hind wing length 1.27 mm.

*Male.* Unknown

*Variations:* Body length: 3.0- 3.4 mm; Fore wing length 2.0- 2.4 mm, hind wing length 1.27- 1.78 mm; Ovipositor 0.8-1.06x length of hind tibia; first flagellomere length 3.3-4.5x width, second flagellomere length 3.6-4.8x width. face width 1.74-2.2x height, malar space 1.0- 1.6x basal width of mandible; Clypeus width 1.3-1.46x height.

*Distribution:* Brazil, São Paulo and Rio de Janeiro.

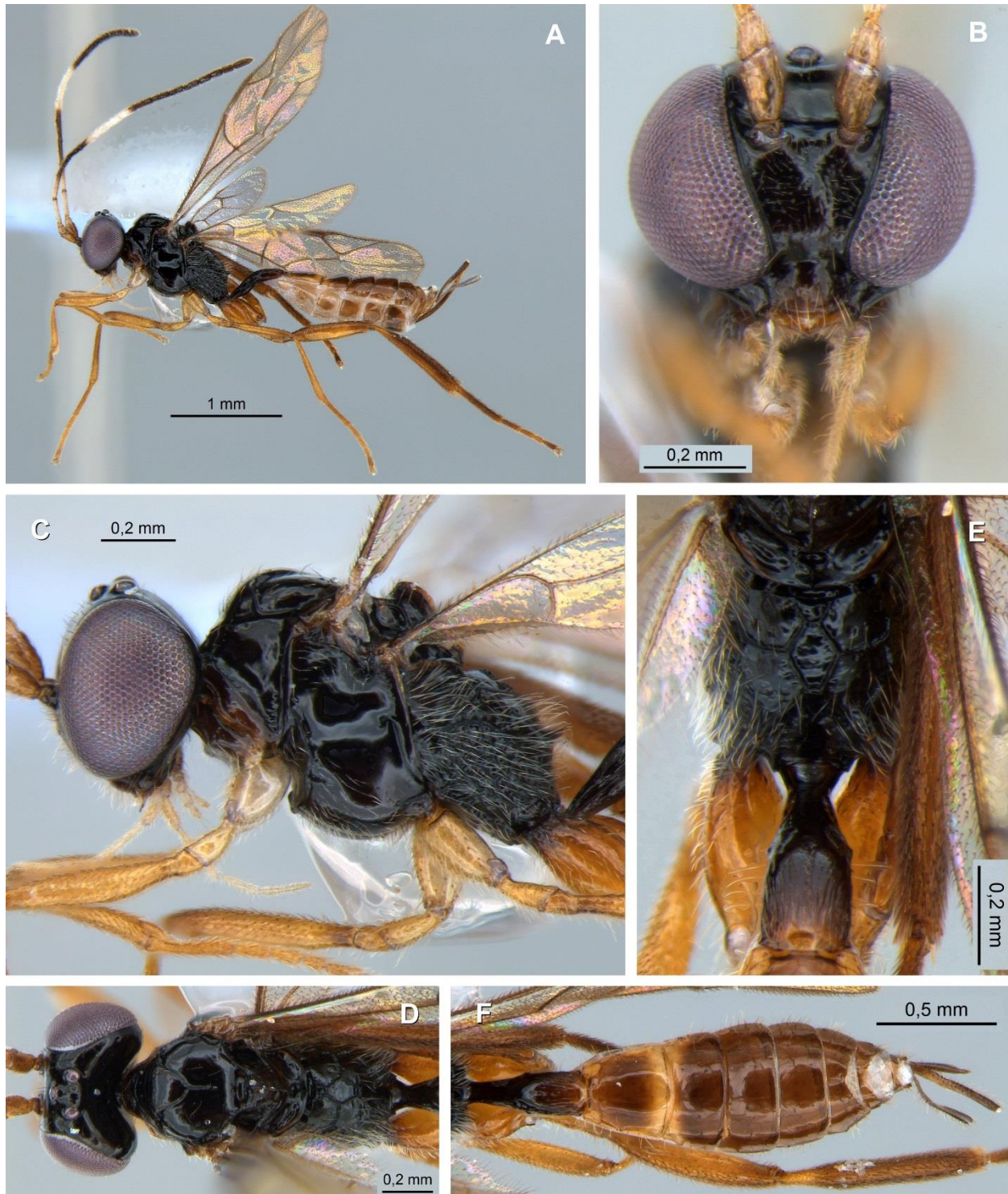


Figura 56: *Eusterinx (Ischyraxis) sp. nov. 3*: **a**, female habitus; **b**, face; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, mesosoma dorsal view; **e**, propodeum dorsal view; **f**, metasoma dorsal view.



Figura 57: *Eusterinx (Divinatrix) sp.*: a, female habitus; b, face; c, metasoma dorsal view.

### 5.3.5. *Symplecis* Forster, 1869 (Fig. 58)

Espécie tipo: *Symplecis alpicola* Forster, 1871

**Diagnose:** Margens dos olhos fortemente convergentes ventralmente, clipeo pequeno, separado da face por um sulco (Fig. 58 b). Espaço malar muito pequeno, com sulco subocular; mandíbulas normalmente não torcidas; carenas do propódeo completas. Esterno do T1 fundido ao tergo, glima ausente, epipleura do T2 e T3 separado do tergo por uma crista (HUMALA, 2016; DASH, 1992)

**Biologia:** Os hospedeiros conhecidos são *Diadocidia ferruginosa* Meigen (Diptera: Diadocidiidae) para *Symplecis breviscula* Roman e *Neoempheria ombrófila* Matile et Matile (Diptera: Mycetophilidae) para *Symplecis matilei* Delobel (DELOBEL; MATILE, 1976; HUMALA, 2016)

**Distribuição:** O gênero tem distribuição mundial, com 16 espécies descritas (HUMALA, 2016) sendo apenas uma para a região Neotropical: *Symplecis laticinta* (Cresson, 1868), porém com registro apenas para o México.

**Comentários:** Foram encontrados 15 indivíduos de *Symplecis* em nossas amostras. 14 deles foram encontrados em Itamonte, e um na Serra da Bocaina, todos na altitude média (1399-1606 m). Desses, apenas um foi coletado em Varredura, o restante em Armadilha Moericke. Nenhuma análise molecular foi realizada com o gênero.

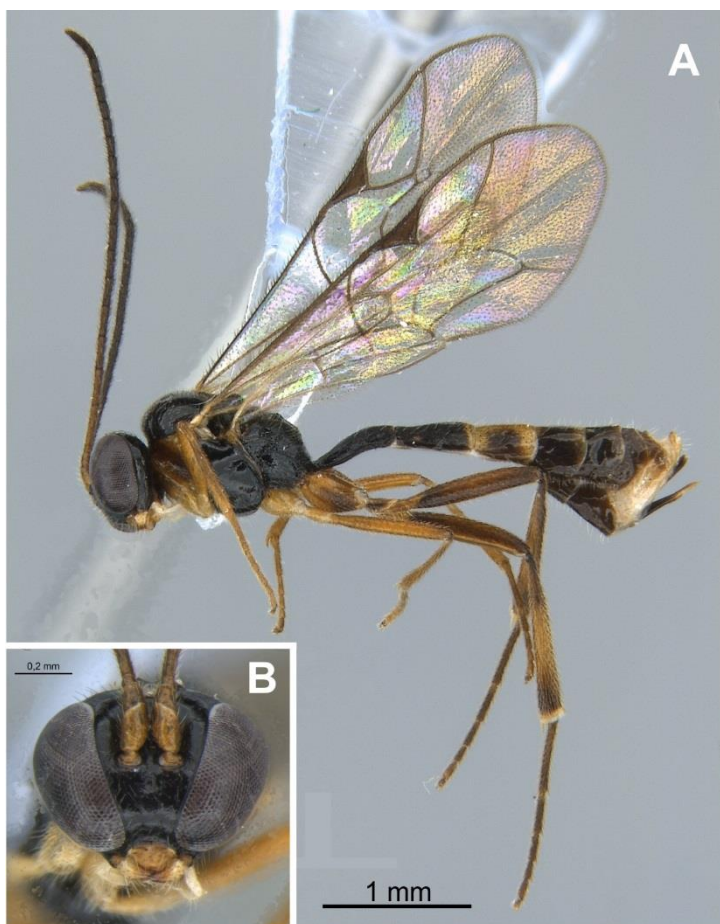


Figura 58: *Symplecis* sp.: a, Female habitus; b, face.

### 5.3.6. *Pantisarthrus* Forster, 1871

Espécie tipo: *Pantisarthrus inaequalis* Förster, 1871

**Diagnose:** O grupo caracteriza-se por possuir o esterno do primeiro segmento abdominal não fundido com o tergo, presença de glima; propódeo com carenas variáveis; epipleura dos T2 e

T3 não separadas dos tergos por uma carena; clípeo convexo, separado da face por um sulco; face e tórax polidos, com pelos esparsos, mandíbula não rotacionada, sulco malar presente; discoidela ausente ou fraca; ovipositor reto 0.16-0.5x o comprimento da tíbia posterior.

**Biologia:** O único hospedeiro conhecido é *Phronia Strenua* (Diptera: Mycetophilidae) (Roman, 1923) de *Pantisarthrus lubricus*.

**Distribuição:** O gênero tem ocorrência nas regiões Paleártica, Neártica e Oceânica e apenas 6 espécies descritas *P. lubricus*, *P. luridus*, *P. rudepunctatus*, *P. isolatus*, *P. dispar* and *P. gracilis* (VAN ROSSEM, 1991; YU *et al.*, 2016).

**Comentários:** Foram coletados 30 indivíduos do gênero, todos em Itamonte (coletas em Setembro), nas altitudes 1399-1606 m e 1612-1652m. Apenas um exemplar foi coletado com Malaise, todos os outros com Moericke.

A análise morfológica desses exemplares nos indicou duas espécies novas, e, além disso, na coleção DCBU foi encontrada uma outra espécie do gênero, coletada em São Luís do Paraitinga com Armadilha Moericke.

A descrição dessas três espécies e a chave de identificação para todas as espécies do gênero encontra-se abaixo.

O artigo com os resultados desse gênero, sua ocorrência para a região Neotropical, a descrição das três novas espécies, e a chave para todas as espécies do gênero foi submetido para a revista *Zootaxa* e o trabalho já foi aceito.

#### ***Pantisarthrus sp. nov. 1* (Figs 59, 60)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBUMO 379170) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN–APA–UCF) S22°21’12’’W44°47’55’’, armadilhas Moericke 2 (1412m), 13–16.IX.2015, A.S. Soares & L.A.M Soares col.” Paratypes: 26 F# (DCBUMO 379150–379169; DCBUMO 379171–379176) same information of holotype.

*Description of holotype* #F (Fig. 59 a): body length 2.9-3.6 mm.

*Diagnosis.* This species can be readily separated from other species by the first tergite being mostly smooth, black with the apex white, metasomal tergite 2 light brown with apical margin white and the remaining tergites light brown.

*Color.* Head dark brown, clypeus varies from all brown yellowish to brown yellowish with apical margin yellow (Figs 59 b, c), mandible yellow, palpi light yellow, antenna with scape and

pedicel brown yellowish, flagellomeres brown. Legs mostly yellow, apex of hind tibia, femur and all tarsomeres light brown. Pronotum yellow anteriorly and brownish posteriorly, mesosoma dark brown (Fig. 59 d). Propodeum black. Metasomal tergite 1 black with apical margin white, tergite 2 light brown with apical margin white, remaining tergites light brown (Fig. e), sternites and ovipositor sheaths light brown. Tegula white, wings hyaline.

*Head.* Antennae with 19 flagellomeres with setae shorter than flagellomere width; first flagellomere length 3.0–4.2× width, second flagellomere length 3.0–3.5× width. Face polished with sparse setae, width 1.1–1.4× height, malar space 1.3–1.6× basal width of mandible, mandible with two teeth, not twisted. Clypeus convex, pilose, truncate, punctate and with long setae, width 1.1–1.7× height (Figs 3-4). Eye–ocellar distance 0.98–1.2× greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth with epomia. Mesopleuron smooth, with epicnemial carina extending to the middle of the mesopleuron, sternaulus present only anteriorly, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove deep and smooth, posterior transverse carina of mesosternum present (Fig. 60 a). Mesoscutum and scutellum smooth and polished with sparse setae, notaulus absent, prescutellar groove smooth without carinae. Propodeum polished with lateral long and sparse setae, pleural carina complete, posterior transverse carinae complete and the lateral longitudinal carinae present only at the apex (Fig. 60 b).

*Metasoma.* Tergite 1 with two median longitudinal carinae converging at apex, smooth with posterior margin striate or rugose, length 1.7–1.9× apical width (Fig. 60 c, d). Tergites 2–7 smooth. Ovipositor short, 0.33× length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.6–3.2 mm, hind wing length 2.0–2.4 mm. Portion of cubitus between intercubitus and second recurrent vein 0.87× of second recurrent vein; section *dg* of radiella in hind wing 0.44× of length section *gh*; nervellus slightly reclivous to base.

*Male.* Unknown

*Distribution:* Brazil, Minas Gerais.

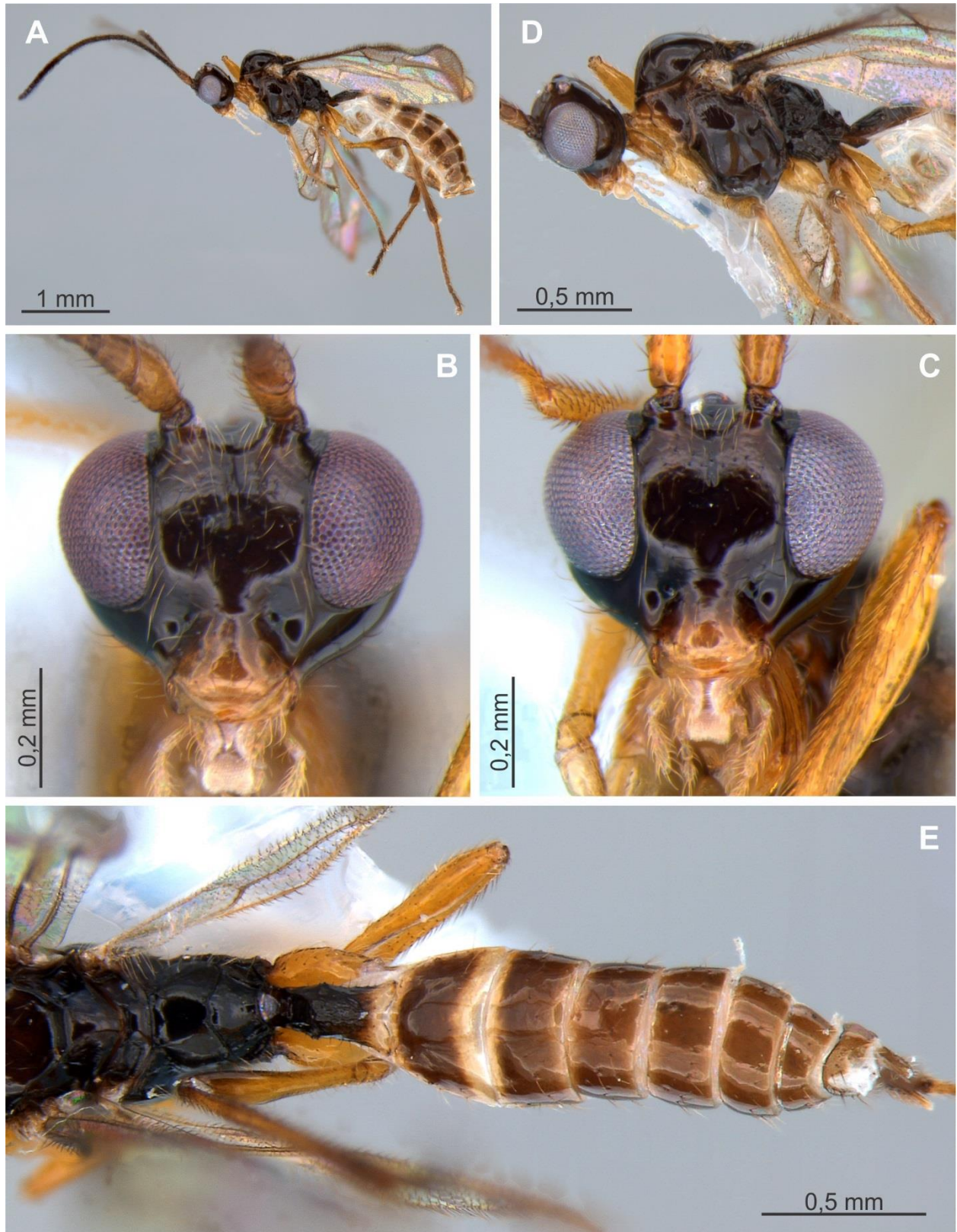


Figura 59: *Pantisarthrus* sp. nov 1: a, female habitus; b and c, color variation on clypeus ; d, mesosoma, lateral view ; e metasoma, dorsal view;

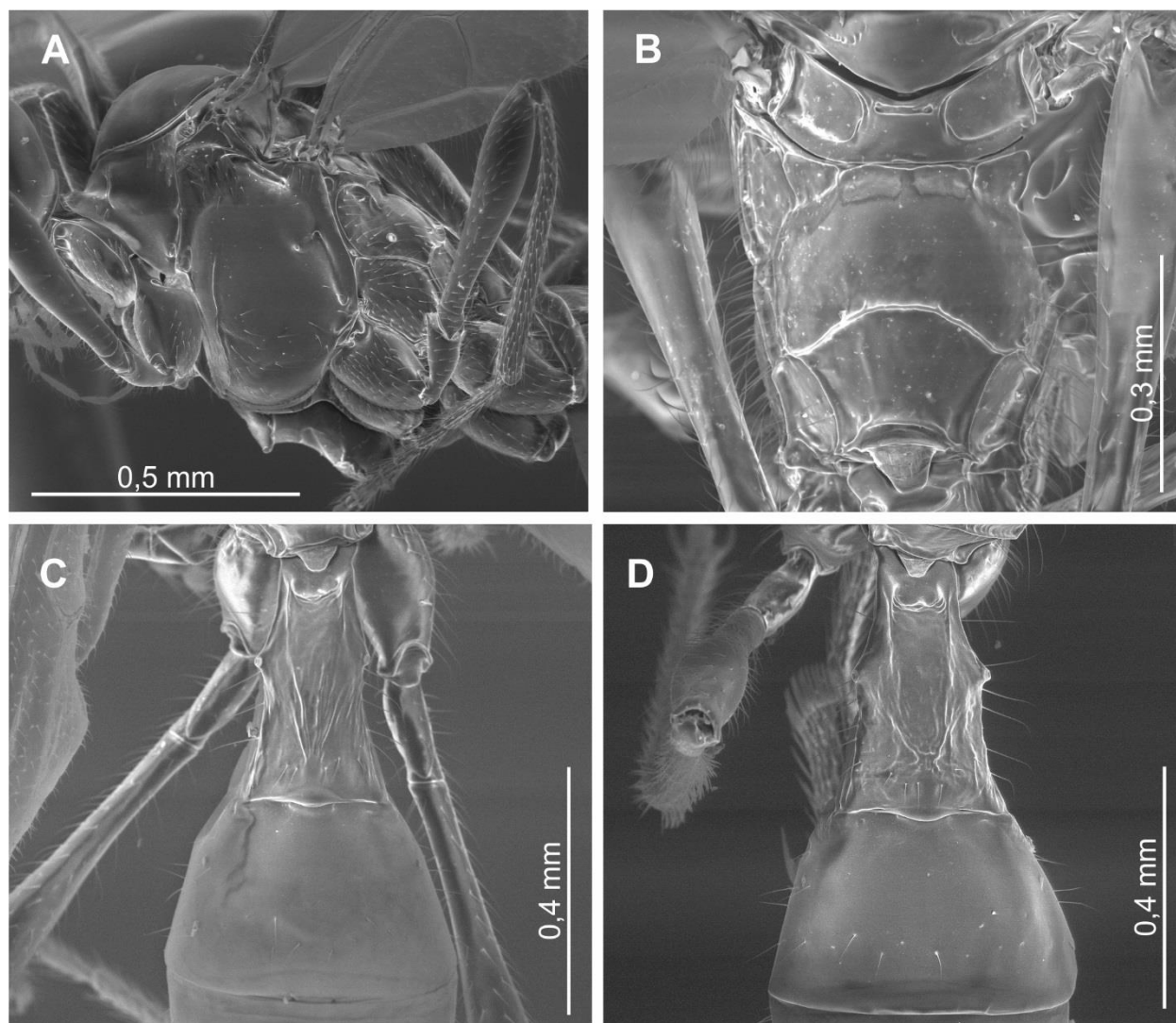


Figura 60: *Pantisarthrus* sp. nov. 1: **a**, carinae of pronotum and mesopleuron, lateral view; **b**, propodeum, dorsal view; **c** and **d**, sculpture variation on metasomal tergite 1, dorsal view.

***Pantisarthrus* sp. nov. 2 (Figs 61- 62)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBU 221890) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S 22°21’12’’44°47’55’”, armadilhas Moericke 2 (1412m) 16–19.IX.2015 A.S Soares & L.A.M. Soares cols.” Paratypes: 1F# (DCBU 222164) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF) S 22°21’16’’W 44°47’56’”, armadilhas Moericke 3 (1443m) 16–19.IX.2015 A.S Soares & L.A.M. Soares cols.” 1 M# (DCBUMO 379177) “Itamonte, MG, Brasil Serra da Mantiqueira (RPPN-APA-UCF), S 22°21’35’’W 44°47’57’”, armadilha Malaise 03 (1.605m) 21.IX.2015, A.S Soares & L.A.M. Soares cols.”

*Description of holotype* #F (Fig. 61 a): Body length 2.7-3.2 mm.

*Diagnosis.* This species is similar to *Pantisarthrus* sp. nov. 1 but differs by the body darker, metasomal terga mostly dark brown with a yellow stripe between tergites 1 and 2, and the apical carina of propodeum not curved.

*Color.* Head, mesosoma and first tergite mainly black; anterior margin of pronotum yellowish (Fig. 61 b). Metasoma mostly dark brown with a yellow stripe between tergites 1 and 2 (Fig. 61 c). Apex of clypeus and mandible yellowish, palpi white, antennae brownish with scape and pedicel light brown (Fig. 61 d). Legs mostly yellow, apical fore tarsomere all median tarsomeres, apex of femur, tibia and hind tarsus brownish. Tegula white, wings hyaline. Ovipositor sheaths light brown

*Head.* Antennae with 19 flagellomeres with setae shorter than flagellomere width; first flagellomere length 3.9–5.2× width, second flagellomere length 2.3–4.1× width. Face polished with sparse setae, width 1.4× height, malar space 1.5-1.7× basal width of mandible, mandible with two teeth. Clypeus convex, pilose, truncate at margin, punctate and with long setae, width 1.3–1.6× height (Fig. 61 d). Eye–ocellar distance 0.9-1.3× greatest diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth with epomia, mesopleuron smooth, with sparse setae, with epicnemial carina extending to the middle of the mesopleuron, sternaulus present only at anterior margin, mesopleural fovea punctiform, mesopleural groove smooth, posterior transverse carina of mesosternum present (Fig. 61 e). Mesoscutum and scutellum polished with very few punctuation, notaulus absent, prescutellar groove smooth and without carina. Propodeum polished with long hairs on lateral region, pleural carina complete, posterior transverse carinae complete and the lateral longitudinal carinae present only at the apex (Fig. 61 f).

*Metasoma.* Tergite 1 with long hairs on lateral region, mostly smooth with half posterior region rugulose and with two longitudinal carinae converging at apex, length 1.4-1.6× apical width, tergites 2–7 smooth (Fig. 62 b). Ovipositor short, 0.3× length of hind tibia.

*Wings.* Fore wing length 2.7-3.0 mm, hind wing length 1.8-2.2 mm. Portion of cubitus between intercubitus and second recurrent vein 0.83× of second recurrent vein; section *dg* of radiella in hind wing 0.48× of length section *gh*; nervellus reclivous to base.

*Male.* Similar to female, but metasoma missing (Fig. 62 a).

*Distribution:* Brazil, Minas Gerais.

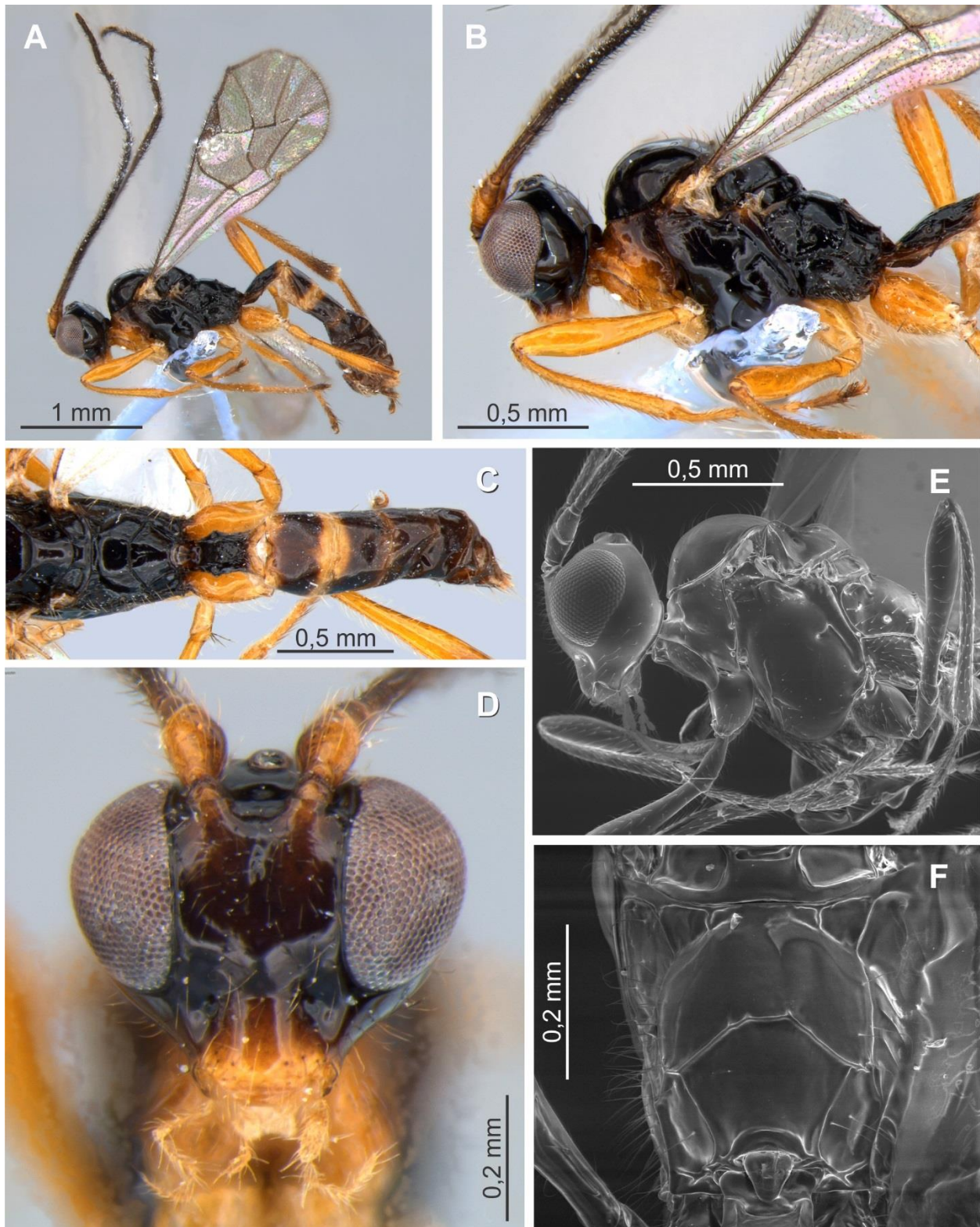


Figura 61: *Pantisarthrus sp. nov. 2*: **a**, female habitus; **b**, mesosoma, lateral view; **c**, metasoma, dorsal view; **d**, face, frontal view; **e**, carinae of pronotum and mesopleuron, lateral view; **f**, propodeum, dorsal view.

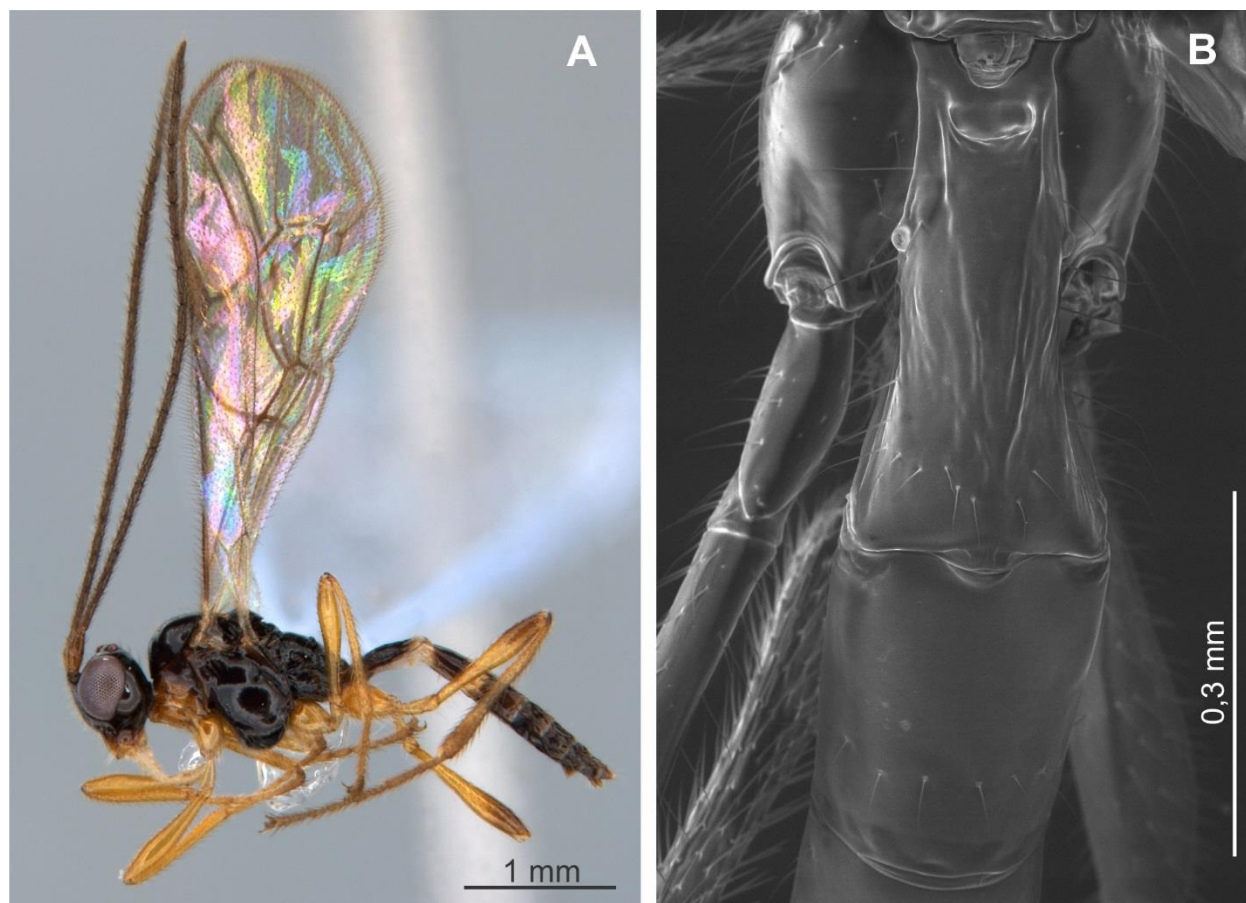


Figura 62: *Pantisarthrus sp. nov.2*: a, male habitus; b, metasomal tergite 1, dorsal view.

***Pantisarthrus sp. nov. 3* (Fig. 63)**

**Examined material:** Holotype: F# (DCBU 35965) “São Luiz do Paraitinga, SP, Brasil PESM – Núcleo Santa Virgínia Sucessão secundária, S 23°20’37’’W 45°7’47’’ armadilha Moericke Pto. 3B, 05.VII.2012, I.F de Melo e eq. col.” (961 m). Paratype: 1 F# (DCBU 34757) “São Luiz do Paraitinga, SP, Brasil PESM – Núcleo Santa Virgínia Área Conservada, S 23°20’15’’W 45°6’22’’ armadilha Moericke Pto. 2C, 06.IX.2012, I.F de Melo e eq. col.”, (1,004 m) Partially broken.

*Description of holotype #F* (Fig. 63 a). Body length 3.0 mm.

*Diagnosis:* This is the only species with rugose first tergite. The other known species have the first tergite coriaceous or mostly smooth.

*Color.* Brownish. Antennae brown with scape, pedicel and first two flagellomeres yellowish, palpi white, apex of clypeus, mandible, pronotum and legs yellowish. Coxa, trochanter and trochantellus of anterior and median legs and trochanter and trochantellus of hind leg white,

with apex of femur, base and apex of tibia and tarsomeres brownish. Tegula white. Propodeum and first metasomal tergite dark brown, remaining tergites brown yellowish, sternites white, wings hyaline ovipositor sheaths light brown.

*Head.* Antennae with 22 flagellomeres with setae longer than width of flagellomere (Fig. 63 g); first flagellomere length  $4.7\times$  width, second flagellomere length  $4.5\times$  width. Face polished with sparse punctate and long setae, with width  $1.33\times$  height; malar space  $1.3\times$  basal width of mandible, mandible with one tooth, not twisted. Clypeus convex, punctate with margin truncate and with long setae, width  $1.6\times$  height (Fig. 63 b). Eye–ocellar distance as long as the diameter of lateral ocellus.

*Mesosoma.* Pronotum smooth with epomia, mesopleuron smooth, with epicnemial carina extending to the middle of the mesopleuron, sternaulus absent, mesopleural fovea punctiforme, mesopleural groove crenulate, posterior transverse carina of mesosternum present (Fig. 63 c, d); mesoscutum and scutellum smooth, notaulus absent, prescutellar sulcus smooth and without carinae. Propodeum smooth and with median longitudinal carina incomplete, posterior transverse, lateral longitudinal and pleural carinae present and complete (Fig. 63 e).

*Metasoma.* Tergite 1 rugose with two median parallel longitudinal carinae, length  $2.0\times$  apical width (Fig. 63 f), tergites 2–7 smooth and with sparse hairs. Ovipositor short,  $0.3\times$  length of hind tibia.

*Wings.* fore wing length 3.0 mm, hind wing length 2.0 mm. Portion of cubitus between intercubitus and second recurrent vein  $0.87\times$  of second recurrent vein; section *dg* of radiella in hind wing  $0.55\times$  of length section *gh*; nervellus reclivous to base.

*Male.* Unknown

*Distribution:* Brazil, São Paulo.

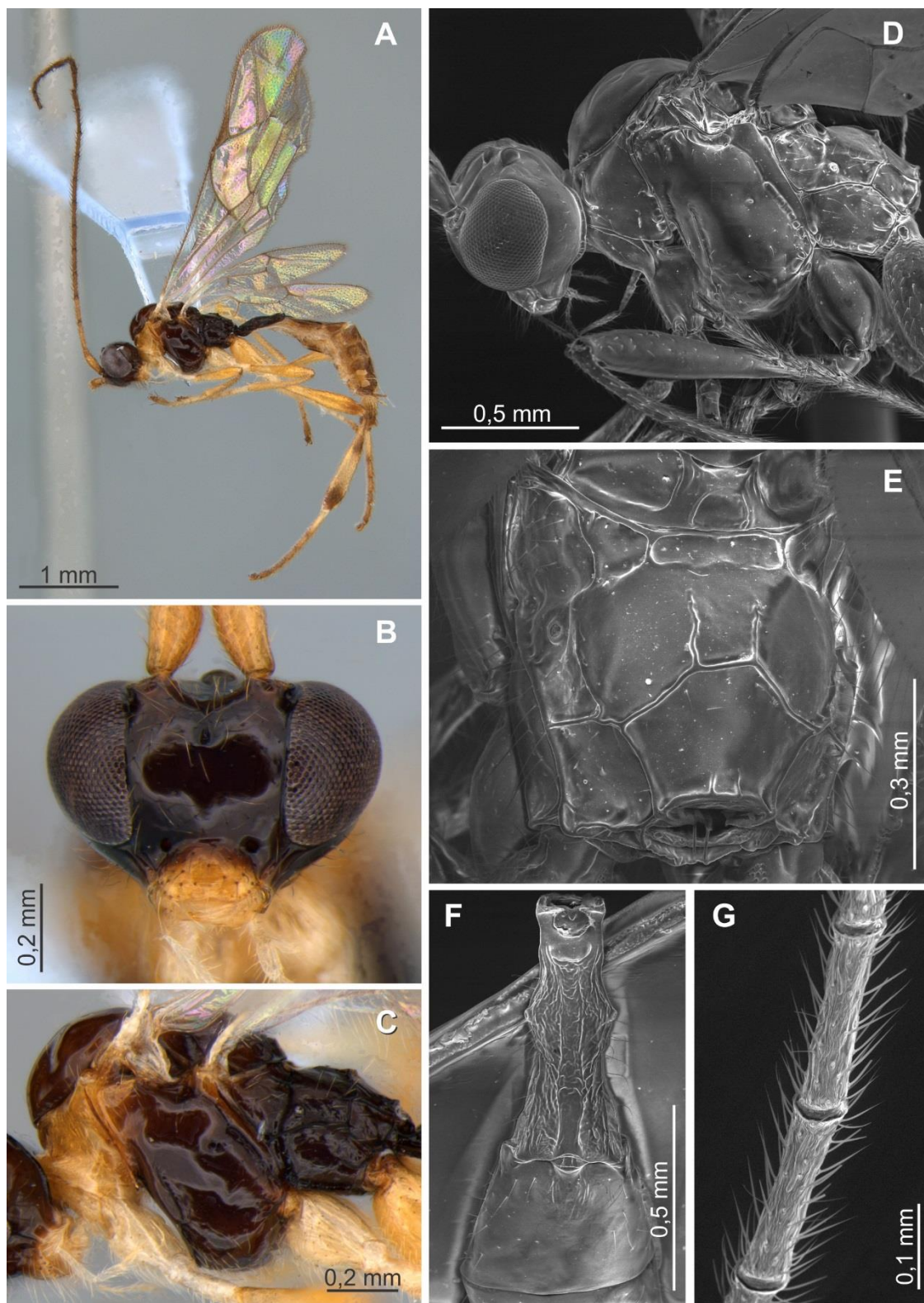


Figura 63: *Pantisarthrus* sp. nov. 3: **a**, female habitus; **b**, head, frontal view; **c**, mesosoma, lateral view; **d**, carinae of pronotum and mesopleuron, lateral view; **e**, propodeum, dorsal view; **f**, metasomal tergite 1, dorsal view; **g**, setae on flagellomeres.

**Key to species of *Pantisarthrus* (Modified from Van Rossem, 1987)**

- 1 Mesoscutum with a median longitudinal sharp groove..... *P. isolatus* (Benoit)(Oceanic)  
 - Mesoscutum without a median longitudinal sharp groove ..... 2
- 2 First tergite long, 2.7–3.0 times as long as its apical width, with rough and irregular longitudinal sculpture; profile of tergite trapezoidal; claws of front legs conspicuously stronger than those of mid and hind legs; ovipositor 0.16x length of hind tibia..... *P. gracilis* Van Rossem(Western Palaearctic)  
 - First tergite length no more than 2.5 times as long as apical width; sculpture variable, in some males surpassing 2.5 times but in these case the sculpture is coriaceous..... 3
- 3 First tergite never coriaceous..... 4  
 - First tergite coriaceous ..... 6
- 4 First tergite rugose, with two parallel longitudinal carinae from apex to base (Fig. 63 f)..... *P. sp. nov. 3* (Neotropical)  
 - First tergite mostly smooth basally, with posterior half sculpture varying, and with two converging longitudinal carinae (Figs 59 e; 60 c, d; 62, b)..... 5
- 5 Body mostly black; tergite 2–7 dark brown, tergite 1 and 2 with a yellow stripe at apex (Figs 61 a, c)..... *P. sp. nov. 2* (Neotropical)  
 - Body dark brown; tergite 2–7 light brown, tergite 1 and 2 with a white stripe at the apex (Figs 59, a, c)..... *P. sp. nov. 1* (Neotropical)
- 6 Second tergite and following polished with some irregular puncture, mesoscutum strongly convex, prescutellar groove conspicuously deep.... *P. rudepunctatus* Strobl (Western Palaearctic)  
 - Second tergite and others polished without punctures..... 7
- 7 Section *gh* of radiella absent; first tergite 2.0–2.6 times as long as apical width..... *P. dispar* Van Rossem (Western Palaearctic)  
 - Section *gh* of radiella present; first tergite 1.4–2.3 times as long as apical width..... 8
- 8 Section *gh* of radiella equal to or slightly shorter than section *dg*..... *P. lubricus* (Förster)(Eastern Palaearctic, Western Palaearctic, Nearctic)  
 - Section *gh* of radiella longer than section *dg*... *P. luridus* Förster (Western Palaearctic, Nearctic)

**5.4. Chave preliminar para os gêneros encontrados nesse estudo (baseada em Broad, 2010 e Dash, 1992)**

- 1- Face uniformemente convexa, clípeo não separado da face por um sulco em sua base (Fig. 28 c).....2
- Face não uniformemente convexa, clípeo separado da face por um sulco em sua base (Fig. 34)..7
- 2- Mandíbulas nunca se sobrepõem, labrum nunca exposto (Fig. 28 c), nervelo na maioria das vezes reclinado (Fig. 28 b), algumas vezes vertical, ovipositor curto, não ultrapassando o ápice do metassoma..... *Orthocentrus* Gravenhorst, 1829
- Mandíbulas sobrepostas quando fechadas, labro exposto, nervelo inclinado ou vertical, ovipositor variável..... 3
- 3- Carena epicnemiais ausente (Fig. 31)..... *Plectiscus* Gravenhorst, 1829
- Carena epicnemiais presente..... 4
- 4- Mandíbula com dente inferior presente e visível em vista antero-ventral (Fig. 29 b)..... 5
- Mandíbula rotacionada, dente inferior se presente, localizado na face interna da mandíbula (Fig. 32 c-d, 33 b)..... 6
- 5- Discoidela ausente, nas fêmeas: ovipositor longo, reto, bainhas sem capacidade de articulação e metassoma não alongado, sem capacidade de articulação..... *Picrostigeus* Förster, 1869 (Fig. 30)
- Discoidela presente, nas fêmeas: ovipositor não tão longo, curvo, bainha com capacidade de se articular, metassoma com capacidade de articulação e de fazer movimentos rotacionais, alongado, T3 normalmente maior que T2..... *Batakamacrus* Kolarov, 1986 (Fig. 29)
- 6- Clípeo com o ápice incurvado, de maneira côncava..... *Chilocyrtrus* Townes, 1971 (Fig. 33)
- Clípeo com o ápice reto..... *Stenomacrus* Förster, 1869 (Fig. 32)
- 7- Esterno T1 separado do tergo, glima presente (Propódeo com parte das carenas presentes, discoidela ausente ou fraca, ovipositor 0.16- 0.5x o comprimento da tíbia posterior).....  
.....*Pantisarthrus* Förster, 1871 (Figs 59- 63)
- Esterno T1 fundido ao tergo, glima ausente...8

- 8- Escapo inflado, com margem posterior membranosa (Fig. 36)..... *Megastylus* Schiodte, 1838  
 - Escapo varia, porém não é inflado e não possui margem membranosa..... 9
- 9- Mandíbula rotacionada, apenas um dente visível (discoideia ausente, ovipositor 0.5-1.25x o comprimento da tíbia posterior, antena com 14-24 segmentos) (Figs 53-57).....*Eusterinx* Forster, 1869  
 - Mandíbula não rotacionada, dois dentes visíveis (Fig. 50 b)..... 10
- 10- Areolete ausente, margens dos olhos paralelos (T1 e T2 polidos, sulco subocular profundo) (Figs 50-52) ..... *Proclitus* Forster, 1869  
 - Areolete presente, se ausente então margens dos olhos convergentes ventralmente..... 11
- 11- Margens dos olhos paralelos, ovipositor 0.65-1.10x comprimento da tíbia posterior (sulco subocular profundo, discoideia presente, clipeo com largura 1.3- 2.25x altura)..... *Gnathochorisis* Forster, 1869 (Figs. 47- 49)  
 - Margens dos olhos convergentes, ovipositor 0.65- 1.75x comprimento da tíbia posterior (garras tarsais pequenas, comprimento do fêmur posterior 4-6.1x sua altura)..... *Symplecis* Forster, 1869 (Fig. 58)

## 6. Considerações Finais

Este estudo possibilitou um maior conhecimento da subfamília Orthocentrinae, tão pouco estudada em todo o mundo, principalmente na região Neotropical. Foi possível entender melhor sua distribuição e demonstrar sua riqueza e diversidade.

Foram encontradas 130 espécies em 12 gêneros, o que mais que dobra o número de espécies conhecidas para a região Neotropical (55 espécies). Com relação à fauna brasileira, trata-se do primeiro grande registro para o grupo, dado que até então conhecia-se apenas 4 espécies em 3 gêneros em nosso país.

Desse material estudado, foram descritas 21 espécies novas, dos gêneros *Megastylus*, *Gnathochorisis*, *Proclitus*, *Eusterinx* e *Pantisarthrus*. Com relação ao registro de novas

ocorrências, os gêneros *Plectiscus*, *Picrsotigeus* e *Pantisarthrus* são reportados pela primeira vez na região Neotropical, enquanto que *Stenomacrus*, *Batakmacrus*, *Megastylus*, *Gnathochorisis*, *Proclitus*, *Eusterinx*, *Symplecis* e a espécie *Gnathochorisis khalaimi*, Humala, 2017, são reportados pela primeira vez no Brasil.

O uso de técnicas moleculares foi essencial para a robustez dos resultados, devido ao pouco conhecimento sobre a morfologia do grupo e o histórico de reclassificações e problemas taxonômicos. O *DNA Barcoding* permitiu um maior entendimento de quais caracteres são bons para identificação de cada grupo, e também trouxe maiores questionamentos sobre a separação de alguns gêneros, que vão necessitar de revisão. É o caso de *Batakmacrus* e *Picrostigeus* separados principalmente pelo tamanho da genitália, porém os resultados nos mostraram que os machos de *Batakmacrus* também possuem genitálias conspícuas.

Por outro lado, o trabalho corroborou o limite de separação de espécies estabelecido em 2% de divergência nucleotídica. Essa variação foi observada entre as espécies *Eusterinx sp. nov. 1* e *2* que possuem como variação morfológica a esculturação da face, as carenas do própodeo e o tamanho dos flagelomeros da antena. A mesma divergência, de apenas 2%, foi observada nas espécies *Gnathochorisis sp. nov. 1* e *2*, as quais se diferenciaram principalmente pelo tamanho e posição do ovipositor. Em ambos os casos a coloração e a maior parte da escultura do corpo eram semelhantes nas duas espécies de cada gênero.

Com relação ao gênero *Megastylus*, as técnicas moleculares foram essenciais para a separação das espécies. As variações entre elas foram discretas, como tamanho dos flagelomeros, tamanho da antena e a presença ou ausência de notaulos e epomia. A coloração e a esculturação do corpo eram todas semelhantes, demonstrando que esses são caracteres ruins para a identificação de espécies do grupo. Ao mesmo tempo, a variação nucleotídica entre essas espécies foram grandes de até 20% de divergência.

Os resultados a cerca da divergência nucleotídica entre os espécimes encontrados nos corrobora o fato do uso do gene COI ser uma boa ferramenta para separar espécies, porém não para separar gêneros. Como já citado, espécies com variações pequenas, de 2% mostraram variações morfológicas importantes, apesar de discretas, indicando quais caracteres são bons para tal separação. Por outro lado, a divergência molecular entre espécies de *Megastylus*, um gênero

bem definido e caracterizado, é a mesma que a encontrada entre espécimes do gênero *Megastylus* e *Stenomacrus* por exemplo, gêneros bastante diferentes entre si.

Dessa forma, este trabalho demonstra a importância de utilizarmos ferramentas moleculares em conjunto com a taxonomia, possibilitando uma maior robustez na separação das espécies, além de um melhor entendimento dos caracteres importantes para cada grupo. Com isso, podemos resolver problemas taxonômicos antigos e assim aumentar o conhecimento dos táxons possibilitando estudos em outras áreas, como sua função no ecossistema, além de aumentar os esforços para a preservação das áreas onde tais espécies se encontram.

Com relação a distribuição dos Orthocentrinae, podemos perceber que esse grupo tem ampla distribuição nas montanhas estudadas, e se desenvolvem bem em regiões de altitude. Algumas espécies demonstraram ocorrer em todas as altitudes estudadas, porém, algumas outras indicaram endemismo em altitudes acima de 1900 m. Seu hábito de parasitismo nos leva a pensar que este grupo se desenvolve bem em regiões com umidade, passando boa parte de seu desenvolvimento em larvas de Diptera que se encontram no solo ou em cascas de árvores. Por conta disso, o melhor método para coletá-los é a Armadilha Moericke, a qual fica no solo, seguida pela Armadilha Malaise, que intercepta vôo baixos.

Este estudo também levantou muitas dúvidas com relação a classificação dos gêneros pertencentes ao grupo de gêneros *Orthocentrus*. Dado que os Orthocentrinae têm se mostrado um grupo eficiente para o combate de pragas prejudiciais à diversos cultivos de alimentos e plantas ornamentais (DUARTE *et al.*, 2018; MUKAI; KITAJIMA 2019; HUMALA, 2016), a correta identificação pode trazer avanços significativos nos estudos referentes ao uso dessas espécies para o controle biológico de pragas

Nossos resultados demonstraram a imensa diversidade desconhecida da subfamília até então considerada “*trash basket*”. A partir desse estudo, pretendemos que outras regiões possam ser pesquisadas, a fim de que possamos entender melhor como o grupo se distribuí. Além disso, sugere-se uma revisão profunda, principalmente dos gêneros pertencentes ao grupo *Orthocentrus*, utilizando recursos de filogenética e o material coletado em outras regiões do mundo, depositados nos museus.

## Referências Bibliográficas:

- ACHTERBERG, C. VAN.; SHARKEY M. J.; CHAPMAN, E. G. Revision of the genus *Euagathis* Szépligeti (Hymenoptera, Braconidae, Agathidinae) from Thailand, with description of three new species. **Journal of Hymenoptera Research**, v. 36 p. 1–25, 2014. <https://doi.org/10.3897/jhr.36.5658>
- ALHO, C. J. R. The value of biodiversity. **Brazilian Journal of Biology**. v. 68 n. 4. 2008.
- ARAÚJO, C. O. **Padrões de distribuição e diversidade de Scarabaeinae (Scarabaeidae: Coleoptera) ao longo de um gradiente altitudinal no Parque Nacional do Itatiaia, Rio de Janeiro**. 2014. Tese (Doutorado em Ecologia) - Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.
- AUBERT, J. F. Révision des Ichneumonides *Stenomacrus* sensu lato. **Mitteilungen Münchner Entomologischen Gesellschaft**. v. 71, p. 139–159, 1981.
- BATISTA, E. R.; SANTOS, R. F.; SANTOS, M. A. Constructing landscape scenarios to the National Park Serra da Bocaina. **Revista Árvore**, v. 33, n. 6, p. 1095–1108, 2009.
- BENOIT, P. L. G. Les Ichneumonidae des Iles Mascareignes. **Mémoires de l'Institut Scientifique de Madagascar**, v. 80, p. 307–316, 1957.
- BOERO, F. The Study of Species in the Era of Biodiversity: A Tale of Stupidity. **Diversity**, v. 2, p. 115-126, 2010.
- BRASIL, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). **Plano de manejo do Parque Nacional do Itatiaia**. Brasília, 2013. V.1, n.3. 215f.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Secretaria de Biodiversidade e Florestas. **Biodiversidade Brasileira, avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros**. Brasília, 2002.
- BROAD, G. R. Status of *Batakumacrus* Kolarov (Hymenoptera: Ichneumonidae: Orthocentrinae), with new generic combinations and description of a new species. **Zootaxa**, v. 2394, p. 51–68, 2010.
- CARBAYO, F.; MARQUES, A. C. The costs of describing the entire animal kingdom. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 26, n. 4, p. 154-155, 2011.
- CARDOSO-LEITE, E. *et al.* Ecologia da paisagem: mapeamento da vegetação da Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiá, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 2, p. 233–243, 2005.
- CASPERS, H. (1970). **M. S. Mani: Ecology and Biogeography of High Altitude Insects**. Series entomologica vol 4. The Hague: Dr. W. Junk N. V. Publ. 1968. XVI + 528 pp.
- CLOYD, R. A. Ecology of fungus Gnats (*Bradysia* spp.) in greenhouse production systems associated with disease-interactions and alternative management strategies. **Insects**, v. 6, n. 2, p. 325–332, 2015. Disponível em: <http://www.mdpi.com/2075-4450/6/2/325/>.

- COLWELL, R. K.; CODDINGTON, J. A. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 345, p.101-118, 1994.
- COLWELL, R. K. *et al.* Global Warming, Elevational Range Shifts, and Lowland Biotic Attrition in the Wet Tropics. **Science**, v. 322, p. 258–261, 2008.
- COLWELL, R. K.; RAHBEK, C.; GOTELLI, N. J. The Mid Domain Effect and Species Richness Patterns: What Have We Learned So Far? **The American Naturalist**, v. 163, n. 3, p. 1–23, 2004
- DASCH, C. The Ichneumon-flies of America North of Mexico. Pt.12. Subfamilies Microleptinae, Helictinae, Cyloceriinae and Oxytorinae (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Memoirs of the American Entomological Institute**, v. 52, p. 1–470, 1992.
- DELOBEL A.; MATILE S. Un nouveau Microleptinae (Hym. Ichneumonidae) parasite de *Neoempheria ombrophila*, n.sp. (Dipt. Mycetophilidae) en République Centrafricaine. **Bul- letin de l'Institut Fondamental d'Afrique Noire**, v. 37, p. 385–394, 1976.
- DIRNBÖCK, T.; ESSL, F.; RABITSCH, W. Disproportional risk for habitat loss of high-altitude endemic species under climate change. **Global Change Biology**, v. 17, n. 2, p. 990–996, 2011.
- DUARTE, A. F.; GRINBERG, P.S.; MELO, M, DUARTE, J.L.; CUNHA, U.S. Ocorrência e Danos de *Fungus Gnats* em Morangueiro Cultivado em Sistema semi-hidropônico. **EMBRAPA**, Comunicado técnico, v. 366, Pelotas, RS, 2018.
- EADY, R. D. A General Entomology. **Proceedings of the Royal entomological Society of London**, v. 43, p. 4–6, 66–72, 1968.
- EL-HAMALAWI, Z. A. Acquisition, retention and dispersal of soilborne plant pathogenic fungi by fungus gnats and moth flies. **Annals of Applied Biology**, v. 153, n. 2, p. 195–203, 2008.
- FERNÁNDEZ, F.; SHARKEY, M. J. **Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical**. Bogota: Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, 894 p. 2006.
- FERNANDEZ-TRIANA J. L, *et. al.* Review of *Apanteles* sensu strictu (Hymenoptera, Braconidae, Microgastrinae) from Area de Conservación Guanacaste, northwestern Costa Rica, with keys to all described species from Mesoamerica. **ZooKeys** v. 383, p. 1–565, 2014. <https://doi.org/10.3897/zookeys.383.6418>.
- FLOYD R.; ABEBE E.; PAPERT A.; BLAXTER M. Molecular barcodes for soil nematode identification. **Molecular Ecology**, v.11, n. 4, p. 839-50, april, 2002.
- FOLMER O.; BLACK M.; HOEH W.; LUTZ R.; VRIJENHOEK R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biological Biotechnological**, v. 3, n. 5, p. 294-9, 1994 Oct.
- FÖRSTER, A. Uebersicht der Gattungen und Arten der Familie der Plectiscoiden. **Verhandlungen des Naturhistorischen vereins der Preussischen Rheinlande und Westfalens**, v. 28, p. 71–123, 1871.

- GALLO, D. **Entomologia Agricola**. Piracicaba: Fealq, 920p. 2002.
- GAULD, I. D. **The Ichneumonidae of Costa Rica**, v. 47, 589 p. 1991.
- GAULD, I. **The Ichneumonidae of Costa Rica, 2**. Memoirs of the American Entomological Institute, v.57, p.487, 1997.
- GAULD, I. **The Ichneumonidae of Costa Rica, 3**. Memoirs of the American Entomological Institute, v. 63, p.453, 2000.
- GAULD, I. D.; SITHOLE, R.; GOMES, J. U.; GODOY, C. **The Ichneumonidae of Costa Rica, 4**. Memories of the American Entomological Institute, 768 p. 2002.
- GARCIA LOPEZ, A.; MICO E.; GALANTE, E. From lowlands to highlands: searching for elevational patterns of species richness and distribution of scarab beetles in Costa Rica. **Diversity and Distributions**, v. 18, n. 6, p. 543-553, 2012.
- GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, 473p. 1994.
- GORSKA-DRABIK, E.; GOLAN, K.; CWIKLINSKA, M. Effectiveness of coloured sticky traps in monitoring of *Ctenosciara hyalipennis* (Meigen, 1804) (Diptera: Sciaridae) on exotic plant species in greenhouse. **Acta Scientiarum Polonorum**, v. 10, n. 3, p. 209–219, 2011
- GRIMALDI, D.; ENGEL, M. S. **Evolution of the insects**. New York: Cambridge University Press, 2005.
- GRISSELL, E. E. Hymenopteran biodiversity: some alien notions. **American Entomologist**, v. 45, n 4, p. 235-244, 1999.
- GUEVARA, J.; AVILÉS, L. Elevational changes in the composition of insects and other terrestrial arthropods at tropical latitudes: a comparison of multiple sampling methods and social spider diets. **Insect Conservation and Diversity**, v. 2, p.142-152, 2009.  
doi:[10.1111/j.17524598.2008.00043.x](https://doi.org/10.1111/j.17524598.2008.00043.x)
- GUIMARÃES, A. É. *et al.* Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina, Brasil. I - Distribuição por habitat. **Revista de Saude Publica**, v. 34, n. 3, p. 243–250, 2000.
- GUPTA, V. K. The Ichneumonidae of the Indo-Australian area (Hymenoptera). A synoptic catalogue of the taxa described through 1985 together with bibliography, 1960–1985. **Memories of American Entomological Institute**, v. 41, n, 2, p, 1–121, 1987.
- HAJIBABAEI M.; JANZEN D. H.; BURNS J. M.; HALLWACHS W.; HEBERT P. D. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. **Proceedings of the National Academy of Science of the U S A**. v. 24, n, 103(4), p. 968-71, 2006 Jan.
- HANSON, P. Y, GAULD, I. D. **Hymenoptera de la Región Neotropical**. Memories of the American Entomological Institute, v. 77, 994p. 2006.
- HANSON, P. Y; GAULD, I. D. **Hymenoptera of Costa Rica**. Oxford : Oxford University Press, 893p. 1995.

HEBERT, P. D. N., CYWINSKA, A., BALL, S. L., WAARD, S. L. Biological Identifications through DNA barcodes. **Proceedings of Royal Society of London Biological Science**, v. 270, p. 313 – 321, 2003.

HEBERT P. D.; PENTON E. H.; BURNS J. M.; JANZEN D. H.; HALLWACHS W. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. **Proceedings of the National Academy of Science of the U S A.**, v, 12, n, 101(41), p. 14812-7, 2004 Oct.

HODKINSON, I. D. Terrestrial insects along elevation gradients: species and community responses to altitude. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 80, n. 3, p. 489–513, 2005.

HUMALA, A. E. **The Ichneumonid wasps in the fauna of Russia and adjacent countries: Microleptinae and Oxytorinae (Hymenoptera: Ichneumonidae)**. Moscow, Russia: Nauka, pp. 176, 2003.

HUMALA A. E. A new species of the genus *Eusterinx* Förster (Hymenoptera: Ichneumonidae: Orthocentrinae) from Malaysia. **Euroasian Entomological Journal**, v. 15, n.1, p. 171–174, 2016.

HUMALA, A. E.; CHOI, J. K.; LEE, J. W. A review of the genera *Gnathochorisis* Förster and *Symplecis* Förster of South Korea, with notes on Korean orthocentrines (Hymenoptera, Ichneumonidae, Orthocentrinae). **ZooKeys**, v. 562, p. 85–104, 2016.  
<https://doi.org/10.3897/zookeys.562.7303>

HUMALA A. E. Mexican species of the subgenus *Dicolus* Förster, genus *Megastylus* Schiødte (Hymenoptera: Ichneumonidae: Orthocentrinae), with descriptions of a new species. **Proceedings of the Russian Entomological Society**, v. 85, p. 98–102, 2014.

HUMALA, A. E., KRUIDHOFB, H. M., WOELKEB, J. B. New species of *Megastylus* (Hymenoptera: Ichneumonidae: Orthocentrinae) reared from larvae of Keroplastidae fungus gnats (Diptera) in a Dutch orchid greenhouse. **Journal of Natural History**, v. 51, n. 1–2, p. 83–95, 2017. [Http://dx.doi.org/10.1080/00222933.2016.1257074](http://dx.doi.org/10.1080/00222933.2016.1257074)

HUMALA, A. E. New species of Orthocentrinae (Hymenoptera: Ichneumonidae) from Finland. **Entomologica Fennica**, v. 19, p. 94–104, 2008.

HUMALA, A. E. Review of the genus *Batakomacrus* Kolarov, 1986 (Hymenoptera: Ichneumonidae, Orthocentrinae) with description of new species.] (in Russian with English summary. **Proceedings of the Russian Entomological Society**, v, 81, n. 2, p. 29-38, 2010.

HUMALA, A.E. New species of the genus *Gnathochorisis* Förster (Hymenoptera: Ichneumonidae: Orthocentrinae) from the Neotropical Region. **Zootaxa**, v. 4250, n. 3, p. 201–218, 2017.

HUMALA, A. E. Subfamily Orthocentrinae. In: Lelej, A.S. (Ed) **Opredelitel' nasekomykh Dal'nego Vostoka Rossii = Keys to the Insects of the Russian Far East**, v. 4, p. 680–718, 2007.

HUNGERFORD, B. H. B. *Sciara* maggots injurious to potted plants. **Journal of Economic Entomology**, v. 9, p. 538–549, 1916.

- JANZEN, D. H. *et al.* Changes in the arthropod community along an elevational transect in the Venezuelan Andes. **Biotropica**, v. 8, p.193-203, 1976.
- JANZEN, D. H. Sweep samples of tropical foliage insects: effects of seasons, vegetation types, elevation, time of day and insularity. **Ecology**, v.54, p.687-701, 1973.
- KANG I, *et al.* Revision of the species of *Lytopylus* from Area de Conservación Guanacaste, northwestern Costa Rica (Hymenoptera, Braconidae, Agathidinae). **ZooKeys**, v. 721, p. 93–158, 2017. <https://doi.org/10.3897/zookeys.721.20287>
- KOLAROV, J.; BECHEV, D. Hymenopterenparasiten (Hymenoptera) auf Pilzmücken (Mycetophiloidea, Diptera). **Acta Entomologica Bulgarica**, v. 2, p. 18–20, 1995.
- KORNER, C. The use of “altitude” in ecological research. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 22, p. 569–574, 2007.
- KUMAR S, *et al.* MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, p.1547-1549, 2018.
- LA SALLE, J.; GAULD, I.D. **Hymenoptera and Biodiversity**. Wallingford, C.A.B. International, 348p., 1993.
- LAWTON, J. H.; MACCARVIN, M.; HEADS, P. A. Effects of altitude on the abundance and species richness of insect herbivores on bracken. **Journal of Animal Biology**, v.56, p.147-160, 1987.
- LEITÃO-FILHO, H. F. Considerações sobre a florística de florestas tropicais e subtropicais do Brasil. **IPEF**, v.35, p.41-46, 1987.
- LEITE, L. G., *et al.* Virulência de nematoides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) contra larvas de mosca-dos-fungos *Bradysia mabiusi* (Lane, 1959) e persistência de *Heterorhabditis indica* Poinar *et al.* em substratos orgânicos. **Arquivo Instituto biológico**, v. 74, n. 4, p. 337-342, 2007.
- LIS, J. T.; SCHLEIF, R. Size fractionation of double- stranded DNA by precipitation with polyethylene glycol. **Nucleic Acids Research**, v. 2, n. 3, p. 383–390, 1975. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/2.3.383> PMID:236548
- LOMBARDI, J. A. *et al.* Vascular flora of Serra do Japi Biological Reserve , Jundiaí, southeastern Brazil. **Rodriguesia**, v. 63, n. 2, p. 333–340, 2012.
- LOMOLINO, M. V. Elevation gradients of species–density: historical and prospective views. **Global Ecology and Biogeography**, v.10, p.3–13, 2001.
- MALHI, Y., *et al.* Introduction: Elevation gradients in the tropics: laboratories for ecosystem ecology and global change research. **Global Change Biology**, v. 16, n. 12, p. 3171-3175, 2010.
- MARTINELLI, G. Mountain biodiversity in Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 4, p. 587-597, 2007.
- MATTHEWS, R.W. Biology of Braconidae. **Annual Review of Entomology**, v. 19, p. 15-32, 1984.

- MCCAIN, C. M.; GRYTNES, J. A. Elevational gradients in species richness. **Encyclopedia of life sciences**, p. 1–10, 2010. DOI: 10.1002/9780470015902.a0022548
- MCCOY, E. D. The distribution of insects along elevational gradients. **Oikos**, p.313-322, 1990.
- MEIEROTTO S., *et al.* A revolutionary protocol to describe understudied hyperdiverse taxa and overcome the taxonomic impediment. **Deutsche Entomologische Zeitschrift**, v. 66, n. 2, p. 119-145, 2019. <https://doi.org/10.3897/dez.66.34683>
- MEYER C. P.; PAULAY G. DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling. **PLoS Biology**, v. 3, n. 12, p. e422, 2005. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030422>
- MMA. **Mapa de Unidades de Conservação e Terras Indígenas na Área de Aplicação da Lei da Mata Atlântica**, Brasília, 2 p. 2011.
- MOERICKE, V. Uber das farbsehen der pfirchdlatlaus (Mizodes persicae shulz) Z. **Tiepsych**, v. 7, n. 2, p. 265-274, 1950.
- MUKAI, H.; KITAJIMA, H. Parasitoid Wasps regulate population growth of fungus gnats genus *Neoempheria* Osten Sacken (Diptera: Mycetophilidae) in Shiitake mushroom cultivation. **Biological control**, v. 134, p. 15-22, 2019.
- MYERS, N. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853–858, 2000.
- PORTER, C C. Zoogeografia de las Ichneumonidae Latino Americana (Hymenoptera). **Acta Zoologica Lilloana**, v. 36, p. 5-52, 1980
- PURVIS, A.; HECTOR, A. Getting the measure of biodiversity. **Nature**, v. 405, p. 212–219, 2000.
- QUICKE, D.L.J., LAURENNE M.N., FITTON M.G., BROAD, G.R. A thousand and one wasps: a 28S Rdna and morphological phylogeny of the Ichneumonidae (Insecta: Hymenoptera) with an investigation into alignment parameter space and elision. **Journal of Natural History**, v. 43, p. 23-24, 1305-1421, 2009. DOI: [10.1080/00222930902807783](https://doi.org/10.1080/00222930902807783)
- QUICKE, D. L. J. **Parasitic Wasps**. Londres: Chapman Hall, 470 p. 1997.
- QUICKE, D. L. J. **The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps**. Londres: Wiley-Blackwell, 1082 p. 2015.
- RIBEIRO, M. C. *et al.* The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141–1153, 2009.
- RODRÍGUEZ-ESTRELLA, R.; MORENO, M.A.C.B. Rare, fragile species, small populations, and the dilemma of collections. **Biodiversity and Conservation**, v. 15, p. 1621-1625, 2006.
- ROMAN, A. Ichneumonids reared from Diptera Nematocera. **The Entomologist's monthly magazine**, v. 59, p. 71–76, 1923.
- ROSSEM, G.VAN. A revision of some Western Palaearctic Oxytorine genera (Hymenoptera, Ichneumonidae). **Spixiana**, v. 4, p. 79–135, 1981.

- ROSSEM, G.VAN. A Revision of Western Palaearctic Oxytorine Genera. Part VI Genera: *Hemiphanes*; *Oxytorus*; *Apoclima*; *Cylloceria* (new revision); *Proclitus*; *Pantisarthrus*; *Plectiscidea*; *Gnathochorisis*; *Eusterinx* (new revision); *Helictes*; *Phosphoriana* (nomen nov.um); *Proliator* and *Megastylus* (Hymenoptera, Ichneumonidae). **Tijdschrift voor Entomologie**, v. 130, p. 49–108, 1987.
- ROSSEM, G. VAN. New Oxytorinae from Siberia, with revised keys to *Plectiscidea* Vierick and *Eusterinx* Förster s.l (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Zoologische Mededelingen**, v. 65, n. 3, p. 25–38, 1991.
- ROUSSE, P.; VILLEMANT, C. Ichneumons in Reunion Island: a catalogue of the local Ichneumonidae (Hymenoptera) species, including 15 new taxa and a key to species. **Zootaxa**, v. 3278, p. 1–57, 2012.
- SAMBROOK, J., RUSSELL, D. W. **Molecular cloning: a laboratory manual, 3rd ed.** ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 2001.
- SCHOWALTER, T. D. **Insect Ecology: An Ecosystem approach.** 2. ed. Burlington: Academic Press, 574 p. 2006.
- SCHÜHLI, G. S.; PENTEADO, S. do R. C.; REIS FILHO, W.; AMORIM, D. de S. Sciarid fungus gnats as nuisance factor in Pinus timber yards. **Pesquisa Florestal Brasileira Brazilian Journal of Forestry Research**, v. 34, n. 80, p. 1–3, 2014.
- SEDIVÝ, J.; SEVCIK, J. Ichneumonid (Hymenoptera: Ichneumonidae) parasitoids of fungus gnats (Diptera: Mycetophilidae): rearing records from the Czech Republic. **Studia Dipterologica**, v. 10, p. 153–158, 2003.
- SHARKEY M. J.; CHAPMAN E. G.; JANZEN D. H.; HALLWACHS W.; SMITH M. A. Revision of *Aphelagathis* (Hymenoptera, Braconidae, Agathidinae, *Agathidini*). **Zootaxa**, v. 4000, n. 1, p. 73–89, 2015. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4000.1.3>
- SHARKEY M. J.; CHAPMAN E. G. Revision of *Aerophilus Szépliget* (Hymenoptera, Braconidae, Agathidinae) from eastern North America, with a key to the Nearctic species. **Contributions in Science** v. 524, p. 51–110, 2016.
- SHARKEY M. J., *et al.* *Alabagrus* Enderlein (Hymenoptera, Braconidae, Agathidinae) species of Costa Rica, with an emphasis on specimens reared from caterpillars in Area de Conservación Guanacaste. **Contributions in Science**, v. 526 p. 31–180, 2018. <https://doi.org/10.3897/zookeys.130.1569>
- SHARKEY, M.J. Phylogeny and Classification of Hymenoptera. **Zootaxa**, v. 1668, p. 1-766, 2007.
- SILVA, R. R.; BRANDÃO, C. R. F. Formigas (Hymenoptera: Formicidae) como indicadores da qualidade ambiental e da biodiversidade de outros invertebrados terrestres. **Biotemas**, v.12, n. 2, p. 55-73, 1999.
- SMITH M. A., *et al.* Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology, and collections. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 34, p. 12359–12364, 2008. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805319105>

SMITH M. A.; FERNANDEZ-TRIANA, J.; ROUGHLEY, R.; HEBERT, P. D. N. DNA barcode accumulation curves for understudied taxa and areas. **Molecular Ecology Resources** 9 (Suppl. 1), p. 208–216, 2009. doi: 10.1111/j.1755-0998.2009.02646.x

SMITH M. A.; WOODLEY N. E.; JANZEN D. H.; HALLWACHS W.; HEBERT P. D. N. DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, p. 3657–3662, 2006. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511318103>

STEVENS, G. C. The elevational gradient in altitudinal range: an extension of Rapoport's latitudinal rule to altitude. **American naturalist**, p.893-911, 1992.

TAMURA K.; NEI M.; KUMAR S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. **Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)**, v. 101, p.11030-11035, 2004.

TOWNES, H. A light-weight Malaise trap. **Entomological News**, v.83, p.239-247, 1972.

TOWNES, H. Genera of Ichneumonidae 4. **Memoirs of the American Entomological Institute**, v. 17, p. 1–372, 1971.

TOWNES, H. The genera of Ichneumonidae, part 1. **Memoirs of the American Entomological Institute**, 1969. v. 11, 300 p.

TOWNES, H.; TOWNES, M. **A catalogue and reclassification of Neotropical Ichneumonidae**. Memoirs of the American Entomological Institute, 1966. v. 8, 367p.

TUCKER E. M.; CHAPMAN E. G.; SHARKEY M. J. A revision of the New World species of *Cremnops* Förster (Hymenoptera: Braconidae: Agathidinae). **Zootaxa**, v. 3916, n. 1, p. 1–83, 2015. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3916.1.1>

VEIJALAINEN, A.; *et al.* Unprecedented ichneumonid parasitoid wasp diversity in tropical forests. **Proceedings of Royal Society of London Biological Science**, v. 279, p. 4694–4698, 2012.

WAHL, D. B. A review of the mature larvae of Diplazontinae, with notes on larvae of Acaenitinae and Orthocentrinae and proposal of two new subfamilies (Insecta: Hymenoptera, Ichneumonidae). **Journal of Natural History**, v. 24, p. 27–52, 1990.

WAHL, D. B.; GAULD, I. D. The cladistics and higher classification of the Pimpliformes (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Systematic Entomology**, v. 23, p. 265–298, 1998.

WAHL, D. B. Larval structures of oxytorines and their significance for the higher classification of some Ichneumonidae (Hymenoptera). **Systematic Entomology**, v. 11, p. 117–127, 1986.

WAHL D. B. Two new species of *Megastylus* from the new world (Hymenoptera: Ichneumonidae; Orthocentrinae). **Journal of New York Entomology Science**, v. 104, p. 221–225, 1996.

WHEELER, Q. D.; RAVEN, P. H.; WILSON, E. O. Taxonomy: Impediment or expedient? **Science**, editorial, v. 303, 2004.

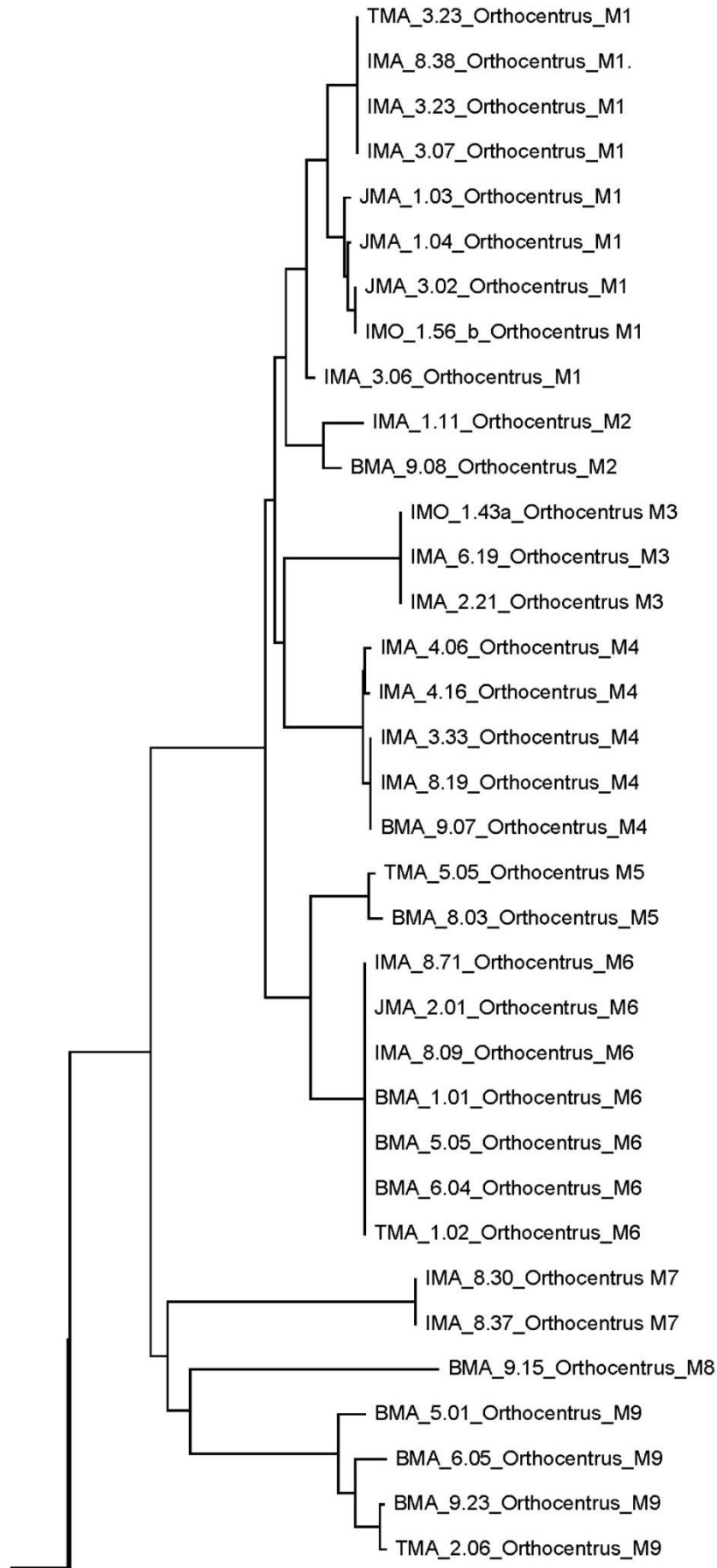
WHITTAKER, R. H. Vegetation of the Siskiyou mountains, Oregon and California. **Ecological monographs**, v.30, n.3, p.279-338, 1960..

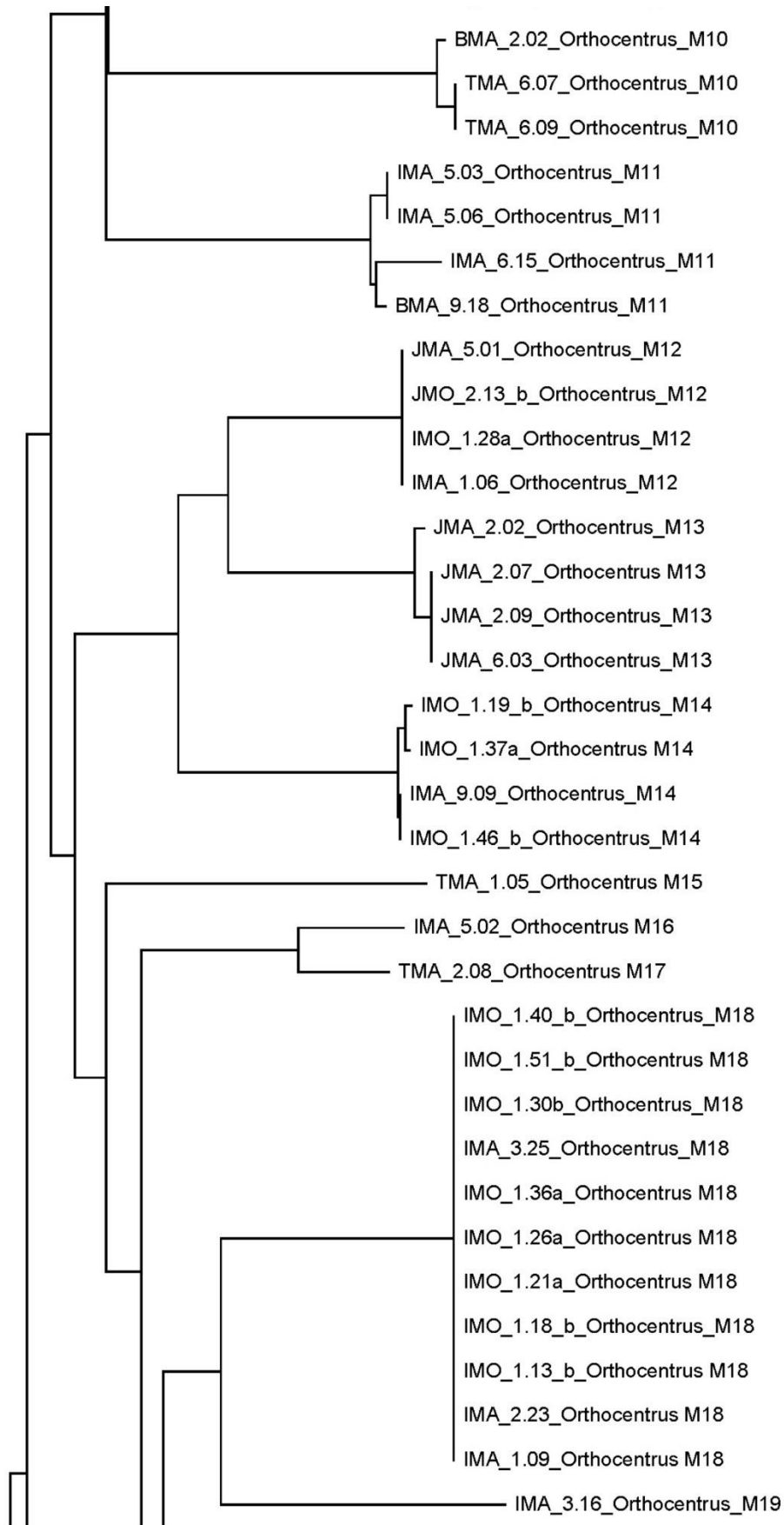
YU, D.S.K., ACHTERBERG, C.V. & HORSTMANN, K. 2016 **Taxapad 2016, Ichneumonoidea**. Database on flash-drive, Nepean, Ottawa. Available from: <http://www.taxapad.com>.

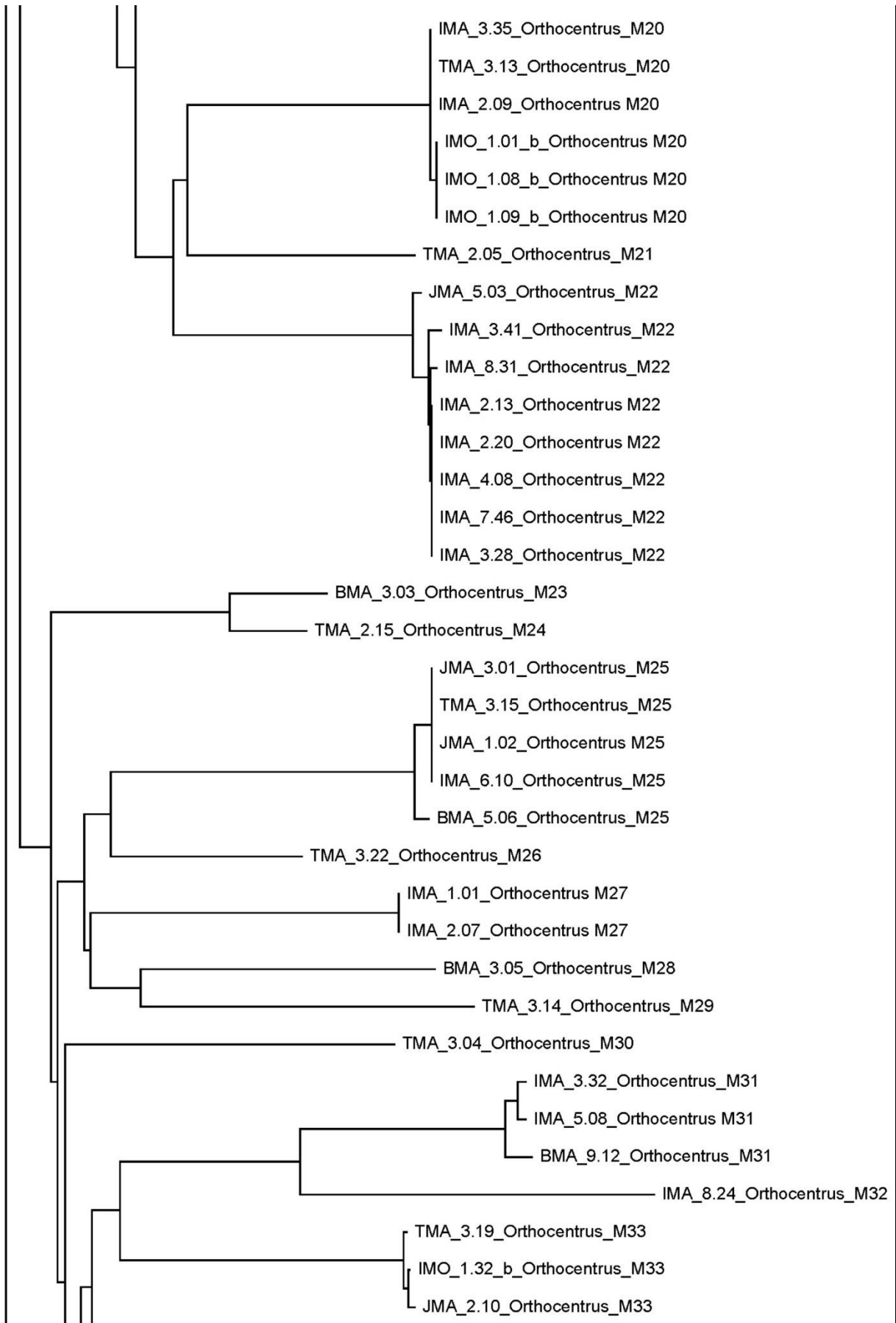
YU, D.; HORSTMANN, K. **Catalogue of world Ichneumonidae (Hymenoptera)**. Memoirs of the American Entomological Institute, 1997. v. 58, 1558 p.

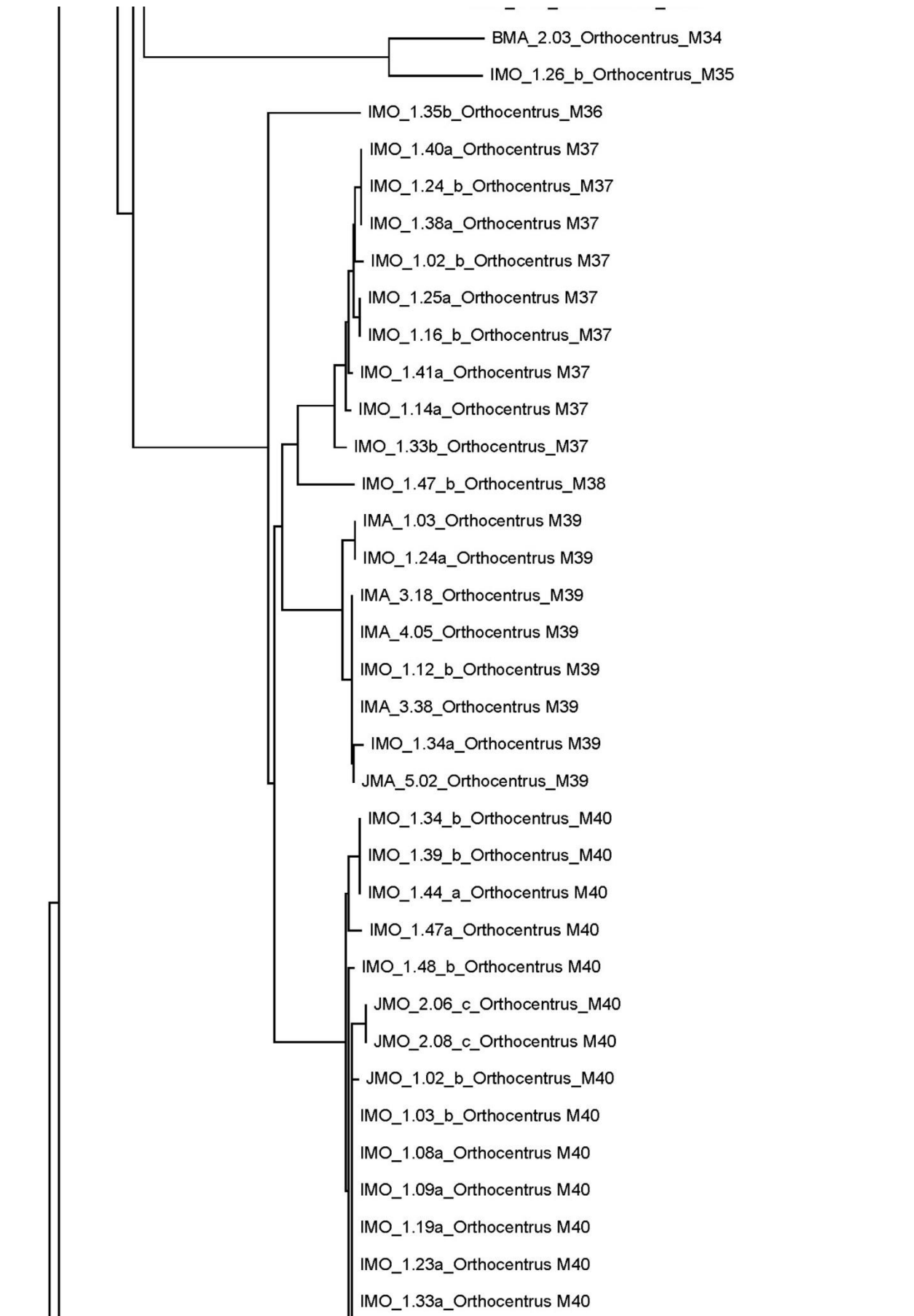
ZHANG, DE- XING; HEWITT, G. M. Insect mitochondrial control region: A review of its structure, evolution and usefulness in evolutionary studies. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 25, n. 2, p. 99-120, March 1997.

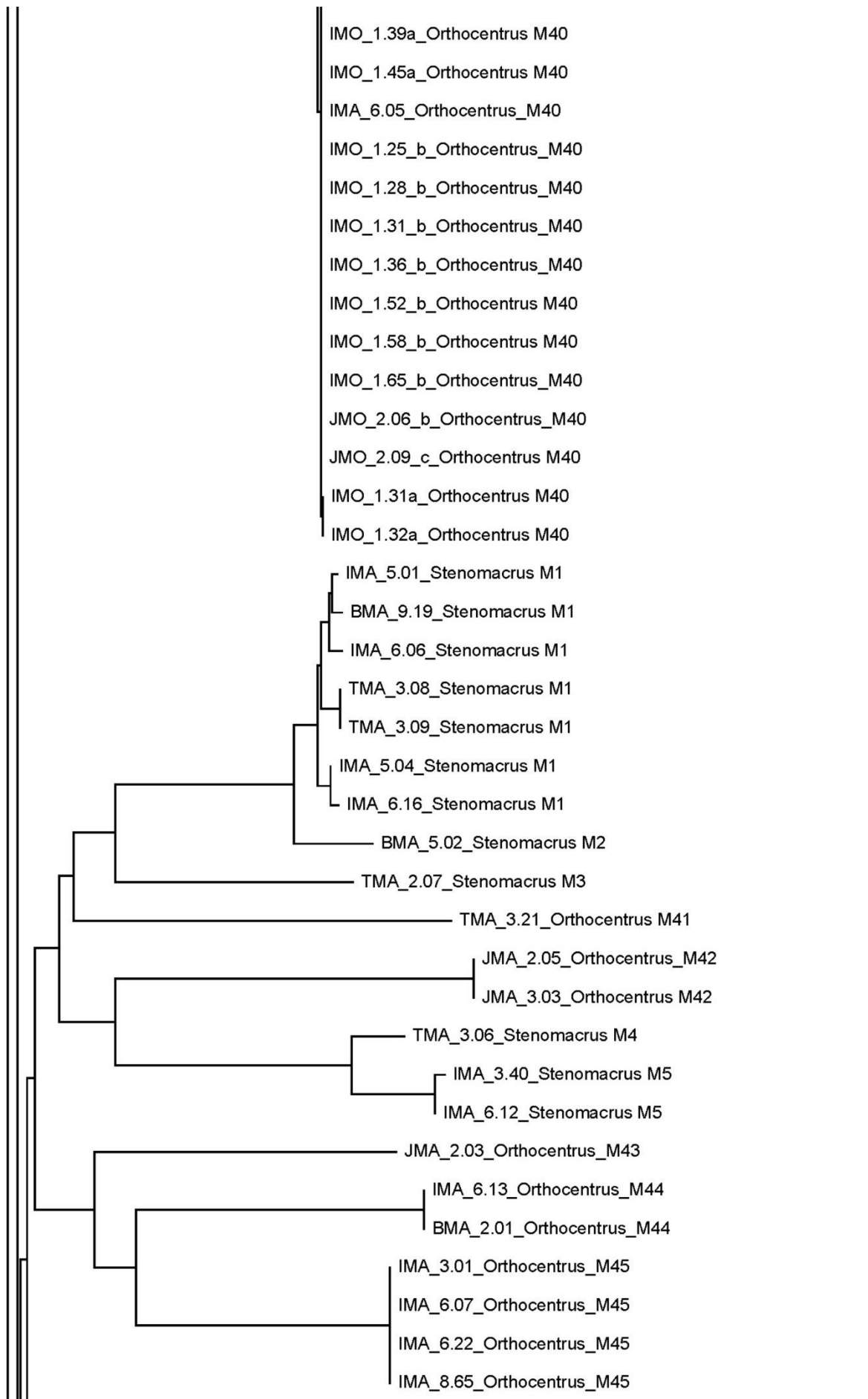
**Apêndice 1 – *Neighbord Joining tree***

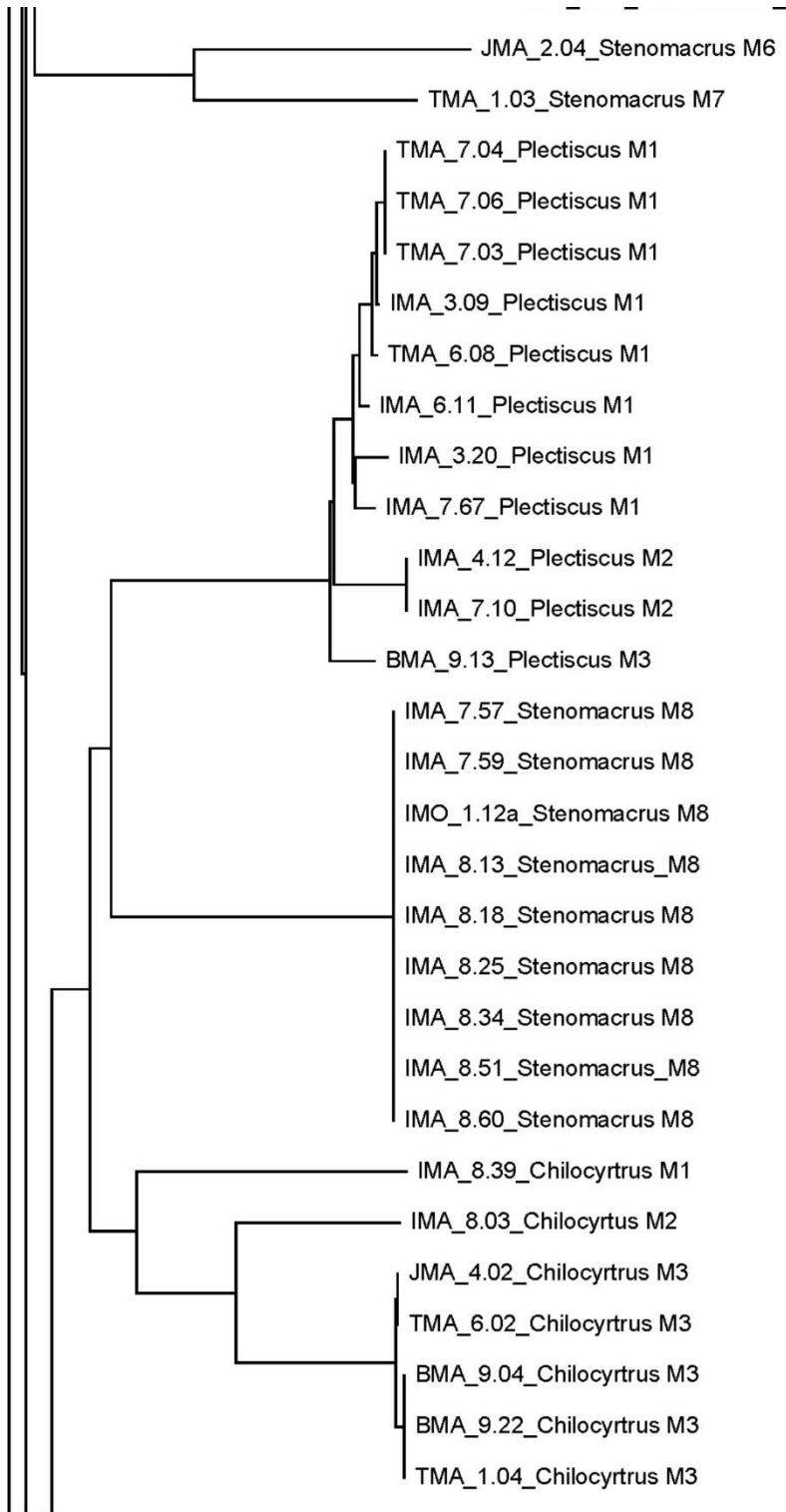


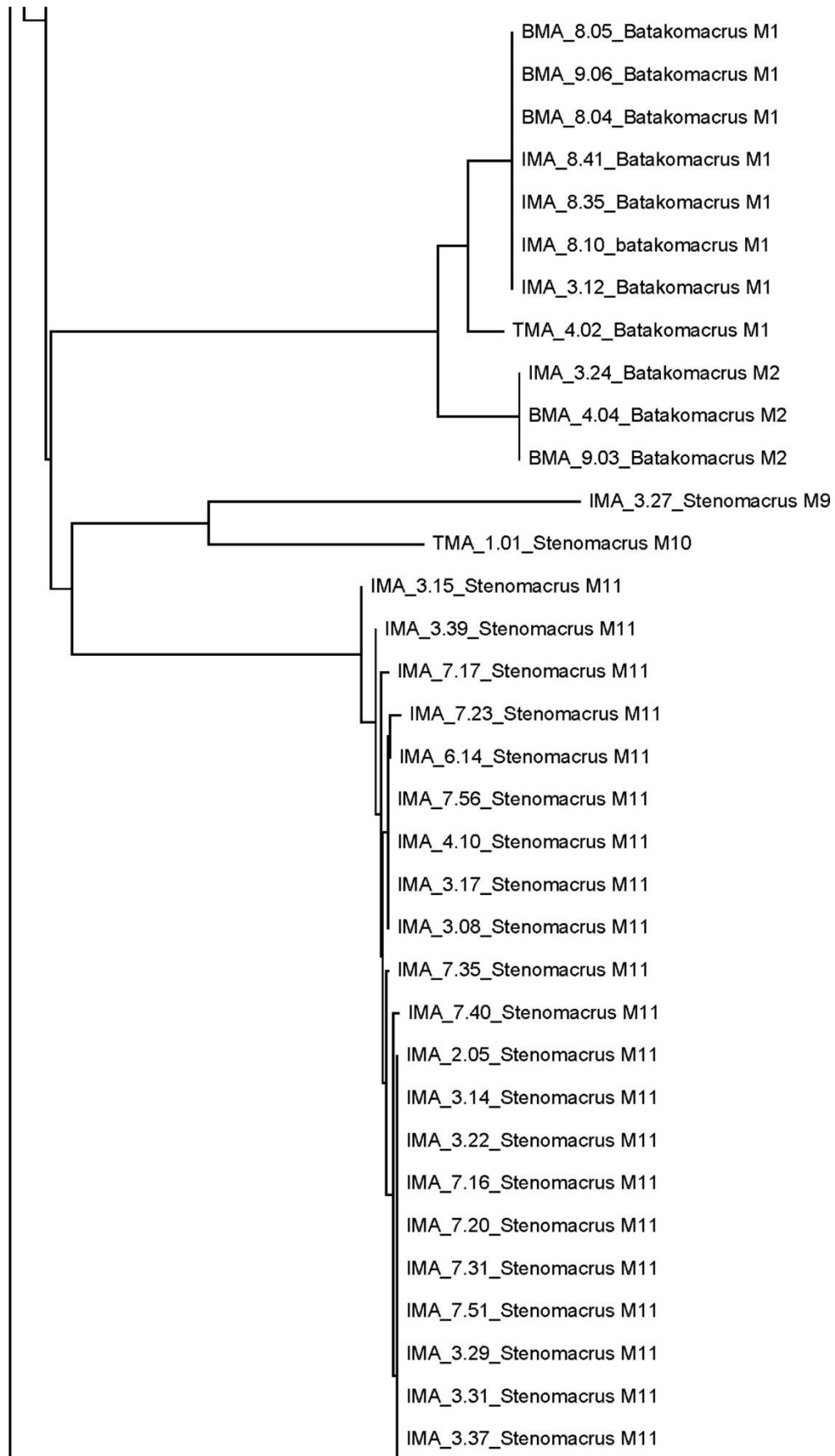


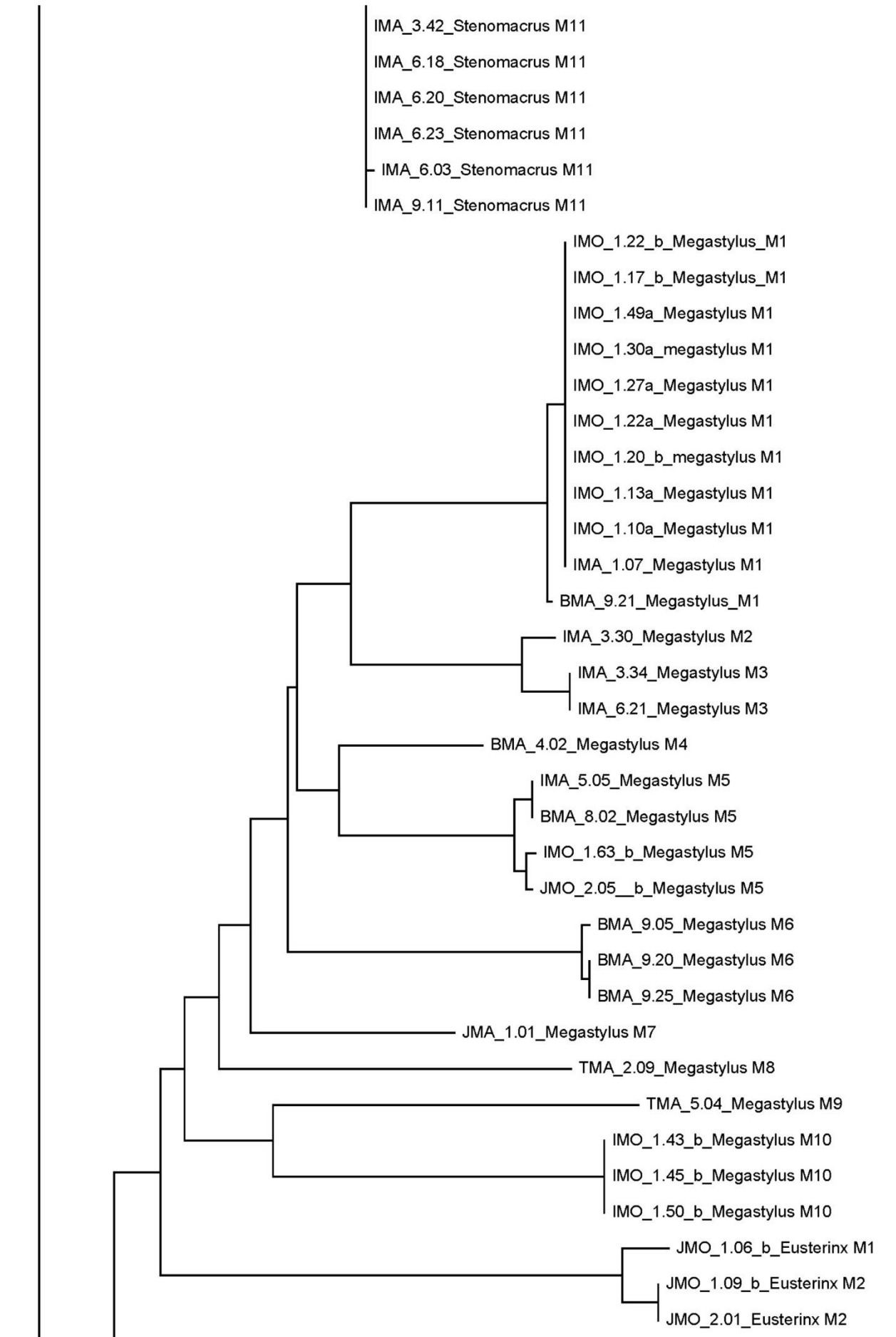


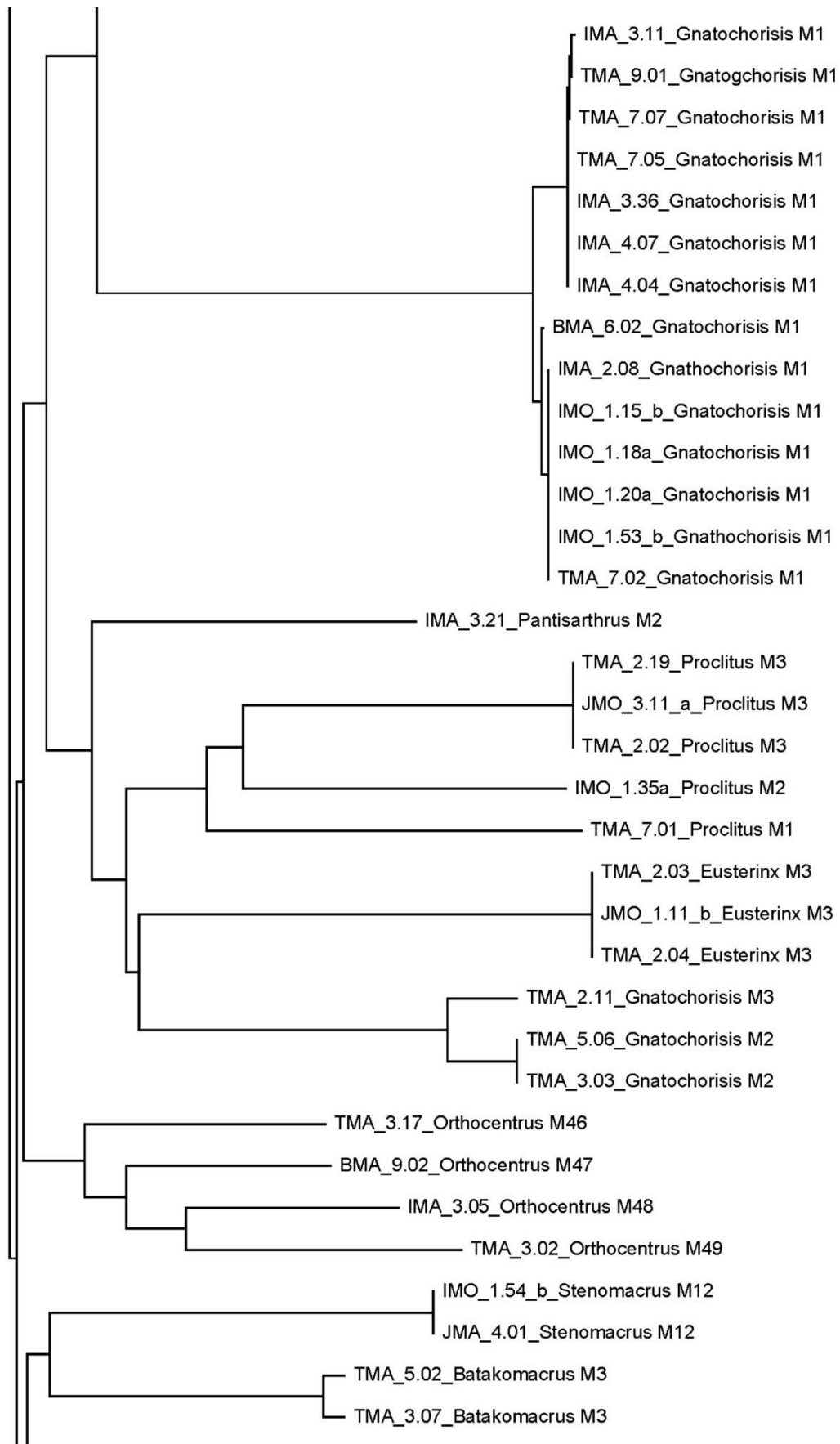


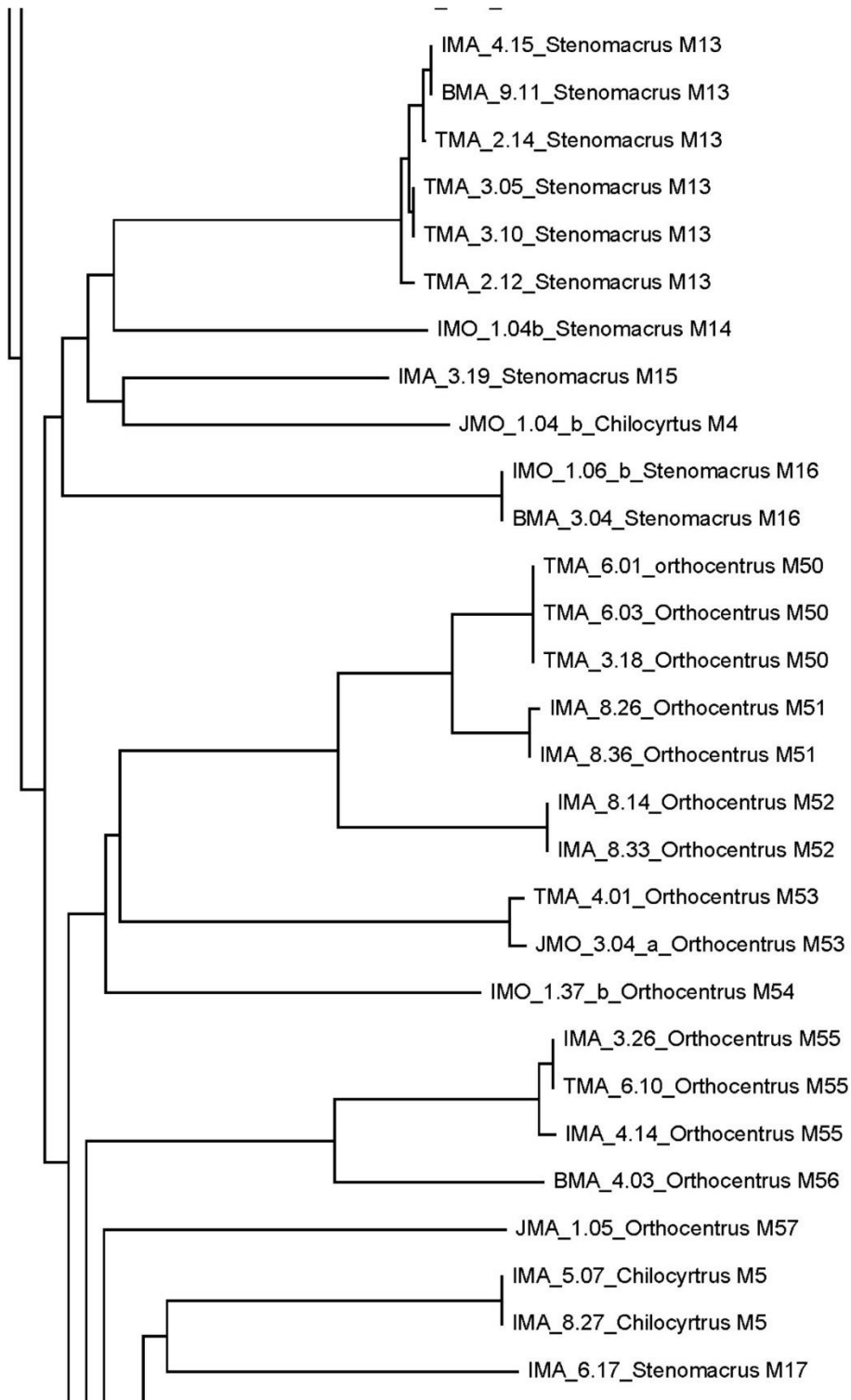


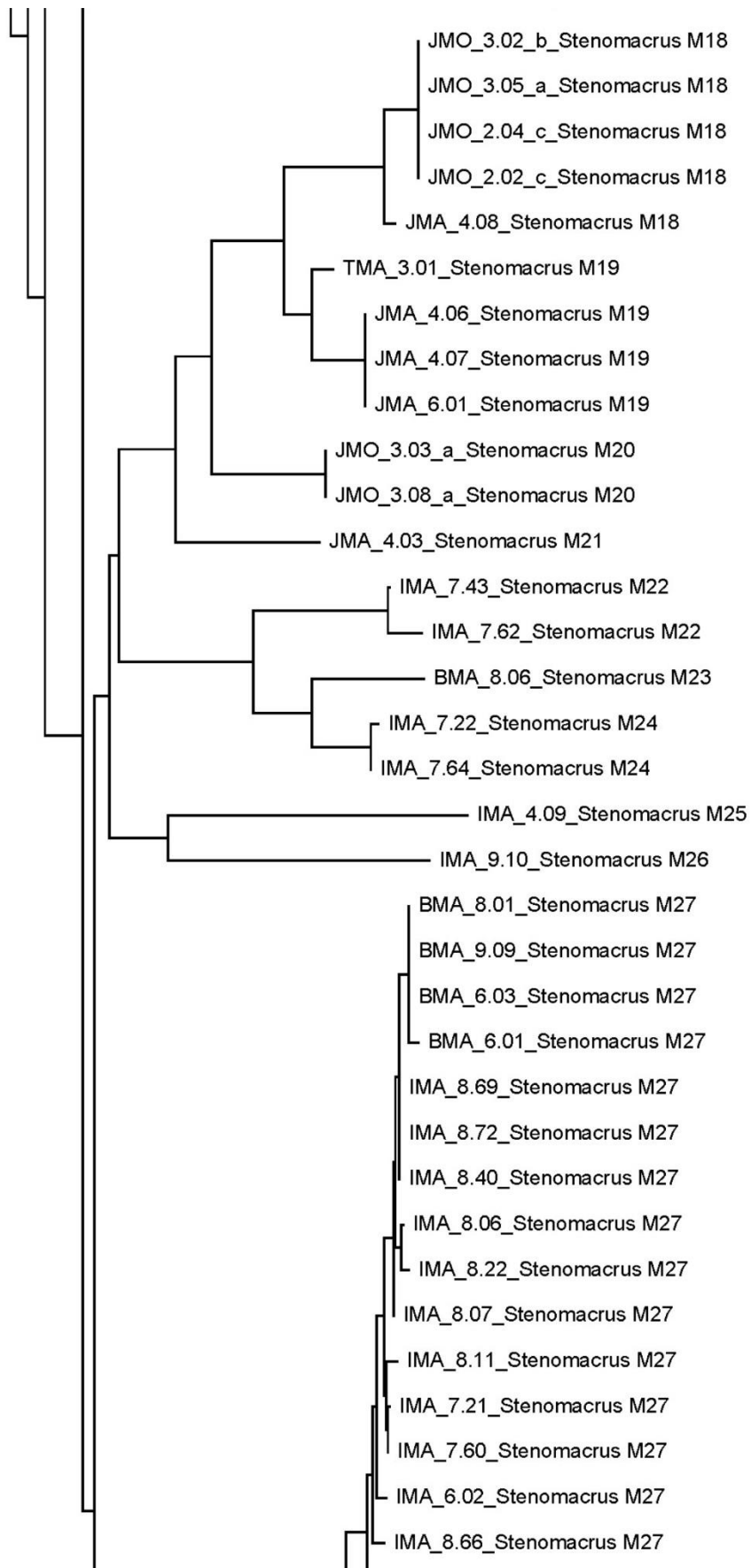


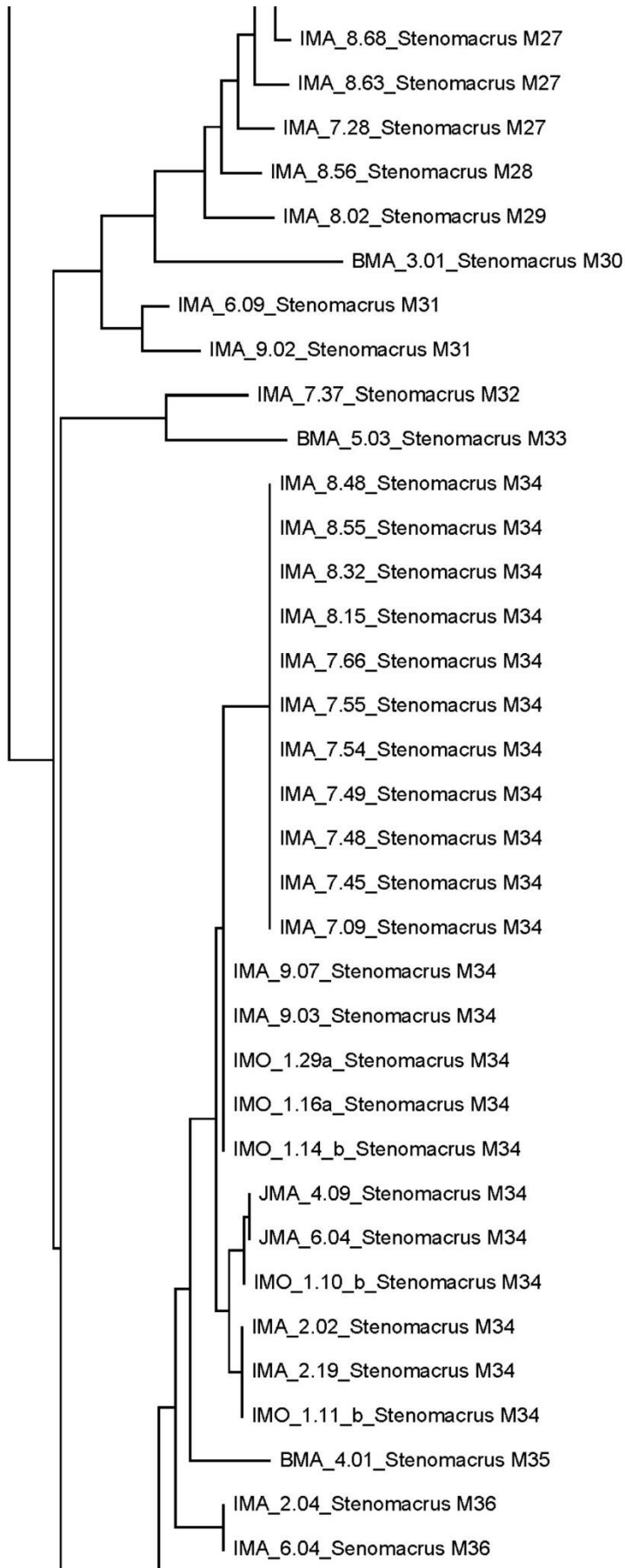


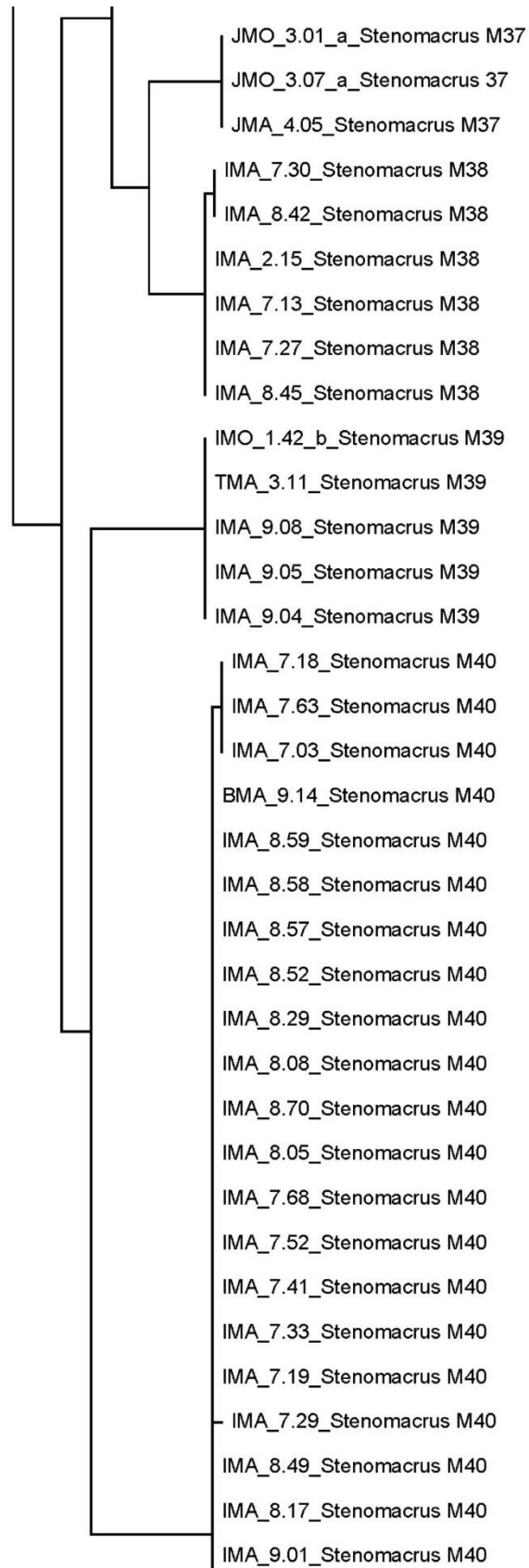












IMA\_9.01\_Stenomacrus M40  
IMA\_8.64\_Stenomacrus M40  
IMA\_8.01\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.58\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.42\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.36\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.25\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.04\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.26\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.38\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.50\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.65\_Stenomacrus M40  
IMA\_8.04\_Stenomacrus M40  
IMA\_8.67\_Stenomacrus M40  
IMA\_9.06\_Stenomacrus M40  
IMA\_8.23\_Stenomacrus M40  
IMA\_8.50\_Stenomacrus M40  
IMA\_7.06\_Stenomacrus M40  
IMA\_8.54\_Stenomacrus M40

0.050