

Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity
v Českých Budějovicích

Katedra Zoologie



Disertační práce

Systematika jepic (Ephemeroptera) čeledi Baetidae

RNDr. Pavel Sroka

Vedoucí práce: prof. RNDr. Tomáš Soldán DrSc.
(Biologické Centrum AV ČR, Entomologický ústav a
Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity)

České Budějovice, leden 2011

Disertační práce

SROKA P. (2010) Systematika jepic (Ephemeroptera) čeledi Baetidae [Systematics of mayflies (Ephemeroptera) of the family Baetidae]. Ph.D. Thesis, in Czech and English, 91 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

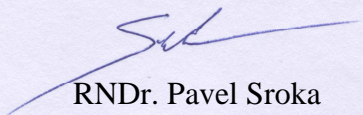
The current thesis reviews a cross-section of studies dealing with several problems of systematics of the mayfly (Ephemeroptera) family Baetidae. It is based on classic morphological characters as well as molecular-based methods in order to solve specific taxonomic problems and reconstruct phylogenetic relationships within the selected taxa.

Prohlášení:

Prohlašuji, že svou disertační práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své disertační práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

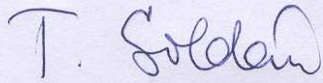
V Českých Budějovicích dne 3.1. 2011



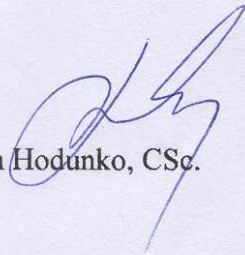
RNDr. Pavel Sroka

Statement of coauthors:

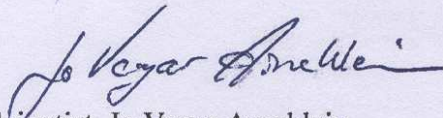
We hereby confirm that Pavel Sroka had important contribution to our common publications and hence these publications can be used as a part of his PhD. thesis.



Prof. RNDr. Tomáš Soldán, DrSc.



Dr. Roman Hodunko, CSc.



Senior Research Scientist Jo Vegar Arnekleiv

Obsah:

Stručný přehled systematiky, fylogeneze a biogeografie jepic (Ephemeroptera)	1
1. Charakteristika jepic	1
2. Systém a fylogeneze	1
2.1 Zařazení jepic v rámci hmyzu	1
2.2 Vnitřní systematika a fylogeneze jepic	3
2.2.1 Morfologické znaky	3
2.2.2 Molekulární znaky	5
3. Rozšíření a biogeografie	6
4. Čeleď Baetidae	7
4.1. Charakteristika čeledi	7
4.2. Systematika a fylogeneze čeledi Baetidae	8
4.2.1 Morfologické znaky	8
4.2.2 Molekulární znaky	9
4.3 Rozšíření a biogeografie čeledi Baetidae	9
4.3.1 Shrnutí historického vývoje poznání diverzity čeledi Baetidae v jednotlivých zoogeografických oblastech	10
4.3.1.1. Paleartická oblast	10
4.3.1.2. Afrotropická oblast	10
4.3.1.3. Orientální oblast	11
4.3.1.4. Neotropická oblast	12
4.3.1.5. Neartická oblast	12
4.3.1.6. Australská oblast	13
5. Poděkování	13
6. Literatura	13
7. Přílohy	23
7.1. Sroka P., Arnekleiv, A. (2010) Two new species of <i>Acentrella</i> Bengtsson, 1912 (Ephemeroptera: Baetidae) from Kazakhstan with notes on Palearctic fauna. <i>Zootaxa</i>, 2693: 1–20.	23

- 7.2. Sroka P.,** Godunko R.J., Soldán T. (2010) Redescription of the species *Procloeon* (*Pseudocentropilum*) *fascicaudale* (Sowa, 1985) (Ephemeroptera: Baetidae) with notes to its taxonomic position, biology and distribution. *Zootaxa*, 2490, 16–32.44
- 7.3. Sroka P.** (unpublished manuscript) Systematics and phylogeny of the West Palaeartic representatives of *Baetis* Leach, 1815 s.l. (Insecta, Ephemeroptera): combined analysis of mtDNA sequences and morphology. 62

Přehled systematiky, fylogeneze a biogeografie jepic (Ephemeroptera)

V tomto úvodu je stručně shrnut současný stav poznání systematiky a fylogeneze řádu jepic. Podrobněji je zde pojednáno o čeledi Baetidae, na kterou je dále zaměřena druhá část disertační práce (přiložené publikační výstupy).

1. Charakteristika jepic

Jepice (Ephemeroptera) představují starobylý řád hmyzu, svými počátky sahající do svrchního Karbonu či spodního Permu, tedy zhruba do období před 290 miliony let (Brittain a Sartori 2003).

Řád je charakterizován v larválním stadiu přítomností abdominálních tracheálních žaber, paracerku (mnohdy redukovaného), maxily s mediálně srostlou galeou a laciní a trikondylární artikulací mandibuly. Přítomnost stadia subimaga (alátní nedospělé stadium, které se dále svléká) je v rámci pterygotního hmyzu zcela unikátní a většinou je považována za pozůstatek ancestrálního stavu s několika imaginálními svlékáními, což lze recentně stále pozorovat u apterygotních řádů Archeognatha a Zygantoma (Edmunds a McCafferty 1988, Brittain a Sartori 2003).

Imaga jepic postrádají funkční ústní ústrojí a nepřijímají potravu. Jsou charakteristická krátkými tykadly, dlouhými cerky a přítomností paracerku (často však do různého stupně redukovaného). Dále mají dva páry křídel, přičemž zadní pár může být velmi redukovaný či chybějící (Brittain 1982, Brittain a Sartori 2003). Na charakteristicky utvářené bázi křídla se nacházejí 2 axilária (Willkommen 2009). Okřídlená stádia jepic nemohou stejně jako vážky skládat křídla horizontálně přes abdomen.

V současnosti je popsáno přes 3000 druhů jepic ve 42 čeledích (Barber-James *et al.* 2008). Počet popsanych druhů pochopitelně dále stoupá, především vzhledem k postupujícímu výzkumu tropických oblastí.

Ze známých čeledí je 40% monogenerických, reprezentujících izolované větve v minulosti bohatších skupin nebo naopak skupiny nedávno vzniklé.

Přibližně tři čtvrtiny známých druhů je tvořeno zástupci pouhých pěti čeledí. Tři druhově vůbec nejbohatší čeledi jsou Baetidae, Leptophlebiidae a Heptageniidae. Baetidae tvoří ve všech biogeografických celcích 20–25% celkového počtu zjištěných druhů, kromě Afrotropické a Orientální oblasti, kde je jejich podíl dokonce ještě vyšší.

Leptophlebiidae představují nejbohatší skupinu především v Neotropické oblasti, dále pak v Austrálii a na Novém Zélandu. V ostatních oblastech představují pouze 8–15% popsané druhové diverzity.

Heptageniidae jsou druhově nejbohatší v Holarktické oblasti, přičemž v Palearktu tvoří až 41% druhů.

2. Systém a fylogeneze

2.1 Zařazení jepic v rámci hmyzu

Jepice tvoří bezpochyby monofyletickou skupinu (Hovmöller *et al.* 2002, Ogden a Whiting 2005) a spolu s vážkami (Odonata) patří mezi bazální linie recentního pterygotního hmyzu. Vzájemný vztah těchto dvou řádů a jejich systematické postavení vzhledem ke zbytku pterygotních řádů stále zůstává ne zcela jasně vyřešenou otázkou.

Podle klasické teorie jsou jepice spolu s vážkami a vyhynulými Palaeodictyopteroidea sdružovány do monofyletické skupiny Paleoptera, linii sesterské všem ostatním pterygotním řádům, tvořícím skupinu Neoptera (Hennig 1981, Kukalová-Peck 1983, 1985, 1991, 1997, Riek a Kukalová-Peck 1984). Monofylie této skupiny však byla často vnímána jako kontroverzní otázka (Beutel a Gorb 2001, Staniczek 2000, Wheeler *et al.* 2001, Ogden a Whiting 2003). Recentním zástupcům Paleopter chybí svalovina a sklerity potřebné pro skládání křídel horizontálně na dorzální stranu abdomenu (Martynov 1924), což bylo tradičně spatřováno jako znak podporující monofylii této skupiny. Znak může nicméně představovat synplesiomorfii, jelikož svaly a sklerity umožňující skládání křídel byly získány až u předků neopterního hmyzu. Vznik těchto morfologických struktur byl patrně korelován s následnou speciační radiací neopterních skupin (Ogden a Whiting 2003). Existuje řada dalších morfologických znaků, podporujících monofylii Paleopter, např. krátká tykadla, splynulá galea a lacinie, vodní larvy a některé charakteristiky křídelní žilnatiny. Není nicméně jasné, zda zmíněné znaky nejsou opět pouze plesiomorfními stavy (Willmann 1997, Wheeler *et al.* 2001).

Byla navržena rovněž hypotéza, kde jepice reprezentují bazální linii sesterskou ostatním pterygotním řádům včetně vážek (Kristensen 1991, Whiting *et al.* 1997, Fürst von Lieven 2000, Staniczek 2000, Wheeler *et al.* 2001.). Hypotéza staví na několika podpůrných morfologických znacích jepic, jako klouzavá anteriorní artikulace mandibuly, více tentoriomandibulárních svalů, přítomnost subimaga, absence některých částí tracheálního systému a přímého spirakulárního svalstva, anulované kaudální přívěsky a párové vyústění samičích pohlavních orgánů. U některých z těchto znaků je nicméně nejisté, zda se jedná o autapomorfie jepic nebo synapomorfie vážek + Neopter.

Byly publikovány i práce, kde bazální linii sesterskou ostatním řádům pterygotního hmyzu představují vážky (Matsuda 1970, Boudreaux 1979). Hlavním argumentem zde byla přítomnost nepřímého přenosu spermatu pomocí sekundárních vnějších pohlavních orgánů. Systém přenosu je však v mnoha směrech odlišný od situace u apterygotního hmyzu a s největší pravděpodobností se jedná o autapomorfii vážek (Beutel a Gorb 2001).

První molekulární studie (s použitím sekvencí genů 18S a 28S) podporovaly monofylii Paleopter (Hovmöller *et al.* 2002), ačkoli později bylo opětovnými analýzami těchto dat prokázáno, že výsledky jsou podmíněny poměrně úzkým nastavením parametrů alignmentu a následné analýzy (Ogden a Whiting 2003). Při zahrnutí dalších sekvencí a použití jiných metodických přístupů již nebyla podpora Paleopter jednoznačná.

Recentnější práce (Ogden a Whiting 2003, Ogden a Whiting 2005) monofylii Paleopter spíše nepodporují a řadí jepice jako bazální taxon sesterský vážkám + Neopternímu hmyzu (tyto skupiny jsou označovány společným termínem Metapterygota). S použitím molekulárních dat samotných není sice tento výsledek dostatečně robustní, nicméně při zahrnutí morfologických dat jsou jepice poměrně spolehlivě řazeny jako sesterská skupina ostatnímu pterygotnímu hmyzu. Malá spolehlivost molekulárních dat pro vysvětlení bazálního rozštěpení pterygotního hmyzu může být vysvětlena faktem, že tato divergence se udála během poměrně krátkého časového období ve středním Devonu a molekulární markery schopné vystopovat tyto poměrně dávné a rychlé procesy je obtížné nalézt (Simon *et al.* 2009).

Práce z poslední doby, zabývající se tímto tématem, již analyzují rozsáhlé matice molekulárních znaků a překvapivě se vracejí k hypotéze bazálních Odonata, s jepicemi + ostatními pterygotními řády sdruženými do skupiny Chiasmomyaria (Kjer 2004, Kjer *et al.* 2006, Simon *et al.* 2009, Lin *et al.* 2010).

2.2 Vnitřní systematika a fylogeneze jepic

2.2.1 Morfologické znaky

První popisy šesti evropských druhů jepic publikoval již Linné (1758). Všechny tyto druhy zde byly shrnuty v jediném rodu *Ephemera*, zařazeného do skupiny Insecta: Neuroptera.

V prvních entomologických pracích (např. Hagen 1858, 1861) byly jepice i nadále považovány za součást „Neuropteroidního“ hmyzu (spolu s dnešními skupinami Odonata, Isoptera, Plecoptera, Embioptera a Psocodea).

S pomalu přibývajícím počtem druhů a rozšiřujícími se znalostmi o morfologii začaly snahy o podrobnější systematické členění jepic. Leach (1815) publikoval rozdělení na dvě čeledi, Bætida a Ephemerida, definované počtem kaudálních přívěsků imag (u jmenovaných skupin dva, respektive tři viditelné přívěsky).

První skutečně souhrnný systém jepic zformuloval Eaton (1883-1888), a přestože jednotlivé Eatonem definované skupiny byly v dalších letech pojímány na různé hierarchické úrovni (čeledi, nadčeledi, podčeledi atd.), toto členění vesměs zůstalo s drobnými změnami uznáváno po téměř celé další století a stále tvoří podklad pro moderní klasifikaci. Jepice zde byly shrnuty v jediné čeledi Ephemeridae, rozdělené do tří skupin, obsahujících 9 „sérií“ a 14 „sekcí“, z nichž některé byly dále děleny na „podsekcce“. Tato klasifikace byla velmi progresivní a zvláště mnohé z Eatonových „sekcí“ byly později použity pro definici moderních čeledí.

Další významnou práci publikoval Banks (1900), který dělil jepice na 7 tribů, podobajících se Eatonovým „sekcím“, nicméně všechny jepice zde tvořily stále jedinou čeleď Ephemeridae. Až Needham (1901) publikoval systém rozdělení jepic do tří čeledí (Ephemeridae, Heptageniidae a Baetidae). Tato klasifikace byla poté ještě dlouhou dobu přejímána zvláště v americké literatuře (Needham *et al.* 1935, Berner 1950, částečně Burks 1953).

Klapálek (1909) rozpoznal jepice jako samostatný řád hmyzu, stojící mimo Neuroptera a zároveň navrhl progresivnější dělení do 10 čeledí (Palingeniidae, Polymitarciidae, Ephemeridae, Potamantidae, Leptophlebiidae, Ephemerellidae, Caenidae, Baetidae, Siphuridae a Ecdyuridae).

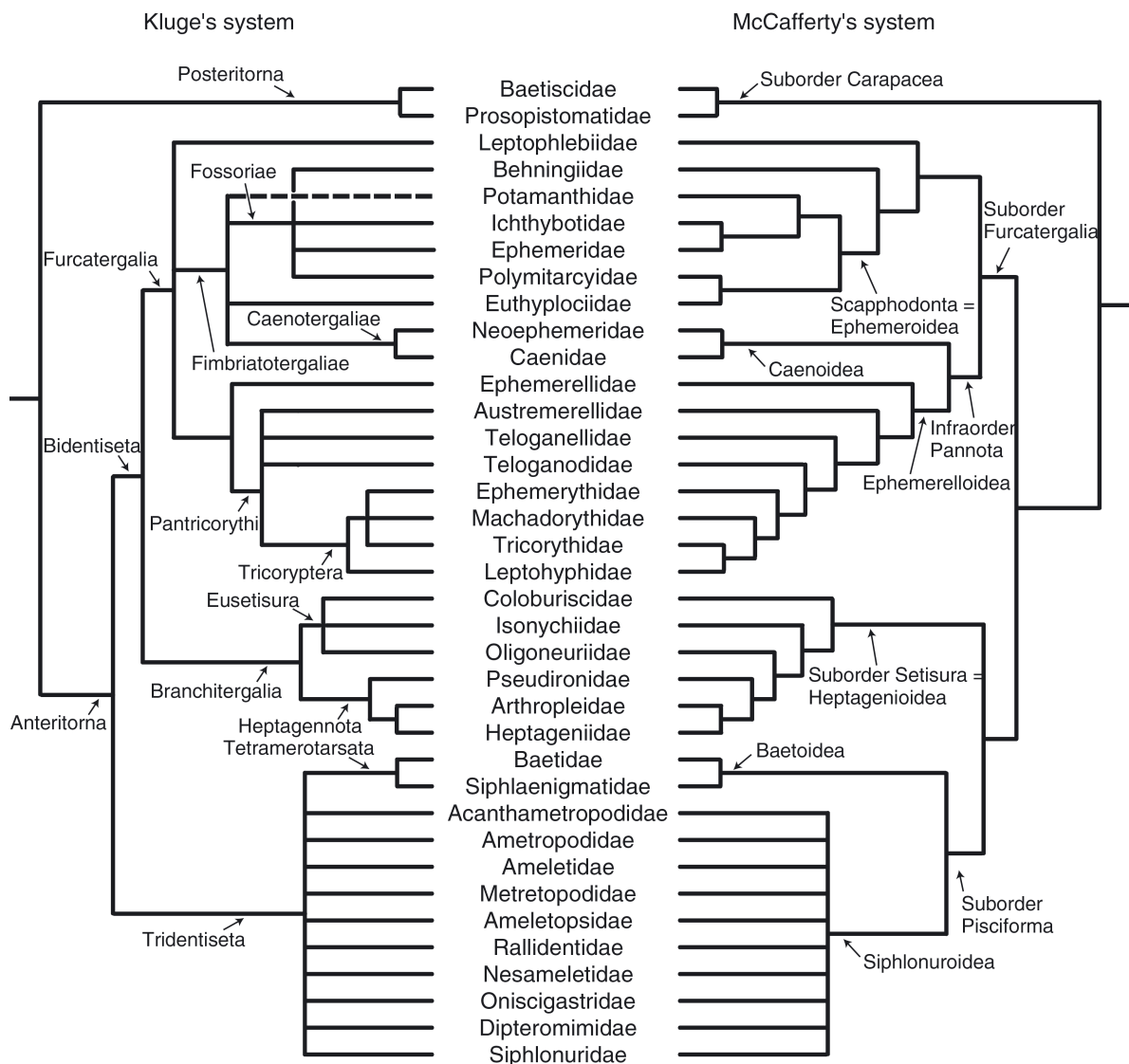
Ulmer (1920) zavedl rozdělení do tří podřádů, Ephemeroidea, Baetoidea a Heptagenioidea, dnes většinou prokazatelně parafyletických. Poněkud odlišnou klasifikaci publikovali Laméere (1917), který rozlišoval pět čeledí a Lestage (1917) s dělením na dvě čeledi, pět podčeledí a devět tribů. Klasifikace Schoenemunda (1930) víceméně akceptuje Klapálekův (1909) systém.

Výše zmíněné souhrnné práce publikované počátkem 20. století stavěly na studiu převážně evropských, příp. severoamerických taxonů. Během první poloviny 20. století však významně vzrostlo množství popsaných druhů a rodů i z ostatních oblastí. Z počtu přibližně 50 rodů jepic známých na začátku století se tento počet do padesátých let několikanásobně zvýšil. V té době již velice potřebná nová extenzivní klasifikace zahrnující druhy ze všech biogeografických oblastí byla publikována Edmundsem a Traverem (1954). Základem bylo členění na 5 nadčeledí (Heptagenioidea, Leptophlebioidea, Caenoidea Ephemeroidea, Prosopistomatoidea) a 19 čeledí. Další klasifikaci se zahrnutím všech do té doby známých fosilních druhů publikoval Demoulin (1958). Vymezení recentních čeledí v této práci souhlasilo s prací Edmundse a Travera (1954), s jedinou výjimkou čeledi Ichthybotidae, zahrnuté v klasifikaci Edmundse a Travera (1954) mezi Ephemeridae. Demoulinův systém se

s klasifikací Edmundse a Travera rozchází v uspořádání nadčeledí a je do značné míry založen na imaginálních znacích, jelikož zahrnuje i velké množství fosilních zástupců, u nichž jsou zachované larvy k dispozici jen velmi výjimečně.

Prvním autorem, jehož systematický koncept se opíral ve větší míře o rekonstrukci fylogenetických vztahů v rámci řádu byl Edmunds (1972), následně pak McCafferty a Edmunds (1979). Tito autoři rozdělili jepice na dva podřády, Schistonota (bazální skupina, rozdělené křídelní pochvy larev) a Pannota (odvozená skupina, křídelní pochvy srostlé). Landa a Soldán (1985) v souhrnné práci o fylogenezi a vyšší klasifikaci jepic na základě srovnávací anatomie akceptovali toto rozdělení, nicméně upravili uspořádání nadčeledí.

Rozdělení jepic na Schistonota a Pannota bylo dále základem pro fylogenetickou práci McCafferty (1991), ve které bylo navrženo nové členění na podřády tři: Rectracheata, Setisura a Pisciforma (viz. obr. 1).



Obr. 1. Srovnání topologie recentně publikovaných fylogenetických stromů založených na morfologických datech. Vlevo fylogeneze podle práce Kluge (2004), vpravo upravená fylogeneze vycházející z práce McCafferty (1991) (převzato z Ogden a Whiting 2005, str. 629, obr. 2).

Někdejší podřád Pannota byl zachován jako monofyletická skupina, zde na úrovni infrařádu v rámci podřádu Rectracheata. Druhý dřívější podřád, Schistonota, byl v této nové koncepci považován za parafyletický a taxony v něm obsažené rozděleny do všech třech podřádů nových. Podřád Rectracheata se vyznačuje pokročilým typem tracheálního systému s ventrálními anastomózami přinejmenším v segmentech 4-9, oproti pleziomorfnímu stavu s anastomózami pouze v segmentech 8 a 9 (viz. také Landa a Soldán 1985). Další podřády Setisura a Pisciforma dohromady sdílí synapomorfní uspořádání viscerálních tracheí v segmentech 2-8 (oproti pleziomorfnímu stavu v segmentech 1-8) a tvořily proto dvě větve v rámci jedné linie, sesterské k podřádu Rectracheata.

Kluge (2004) publikoval další revizi tohoto členění (viz. obr. 1), která je sice zhruba shodná s prací McCafferty (1991), nicméně užívá nových alternativních pojmenování jednotlivých fylogenetických linií a nevězila se hlavně díky používání zbytečně složité a nepřehledné „volumetrické klasifikace“.

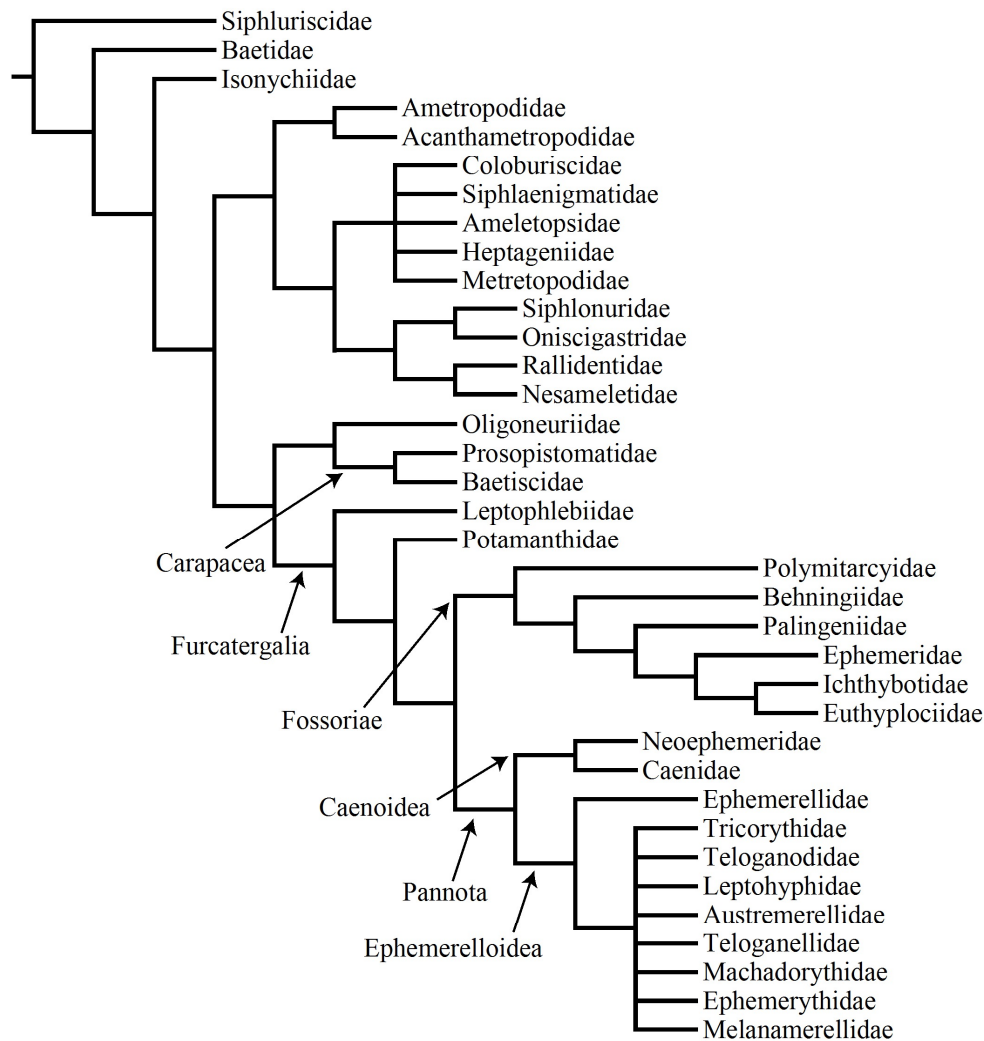
2.2.2 Molekulární znaky

První fylogenetickou studii využívající molekulární data publikovali Ogden a Whiting (2005). Použity byly sekvence pětice genů (12S, 18S, 16S, 28S a H3) a testováno bylo 31 ze 37 tehdy popsaných čeledí. Práce přinesla několik hlavních závěrů: podpořila monofylii podřádů Furcatergalia a Carpacea a dále nadčeledí Ephemerelloidea a Caenoidea. Naopak monofylie podřádů Pisciforma a Setisura potvrzena nebyla (stejně tak v případě čeledí Baetoidea, Siphonuroidea, Ephemeroidea a Heptagenioidea). Jako sesterská linie ostatním jepicím byla podpořena čeleď Baetidae. Pisciformní tvar těla larev byl ve studii podporován jako plesiomorfní s mnoha následnými druhotnými ztrátami v různých vývojových liniích v rámci řádu.

Další podobnou práci publikoval Sun *et al.* (2006). K analýze fylogenetických vztahů autoři použili pouze sekvence genu 18S získané od zástupců 20 čeledí jepic. Analýza podporovala uspořádání zástupců podřádů Pisciforma a Setisura do jedné linie sesterské podřádu Furcatergalia. Čeleď Baetidae se odštěpovala na bázi podřádu Pisciforma, který byl podporován jako parafyletický.

Dnes jsou k dispozici výsledky dosud nejpodrobnější kombinované studie, analyzující úseky genů 12S, 16S, 18S, 28S a H3 spolu s maticí obsahující 101 morfologický znak (Ogden *et al.* 2009, viz. obr. 2). Do analýz bylo zahrnuto 122 druhů, patřících do 42 čeledí, tedy v podstatě všechny dnes známé vývojové linie v rámci řádu (ačkoli ne ode všech byly k dispozici sekvence spolu s morfologickými znaky). Jako taxon sesterský všem ostatním jepicím byl podporován asijský rod *Siphuriscus* (Siphuriscidae). Následně se odštěpily linie čeledí Baetidae a Isonychiidae, což podporuje předchozí práce založené pouze na molekulárních datech (Ogden a Whiting 2005) a odporuje původním představám o bazálním postavení skupiny Carpacea (McCafferty 1991, Kluge 2004). Výsledky rovněž potvrdily monofylii většiny vyšších skupin (Carpacea, Furcatergalia, Fossoriae, Pannota, Caenoidea, Ephemerelloidea). Na druhou stranu nebyla podpořena monofylie např. skupin Setisura, Pisciforma a Ephemeroidea.

Ze 31 čeledí, zastoupených ve studovaném vzorku více než jedním druhem, byla podpořena monofylie u 25 z nich. Monofylie 11 čeledí nemohla být testována a u 6 (např. Ameletopsidae a Coloburiscidae) podpořena nebyla. Studie rovněž zpochybňuje statut některých čeledí (např. Pseudironidae, Arthropleidae a Dipteromimidae) a navrhuje tyto pojímat spíše jako vnitřní linie v rámci jiných čeledí.



Obr. 2. Konsenzuální fylogenetický strom podle souhrnné analýzy morfologických a molekulárních dat (převzato z Ogden *et al.* 2009, str. 630, obr. 7).

3. Rozšíření a biogeografie

Jepice jsou známy ze všech kontinentů kromě Antarktidy. Popsaná diverzita v rámci jednotlivých biogeografických regionů je velice ovlivněna mírou prozkoumanosti různých oblastí. Nejlépe je pochopitelně známa fauna jepic Holarktické oblasti, zatímco počty druhů zvláště v Afrotropické a Orientální oblasti jsou patrně mnohem vyšší než je dosud známo. Pro ilustraci je možné uvést příklad nedávného intenzivního výzkumu jepic nížinného deštného lesa na Borneu, který přinesl jen z oblasti o rozloze 80 km² objevy deseti nových rodů a několika desítek nových druhů (Sartori *et al.* 2003).

Tři čeledi ze 42 popsaných vykazují celosvětové rozšíření (Baetidae, Caenidae a Leptophlebiidae). Leptophlebiidae a Baetidae jsou patrně původem Gondvanské skupiny, přičemž Leptophlebiidae vykazuje největší diverzitu v Neotropické oblasti a Australasii, zatímco Baetidae v Afrotropické a Neotropické oblasti. Vzhledem k téměř kosmopolitnímu rozšíření několika rodů z výše uvedených čeledí (*Baetis*, *Cloeon*, *Choroterpes* a *Caenis*) je

zřejmě, že určitá míra migrace musela existovat i po oddělení Gondvanských desek (Barber-James *et al.* 2008).

Dospělci jepic nepatří mezi dobré letce a jejich disperzní schopnosti jsou proto poměrně omezené. Současné areály rozšíření byly proto vysvětlovány spíše vikariancí, speciální radiací a extinkcí, formovanými geologickými událostmi, především pak kontinentálním driftem (Edmunds 1972; 1975). O významnější roli migrace se vždy uvažovalo pouze v případech území v těsném sousedství (McCafferty 1998). V poslední době nicméně došlo k jistému posunu názorů o disperzních schopnostech jepic. Byly dokázány opakované migrace zástupců čel. Baetidae v obou směrech mezi Madagaskarem a kontinentální Afrikou (Monaghan *et al.* 2005). Rovněž Gattolliat (2004) uvádí z vulkanického ostrova Réunion druhy, nejbližše se vyskytující na území vzdáleném více než 700 km od tohoto ostrova.

4. Čeleď Baetidae

Výzkumné aktivity v rámci doktorandského studia se týkaly převážně čeledi Baetidae, tato kapitola úvodu proto obsahuje stručnou charakteristiku této čeledi a shrnutí vývoje jejího studia.

4.1. Charakteristika čeledi

Jak už bylo řečeno výše, čeleď Baetidae je druhou největší čeledí v rámci řádu Ephemeroptera (Gattolliat 2002c), proto je také její systematika složitější než u mnohých jiných skupin jepic. Lugo-Ortiz a McCafferty (1999b) publikovali první novodobé shrnutí celosvětové diverzity čeledi Baetidae. Odhadli celkový počet druhů na 650, sdružených v 87 rodech. Během dalších deseti let vzrostl počet druhů na 894 (Gattolliat a Nieto 2009). Nové druhy jsou v poslední době popisovány především z jižní Ameriky, Madagaskaru a západní Afriky. Čeleď Baetidae dnes tedy představuje přibližně čtvrtinu celosvětové druhové diverzity jepic.

Některé druhy jsou velmi variabilní, navíc u subimag a samičích imag je kvůli nedostatku použitelných morfologických znaků přesná determinace často úplně nemožná. V důsledku toho docházelo v minulosti k některým sporným popisům, které nebyly podloženy dostatečně reprezentativním množstvím spolehlivých znaků. Klasifikace taxonů v rámci čeledi není ustálená a podrobná kladistická analýza zahrnující larvální i imaginární znaky prozatím nebyla publikována.

Diagnostické znaky

Čeleď Baetidae je morfologicky poměrně homogenní. Je možné ji charakterizovat pomocí dvou apomorfii (Kluge 1997, 2004): přítomností turbanovitých očí samců (s jedinou výjimkou rodu *Aturbina*) a oddělenými furkasternální výběžky s metathorakálním gangliem situovaným mezi nimi (pokud nejsou odděleny, ganglium se nachází anteriorně od jejich spojení).

Čeleď je možné dále charakterizovat ve stadiu imaga a subimaga pomocí následujících znaků: 1. oddělené křídelní žilky IMA a MA2 na předním křídle; 2. přítomnost jedné nebo dvou krátkých volných žilek na okrajích předních křídel (možné redukce u několika zástupců); 3. redukovaný nebo chybějící zadní pár křídel; 4. tříčlánkový tarsus středního a zadního páru končetin; 5. membranózní penis (Edmunds *et al.* 1976); 6. unikátní struktura subimaginálních skleritů laterálních částí mesothoraxu (Kluge 2004).

Larvy jsou charakteristické následujícími znaky: 1. laterální ramena epikraniálního švu situovány anteriorně před laterálními očely; 2. labrum se zřetelným zářezem ve středu anteriorního okraje; 3. rozšířené báze glos; 4. málo vyvinuté larvální zárodky gonostylů (Kluge 2004); 5. ventrální orientace dorsálního lomu na apexu femuru (Wang a McCafferty 1996); 6. struktura ventrálních ganglií a malphigických trubic (Landa a Soldán 1989). Larvy jsou pisciformní, mají dlouhá tykadla a jednoduché nebo dvojité tracheální žábry na abdominálních segmentech I–VII nebo II–VII.

4.2. Systematika a fylogeneze čeledi Baetidae

Vývoj poznání čeledi Baetidae recentně shrnuli v detailní práci Gattolliat a Nieto (2009). Další text vychází do značné míry z této publikace. V jednotlivých kapitolách je shrnut vývoj systematiky čeledi, jak se měnila na základě studia morfologických a molekulárních dat.

4.2.1 Morfologické znaky

První dva druhy dnešní čeledi Baetidae popsal již Karl Linné (1758). Počátky studia čeledi Baetidae jako takové sahají do začátku 19. století, kdy Leach (1815) rozdělil tehdy známé jepice do dvou čeledí podle počtu kaudálních přívěsků imag. Zavedl čeled' „Bäetida“ pro druhy se dvěma cerky a čeled' „Ephemerida“, zahrnující druhy se třemi kaudálními přívěsky, dvěma cerky a paracerkem. V rámci čeledi Bäetida pak popsal dva rody: *Baetis* se dvěma a *Cloeon* s jedním párem křídel. Během následujících 200 let došlo k velkému rozvoji taxonomie jepic, bylo popsáno mnoho nových taxonů, revidovány ty stávající a koncept čeledi Baetidae se postupně měnil.

Kazlauskas (1972) rozdělil čeled' Baetidae na podčeledi Baetinae Leach, 1815 a Cloeoninae Newman, 1853, nicméně tato klasifikace se vztahuje pouze na zástupce s výskytem v Palearktické oblasti. Mimo tuto oblast se vyskytují druhy, které není možné zařadit ani do jedné z těchto podčeledí (Bauernfeind a Soldán in prep.). Další podčeledi Callibaetinae Riek (1973) a Afroptilinae Kluge (1997) byly navrženy pro některé zástupce Neartické/Neotropické a Afrotropické fauny. Rovněž vymezení mnoha rodů v rámci čeledi je neustálené a v budoucnu lze proto očekávat poměrně rozsáhlé taxonomické změny (Bauernfeind a Soldán in prep.).

Diskutabilní otázkou týkající se vnitřního uspořádání čeledi Baetidae je mimo vymezení jednotlivých podčeledí a rodů také existence skupiny „*Baetis complex*“. Definice této skupiny vychází z přítomnosti či naopak nepřítomnosti tzv. femorálního villoporu, což je shluk drobných sít na bázi femuru, zastávající patrně smyslovou funkci (poprvé zmíněna v práci Waltz & McCafferty 1987a). Americká taxonomická škola sdružená kolem McCaffertyho považuje tento znak za významnou synapomorfii a zavádí pojem „*Baetis complex*“ pro ty taxony z čeledi Baetidae, u nichž se femorální villopor vyskytuje, naopak do skupiny „non-*Baetis complex*“ jsou řazeny taxony s chybějícím femorálním villoporem. Tuto koncepci podporuje i přítomnost charakteristických senzíl tzv. „flat-tipped sensillae“ na antenálních segmentech i jinde na těle u druhů z „*Baetis complex*“ a naopak jejich nepřítomnost u „non-*Baetis complex*“. Tento názor vedl k rozsáhlým taxonomickým změnám na rodové a podrodové úrovni u mnoha taxonů čeledi Baetidae (Waltz & McCafferty 1987a, 1987b, McCafferty & Waltz 1990, Waltz *et al.* 1994, Waltz & McCafferty 1997). V evropské literatuře nicméně není existence monofyletické skupiny „*Baetis complex*“ většinou autorů

soubornějších prací uznávána (Bauernfeind & Humpesch 2001, Jacob 2003, Bauernfeind & Soldán in prep.).

4.2.2. Molekulární znaky

Bylo již publikováno několik studií zaměřených na čeled' Baetidae, analyzujících variabilitu v rámci jednotlivých druhů či fylogenetické vztahy mezi širšími vývojovými liniemi s využitím molekulárních znaků.

Williams *et al.* (2006) studoval komplex kryptických druhů *Baetis rhodani*. Studie byla zaměřena na zmapování a zhodnocení rozdílů mezi populacemi *B. rhodani* sbíranými na různých lokalitách západní Evropy. Pro analýzy byly použity sekvence mitochondriálního genu pro cytochrom oxidázu, podjednotku I (*COI*). Výsledky poskytly důkazy o existenci kryptických druhů v rámci *B. rhodani*, zatím však bez morfologické charakteristiky a taxonomického statutu. Sekvence *COI* použili rovněž Ståhls & Savolainen (2007) v podobné studii týkající se skupiny druhů *Baetis vernus*. Zde byl použit materiál z Finska a výsledky ukázaly, že *B. macani* a *B. vernus* obsahují rovněž morfologicky skryté, avšak molekulárně prokazatelné kryptické druhy.

Šířeji pojatou fylogenetickou analýzu publikoval Gattolliat *et al.* (2008), který studoval Afrotropické Baetidae s použitím jaderné (18S) i mitochondriální (12S, 16S) DNA u 65 druhů patřících k 26 rodům. Cílem práce bylo testovat fylogenetické vztahy na generické a supragenerické úrovni. Výsledky potvrdily nutnost rozsáhlé taxonomické revize afrotropických Baetidae, většina rodů zastoupených v analýze více než jedním druhem byla shledána parafyletickými nebo polyfyletickými.

Gattolliat *et al.* (2008) publikoval sekvence genu pro cytochrom oxidázu, podjednotku b (*cob*) pro druhy *Cloeon peregrinator* a *Baetis atlanticus*, na základě studia jedinců z ostrova Madeira. Tato sekvence byla publikována rovněž pro *Baetis rhodani* z typové lokality tohoto druhu (Gattolliat & Sartori 2008), jako část designace neotypu. Všechny tyto sekvence byly nicméně prozatím ponechány bez následné analýzy a srovnání s jinými vzorky.

4.3 Rozšíření a biogeografie čeledi Baetidae

Mnohem vyšší diverzitu a míru rodového endemismu vykazuje čeled' Baetidae v tropech a na jižní polokouli, než na polokouli severní (Barber-James *et al.* 2008). Nejbohatší faunu hostí Afrotropická a Neotropická oblast, přičemž navzdory společnému gondwanskému původu fauny těchto dvou oblastí nevykazují velké podobnosti.

Jepičí fauna Palearktu sdílí většinu rodů s Orientální, Afrotropickou a Neartickou oblastí. Postupná kolonizace v rámci těchto regionů probíhala patrně přes oblast Palearktu (Gattolliat a Nieto 2009).

Spojení mezi faunami Neartické a Neotropické oblasti představuje střední Amerika, která je pod vlivem obou regionů (McCafferty 1998). Důsledkem tohoto spojení je pak především přítomnost některých Neartických druhů ve střední Americe.

Orientální oblast zůstává prozatím velmi málo prozkoumaná a do budoucna představuje vysoce perspektivní region pro další výzkum. Biogeograficky velmi zajímavá místa s potenciálně velkou mírou endemismu (Indický subkontinent, jihovýchodní Asie) dosud často nebyla vůbec studována (Gattolliat a Nieto 2009).

Přestože množství druhů v Australské oblasti není z globálního hlediska velké, jsou zde velké mezery ve znalostech především v tropické části, např. na Nové Guinei.

4.3.1. Shrnutí historického vývoje poznání diverzity čeledi Baetidae v jednotlivých zoogeografických oblastech

4.3.1.1. Palearktická oblast

(17 rodů, 212 druhů)

Palearktická oblast vykazuje poměrně vysokou druhovou diverzitu. Tento stav je však zapříčiněn především dobrou prozkoumaností velkých částí Palearktu spíše než skutečnou větší druhovou diverzitou v porovnání s ostatními částmi světa. Přibližně polovina druhů spadá do jediného rodu *Baetis*. Jepice západního Palearktu začaly být studovány poměrně brzy, dva druhy čeledi Baetidae popsal již Linné (1758). Další druhy byly popsány v polovině 19. století (Rambur 1842, Pictet 1843-1845). Zásadní práce pro poznání evropských jepic publikoval Eaton (1870, 1871, 1883-1888), přičemž Eatonův koncept systematiky jepic je stále do značné míry platný. Začátkem 20. století publikoval četné taxonomické práce Navás (1911, 1913, 1917, 1931b). Jeho popisy byly však většinou založeny na studiu na sucho preparovaných dospělců a většina takto popsáných druhů již v současnosti není platná. Pro území Skandinávie byly podstatné práce Simona Bengtssona (1912, 1914, 1917). Zásadní revizi evropských zástupců rodu *Baetis* publikovala Müller-Liebenau (1969). Ve druhé polovině 20. století bylo z Evropy popsáno již jen několik endemických druhů (Bogoescu a Tabacaru 1957, Thomas a Gazagnes 1984, Thomas 1986, Thomas a Soldán 1987, Soldán a Godunko 2006).

Z území Asie popsal několik nových druhů Brodsky (1930), Kluge (1981, 1983) a Kazlauskas (1963). Fauna Himalájí byla zpracována v pracích Kapur a Kripalani (1963) a Dubey (1971), nicméně pouze útržkovitě. Zástupce čeledi Baetidae vyskytující se na území Japonska recentně shrnul Fujitani (2008). Značná část zdejší fauny byla zmíněna již v práci Gose (1985) a revidována v pozdějších studiích (Fujitani *et al.* 2003a, 2003b). Diverzita korejských Baetidae je také poměrně dobře známa a zahrnuje většinou široce rozšířené druhy (Park *et al.* 1996, Bae 1997, Bae a Park 1998). Jepice Číny byly sice v poslední době široce studovány (viz. např. práce Zhou a Zheng 2001, 2003, 2004), nicméně čeleď Baetidae zde prozatím podrobně zpracována nebyla.

Fauna severní Afriky byla předmětem zájmu až relativně nedávno. Zde se vyskytující druhy vykazují blízké vztahy k fauně Pyrenejského poloostrova, ačkoli jsou často endemické (Soldán a Thomas 1983a, 1983b, Thomas a Gagneur 1994, Thomas 1998).

Arabský poloostrov hostí rovněž řadu endemitů (Thomas a Dia 1984, 1985, Thomas a Sartori 1989). Zdejší fauna je ovlivňována palearktickými i afrotropickými vlivy (Gattolliat a Sartori 2008).

4.3.1.2. Afrotropická oblast

(40 rodů, 190 druhů)

Celkový počet dosud popsáných druhů je patrně jen zlomkem skutečného počtu vzhledem k nízké prozkoumanosti některých oblastí s potenciálně vysokým stupněm endemismu (vulkanická pohoří východní a centrální Afriky, Kapská oblast).

První taxonomické studie zabývající se africkými jepicemi (včetně čeledi Baetidae) vycházely počátkem 20. stol. (Ulmer 1909, Lestage 1918, Navás 1930, 1931a). Vesměs se jednalo o popisy druhů na základě dospělců získaných přes sběratele hmyzu, kteří podnikali expedice do Afriky.

První systematictější práce publikovali Barnard (1932), Crass (1947) a Agnew (1961,1963). Kimmins (1956) popsal několik druhů z Ugandy a Demoulin (1964a, 1964b, 1965, 1966, 1968) publikoval informace o mnoha nálezech z různých míst Afriky. Ve většině těchto jeho prací nicméně nepojmenovával nově nalezené druhy. Později byl publikován katalog všech dosud nalezených druhů a literárních údajů z Afrotropické oblasti (Demoulin 1970). Kopelke (1980) popsal 12 nových druhů ze Zaire, bohužel pouze na základě dospělců.

Afrotropickými Baetidae se velice intenzivně věnoval Gillies, který popsal řadu druhů především z východní Afriky (např. Gillies 1985, 1988, 1990, 1991a, 1991b, 1994, Gillies a Wuillot 1997). V sedmdesátých a osmdesátých letech organizovala francouzská agentura ORSTOM (Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-Mer) rozsáhlý sběr makrozoobentosu v oblasti pobřeží Guinejského zálivu. Na základě studia tohoto materiálu bylo později popsáno 7 nových rodů a 20 druhů (Gillies 1990, Elouard a Hideux 1991, Wuillot a Gillies 1993, 1994).

Fauna jepic čeledi Baetidae Madagaskaru zůstávala poměrně dlouho velmi málo známá, až do devadesátých let 20. století bylo popsáno pouze 8 druhů (Gattolliat 2002c). V poslední době se však Madagaskar stal předmětem intenzivního výzkumu a v průběhu pouhých 10 let byly publikovány popisy 19 nových rodů a 51 druhů (Elouard a Gibon 2001, Gattolliat 2001a, 2001b, 2001c, 2002a, 2002b, 2004, Gattolliat a Sartori 2000, 2001, 2003). Jepice Madagaskaru jsou dnes v porovnání s kontinentální Afrikou poměrně dobře známy.

Několik taxonomických změn týkajících se afrotropických Baetidae publikovali Lugo-Ortiz a McCafferty (1999b). Barber-James a Lugo-Ortiz (2003) pak sepsali klíč k určení larev všech rodů afrotropických jepic spolu s jejich ekologickými charakteristikami a areálem rozšíření. Jejich aktualizovaný seznam je dnes možné najít na webu (Barber-James *et al.* 2008).

Přes poměrně výrazný pokrok v našich znalostech afrotropické fauny jepic zůstávají stále místa prakticky neprozkoumaná, s potenciálně vysokým množstvím nových, často pravděpodobně endemických druhů (velká část atlantického pobřeží, severovýchod kontinentu a některá izolovaná pohoří).

4.3.1.3. Orientální oblast

(23 rodů, 152 druhů)

První informace a popisy druhů čeledi Baetidae této oblasti pochází z druhé poloviny 19. století (Hagen 1858, Eaton 1883-1888). Již souhrnnější práci zabývající se orientální oblastí publikoval Ulmer (1939). Dále však až do osmdesátých let 20. století zůstávala fauna této oblasti studována jen velmi sporadicky (několik popisů indických druhů v pracích Kimmins 1947 a Gillies 1949). V osmdesátých letech však publikovala Ingrid Müller-Liebenau sérii prací, v nichž popsala přes 60 nových druhů čeledi Baetidae a tyto práce tvoří základ našich současných znalostí o fauně této oblasti (Müller-Liebenau 1980a, 1980b, 1981, 1982a, 1982b, 1982c, 1983, 1984a, 1984b, 1985, Müller-Liebenau a Morihara 1982, Müller-Liebenau a Hubbard 1985). Taxonomické revize na úrovni rodů poté publikovali Waltz a McCafferty (1987a, 1987c) a Waltz *et al.* (1994). Shrnutí dosavadních výzkumů Orientální oblasti publikoval Soldán (2001), který rovněž formuloval priority pro další práci v této oblasti a vyzdvihl čeled' Baetidae jako jednu z nejméně prostudovaných.

Extenzivní výzkum spojený s objevy nových druhů probíhal v posledních letech na ostrovech Taiwan (Kang *et al.* 1994, Kang a Yang 1996) a Hong-Kong (Tong a Dudgeon 2000, 2003). Obrovská část území orientální oblasti však zůstává neprozkoumaná a tento region bezpochyby představuje nejslibnější část Země, odkud lze v budoucnu čekat nejvíce nových taxonů.

4.3.1.4. Neotropická oblast

(27 rodů, 210 druhů)

Dlouhodobá izolace jihoamerického kontinentu měla mimo jiné za následek unikátnost zdejší fauny jepic čeledi Baetidae. Dvě třetiny zde se vyskytujících rodů a přes 90% druhů jsou endemity Neotropické oblasti. Někteří zástupci zdejší fauny vykazují v rámci čeledi zcela ojedinělé morfologické znaky. Rod *Aturbina* je jediným zástupcem čeledi bez samčích turbanovitých očí, *Callibaetis* je jedním z mála viviparních taxonů jepic vůbec. Někteří neotropičtí zástupci čeledi Baetidae jsou adaptováni pro život ve vodopádech (např. *Mayobaetis ellenae*, viz. Mayo 1973) či ve vysychajících periodických tůních (*Cloeodes hydation*, viz. Nolte *et al.* 1996).

Mezi první autory popisující neotropické druhy patřili už Pictet (1843-1845), Eaton (1871, 1883-1888) a Weyenbergh (1883). Jednalo se však většinou o popisy založené na poměrně omezeném materiálu dospělců ze sbírek evropských muzeí a statut takto popsáných druhů musel být ve většině případů později revidován. Několik druhů popsal také Navás (1915, 1916, 1917), většina z nich však již dnes není platná (viz. Domínguez *et al.* 2006).

Z recentních autorů se Traver a Edmunds (1968) podrobně zabývali systematikou rozsáhlého Neartického rodu *Camelobaetis*.

Během posledních 20 let značně narostlo množství poznatků o Neotropických zástupcích čeledi Baetidae. Bylo popsáno velké množství nových rodů a druhů (Lugo-Ortiz a McCafferty 1995, 1996, 1998b, 1999d 1999e, Dominique *et al.* 2002, Nieto 2003a, 2003b, 2004a, 2004b, Thomas a Peru 2003, McCafferty a Baumgardner 2003). Další rody byly revidovány (Nieto 2004c, Nieto a Salles 2006, Nieto a Richard 2008).

Recentně Domínguez *et al.* (2006) publikoval rozsáhlou souhrnnou monografii zahrnující všechny jihoamerické jepice, včetně podrobné kapitoly věnované čeledi Baetidae. K dispozici jsou tak určovací klíče spolu s informacemi o distribučních areálech a ekologických nárocích jednotlivých druhů. Přes množství již popsáných druhů lze očekávat do budoucna stále nové objevy z doposud málo studovaných oblastí, jako jsou Andy či Amazonie.

4.3.1.5. Neartická oblast

(20 rodů, 135 druhů)

Jen pět rodů je zde endemických, většina se zároveň vyskytuje i v jiných geografických oblastech (Neotropická, Paleartická, Orientální). Míra endemismu na druhové úrovni je podstatně vyšší, 114 ze 135 druhů je známo výlučně z této oblasti.

První taxonomické práce odsud publikovali Hagen (1861), Walsh (1863a, 1863b), Eaton (1869, 1870, 1871, 1881, 1883-1888) a Banks (1900, 1914, 1918). Nejplodnějším autorem byl bezesporu McDunnough s publikovanými popisy 42 druhů Neartických Baetidae (McDunnough 1922, 1923, 1924, 1925, 1926, 1929, 1931, 1932, 1936, 1939).

První souhrnná revize severoamerických Baetidae byla práce Needham *et al.* (1935). Velkou zásluhu na poznání neartických jepic čeledi Baetidae má Edmunds, který popsal a revidoval několik druhů (Edmunds 1954, Edmunds a Allen 1957) a sestavil zásadní monografii jepic severní a střední Ameriky (Edmunds *et al.* 1976). Morihara a McCafferty (1979) podrobně revidovali neartické zástupce rodu *Baetis*.

Mladší autoři v poslední době přispěli k poznání neartických Baetidae revizemi rodového uspořádání a popisy několika nových druhů (např. Jacobus a McCafferty 2005a, 2005b, 2006, Lugo-Ortiz a McCafferty 1998c, Waltz a McCafferty 1986, 1987b, 1989, Wiersma 2000, Wiersma a McCafferty 2004, Wiersma *et al.* 2004).

Fauna jepic Neartické oblasti je v současnosti dobře prozkoumaná, z taxonomického hlediska zbývá jen několik problémů, především revize některých problematických a málo známých druhů, z nichž některé nebyly studovány od prvního popisu (Gattolliat a Nieto 2009). Aktualizovaná databáze jepic severní a střední Ameriky je k dispozici na webu (McCafferty 2009).

4.3.1.6. Australská oblast

(12 rodů, 40 druhů)

Polovina známých rodů a všechny druhy (s jedinou výjimkou druhu *Cloeon virens*) jsou endemické, zbytek se vyskytuje i v sousední Orientální oblasti.

První druh z tohoto území popsal Ulmer (1908). Následovaly práce Tillyarda (1936) a Harkera (1950, 1954, 1957). Zásadní pro poznání fauny jepic dané oblasti byly práce Sutura, který sestavil první klíč k určování larev Australských jepic (Suter 1979). V této práci je zahrnuto i 12 tehdy známých druhů čeledi Baetidae. Popisy dalších druhů a revize stávajících na druhové i rodové úrovni byly publikovány později (Suter 1986, 2000, 2001, Suter a Pearson 2001). Speciální klíč pro čeled' Baetidae byl publikován v práci Suter (1997).

Popisy nových druhů a rodů z několika oblastí včetně Nové Guineje byly publikovány v pracích Lugo-Ortiz a McCafferty 1998a, 1998d, 1999a, 1999c, Lugo-Ortiz *et al.* 1999). Čeled' Baetidae je zastoupena i na ostrovech Fidži (Flowers 1990). Nevysvětlená zůstává absence jakéhokoli druhu čeledi Baetidae na Novém Zélandu a Nové Kaledonii, přestože jiné Gondwanské čeledi jako např. Leptophlebiidae se zde bez problémů udržely a vyskytují se ve velkém počtu rodů a druhů.

5. Poděkování

Děkuji prof. Tomáši Soldánovi za vedení disertace. Rovněž děkuji všem spolupracovníkům a spoluautorům přiložených článků za jejich podíl na vzniku této práce. Především pak děkuji kolegovi Dr. Romanu Hodunkovi za spolupráci, cenné konzultace a připomínky. V neposlední řadě pak děkuji své rodině a přátelům za podporu během celého studia.

6. Literatura

- Agnew, J.D. (1961) New Baetidae (Ephem.) from South Africa. *Novos Taxa Entomológicos* no. 25, 1–18.
- Agnew, J.D. (1963) New South African records of imperfectly known Baetidae (Ephem.). *Hydrobiologia*, 22, (1–2), 41–46.
- Bae, Y.J. (1997) A historical review of Ephemeroptera systematics in Northeast Asia. Pages 405–417 *In*: Landolt P; Sartori M. (Eds.) *Ephemeroptera & Plecoptera. Biology-Ecology-Systematics*. Mauron + Tinguely & Lachat, SA. Fribourg.
- Bae, Y.J. & Park, S.Y. (1998) *Alainites*, *Baetis*, *Labiobaetis* and *Nigrobaetis* (Ephemeroptera: Baetidae) in Korea. *Korean Journal of Systematic Zoology*, 14(1), 1–12.
- Banks N. 1900. New genera and species of Nearctic Neuropteroid Insects. *Transactions of the American Entomological Society*, 26, 239–259.
- Banks N. 1914. New neuropteroid insects, native and exotic. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 66, 608–632.
- Banks N. 1918. New neuropteroid insects. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 62(1), 1–22.
- Barber-James, H.M. & Lugo-Ortiz, C.R. (2003) Ephemeroptera. *In*: de Moor, I.J., Day, J.A. & de Moor, F.C. (Eds.) *Guides to the Freshwater Invertebrates of Southern Africa Volume 7: Insecta 1*. 16–159. Water Resource Commission, Pretoria, South Africa.

- Barber-James, H.M., Gattolliat, J-L., Sartori, M. & Hubbard, M.D. (2008) Global diversity of mayflies (Ephemeroptera, Insecta) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 339–350.
- Barnard, K.H. (1932) South African May-flies (Ephemeroptera). *Transactions of the Royal Society of South Africa*, 20(3), 201–259.
- Bauernfeind, E. & Humpesch, U.H. (2001) *Die Eintagsfliegen Zentraleuropas (Insecta: Ephemeroptera): Bestimmung und Ökologie*. Verlag des Naturhistorischen Museums Wien, 239 pp.
- Bauernfeind E. & Soldán, T. (in prep.) *Ephemeroptera of Europe*. Apollo Books, Stenstrup, Denmark.
- Bengtsson, S. (1912) Neue Ephemeriden aus Schweden. *Entomologisk Tidskrift*, 33, 107–117.
- Bengtsson, S. (1914) Bemerkungen über die nordischen Arten der Gattung *Cloëon* Leach. *Entomologisk Tidskrift*, 35(3–4), 210–220.
- Bengtsson, S. (1917) Weitere Beiträge zur Kenntnis der nordischen Eintagsfliegen. *Entomologisk Tidskrift*, 38(2), 174–194.
- Berner, L. (1950) The Mayflies of Florida. *University of Florida Press*, Gainesville. 267 pp.
- Beutel, R.G & Gorb, S.N. (2001) Ultrastructure of attachment specializations of hexapods (Arthropoda): evolutionary patterns inferred from a revised ordinal phylogeny. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 39, 177–207.
- Bogoescu, C. & Tabacaru, I. (1957) Contributii la studiul sistematic al nimfelor de Ephemeroptere din R.P.R. *Buletin de la Section Scientifique de Roumanie*, 9(3), 241–284.
- Boudreaux, H. B. (1979) *Arthropod phylogeny with special reference to insects*. Wiley, New York.
- Brittain, J.E. (1982) Biology of mayflies. *Annual Review of Entomology*, 27, 119–147.
- Brittain, J.E. & Sartori, M. (2003) Ephemeroptera (Mayflies). Pages 373–380 In: Resh VH; Cardé RT. (Eds). *Encyclopedia of Insects*. Academic Press, Amsterdam.
- Brodsky, K. (1930) Zur Kenntnis der mittelasiatischen Ephemeropteren I. (Imagines). *Zoologische Jahrbücher*, 59, 681–720.
- Burks, B.D. (1953) The mayflies, or Ephemeroptera, of Illinois. *Bulletin of the Illinois Natural History Survey*, 26(1), 1–216.
- Crass, R.S. (1947) The May-flies (Ephemeroptera) of Natal and the Eastern Cape. *Annals of the Natal Museum*, 11(1), 37–110.
- Demoulin, G. (1958) Nouveau schéma de classification des Archodonates et des Éphéméroptères. *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique*, 34(27), 1–19.
- Demoulin, G. (1964a) Ephemeroptera. *Parc National de l'Upemba - Mission G. F. de Witte* 68(2), 13–27.
- Demoulin, G. (1964b) Mission H. Löffler en Afrique Orientale. Ephemeroptera. *Bulletin et Annales de la Société Royale Entomologique de Belgique*, 100(21), 279–294.
- Demoulin, G. (1965) Mission zoologique de l'I.R.S.A.C. en Afrique orientale. (P. Basilewsky et N. Leleup, 1957). LXXXVIII.–Ephemeroptera. *Annales du Musée Royal d'Afrique Centrale, Sciences Zoologique*, 138, 91–114.
- Demoulin, G. (1966) Quelques Éphéméroptères nouveaux de Madagascar. *Annales de la Société Entomologique de France*, 2(3), 711–717.
- Demoulin, G. (1968) Quelques Éphéméroptères nouveaux de Madagascar. II. *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique*, 44(32), 1–9.
- Demoulin, G. (1970) Ephemeroptera des faunes éthiopienne et malgache. *South African Animal Life*, 14, 24–170.
- Dominguez, E., Molineri, C., Pescador, M.L., Hubbard, M.D. & Nieto, C. (2006) *Ephemeroptera of South America*. Aquatic Biodiversity of Latin America. Vol. 2. J. Adis, J. R. Arias, G. Rueda-Delgado & K. M. Wantzen (Eds). Moscow and Sofia.
- Dominique, Y., Thomas, C. & Thomas, A. (2002) Étude systématique du genre *Camelobaetidius* Demoulin, 1966 en Colombie [Ephemeroptera, Baetidae]. Systematics of the genus *Camelobaetidius* Demoulin, 1966 in Colombia (Ephemeroptera, Baetidae). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, (2001) 137, 17–32.
- Dubey, O.P. (1971) Torrenticole insects of the Himalaya. VI. Descriptions of nine new species of Ephemera from the Northwest Himalaya. *Oriental Insects*, 5(4), 521–548.
- Eaton, A.E. (1869) On *Centroptilum*, a new genus of the Ephemeridae. *Entomologist's Monthly Magazine*, 6, 131–132.
- Eaton, A.E. (1870) On some new British species of Ephemeridae. *Transactions of the Entomological Society of London*, 1870(1), 1–8.
- Eaton, A.E. (1871) A monograph on the Ephemeridae. *Transactions of the Entomological Society of London*, 1871, 1–164.
- Eaton, A.E. (1881) An announcement of new genera of the Ephemeridae. *Entomologist's Monthly Magazine*, 17, 191–197.

- Eaton, A.E. (1883–1888) A revisional monograph of recent Ephemeridae or mayflies. *Transactions of the Linnean Society of London, Second Series, Zoology*, 3, 1–352.
- Edmunds, G.F. Jr. (1954) The mayflies of Utah. *Proceedings of the Utah Academy of Sciences, Arts and Letters*, 31, 64–66.
- Edmunds, G.F. Jr. (1972) Biogeography and evolution of Ephemeroptera. *Annual Review of Entomology*, 17, 21–42.
- Edmunds, G.F. Jr. (1975) Phylogenetic biogeography of mayflies. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 62, 251–263.
- Edmunds, G.F. Jr. & Traver, J.R. (1954) An outline of a reclassification of the Ephemeroptera. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 56, 236–240.
- Edmunds, G.F. Jr. & Allen, R.K. (1957) A new species of *Baetis* from Oregon (Ephemeroptera: Baetidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 30, 57–58.
- Edmunds, G.F. Jr., Jensen, S.L. & Berner, L. (1976) *The Mayflies of North and Central America*. Minnesota Press, Minneapolis.
- Edmunds, G.F. Jr. & McCafferty, W.P. (1988) The mayfly subimago. *Annual Review of Entomology*, 33, 509–529.
- Elouard, J.-M. & Hideux, P. (1991) Mayflies of West Africa. *Thraulobaetodes*, an atypical new genus of crawling Baetidae. Pages 169–174. In: J. Alba-Tercedor & A. Sanchez-Ortega (Eds.) *Overview and Strategies of Ephemeroptera and Plecoptera*, Sandhill Crane Press, Gainesville, Florida.
- Elouard, J.-M. & Gibon, F.M. (2001) *Biodiversité et biotypologie des eaux continentales de Madagascar*. Institut de Recherche pour le Développement. 447pp.
- Flowers, R.W. (1990) Ephemeroptera of the Fiji Islands. Pages 125–133 In: Campbell IC. 1990. *Mayflies and Stoneflies: Life histories and biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Fujitani, T. (2008) The family Baetidae from Japan. In: Hauer, F.R., Stanford, J.A. & Newell, R.L. (Eds.), *International advances in the ecology, zoogeography and systematics of mayflies and stoneflies*. University of California Publications in Entomology, vol. 128, pp. 205–218.
- Fujitani, T., Hirowatari, T. & Tanida, K. (2003a) Genera and species of Baetidae in Japan: *Nigrobaetis*, *Alainites*, *Labiobaetis*, and *Tenuibaetis* n. stat. (Ephemeroptera). *Limnology*, 4, 121–129.
- Fujitani, T., Hirowatari, T. & Tanida, K. (2003b) Nymphs of *Nigrobaetis*, *Alainites*, *Labiobaetis*, *Tenuibaetis* and *Baetis* from Japan (Ephemeroptera: Baetidae): Diagnoses and keys for genera and species. Pages 127–133 In: Gaino E. (Ed.). *Research update on Ephemeroptera & Plecoptera*. Università di Perugia. Perugia, Italy.
- Fürst von Lieven, A. (2000) The transformation from the monocondylous to dicondylous mandibles in the Insecta. *Zoologischer Anzeiger*, 239, 139–146.
- Gattolliat, J.-L. (2001a) The genus *Cloeodes* (Ephemeroptera: Baetidae) in Madagascar. *Revue Suisse de Zoologie*, 108, 387–402.
- Gattolliat, J.-L. (2001b) *Rheoptilum*: A new genus of two-tailed baetidae (Ephemeroptera) from Madagascar. *Aquatic Insects*, 23, 67–81.
- Gattolliat, J.-L. (2001c) Six new species of the genus *Labiobaetis* Novikova & Kluge (Ephemeroptera: Baetidae) from Madagascar with comments on the validity of the genus. *Annals of Limnology*, 37, 97–123.
- Gattolliat, J.-L. (2002a) Three new Malagasy species of *Xyrodromeus* (Ephemeroptera: Baetidae) with the first generic description of the adults. *Revue Suisse de Zoologie*, 109, 325–341.
- Gattolliat, J.-L. (2002b) Two new genera of Baetidae (Ephemeroptera; Insecta) from Madagascar. *Aquatic Insects*, 24, 143–159.
- Gattolliat, J.-L. (2002c) Etude systématique, cladistique et biogéographique des Baetidae (Ephemeroptera) de Madagascar. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne. 278 pp.
- Gattolliat, J.-L. (2004) A distinctive new species of *Xyrodromeus* Lugo-Ortiz & McCafferty (Ephemeroptera: Baetidae) from Madagascar. *Zootaxa*, 452, 1–10.
- Gattolliat, J.-L. & Sartori, M. (2000) Contribution to the systematics of the genus *Dabulamanzia* (Ephemeroptera: Baetidae) in Madagascar. *Revue Suisse de Zoologie*, 107, 561–577.
- Gattolliat, J.-L. & Sartori, M. (2001) Predaceous Baetidae in Madagascar: an uncommon and unsuspected high diversity. In: E. Dominguez (Ed.) *Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera*. pp. 321–330. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Gattolliat, J.-L. & Sartori, M. (2003) An overview of the Baetidae of Madagascar. Pp. 135–144 In: Gaino E. (Ed.). *Research update on Ephemeroptera & Plecoptera*. Università di Perugia. Perugia, Italy.
- Gattolliat, J.-L. & Sartori, M. (2008) What is *Baetis rhodani* (Pictet, 1843) (Insecta, Ephemeroptera, Baetidae)? Designation of a neotype and redescription of the species from its original area. *Zootaxa*, 1957, 69–80.
- Gattolliat, J.-L., Monaghan, M.T., Sartori, M., Elouard, J.-M., Barber-James, H., Derleth, P., Glaiot, O., de Moor, F. & Vogler, A.P. (2008) A Molecular analysis of the Afrotropical Baetidae. Pp. 219–232 In:

- Hauer, F.R., Stanford, J.A. & Newell, R.L. (Eds.) *International advances in the ecology, zoogeography and systematics of mayflies and stoneflies*. University of California Publications in Entomology, vol. 128.
- Gattolliat, J.-L. & Sartori, M. (2008) What is *Baetis rhodani* (Pictet, 1843) (Insecta, Ephemeroptera, Baetidae)? Designation of a neotype and redescription of the species from its original area. *Zootaxa*, 1957, 69–80.
- Gattolliat, J.-L. & Nieto, C. (2009) The family Baetidae (Insecta: Ephemeroptera): synthesis and future challenges. *Aquatic Insects*, 31, Supplement 1, 41–62.
- Gillies, M.T. (1949) Notes on some Ephemeroptera Baëtidae from India and South-East Asia. *Transactions of the Royal Entomological Society London*, 100, 161–177.
- Gillies, M.T. (1985) A preliminary account of the East African species of *Cloeon* Leach and *Rhithrocloeon* gen. n. (Ephemeroptera). *Aquatic Insects*, 7(1), 1–17.
- Gillies, M.T. (1988) Descriptions of the nymphs of some Afrotropical Baetidae (Ephemeroptera). I. *Cloeon* Leach and *Rhithrocloeon* Gillies. *Aquatic Insects*, 10(1), 49–59.
- Gillies, M.T. (1990) A revision of the African species of *Centroptilum* Eaton (Baetidae, Ephemeroptera). *Aquatic Insects*, 12(2), 97–128.
- Gillies, M.T. (1991a) A diphyletic origin for the two-tailed baetid nymphs occurring in East African stony streams with a description of the new genus and species *Tanzaniella spinosa* gen. nov. sp. nov. Pp. 175–187 In: Alba-Tercedor, J. & Sanchez-Ortega, E. (Eds.), *Overview and Strategies of Ephemeroptera and Plecoptera*, Sandhill Crane Press, Gainesville, Florida.
- Gillies, M.T. (1991b) A new species of *Afroptilum* (*Afroptiloides*) from East Africa (Ephem., Baetidae). *Entomologist's Monthly Magazine*, 127, 109–115.
- Gillies, M.T. (1994) Description of some Afrotropical Baetidae (Ephemeroptera): II. *Baetis* Leach, s.l., East African species. *Aquatic Insects*, 16(2), 105–118.
- Gillies, M.T. & Wuillot, J. (1997) *Platycloeon*, a new genus of Baetidae (Ephemeroptera) from East Africa. *Aquatic Insects*, 19, 185–189.
- Gose, K. (1985) Ephemeroptera. Pp.7–32 In: *An Illustrated Book of Aquatic Insects of Japan*.
- Hagen, H. (1858) Synopsis der Neuroptera Ceylons. *Verhandlungen der Kaiserlich-Königlichen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien*, 8, 471–488.
- Hagen, H.A. (1861) *Synopsis of the Neuroptera of North America. With a list of the South American species*. Smithsonian Miscellaneous Collections, Washington, 347 pp.
- Harker, J.E. (1950) Australian Ephemeroptera. Part I. Taxonomy of New South Wales species and evaluation of taxonomic characters. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, 75(1–2), 1–34.
- Harker, J.E. (1954) The Ephemeroptera of eastern Australia. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 105, 241–268.
- Harker, J.E. (1957) Some new Australian Ephemeroptera. Part II. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London (B)*, 26(5–6), 69–78.
- Hennig, W. (1981) *Insect Phylogeny*. Translated and edited by Adrian C. Pont, revisionary notes by Dieter Schlee and 9 collaborators. John Wiley and Sons, New York.
- Hovmöller, R., Pape, T. & Kallersjo, M. (2002) The Palaeoptera problem: Basal pterygote phylogeny inferred from 18S and 28S rDNA sequences. *Cladistics*, 18 (3), 313–323.
- Jacob, U. (2003) *Baetis* Leach 1815, sensu stricto oder sensu lato. Ein Beitrag zum Gattungskonzept auf der Grundlage von Artengruppen mit Bestimmungsschlüsseln [*Baetis* Leach 1815, sensu stricto or sensu lato. A contribution to the genus concept based on species groups with identification keys]. *Lauterbornia*, 47, 59–129.
- Jacobus, L.M. & McCafferty, W.P. (2005a) *Apobaetis futilis*, a new combination in Nearctic Baetidae (Ephemeroptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 107(4), 979–979.
- Jacobus, L.M. & McCafferty, W.P. (2005b) A new species and new synonym in *Camelobaetidius* Demoulin (Ephemeroptera: Baetidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 78, 153–157.
- Jacobus, L.M. & McCafferty, W.P. (2006) A new species of *Acentrella* Bengtsson (Ephemeroptera: Baetidae) from Great Smoky Mountains National Park, USA. *Aquatic Insects*, 28, 101–111.
- Kang, S.C., Chang, H.C. & Yang, C.T. (1994) A revision of the genus *Baetis* in Taiwan (Ephemeroptera, Baetidae). *Journal of Taiwan Museum*, 47 (2), 9–44.
- Kang, S.C. & Yang, C.T. (1996) Two new species of *Baetis* Leach (Ephemeroptera: Baetidae) from Taiwan. *Chinese Journal of Entomology*, 16(1), 61–66.
- Kapur, A.P. & Kripalani, M.B. (1963) The mayflies (Ephemeroptera) from the north-western Himalaya. *Records of the Indian Museum*, (1961) 59(1-2), 183–221.
- Kazlauskas, R.S. (1963) New and little known mayflies (Ephemeroptera) from the USSR. *Entomologicheskoe Obozrenie*, 42 (3), 582–593.
- Kazlauskas, R.S. (1972) Neues über das System der Eintagsfliegen der Familie Baetidae (Ephemeroptera). *Proceedings of the 13th International Congress of Entomology, Moscow*, 1968, 3, 337–338.

- Kimmins, D.E. (1947) New species of Indian Ephemeroptera. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London (B)*, 16(7–8), 92–100.
- Kimmins, D.E. (1956) New species of Ephemeroptera from Uganda. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Entomology*, 4(2), 69–87.
- Kjer, K.M. (2004) Aligned 18S and insect phylogeny. *Systematic Biology*, 53, 506–514.
- Kjer, K.M., Carle, F.L., Litman, J. & Ware, J. (2006) A molecular phylogeny of Hexapoda. *Arthropod Systematics & Phylogeny*, 64(1), 35–44.
- Klapálek, F. (1909) Ephemerida, Eintagsfliegen. *Süsswasserfauna Deutschlands*, 8, 1–32.
- Kluge, N.J. (1981) A new species of the genus *Baetis* (Ephemeroptera, Baetidae) from Kazakhstan. *Zoologicheskii Zhurnal*, 9, 1418–1419. [in Russian]
- Kluge, N.J. (1983) New and little known mayflies of the family Baetidae (Ephemeroptera) from Primorye territory. *Entomologicheskoe Obozrenie*, 59 (1), 65–79. [in Russian]
- Kluge, N.J. (1997) Order mayflies–Ephemeroptera. In: Tsalolikhin, S.J. (Ed), *Key to freshwater invertebrates of Russia and adjacent lands. Vol.3. Arachnids and lower insects*. Institute of Zoology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 176–220. [in Russian]
- Kluge, N.J. (2004) *The Phylogenetic System of Ephemeroptera*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 442 pp.
- Kopelke, J-P. (1980) Ephemeroptera aus der Emergenz des zentralafrikanischen Bergbaches Kalengo (Zaire) Teil I: Baëtidae. *Entomologische Abhandlungen*. (1979) 43(6), 99–129.
- Kristensen, N. P. (1991) Phylogeny of extant hexapods, p. 125–140. In: CSIRO (Ed.), *The Insects of Australia (second edition)*. Volume 1. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Kukalová-Peck, J. (1983) Origin of the insect wing and wing articulation from the arthropodan leg. *Canadian Journal of Zoology*, 61, 1618–1669.
- Kukalová-Peck, J. (1985) Ephemeroptera wing venation based upon new gigantic Carboniferous mayflies and basic morphology, phylogeny, and metamorphosis of pterygote insects (Insecta, Ephemeroptera). *Canadian Journal of Zoology*, 63, 933–955.
- Kukalová-Peck, J. (1991) Fossil history and the evolution of hexapod structures, Pp. 141–179. In: CSIRO (Ed.) *The Insects Of Australia, (second edition)*. Volume 1. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Kukalová-Peck, J. (1997) Arthropod phylogeny and ‘basal’ morphological structures, p. 249–268. In: Fortey, R.A. & Thomas, R.H. (Eds.), *Arthropod Relationships*. Chapman and Hall, London.
- Laméere, A. (1917) Étude sur l'évolution des Éphémères. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 42, 41–59, 61–81.
- Landa V. & Soldán T. (1985) *Phylogeny and Higher Classification of the Order Ephemeroptera: A Discussion from the Comparative Anatomy Point of View*. Academia, Praha, Studie ČSAV, 4, 124 pp.
- Landa V. & Soldán T. (1989) Rozšíření jepic (Ephemeroptera) v ČSSR a jeho změny v souvislosti se změnami kvality vody v povodí Labe. [Distribution of mayflies (Ephemeroptera) in Czechoslovakia and its changes in connection with water quality changes in the Elbe basin]. Academia Praha, Studie ČSAV, 17, 172 pp.
- Leach, W.E. (1815) Entomology. *Brewster's Edinburgh Encyclopaedia*, 9, 57–172.
- Lestage, J-A. (1917) Contribution à l'étude des larves de Éphémères paléarctiques. *Annales de Biologie Lacustre*, 8(3–4), 213–458.
- Lestage, J-A. (1918) Les Éphémères d'Afrique (Notes critiques sur les espèces connues). *Revue Zoologique Africaine*, 6(1), 65–114.
- Lin, C-P., Chen, M-Y. & Huang, J-P. (2010) The complete mitochondrial genome and phylogenomics of a damselfly, *Euphaea formosa* support a basal Odonata within the Pterygota. *Gene*, 468(1–2), 20–29.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty W.P. (1995) Three distinctive new genera of Baetidae (Insecta, Ephemeroptera) from South America. *Annales de Limnologie*, 31(4), 233–243.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1996) *Aturbina georgei* gen. et sp. n.: A small minnow mayfly (Ephemeroptera: Baetidae) without turbinate eyes. *Aquatic Insects*, 18(3), 175–183.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1998a) The *Centroptiloides* complex of Afrotropical small minnow mayflies (Ephemeroptera: Baetidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 91(1), 1–26.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1998b) Five new genera of Baetidae (Insecta: Ephemeroptera) from South America. *Annales de Limnologie*, 34(1), 57–73.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1998c) A new North American genus of Baetidae (Ephemeroptera) and key to *Baetis* complex genera. *Entomological News*, 109(5), 345–353.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1998d) *Offadens*, a new genus of small minnow mayflies (Ephemeroptera: Baetidae) from Australia. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 100(2), 306–309.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1999a) *Edmundsiops instigatus*: a new genus and species of small minnow mayflies (Ephemeroptera: Baetidae) from Australia. *Entomological News*, 110(1), 65–69.

- Lugo-Ortiz, C. & McCafferty, W.P. (1999b) Global biodiversity of the mayfly family Baetidae (Ephemeroptera): a generic perspective. *Trends in Entomology*, 2(1), 45–54.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1999c) A new genus of small minnow mayflies (Insecta: Ephemeroptera: Baetidae) with six new species from New Guinea and New Britain. *Annales de Limnologie*, 35(1), 57–70.
- Lugo-Ortiz, C. & McCafferty, W.P. (1999d) Global biodiversity of the mayfly family Baetidae (Ephemeroptera): a generic perspective. *Trends in Entomology*, 2(1), 45–54.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1999e) Three new genera of small minnow mayflies (Insecta: Ephemeroptera: Baetidae) from the Andes and Patagonia. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 34(1), 88–104.
- Lugo-Ortiz, C.R., McCafferty, W.P. & Waltz, R.D. (1999) Definition and reorganization of the genus *Pseudocloeon* (Ephemeroptera: Baetidae) with new species descriptions and combinations. *Transactions of the American Entomological Society*, 125(1–2), 1–37.
- Linnaeus, C. (1758) *Systema Naturae*. Ed. X. Vol. 1. Holmiae.
- Martynov, A.V. (1924) Sur l'interprétation de la nervuration et de la trachéation des ailes des Odonates et des Agnathes. *Russkoe Entomologicheskoe Obozrenie*, 18, 145–174.
- Matsuda, R. (1970) *Morphology and evolution of the insect thorax*. Entomological Society of Canada, Ottawa, 431 pp.
- Mayo, V.K. (1973) Four new species of the genus *Baetodes* (Ephemeroptera: Baetidae). *Pan-Pacific Entomologist*, 49(4), 308–314.
- McCafferty, W.P. (1991) Toward a phylogenetic classification of the Ephemeroptera (Insecta): A commentary on systematics. *Annals of the Entomological Society of America*, 84(4), 343–360.
- McCafferty, W.P. (1998) Ephemeroptera and the great American interchange. *Journal of the North American Benthological Society*, 17, 1–20.
- McCafferty, W.P. (2009) Mayfly Central. <http://www.entm.purdue.edu/mayfly/>
- McCafferty, W.P. & Edmunds, G.F. Jr. (1979) The higher classification of the Ephemeroptera and its evolutionary basis. *Annals of the Entomological Society of America*, 72, 5–12.
- McCafferty W.P. & Waltz R.D. (1990) Revisionary synopsis of the Baetidae (Ephemeroptera) of North and Middle America. *Transactions of the American Entomological Society*, 116, 769–799.
- McCafferty, W.P. & Baumgardner, D.E. (2003) *Lugoiops maya*, a new genus and species of Ephemeroptera (Baetidae) from Central America. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 105, 397–406.
- McDunnough, J. (1922) Two new Canadian May-flies (Ephemeridae). *Canadian Entomologist*, 53, 117–120.
- McDunnough, J. (1923) New Canadian Ephemeridae with notes. *Canadian Entomologist*, 55, 39–50.
- McDunnough, J. (1924) New Ephemeridae from Illinois. *Canadian Entomologist*, 56, 7–9.
- McDunnough, J. (1925) New Canadian Ephemeridae with notes. III. *Canadian Entomologist*, 57, 168–176, 185–192.
- McDunnough, J. (1926) New Canadian Ephemeridae with notes. IV. *Canadian Entomologist*, 58, 296–303.
- McDunnough, J. (1929) Notes on North American Ephemeroptera with descriptions of new species. II. *Canadian Entomologist*, 61, 169–180.
- McDunnough, J. (1931) New species of North American Ephemeroptera. *Canadian Entomologist*, 63, 82–93.
- McDunnough, J. (1932) New species of North American Ephemeroptera II. *Canadian Entomologist*, 64, 209–215.
- McDunnough, J. (1936) A new Arctic baetid (Ephemeroptera). *Canadian Entomologist*, 68, 32–34.
- McDunnough, J. (1939) New British Columbian Ephemeroptera. *Canadian Entomologist*, 71, 49–54.
- Monaghan, M.T., Gattolliat, J-L., Sartori, M., Elouard, J.M., James, H., Derleth, P., Glazot, O., de Moor, F. & Vogler, A.P. (2005) Trans-oceanic and endemic origins of the small minnow mayflies (Ephemeroptera, Baetidae) of Madagascar. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 272(1574), 1829–1836.
- Morihara, D.K. & McCafferty, W.P. (1979) The *Baetis* larvae of North America (Ephemeroptera: Baetidae). *Transactions of the American Entomological Society*, 105, 139–221.
- Müller-Liebenau, I. (1969) Revision der europäischen Arten der Gattung *Baetis* Leach, 1815 (Insecta, Ephemeroptera). *Gewässer und Abwässer*, 28–29, 1–214.
- Müller-Liebenau, I. (1980a) *Jubabaetis* gen. n. and *Platybaetis* gen. n., two new genera of the family Baetidae from the Oriental Region. In: Flannagan, J.F. & Marshall, K.E. (Eds.), *Advances in Ephemeroptera Biology*. Plenum Press, New York, pp. 103–114.
- Müller-Liebenau, I. (1980b) A new species of the genus *Platybaetis* Müller-Liebenau 1980, *P. bishopi* sp. n., from Malaysia (Insecta, Ephemeroptera). *Gewässer und Abwässer*, 66–67, 95–101.
- Müller-Liebenau, I. (1981) Review of the original material of the baetid genera *Baetis* and *Pseudocloeon* from the Sunda Islands and the Philippines described by G. Ulmer, with some general remarks (Insecta: Ephemeroptera). *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut*, 78, 197–208.

- Müller-Liebenau, I. (1982a) Five new species of *Pseudocloeon* Klapálek, 1905, (Fam. Baetidae) from the Oriental Region (Insecta, Ephemeroptera) with some general remarks on *Pseudocloeon*. *Archiv für Hydrobiologie*, 95 (1–4), 283–298.
- Müller-Liebenau, I. (1982b) A new genus and species of Baetidae from Sri Lanka (Ceylon): *Indocloeon primum* gen.n., sp.n. (Insecta, Ephemeroptera). *Aquatic Insects*, 4(3), 125–129.
- Müller-Liebenau, I. (1982c) New species of the family Baetidae from the Philippines (Insecta, Ephemeroptera). *Archiv für Hydrobiologie*, 94(1), 70–82.
- Müller-Liebenau, I. (1983) Three new species of the genus *Centroptella* Braasch & Soldán, 1980, from Sri Lanka (Insecta: Ephemeroptera). *Archiv für Hydrobiologie*, 97(4), 486–500.
- Müller-Liebenau, I. (1984a) Baetidae from Sabah (East Malaysia) (Ephemeroptera). Pages 85–99. In: Landa, V., Soldán, T. & Tonner, M. (Eds.) *Proceedings of the Fourth International Conference on Ephemeroptera*. Institute of Entomology, Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice.
- Müller-Liebenau, I. (1984b) New genera and species of the family Baetidae from West-Malaysia (River Gombak) (Insecta: Ephemeroptera). *Spixiana*, 7 (3), 253–284.
- Müller-Liebenau, I. (1985) Baetidae from Taiwan with remarks on *Baetiella* Ueno, 1931 (Insecta, Ephemeroptera). *Archiv für Hydrobiologie*, 104 (1), 93–110.
- Müller-Liebenau, I. & Morihara, D.K. (1982) *Indobaetis*: a new genus of Baetidae from Sri Lanka (Insecta: Ephemeroptera) with two new species. *Gewässer und Abwässer*, 68–69, 26–34.
- Müller-Liebenau, I. & Hubbard, M.D. (1985) Baetidae from Sri Lanka with some general remarks on the Baetidae of the Oriental Region (Insecta: Ephemeroptera). *Florida Entomologist*, 68, 537–561.
- Navás, L. (1911) Notas entomológicas. Excursiones por los alrededores de Granada. *Boletín de la Sociedad Aragonesa de Ciencias Naturales*, 10, 204–211.
- Navás, L. (1913) Notas entomológicas. Excursiones por los alrededores de Zaragoza. *Boletín de la Sociedad Aragonesa de Ciencias Naturales*, 12, 75–77.
- Navás, L. (1915) Neurópteros Sudamericanos. Segunda serie. *Broteria* (Serie Zoológica), 13, 5–13.
- Navás, L. (1916) Neurópteros Sudamericanos. Tercera serie. Neurópteros del Brasil recogidos por el R. P. Joaquín da Silva Tavares S. J. *Brotéria* (Serie Zoológica), 14, 14–35.
- Navás, L. (1917) Algunos insectos Neurópteros de la Argentina. *Physis*, 3186–196.
- Navás, L. (1930) Excursión a Ribera de Cardós, Pallars (Lérida). *Bulletin Inst. Catal. Hist. Nat.*, 30, 48–57
- Navás, L. (1931a) Insectes du Congo Belge (Série VI). *Revue de Zoologie et de Botanique Africaines*, 21, 125–144.
- Navás, L. (1930b) Névroptères et insectes voisins. Chine et pays environnants. 1ère Série. Notes d'Entomologie Chinoise, *Musée Heude*, 1(6), 1–12.
- Needham, J.G., (1901) Aquatic insects in the Adirondacks. *Bulletin of the New York State Museum*, 47, 384–612.
- Needham, J.G., Traver, J.R. & Hsu, Y-C. (1935) *The biology of mayflies, with a systematic account of North American species*. N.Y. Ithaca, 759 pp.
- Nieto, C. (2003a) El género *Camelobaetidius* (Ephemeroptera: Baetidae) en la Argentina. *Acta Zoológica Mexicana (Nueva Serie)*, 88, 233–255.
- Nieto, C. (2003b) A new species of *Guajirolus* (Ephemeroptera: Baetidae) from Argentina and description of a new genus from Bolivia. Pp. 153–158. In: Gaino, E. (Ed.). *Research update on Ephemeroptera & Plecoptera*. Università di Perugia. Perugia, Italy.
- Nieto, C. (2004a) The genus *Baetodes* (Ephemeroptera: Baetidae) in South America with the description of new species from Argentina, Bolivia and Peru. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 39, 63–79.
- Nieto, C. (2004b) Redescription of *Varipes* (Ephemeroptera: Baetidae), with the description of new species from Bolivia and Argentina. *Aquatic Insects*, 26, 161–173.
- Nieto, C. (2004c) South American Baetidae (Ephemeroptera): a new generic synonymy. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 39, 95–101.
- Nieto, C. & Salles, F.F. (2006) Revision of the genus *Paracloeodes* (Ephemeroptera: Baetidae) in South America. *Zootaxa*, 1301, 1–33.
- Nieto, C. & Richard, B. (2008) The genus *Cloeodes* (Ephemeroptera: Baetidae) in Argentina with new generic synonymy and new species. *Zootaxa*, 1727, 1–21.
- Nolte, U., Tietböhl, R.S. & McCafferty, W.P. (1996) A mayfly from tropical Brazil capable of tolerating short-term dehydration. *Journal of the North American Benthological Society*, 15(1), 87–94.
- Ogden, T.H. & Whiting, M.F. (2003) The problem with “the Paleoptera Problem:” sense and sensitivity. *Cladistics*, 19(5), 432–442.
- Ogden T.H. & Whiting, M.F. (2005) Phylogeny of Ephemeroptera (mayflies) based on molecular evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37, 625–643.
- Ogden, T.H., Gattolliat, J-L., Sartori, M., Staniczek, A.H., Soldán, T. & Whiting, M.F. (2009) Towards a new paradigm in mayfly phylogeny (Ephemeroptera): combined analysis of morphological and molecular data. *Systematic Entomology*, 34 (4), 616–634.

- Park, S.J., Bae, Y.J. & Yoon, I.B. (1996) Revision of the Baetidae (Ephemeroptera of Korea. (1). Historical review, *Acentrella* Bengtsson and *Baetiella* Uéno. *Entomological Research Bulletin (Korean Entomological Institute)*, 22, 55–66.
- Pictet, F.J. (1843-1845) *Histoire naturelle générale et particulière des Insectes Névroptères. Famille des Éphémérides*. – Baillière, Paris (Kessmann & Cherbuliez, Genève). 300 pp. (1843), 49 plates (1845).
- Rambur, P. (1842) *Historire naturelle des Insectes. Névroptères*. Librairie Encyclopédique de Roret. Paris.
- Riek, E.F. & Kukulová-Peck, J. (1984) A new interpretation of dragonfly wing venation based upon Early Upper Carboniferous fossils from Argentina (Insecta: Odonatoidea) and basic character states in pterygote wings. *Canadian Journal of Zoology*, 62(6), 1150–1166.
- Sartori, M., Derleth, P. & Gattolliat, J-L. (2003) New data about the mayflies (Ephemeroptera) from Borneo. Pages 403–406. In: Gaino, E. (Ed.) *Research update on Ephemeroptera & Plecoptera*. Università di Perugia, Perugia, Italy.
- Schoenemund, E. (1930) Eintagsfliegen oder Ephemeroptera. *Die Tierwelt Deutschlands*, 19, 1–106.
- Simon, S., Strauss, S., von Haeseler, A. & Hadrys, H. (2009) A Phylogenomic Approach to Resolve the Basal Pterygote Divergence. *Molecular Biology and Evolution*, 26(12), 2719–2730.
- Soldán, T. & Thomas, A.G.B. (1983a) *Baetis numidicus* n. sp., Ephemeroptere nouveau d'Algerie (Baetidae). *Annales de Limnologie*, 19, 207–211.
- Soldán, T. & Thomas, A.G.B. (1983b) New and little-known species of mayflies (Ephemeroptera) from Algeria. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, 80, 356–376.
- Soldán, T. (2001) Status of the systematic knowledge and priorities in Ephemeroptera studies: the oriental region. Pages 53–65 in Domínguez E. (Ed.) *Trends in Research in Ephemeroptera & Plecoptera*. Kluwer Academic / Plenum Publishers. New York.
- Soldán, T. & Godunko, R.J. (2006) *Baetis atlanticus* n. sp., a new species of the subgenus *Rhodobaetis* Jacob, 2003 from Madeira, Portugal (Ephemeroptera: Baetidae). *Genus*, 17, 5–17.
- Ståhls, G. & Savolainen, E. (2007) MtDNA COI barcodes reveal cryptic diversity in the *Baetis vernus* group (Ephemeroptera, Baetidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 46, 82–87.
- Staniczek, A.H. (2000) The mandible of silverfish (Insecta: Zygentoma) and mayflies (Ephemeroptera): its morphology and phylogenetic significance. *Zoologischer Anzeiger*, 239, 147–178.
- Sun, L., Sabo, A., Meyer, M.D., Randolph, R.P., Jacobus, L.M., McCafferty, W.P. & Ferris, V.R. (2006) Tests of current hypotheses of mayfly (Ephemeroptera) phylogeny using molecular (18s rDNA) data. *Annals of the Entomological Society of America*, 99, 241–252.
- Suter, P.J. (1979) A revised key to the Australian genera of mature mayfly (Ephemeroptera) nymphs. *Transactions of the Royal Society of South Australia*, 103(3), 79–83.
- Suter, P.J. (1986) The Ephemeroptera (mayflies) of South Australia. *Records of the South Australian Museum*, 19(17), 339–397.
- Suter, P.J. (1997) *Preliminary guide to the identification of nymphs of Australian baetid mayflies (Insecta : Ephemeroptera) found in flowing waters*. Cooperative Research Centre for Freshwater Ecology, Albury. Identification Guide no. 14, 1–36.
- Suter, P.J. (2000) *Edmundsiops hickmani* sp. nov., *Offadens frater* (Tillyard) nov. comb. and description of the nymph of *Cloeon tasmaniae* Tillyard (Ephemeroptera: Baetidae) from Tasmania. *Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania*, 134, 63–74.
- Suter, P.J. (2001) *Platybaetis gagadjuensis*, a new species from Northern Australia (Ephemeroptera: Baetidae). Pages 359–364 in Domínguez E. (Ed.) *Trends in Research in Ephemeroptera & Plecoptera*. Kluwer Academic / Plenum Publishers. New York.
- Suter, P.J. & Pearson, M.J. (2001) Redescription of *Bungona* Harker with new synonyms in the Australian Baetidae (Insecta Ephemeroptera). *Memoirs of Museum Victoria*, 58(2), 247–254.
- Thomas, A.G.B. (1986) Éphéméroptères du Sud-Ouest de France IV. *Baetis catharus* n. sp. des Pyrénées (Baetidae). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, 122, 175–179.
- Thomas, A.G.B. (1998) A provisional checklist of the mayflies of North Africa (Ephemeroptera). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, 134, 13–20.
- Thomas, A.G.B. & Dia, A. (1984) *Baetis baroukianus* n. sp., Éphéméroptère nouveau du Liban (Baetidae). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, 120, 7–12.
- Thomas, A.G.B. & Gazagnes, G. (1984) *Baetis cyrneus* n. sp., Éphéméroptère nouveau de Corse (Baetidae). *Annales de Limnologie*, 20(3), 199–202.
- Thomas, A.G.B. & Dia, A. (1985) *Baetis spei* n. sp., Éphéméroptère nouveau du Liban: description et écologie (Baetidae). *Annales de Limnologie*, 21(3), 241–245.
- Thomas, A.G.B. & Soldán, T. (1987) *Baetis ingridae* n. sp., Éphéméroptère nouveau de Corse (Baetidae). *Annales de Limnologie*, 23(1), 23–26.
- Thomas, A.G.B. & Sartori, M. (1989) Mayflies (Insecta, Ephemeroptera) of Saudi Arabia. *Fauna of Saudi Arabia*, 10, 87–94.

- Thomas, A.G.B. & Gagneur, J. (1994) Compléments et corrections à la faune des Ephemeropteres d'Afrique du Nord. 6. *Alainites sadati* n.sp. d'Algerie (Ephemeroptera, Baetidae). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, 130, 43–45.
- Thomas, A. & Peru, N. (2003) Les Éphémères de la Guyane Française. 6. Description de *Waltzoyphius roberti* n. sp. [Ephemeroptera, Baetidae]. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, (2002) 138, 15–20.
- Tillyard, R.J. (1936) The trout-food insects of Tasmania. Part II. A monograph of the mayflies of Tasmania. *Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania*, 1935, 23–59.
- Tong, X.L. & Dudgeon, D. (2000) *Baetiella* (Ephemeroptera: Baetidae) in Hong Kong, with description of a new species. *Entomological News*, 111(2), 143–148
- Tong, X.L. & Dudgeon, D. (2003) First record of the genus *Chopralla* (Ephemeroptera: Baetidae) from China, and description of a new species. *Raffles Bulletin of Zoology*, 51, 17–19.
- Traver, J.R. & Edmunds, G.F. Jr. (1968) A revision of the Baetidae with spatulate-clawed nymphs (Ephemeroptera). *Pacific Insects*, 10(3-4), 629–677.
- Ulmer, G. (1908) Trichopteridae und Ephemeridae. *Die Fauna Südwest-Australiens*, 2(3), 25–46.
- Ulmer, G. (1909) Ephemeriden von Madagaskar und den Comoren. *Voeltzkow's Reise in Ostafrika, 1903–1905. II*, 365–368.
- Ulmer, G. (1920) Neue Ephemeropteren. *Archiv für Naturgeschichte*, 85A(11), 1–80.
- Ulmer, G. (1939) Eintagsfliegen (Ephemeropteren) von den Sunda-Inseln. *Archiv für Hydrobiologie*, Supplement 16, 443–692.
- Waltz, R.D. & McCafferty, W.P. (1986) *Apobaetis etowah* (Traver), a new combination in Nearctic Baetidae (Ephemeroptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 88(1), 191–191.
- Waltz, R.D. & McCafferty, W.P. (1987a) Generic revision of *Cloeodes* and description of two new genera (Ephemeroptera: Baetidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 89(1), 177–184.
- Waltz, R.D. & McCafferty, W.P. (1987b) New genera of Baetidae for some Nearctic species previously in *Baetis* Leach (Ephemeroptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 80(5), 667–670.
- Waltz, R.D. & McCafferty, W.P. (1987c) Systematics of *Pseudocloeon*, *Acentrella*, *Baetiella*, and *Liebebiella*, new genus (Ephemeroptera, Baetidae). *Journal of the New York Entomological Society*, 95 (4), 553–568.
- Waltz, R.D. & McCafferty, W.P. (1989) New species redescription, and cladistics of the genus *Pseudocentropiloides* (Ephemeroptera: Baetidae). *Journal of the New York Entomological Society*, 97(2), 151–158.
- Waltz, R.D. & McCafferty, W.P. (1997) New generic synonymies in Baetidae (Ephemeroptera). *Entomological News*, 108(2), 134–140.
- Waltz, R.D., McCafferty, W.P. & Thomas, A. (1994) Systematics of *Alainites* n. gen., *Dipheter*, *Indobaetis*, *Nigrobaetis* n. stat., and *Takobia* n. stat. (Ephemeroptera, Baetidae). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, 130, 33–36.
- Walsh, B.D. (1863a) Observations on certain N. A. Neuroptera, by H. Hagen, M.D., of Koenigsberg, Prussia; translated from the original French ms., and published by permission of the author, with notes and descriptions of about twenty new N. A. species of Pseudoneuroptera. *Proceedings of the Entomological Society of Philadelphia*, 2, 167–272.
- Walsh, B.D. (1863b) List of the Pseudoneuroptera of Illinois contained in the cabinet of the writer, with descriptions of over forty new species, and notes on their structural affinities. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 1862, 361–402.
- Wang, T.Q. & McCafferty, W.P. (1996) New diagnostic characters for the mayfly family Baetidae (Ephemeroptera). *Entomological News*, 107(4), 207–212.
- Weyenbergh, H. (1883) Bijdrage tot de Kennis der zuid-amerikaansche Ephemeriden. *Tijdschrift voor Entomologie*, 26, 159–174.
- Wheeler, W.C., Whiting, M.F., Wheeler Q.D. & Carpenter, J.C. (2001) The phylogeny of the extant hexapod orders. *Cladistics*, 17, 113–169.
- Wiersema, N.A. (2000) A new combination for two North American small minnow mayflies (Ephemeroptera: Baetidae). *Entomological News*, 111(2), 140–142.
- Wiersema, N.A. & McCafferty, W.P. (2004) New specific synonyms and records of North American *Centroptilum* and *Proclaeon* (Ephemeroptera: Baetidae). *Entomological News*, 115(3), 121–128.
- Wiersema, N.A., Nelson, C.R. & Kuehn, K.F. (2004) A new small minnow mayfly (Ephemeroptera: Baetidae) from Utah, U.S.A. *Entomological News*, 115(3), 139–145.
- Williams, H.C., Ormerod, S.J. & Bruford, M.W. (2006) Molecular systematics and phylogeography of the cryptic species complex *Baetis rhodani* (Ephemeroptera, Baetidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40 (2), 370–382.
- Willkommen, J. (2009) The tergal and pleural wing base sclerites - homologous within the basal branches of Pterygota?. *Aquatic Insects*, 31, 443–457.

- Willmann, R. (1997) Advances and problems in insect phylogeny. *In*: Fortey, R.A. & Thomas, R.H., (Eds.), *Arthropod relationships*. London: Chapman & Hall, pp. 269–279.
- Wuillot, J. & Gillies, M.T. (1993) *Cheleocloeon*, a new genus of Baetidae (Ephemeroptera) from West Africa. *Revue d'Hydrobiologie Tropicale*, 26, 213–217.
- Wuillot, J. & Gillies, M.T. (1994) *Dicentroptilum*, a new genus of mayflies (Baetidae, Ephemeroptera) from Africa. *Aquatic Insects*, 16(3), 133–140.
- Zhou, C.F. & Zheng, L.Y. (2000) *Rhithrogena trispina* sp. n., a new species from China (Ephemeroptera: Heptageniidae). *Aquatic Insects*, 23, 323–326.
- Zhou, C.F. & Zheng, L.Y. (2003) Two synonyms and a new species of the genus *Ephemera* from China (Ephemeroptera: Ephemeridae). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 28, 665–668.
- Zhou, C.F. & Zheng, L.Y. (2004) The genus *Prosopistoma* from China, with descriptions of two new species (Ephemeroptera: Prosopistomatidae). *Aquatic Insects*, 26, 3–8.

7. Přílohy

- 7.1. Sroka P.,** Arnekleiv, A. (2010) Two new species of *Acentrella* Bengtsson, 1912 (Ephemeroptera: Baetidae) from Kazakhstan with notes on Palaearctic fauna. *Zootaxa*, 2693: 1–20.



Two new species of *Acentrella* Bengtsson, 1912 (Ephemeroptera, Baetidae) from Kazakhstan with notes on the Palaearctic fauna

PAVEL SROKA^{1,3} & JO VEGAR ARNEKLEIV²

¹Institute of Entomology, Academy of Sciences of the Czech Republic and Department of Zoology, Faculty of Natural Science, University of South Bohemia, 31 Branišovská, 370 05 České Budějovice, Czech Republic. E-mail: pavel.sroka@centrum.cz

²Institute of Natural History, Museum of Natural History and Archaeology, Norwegian University of Science and Technology, NO-7491 Trondheim, Norway. E-mail: jo.arnekleiv@ym.ntnu.no

³Corresponding author

Abstract

A detailed morphological description of the larval stage of *Acentrella glareosa* **sp. nov.** and *Acentrella charadra* **sp. nov.** from the genus *Acentrella* Bengtsson, 1912 is given. Their differential diagnoses are provided with regard to other Palaearctic representatives of the genus. *A. glareosa* **sp. nov.** can be distinguished from the related species by the unique shape of maxillary palp, the arrangement of the bristles on its legs (the presence of bilateral ciliation and the second ventral row of tibial bristles) and vestigial paracercus. *A. charadra* **sp. nov.** is characterized mainly by the presence of apparent subapical bristles on the tarsal claws, the shape of its leg bristles (bilaterally ciliate on femora and tibiae, a row of tarsal bristles missing), the unique shape of the labial palp and vestigial paracercus. The generic concept of *Acentrella* and its historical development is summarized. Possible relationships of *Acentrella* to the Baetidae genera *Liebebiella* Waltz & McCafferty, 1987, *Platybaetis* Müller-Liebenau, 1982, *Jubabaetis* Müller-Liebenau, 1982 and *Gratia* Thomas, 1992 from the Oriental Region are discussed. A species list and synonymies of all 13 Palaearctic representatives of the genus *Acentrella* is presented, including the respective type localities and metamorphic stages described so far.

Key words: differential diagnosis, taxonomy, Kazakhstan, Central Asia, biogeography

Introduction

Genus *Acentrella* was established on the basis of the type species *Acentrella lapponica* Bengtsson, 1912, described from Sweden, type locality: Lappl. [Lapland], Abisko, Jukkasjärvi Sn. [Parish]. The current concept of the genus *Acentrella* Bengtsson, 1912 follows the delimitation of the *Baetis lapponicus* species-group as defined by Müller-Liebenau (1969).

In the past the genus was often considered synonymous or subgenus to the genus *Baetis* Leach, 1815 (e.g. Edmunds & Traver 1954; Novikova & Kluge 1987).

According to Waltz & McCafferty (1987), the genus *Acentrella* forms a lineage derived from a *Baetis*-like ancestor, demonstrating several apomorphies in its most ancestral species (compaction of mouthparts, reduction of hind wing pads, loss of abdominal tergal scales, reduction of posterior abdominal spines, loss of marginal spines on gills, and reduction of paracercus). Hind wing pads in larvae can be fully developed (adult stage with functional hind wings), reduced to vestiges or completely absent.

Representatives of the genus are highly rheophilous in the larval stage and often show adaptations to their environment, such as a ventrally flattened body (semicircular in cross section) and the presence of sternal friction pads (Waltz & McCafferty 1987).

The genus *Acentrella* exhibits a Holarctic and Oriental area of distribution (Lugo-Ortiz & McCafferty 1999). From the Nearctic Region, eight species is currently known, with *A. lapponica* exhibiting Holarctic occurrence (Randolph & McCafferty 2005; Jacobus & McCafferty 2006; McCafferty *et al.* 2009). From the Palaearctic region, the genus currently comprises 13 species; 5 proved to occur in Central Asia and adjacent territories.

7.2. Sroka P., Godunko R.J., Soldán T. (2010) Redescription of the species *Procloeon* (*Pseudocentropilum*) *fascicaudale* (Sowa, 1985) (Ephemeroptera: Baetidae) with notes to its taxonomic position, biology and distribution. *Zootaxa*, 2490, 16–32.

Redescription of the species *Procloeon (Pseudocentroptilum) fascicaudale* (Sowa, 1985) (Ephemeroptera: Baetidae) with notes to its taxonomic position, biology and distribution

PAVEL SROKA^{1,2,4}, ROMAN J. GODUNKO^{1,3} & TOMÁŠ SOLDÁN^{1,2}

¹Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic, Institute of Entomology and ²Faculty of Natural Science, University of South Bohemia, Branišovská 31, CZ-37005 České Budějovice, Czech Republic. E-mail: pavel.sroka@centrum.cz, soldan@entu.cas.cz

³State Museum of Natural History, National Academy of Sciences of Ukraine, Teatralna 18, 79008 Lviv, Ukraine. E-mail: godunko@museum.lviv.net; godunko@seznam.cz

⁴Corresponding author

Abstract

Based on the extensive material recently collected on the Island of Rhodos, Greece (terra typica) in May, 2005, a redescription of *Procloeon (Pseudocentroptilum) fascicaudale* (Sowa, 1985) is presented. Larval characters are completed, female subimago described and the egg chorionic structures illustrated by means of scanning electron microscopy for the first time. Variability in color patterns and critical characters distinguishing eggs, larvae and male imagines from other Westpalaeartic species of the subgenus *Pseudocentroptilum* Bogoescu, 1947 (the representatives of the *Procloeon (Pseudocentroptilum) motasi* species-group in particular) are described and discussed. Distributional patterns of the species, its abundance, possible faunistic origin, some aspects of larval and imago's biology, and life cycle of the species are briefly stated. Delimitation and recent concepts of the taxa *Procloeon* Bengtsson, 1915 and *Pseudocentroptilum* within the subfamily Cloeoninae Kazlauskas, 1972, taxonomic position and affinities of *P. fascicaudale* are discussed.

Key words: Ephemeroptera, Baetidae, Rhodos, *Procloeon (Pseudocentroptilum) fascicaudale*, redescription, differential diagnosis, taxonomy, biology, distribution

Introduction

Procloeon (Pseudocentroptilum) fascicaudale (Sowa, 1985) was described by Sowa (1985) on the basis of 9 males, 1 female, 1 male subimago and a single damaged female larva, collected in type locality (5 km N of Laerma, 1 km W of Kallithie, Island of Rhodos, Greece) by Dr. H. Malicky in May, 1975. The literature data on the species concern its generic and subgeneric placement (Jacob 1991), the description of other representatives of *Pseudocentroptilum* Bogoescu, 1947 and delimitation or definition of certain species-groups within the genus (Belfiore & D'Antonio 1990).

Recently, T. Soldán has collected an extensive material on mayflies, which includes numerous specimens of *P. fascicaudale*. Although, the Sowa's (1985) description is precise enough (except for missing description of female subimagines), we decided to redescribe the species from the reasons, as follows: (i) to complete the description of missing larval characters, since a limited type series lacks some characters due to damage; (ii) to add a description of female subimago; (iii) to comment intraspecific variability; (iv) to present the egg chorionic structure by means of the scanning electron microscopy; (v) to define critical distinguishing characters allowing differential diagnosis; (vi) to discuss a generic/subgeneric placement of the species within the subfamily Cloeoninae Kazlauskas, 1972; (vii) to analyze distributional patterns and origin of the species and (viii) to summarize the data on biology of the species on the basis of field observations.

7.3. Sroka P. (unpublished manuscript) Systematics and phylogeny of the West Palearctic representatives of *Baetis* Leach, 1815 s.l. (Insecta, Ephemeroptera): combined analysis of mtDNA sequences and morphology.

Systematics and phylogeny of the West Palaearctic representatives of *Baetis* Leach, 1815 s.l. (Insecta, Ephemeroptera): combined analysis of mtDNA sequences and morphology

PAVEL SROKA¹

¹*Institute of Entomology, Academy of Sciences of the Czech Republic and Department of Zoology, Faculty of Science, University of South Bohemia, 31 Branišovská, 370 05 České Budějovice, Czech Republic, pavel.sroka@centrum.cz*

Abstract

This study represents the first formal combined (morphological and molecular) phylogenetic analysis of the highly diversified genus *Baetis* Leach, 1815. Taxonomic sampling comprised 17 species of *Baetis*, representing the majority of different Palaearctic lineages (subgenera and species-groups) within the genus recognized so far. The morphological dataset consisted of 47 coded characters. Molecular data were acquired from partial mtDNA *COI* sequences. Altogether 53 specimens of *Baetis* were sequenced and analyzed using parsimony and Bayesian inference. Most subgenera and species-groups were supported as monophyletic in the analyses using the combined dataset. A monophyletic group consisting of the subgenera *Labiobaetis* + *Nigrobaetis* was supported as sister lineage to other representatives of the genus. Morphological characters were mapped on the cladogram and clade robustness was tested by multiple approaches. Addition of 47 morphological characters into the data matrix considerably improved the reliability of resulting trees compared to molecular data alone. Intra- and interspecific divergences in the *COI* sequence were estimated for the species studied. *Baetis rhodani* and *Baetis muticus* exhibited unusually high values of intraspecific variability pointing to the possible existence of cryptic species.

Keywords

Baetis, phylogeny, systematics, taxonomy, *COI* sequence

Introduction

Systematic concept of Baetis and its recent development

The genus *Baetis* Leach, 1815 (Baetidae) exhibits almost cosmopolitan distribution except for New Zealand and the Neotropical Region (Patagonian-Andean subregion) although present in the Nearctic/Neotropical transitory areas and Middle America (McCafferty & Waltz 1990). The genus probably originated as a clade in the Northern Hemisphere (Lugo-Ortiz & McCafferty 1998) and in the phylogenetic analyses of the order Ephemeroptera, *Baetidae* was recovered as one of the basal lineages (Ogden & Whiting 2005; Ogden *et al.* 2009). The genus often forms a dominant taxocoenose of mayflies in the running waters of the Northern hemisphere and *Baetis* nymphs are routinely used in aquatic biomonitoring (e.g. Fialkowski *et al.* 2003). *Baetis* is often the only mayfly genus present in marginal and extreme habitats like taiga or tundra, at high latitudes or cold glacial-borne high mountain streams up to 5000 m a.s.l. (Bauernfeind & Soldán in press).

Classification of different lineages within *Baetis* has been frequently revised but up to now there is no general agreement on the intrageneric classification.

The first comprehensive revision of *Baetis* encompassed the European fauna. It was published by Müller-Liebenau (1969), who divided the genus into 11 “species-groups” (*Baetis alpinus*, *Baetis lutheri*, *Baetis pavidus*, *Baetis lapponicus*, *Baetis rhodani*, *Baetis*

vernus, *Baetis fuscatus*, *Baetis buceratus*, *Baetis atrebatinus*, *Baetis niger* and *Baetis gracilis* species-group). This concept of “species-groups” was widely accepted and formed the basis for all future classifications.

The concept of Müller-Liebenau (1969) was slightly modified by Novikova & Kluge (1987), who established 6 subgenera of the genus *Baetis*. These subgenera in most cases corresponded with the species-groups of Müller-Liebenau (1969) and included *Nigrobaetis* (= *B. niger* and *B. gracilis* species-groups sensu Müller-Liebenau 1969), *Labiobaetis* (= *B. atrebatinus* species-group sensu Müller-Liebenau 1969) and *Acentrella* (= *B. lapponicus* species-group sensu Müller-Liebenau 1969). The remaining species-groups were retained as such and subsumed in the nominal subgenus *Baetis* s.str. Moreover, *Baetiella* and *Takobia* were added as new subgenera to *Baetis*, both formerly considered outside the genus by Müller-Liebenau (1969). One more species-group, *B. pseudothermicus* was later defined by Novikova (1987).

For the Nearctic Region, the first comprehensive study of *Baetis* was published by Morihara & McCafferty (1979). The authors adopted the species-groups defined by Müller-Liebenau (1969) also for related North American species, where applicable. However, several species were not attributed to any particular species-group.

A series of papers deeply affecting the classification of mayflies attributed to *Baetis* in a global scale was published in the late 1980s and 1990s by the McCafferty school (Waltz & McCafferty 1987a, 1987b, McCafferty & Waltz 1990, Waltz *et al.* 1994, Lugo-Ortiz & McCafferty 1996, Waltz & McCafferty 1997). Particularly important was the finding of the femoral villopore, a group of setae located at the base of the larval femora, described for the first time by Waltz & McCafferty (1987a). The presence of this character was considered to be a significant synapomorphy uniting a number of Baetidae taxa. This presumably monophyletic group was referred to as the “*Baetis* complex” (see Waltz *et al.* 1994, Lugo-Ortiz & McCafferty 1996, Waltz & McCafferty 1997) and included *Baetis* sensu Waltz *et al.* 1994 together with several related taxa treated in this concept as genera (*Acentrella* Bengtsson, 1912; *Baetiella* Uéno, 1931; *Barbaetis* Waltz & McCafferty, 1985; *Cymulabaetis* McCafferty & Waltz, 1995; *Gratia* Thomas, 1992; *Heterocloeon* McDunnough, 1925; *Labiobaetis* Novikova & Kluge, 1987; *Liebebiella* Waltz & McCafferty, 1987; *Platybaetis* Müller-Liebenau, 1982).

On the other hand, the assemblage “non-*Baetis* complex” was characterized by the absence of femoral villopore and included almost exclusively Baetidae species previously placed in the subgenus *Nigrobaetis* sensu Novikova & Kluge (1987), i.e. original *Baetis niger* and *Baetis gracilis* species-groups sensu Müller-Liebenau (1969). According to the opinion of the McCafferty school, these *Nigrobaetis* species, formerly classified in *Baetis*, but lacking the villopore and hence not considered as members of the *Baetis* complex required reclassification in order to avoid a paraphyletic concept of the *Baetis* complex. This goal led to the erection of several new genera (*Alainites* Waltz & McCafferty, 1994; *Dipheter* Waltz & McCafferty, 1987; *Acerpenna* Waltz & McCafferty, 1987) mostly containing species of *Nigrobaetis* sensu Novikova & Kluge (1987). Other groups were raised to generic rank, such as *Takobia* Novikova & Kluge, 1987 in Waltz *et al.* (1994). The *Baetis* complex was subsequently found to be supported by more characters than solely the presence of the villopore, such as the absence of a supposedly plesiomorphic cluster of bristles located between mandibular incisors and mola (Waltz & McCafferty 1997) and the presence of flat-tipped sensillae mainly on antennal segments (Gaino & Reborá 1999).

No further major revisionary effort concerning *Baetis* was undertaken, except some minor changes and synonymies published (e.g. five new subgenera of *Baetis* published by Kang *et al.* (1994), subsequently synonymized with already existing taxa by Waltz & McCafferty (1997).

Nevertheless, the concept of the *Baetis* complex was not generally accepted. In the present study we mostly follow the conservative classification of Jacob (2003), who also did not adopt most of the recently described genera such as *Alainites* or *Dipheter*. This concept was followed also by Bauernfeind & Humpesch (2001), Haybach (2010) and Bauernfeind & Soldán (in press) in the studies of the European fauna. Jacob (2003) divided *Baetis* into two subgenera: *Rhodobaetis* (in the extent of the former *rhodani* species-group) and *Baetis* s.str. (including *alpinus*, *lutheri*, *pavidus*, *vernus*, *buceratus*, *fuscatus*, *atrebatinus*, *niger* and *muticus* species-groups). The list of *Baetis* s.l. subgenera and species-groups with respective synonymies is provided below. We decided to modify the classification of Jacob (2003) slightly for the purpose of the present study. In this contribution some ideas of Novikova & Kluge (1987) are followed who raised the *Baetis atrebatinus* species-group to subgeneric level and treated it as subgenus *Labiobaetis*. We adopted this concept in spite of distinct position of *Labiobaetis* outside other *Baetis* s.str. taxa revealed by the analyses performed herein. For the same reason, *B. niger* and *B. muticus* species-groups are treated within the subgenus *Nigrobaetis*, established also by Novikova & Kluge (1987).

Use of molecular data in the systematics of Baetis and related taxa

All systematic concepts of the genus *Baetis* mentioned above were based solely on the investigation of morphological characteristics.

Except for morphology, analyzing of DNA sequences proved to be a useful tool for estimating relationships between insect taxa, especially when morphological characteristics are ambiguous. Moreover, detailed taxonomic study of molecularly divergent lineages has already led to the description of new species (e.g. Handfield & Handfield 2006).

Several studies targeted at the mayfly family Baetidae, analyzing individual species and their phylogenetic relationships by molecular methods have been already published.

Afrotropical Baetidae were analyzed by Gattolliat *et al.* (2008) using nuclear (18S) and mitochondrial (12S, 16S) gene regions from 65 species belonging to 26 genera. The main goal of this study was to test phylogenetic relevance and to clarify suprageneric relationships.

Williams *et al.* (2006) studied the cryptic species complex *Baetis rhodani*. The study was aimed at estimating and evaluating differences between populations of *B. rhodani* collected from various localities in the Western Europe. Phylogenies were constructed using data from the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*COI*) gene. Results provided strong evidence for cryptic species in the *B. rhodani* complex, although taxonomic status and morphological characteristics of these cryptic species remained undefined.

The *COI* sequences were also used by Ståhls & Savolainen (2007) for estimating species boundaries within the *Baetis vernus* species-group. Specimens from Finland were used in the study and results provided evidence that *Baetis macani* Kimmins, 1957 and *Baetis vernus* Curtis, 1834 comprise morphologically cryptic but molecularly distinct taxa.

Gattolliat *et al.* (2008) published sequences from the mitochondrial cytochrome oxidase b (*cob*) gene for *Cloeon peregrinator* and *Baetis atlanticus*, based on specimens from the island of Madeira. The *cob* sequence was also published for *Baetis rhodani* from the type locality of the species (Gattolliat & Sartori 2008), as a part of the neotype designation. However, *cob* sequences of *C. peregrinator*, *B. atlanticus* and *B. rhodani* were described without subsequent analyses and comparison with related species.

The sequence from the mitochondrial *COI* gene generally proved to be very useful for estimating relationships within mayfly genera and species groups (Williams *et al.* 2006, Ståhls & Savolainen 2007). Moreover, comparison of a short section of the *COI* sequence has been proposed as a possible solution to some of the problems of traditional species identification in general (Herbert *et al.* 2003). This approach called “DNA barcoding“ has been pursued by the “Consortium for the Bar Code of Life (CBOL)“ founded in September

2004. It intends to create a global biodiversity barcode database to subsequently facilitate routine automated species identifications (e.g. Ratnasingham & Herbert 2007). The ability to successfully identify species depends on the presence of a barcoding gap, a distinct difference between intra- and interspecific sequence divergences; in most taxa there is an order of magnitude difference between the two (Herbert *et al.* 2003, Ball *et al.* 2005). Applicability of the *COI* sequences (“barcodes”) as a tool for mayfly species identification was tested by Ball *et al.* (2005), who created the reference sequence profile of 80 species. By using these sequences, he identified 70 additional specimens with a very high level of certainty. However, reliability of barcoding and existence of the barcoding gap was right from the start subject to a large discussion and challenged several times (see e.g. Wiemers & Fiedler 2007 and references therein).

In the present study, we use the partial *COI* sequences together with the morphological data to estimate genetic distances and clarify phylogenetic relationships of selected subgenera and species-groups of the genus *Baetis* from the Palaearctic region. We use newly acquired data from specimens mostly from the Eastern and Central Europe.

Main objectives of the present study

The main objectives of this study aim at:

- (i) providing *COI* sequences for representative sample of *Baetis* species;
- (ii) analyzing phylogenetic relationships of the subgenera, species-groups and individual species within *Baetis*;
- (iii) testing intraspecific and interspecific variability within *Baetis* and reveal possibility of cryptic species.

List of subgenera and species-groups of *Baetis* s.l.

The following list represents the classification of *Baetis* internal lineages as used in the present study, modified from Jacob (2003). Not all taxa listed below each subgenus/species-group were established to contain the same species and their extent differed. Nevertheless, for the purpose of this contribution, all species contained in the taxa listed below each subgenus/species-group are considered members of the respective subgenus/species-group.

***Baetis alpinus* species-group**

- Baetis alpinus* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Montobaetis* Kazlauskas, 1972 [subgeneric status, not available, IZCN article 13]
- Baetis alpinus* species-group in Novikova & Kluge (1987)
- Patites* Thomas & Dia, 1999 [subgeneric status]
- Baetis alpinus* species-group in Jacob (2003)

***Baetis lutheri* species-group**

- Baetis lutheri* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Baetis lutheri* species-group in Jacob (2003)

***Baetis pavidus* species-group**

- Baetis pavidus* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Baetis pavidus* species-group in Novikova & Kluge (1987)
- Baetis pavidus* species-group in Jacob (2003)

Subgenus *Rhodobaetis* Jacob, 2003

- Baetis rhodani* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Baetis rhodani* species-group in Novikova & Kluge (1987)
- Baetis pseudothermicus* species-group in Novikova (1987)
- Baetis* (*Rhodobaetis*) in Jacob (2003) [subgeneric status]

Baetis vernus species-group

- Baetis vernus* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Vernobaetis* Kazlauskas, 1972 [subgeneric status, not available, IZCN article 13]
- Baetis vernus* species-group in Novikova & Kluge (1987)
- Baetis vernus* species-group in Jacob (2003)

Baetis fuscatus species-group

- Baetis fuscatus* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Baetis fuscatus* species-group in Novikova & Kluge (1987)
- Baetis* (*Tatubaetis*) Kang & Yang, 1994 in Kang *et al.* 1994 [subgeneric status, junior synonym of *Baetis* Leach, 1915 according to Waltz & McCafferty (1997)]
- Baetis fuscatus* species-group in Jacob (2003)

Baetis buceratus species-group

- Baetis buceratus* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Baetis buceratus* species-group in Novikova & Kluge (1987)
- Baetis buceratus* species-group in Jacob (2003)

Subgenus *Labiobaetis* Novikova & Kluge 1987

- Baetis atrebatinus* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Baetis propinguus* species-group in Morihara & McCafferty (1979)
- Baetis molawinensis* species-group in Müller-Liebenau (1984)
- Baetis* (*Labiobaetis*) Novikova & Kluge 1987 [subgeneric status]
- Cymulabaetis* McCafferty & Waltz, 1995 [generic status, junior synonym of *Labiobaetis* according to Lugo-Ortiz & McCafferty 1997]
- Labiobaetis* Novikova & Kluge 1987 in McCafferty & Waltz (1995) [generic status]
- Baetis* (*Müllerbaetis*) Kang & Yang, 1994 in Kang *et al.* (1994) [subgeneric status, junior synonym of *Labiobaetis* Novikova & Kluge, 1987 according to Waltz & McCafferty, 1997]
- Pseudocloeon* sensu Lugo-Ortiz *et al.* (1999) nec Klapálek (1905) [generic status]
- Baetis atrebatinus* species-group in Jacob (2003)

Subgenus *Nigrobaetis* Novikova & Kluge, 1987

- Baetis niger* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Baetis gracilis* species-group in Müller-Liebenau (1969)
- Baetis* (*Nigrobaetis*) Kazlauskas, 1972 [subgeneric status, not available, IZCN article 13]
- Baetis* (*Nigrobaetis*) Novikova & Kluge, 1987 [subgeneric status]
- Nigrobaetis* Novikova & Kluge, 1987 in Waltz *et al.* (1994) [generic status]
- Dipheter* Waltz & McCafferty, 1987 [generic status]
- Acerpenna* Waltz & McCafferty, 1987 [generic status]
- Baetis* (*Takobia*) Novikova & Kluge, 1987 [subgeneric status]
- Takobia* Novikova & Kluge, 1987 in Waltz *et al.* (1994) [generic status]
- Alainites* Waltz & McCafferty, 1994 in Waltz *et al.* (1994) [generic status]
- Baetis* (*Acerbaetis*) Kang & Yang, 1994 in Kang *et al.* (1994) [subgenus, part, junior synonym of *Alainites* Waltz & McCafferty, 1994 according to Waltz & McCafferty (1997)]
- Baetis* (*Margobaetis*) Kang & Yang, 1994 in Kang *et al.* (1994) [subgeneric status, junior synonym of *Nigrobaetis* Novikova & Kluge, 1987 according to Waltz & McCafferty 1997]
- Baetis niger* species-group in Jacob (2003) [including *Baetis gracilis* species-group]
- Baetis muticus* species-group in Jacob (2003)

Materials and methods

Mayfly specimens were collected in 70–96 % EtOH from the localities as specified in the Table I. Determination was done using keys by Bauernfeind & Humpesch (2001) and Müller-Liebenau (1969). Cuticular structures of the larvae were preserved and deposited in the Biology Centre CAS, Institute of Entomology as voucher specimens under registration numbers DNA No. 1 – DNA No. 137 (association with respective specimens in Table I).

Altogether 55 specimens belonging to 19 species were analyzed. *Ameletus inopinatus* Eaton, 1887 (Ameletidae) and *Ephemerella ignita* (Poda, 1761) (Ephemerellidae) were used as outgroups. Within *Baetis*, 17 species were sampled, representing most of currently recognized Palaearctic lineages within the genus.

The DNA quality displayed itself as a key issue in extraction and amplification procedures, since usually only fresh specimens collected to 96% EtOH allowed a successful DNA processing. Thus, the choice of specimens analyzed was influenced by the availability of freshly collected material stored in pure EtOH. If possible, several specimens within one species from distant Westpalaearctic populations were included in the sampling.

TABLE 1. List of specimens studied.

<i>Labeling used in analyses</i>	<i>Name of the species</i>	<i>Locality of collection</i>	<i>Specification of the voucher specimen</i>
67_Baetis_lutheri_RU	<i>Baetis (Baetis) lutheri</i> Müller-Liebenau, 1967	RUSSIA, SW Caucasus Mts., AR Adygeia, Belaia River, 1 km upstream Khamyshki village, N44 05.294 E40 09.312, 17.vii.2008, Hodunko & Sroka leg.	DNA No. 67
113_Baetis_lutheri_GE	<i>Baetis (Baetis) lutheri</i> Müller-Liebenau, 1967	GEORGIA, Rikotula River, Khali village., N42 05.484 E43 27.335, 24.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 113
114_Baetis_lutheri_GE	<i>Baetis (Baetis) lutheri</i> Müller-Liebenau, 1967	GEORGIA, Gubazouri River, Nabehlavi village, N41 56.917 E42 20.568, 23.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 114
72_Baetis_vardarensis_GE	<i>Baetis (Baetis) vardarensis</i> Ikomonov, 1962	GEORGIA, Kura River, Aspindza village., N41 35.531 E43 10.528, 28.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 72
120_Baetis_vardarensis_GE	<i>Baetis (Baetis) vardarensis</i> Ikomonov, 1962	GEORGIA, Supsa River, Pajleti village., N41 59.111 E41 58.818, 22.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 120
121_Baetis_vardarensis_GE	<i>Baetis (Baetis) vardarensis</i> Ikomonov, 1962	GEORGIA, Kvirila River, Šorapani village., N42 05.573 E43 07.808, 24.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 121
122_Baetis_vardarensis_GE	<i>Baetis (Baetis) vardarensis</i> Ikomonov, 1962	GEORGIA, small brook, Lesa village, N42 04.130 E41 57.545, 22.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 122
124_Baetis_vardarensis_GE	<i>Baetis (Baetis) vardarensis</i> Ikomonov, 1962	GEORGIA, river, Mikadze village., N41 37.411 E43 02.701, 28.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 124
127_Baetis_vardarensis_GE	<i>Baetis (Baetis) vardarensis</i> Ikomonov, 1962	GEORGIA, Paravani River, Dzhigrasheni village. N41 20.183 E43 30.096, 27.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 127
30_Baetis_rhodani_CZ	<i>Baetis (Rhodobaetis) rhodani</i> (Pictet, 1843)	CZECH REPUBLIC, Telnický brook, Adolfov village, 29.v. 2008, Soldán leg.	DNA No. 30
31_Baetis_rhodani_CZ	<i>Baetis (Rhodobaetis) rhodani</i> (Pictet, 1843)	BULGARIA, Rodopy Mountains, small brook, Sokolovci., N41 38.20 E24 45.48, 26.v.2009, Sroka leg.	DNA No. 31
108_Baetis_rhodani_CZ	<i>Baetis (Rhodobaetis) rhodani</i> (Pictet, 1843)	GEORGIA, river, Mikadze village., N41 37.411 E43 02.701, 28.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 108
110_Baetis_rhodani_CZ	<i>Baetis (Rhodobaetis) rhodani</i> (Pictet, 1843)	GEORGIA, Kintrishi River, Kobuleti village., N41 48.156 E41 53.969, 18.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 110
111_Baetis_rhodani_CZ	<i>Baetis (Rhodobaetis) rhodani</i> (Pictet, 1843)	GEORGIA, Paravani River, Dzhigrasheni village. N41 20.183 E43 30.096, 27.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 111
104_Baetis_cf_gadeai_GE	<i>Baetis (Rhodobaetis) cf. gadeai</i> Thomas, 1999	GEORGIA, Rikotula River, Khali village., N42 05.484 E43 27.335, 24.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 104
105_Baetis_cf_gadeai_GE	<i>Baetis (Rhodobaetis) cf. gadeai</i> Thomas, 1999	GEORGIA, Korkhistskhali River, Akhalkalaki village., N41 27.461 E43 27.889, 28.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 105
106_Baetis_cf_gadeai_GE	<i>Baetis (Rhodobaetis) cf. gadeai</i> Thomas, 1999	GEORGIA, Kemerkobis River, Khali village., N41 42.145 E41 48.855, 18.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 106
135_Baetis_ilex_GE	<i>Baetis (Rhodobaetis) ilex</i> Jacob & Zimmermann, 1978	GEORGIA, Khandostskhali River, Akhalkalaki village., N41 28.887 E43 22.961, 28.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 135
15_Baetis_braaschi_GE	<i>Baetis (Rhodobaetis) braaschi</i> Zimmermann, 1980	GEORGIA, Rioni River, Chala village., N42 32.948 E43 02.299, 26.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 15

<i>Labeling used in analyses</i>	<i>Name of the species</i>	<i>Locality of collection</i>	<i>Specification of the voucher specimen</i>
18_Baetis_braaschi-UA	<i>Baetis (Rhodobaetis) braaschi</i> Zimmermann, 1980	UKRAINE, Lugansk District, Antracitovskiy region, near village Fashevka, stream–left tributary of Mius River, 24.x.2009, Martynov leg.	DNA No. 18
19_Baetis_braaschi-UA	<i>Baetis (Rhodobaetis) braaschi</i> Zimmermann, 1980	UKRAINE, Donetsk city, stream–right tributary of Durnaya River, 19.x.2009, Martynov leg.	DNA No. 19
20_Baetis_braaschi-UA	<i>Baetis (Rhodobaetis) braaschi</i> Zimmermann, 1980	UKRAINE, Donetsk city, stream in Putilovskiy park, 9.xi.2008, Martynov leg.	DNA No. 20
21_Baetis_braaschi-UA	<i>Baetis (Rhodobaetis) braaschi</i> Zimmermann, 1980	UKRAINE, Donetsk District, Volodarskii region, near village Ukrainka, stream–left tributary of Karatisch River, 9.x.2009, Martynov leg.	DNA No. 21
22_Baetis_braaschi-UA	<i>Baetis (Rhodobaetis) braaschi</i> Zimmermann, 1980	UKRAINE, Donetsk District, Yasinovatskiy region, stream near village Mineralnoe, 20.x.2009, Martynov leg.	DNA No. 22
29_Baetis_braaschi-UA	<i>Baetis (Rhodobaetis) braaschi</i> Zimmermann, 1980	UKRAINE, Donetsk city, stream–right tributary of Durnaya River, 19.x.2009, Martynov leg.	DNA No. 29
24_Baetis_baksan-RU	<i>Baetis (Rhodobaetis) baksan</i> Soldán, 1977	RUSSIA, SW Caucasus Mts., AR Adygeia, Belaia River, 1 km upstream Khamyshki village, N44 05.294 E40 09.312, 17.vii.2008, Hodunko & Sroka leg.,	DNA No. 24
25_Baetis_baksan-GE	<i>Baetis (Rhodobaetis) baksan</i> Soldán, 1977	GEORGIA, Bruzhi River, Ozurgeti town., N41 54.494 E42 03.874, 22.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 25
134_Baetis_baksan-GE	<i>Baetis (Rhodobaetis) baksan</i> Soldán, 1977	GEORGIA, Gubazouri River, Nabehlavi village., N41 56.917 E42 20.568, 23.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 134
79_Baetis_venus-CZ	<i>Baetis (Baetis) venus</i> Curtis, 1834	CZECH REPUBLIC, Žehrovka River, Březina village, 31.vii.2008, Soldán leg.	DNA No. 79
80_Baetis_venus-BG	<i>Baetis (Baetis) venus</i> Curtis, 1834	BULGARIA, Strandzha National Reserve, Cerovska River, Kruševac., N42 16.16 E27 29.56, 22.v.2009, Sroka leg.	DNA No. 80
77_Baetis_macani-FI	<i>Baetis (Baetis) macani</i> Kimmins, 1957	FINLAND, Nilsjá, brook Hautapuro, N63 11.58 E28 18.32, 2.vii.2007, Savolainen leg.	DNA No. 77
62_Baetis_fuscatus-GE	<i>Baetis (Baetis) fuscatus</i> (Linnaeus, 1761)	GEORGIA, small brook, Lesa village., N42 04.130 E41 57.545, 22.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 62
63_Baetis_fuscatus-BG	<i>Baetis (Baetis) fuscatus</i> (Linnaeus, 1761)	BULGARIA, Struma River, Ribnik., N41 29.24 E23 15.43, 27.v.2009, Sroka leg.	DNA No. 63
128_Baetis_fuscatus-GE	<i>Baetis (Baetis) fuscatus</i> (Linnaeus, 1761)	GEORGIA, Supsa River, Pajleti village., N41 59.111 E41 58.818, 22.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 128
129_Baetis_fuscatus-GE	<i>Baetis (Baetis) fuscatus</i> (Linnaeus, 1761)	GEORGIA, Kura River, Aspinda village., N41 35.531 E43 10.528, 28.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 129
130_Baetis_fuscatus-GE	<i>Baetis (Baetis) fuscatus</i> (Linnaeus, 1761)	GEORGIA, right side tributary of Chakvistckhali River, N41 42.385 E41 47.863, 19.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 130
131_Baetis_fuscatus-GE	<i>Baetis (Baetis) fuscatus</i> (Linnaeus, 1761)	GEORGIA, Paravani River, Dzighrasheni village. N41 20.183 E43 30.096, 27.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 131
132_Baetis_fuscatus-GE	<i>Baetis (Baetis) fuscatus</i> (Linnaeus, 1761)	GEORGIA, river, Citelchevi village., N42 06.180 E42 43.691, 23.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 132
53_Baetis_bucuratus-CZ	<i>Baetis (Baetis) bucuratus</i> Eaton, 1870	CZECH REPUBLIC, Ohře River, Postoloprty village, 30.vii.2008, Soldán leg.	DNA No. 53
46_Baetis_atrebatinus-BG	<i>Baetis (Labiobaetis) atrebatinus</i> Tshernova, 1928	BULGARIA, Strandzha National Reserve, Veleka River, Kost., N42 03.34 E27 46.34, 23.v.2009, Sroka leg.	DNA No. 46
47_Baetis_tricolor-HU	<i>Baetis (Labiobaetis) tricolor</i> Tshernova, 1928	HUNGARY, channel near Sonkád (Kispalád), N48 03.41 E22 45.35, 1.vi.2009, Sroka leg.	DNA No. 47
9_Baetis_niger-CZ	<i>Baetis (Nigrobaetis) niger</i> (Linnaeus, 1761)	CZECH REPUBLIC, Černá Voda, Kovářská village, 30.vii.2008, Soldán leg.	DNA No. 9
10_Baetis_niger-RO	<i>Baetis (Nigrobaetis) niger</i> (Linnaeus, 1761)	ROMANIA, Timiș River, Brebu Nou, 17.v.2009, Sroka leg.	DNA No. 10
13_Baetis_gracilis-GE	<i>Baetis (Nigrobaetis) gracilis</i> Bogoescu & Tabacaru, 1957	GEORGIA, Supsa River, Pajleti village., N41 59.111 E41 58.818, 22.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 13
1_Baetis_digitatus-BG	<i>Baetis (Nigrobaetis) digitatus</i> (Bengtsson, 1912)	BULGARIA, Strandzha National Reserve, Fakijska River, Zidarovo. N42 20.03 E27 24.15, 21.v.2009, Sroka leg.	DNA No. 1
2_Baetis_digitatus-GE	<i>Baetis (Nigrobaetis) digitatus</i> (Bengtsson, 1912)	GEORGIA, small brook, Ozurgeti town, N41 56.906 E41 59.445, 22.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 2
137_Baetis_digitatus-GE	<i>Baetis (Nigrobaetis) digitatus</i> (Bengtsson, 1912)	GEORGIA, small brook, Lesa village, N42 04.130 E41 57.545, 22.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 137
6_Baetis_muticus-GE	<i>Baetis (Nigrobaetis) muticus</i> (Linnaeus, 1758)	GEORGIA, Korkhistskhali River, Akhalkalaki village., N41 27.461 E43 27.889, 28.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 6
95_Baetis_muticus-BG	<i>Baetis (Nigrobaetis) muticus</i> (Linnaeus, 1758)	BULGARIA, Rodopy Mountains, Bujnovska River, Devin. N41 42.29 E24 24.55, 27.v.2009, Sroka leg.	DNA No. 95
100_Baetis_muticus-GE	<i>Baetis (Nigrobaetis) muticus</i> (Linnaeus, 1758)	GEORGIA, left side tributary of Machakhela River, Machakhela village, N41 30.620 E41 49.301, 20.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 100

<i>Labeling used in analyses</i>	<i>Name of the species</i>	<i>Locality of collection</i>	<i>Specification of the voucher specimen</i>
101_Baetis_muticus_GE	<i>Baetis (Nigrobaetis) muticus</i> (Linnaeus, 1758)	GEORGIA, Khanistskhali River, Bagdati town., N42 01.498 E42 49.747, 24.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 101
102_Baetis_muticus_GE	<i>Baetis (Nigrobaetis) muticus</i> (Linnaeus, 1758)	GEORGIA, small brook, Trebalo village., N42 34.091 E42 58.349, 26.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 102
103_Baetis_muticus_GE	<i>Baetis (Nigrobaetis) muticus</i> (Linnaeus, 1758)	GEORGIA, Paravani River, Dzhigrasheni village. N41 20.183 E43 30.096, 27.viii.2009, Sroka leg.	DNA No. 103
91_Ameletus_inopinatus_CZ	<i>Ameletus inopinatus</i> Eaton, 1887	CZECH REPUBLIC, small brook, Říčky village, 9.v.2007, Soldán leg.	DNA No. 91
92_Ephemerella_ignita_CZ	<i>Ephemerella ignita</i> (Poda, 1761)	CZECH REPUBLIC, Ohře River, Postoloprty village, 30.vii.2008, Soldán leg.	DNA No. 92

Molecular dataset

DNA was extracted from the whole body of mayflies using DNeasy® 96 Tissue Kit (Qiagen) following manufacturer's protocols.

The conserved primers C1-N-2191 (5' – CCC GGT AAA ATT AAA ATA TAA ACT TC – 3') and C1-J-1718 (5' – GGA GGA TTT GGA AAT TGA TTA GTT CC – 3') from Simon *et al.* (1994) were used to amplify a region of *COI* mtDNA. Templates were amplified in 20ul volume, 2mM MgCl₂, 0.2μM primers, 100μM dNTPs and 0.5U Taq polymerase (Invitrogen). PCR conditions were: initial activation step 3 min at 94°C followed by 35 cycles of 1 min at 94°C, 1 min at 56°C, 1 min at 72°C and final extension of 72°C for 5 min, using the Mastercycler® egradient S (Eppendorf).

The PCR products purification and sequencing reaction was performed by Macrogen Inc. Sequencing was conducted under BigDye™ terminator cycling conditions. The reacted products were purified using ethanol precipitation and sequenced in forward and reverse directions using the Automatic 3730XL DNA Sequencer.

DNA sequences were aligned and edited using the program SeqScape 2.5 (Applied Biosystems), ClustalX (Larkin *et al.* 2007) and BioEdit (Hall 1999).

Morphological dataset

For the cladistic analysis, a matrix of altogether 47 morphological characters was compiled, including 36 larval and 11 adult characters. Binary characters were coded 0 and 1, multistate characters were assigned different numbers. All character states were treated as unordinated. Both missing data and non-applicable characters were scored as ? and –, respectively.

Larval characters:

1. Antennal flat-tipped sensillae: (0) absent; (1) present.
2. Setae on scape and pedicel: (0) absent; (1) present.
3. Distance between antennal bases: (0) larger than scape base width; (1) as wide as scape base width or narrower.
4. Lateroapical protuberance on scape: (0) absent; (1) present.
5. Coronal suture: (0) proximal to lateral ocelli; (1) distal to lateral ocelli.
6. Labrum: (0) wider than long; (1) as wide as long.
7. Labral bristles of dorsal submarginal row: (0) pointed; (1) serrated.
8. Scattered labral bristles proximal to dorsal row: (0) absent; (1) present.
9. Number of labral bristles of the dorsal submarginal row on each side: (0) less than 1+4; (1) more than 1+4.
10. Right prosthema: (0) well developed; (1) bristle-like.
11. Row of hairs between right prosthema and incisors: (0) absent; (1) present.
12. Number of rows of setae on aboral side of paraglossa: (0) two; (1) three; (2) four.
13. Paraglossa: (0) as broad as glossa; (1) paraglossa at most 1.8 x broader; (2) paraglossa at least 2.5 x broader.
14. Medioapical protuberance on segment 2 of labial palp: (0) more pronounced than 2/3 of segment 3 width; (1) as wide as 1/3–2/3; (2) less

15. Segment 3 of labial palp: (0) symmetrically rounded; (1) asymmetrically rounded; (2) truncate (convex medially).
16. Maxillar palp: (0) two-segmented; (1) three-segmented.
17. Incurvation on distal segment of maxillar palp: (0) absent; (1) present.
18. Number of apical scales on maxillar palp: (0) one; (1) several; (2) absent.
19. Protuberances on thoracic sterna near coxae: (0) absent; (1) present.
20. Femoral villopore: (0) present; (1) absent.
21. Femoral setae apically: (0) pointed; (1) rounded; (2) serrated.
22. Femoral setae: (0) long; (1) short, spine-like.
23. Minor femoral setae: (0) simple; (1) serrated; (2) absent.
24. Subapical bristles of claw: (0) absent; (1) present.
25. Abdomen in cross-section: (0) compressed laterally; (1) circular.
26. Chagrined surface: (0) present; (1) absent.
27. Row of setae on posterior margin of terga: (0) absent; (1) present.
28. Projections on hind margin of terga: (0) pointed; (1) rounded; (2) absent.
29. Thick, spine/like setae on gill margins: (0) absent; (1) present.
30. Inner margin of gill VII: (0) concave; (1) convex.
31. Paraproct with medioapical projection: (0) absent; (1) present.
32. Marginal teeth on paraproct: (0) pointed; (1) rounded.
33. Setae on paraproct: (0) absent; (1) present.
34. Scales on paraproct: (0) absent; (1) present.
35. Length of paracercus: (0) more than 1/2 of cerci; (1) less than 1/2; (2) paracercus rudimental.
36. Dark band on caudal filaments: (0) absent; (1) present.

Adult characters:

37. Free marginal intercalaries in the forewing: (0) present; (1) absent.
38. Processus costalis on hind wing: (0) present; (1) absent.
39. Number of longitudinal veins on hind wing: (0) two; (1) three.
40. Second longitudinal vein on hind wing: (0) bifurcate; (1) simple.
41. Medioapical protuberance on basal forceps segment: (0) present; (1) absent.
42. Medioapical protuberance on first forceps segment: (0) present; (1) absent.
43. First forceps segment: (0) cylindrical (with parallel margins); (1) tapering.
44. Forceps (lateral view): (0) straight; (1) bent ventrally.
45. Apical forceps segment: (0) strongly elongated, length/width ratio at least 2.5.; (1) slightly elongated, length/width ratio 1.1–2.5.; (2) rounded, length/width ratio approximately 1.
46. Penis: (0) not visible externally; (1) visible.
47. Penis cover: (0) absent; (1) well-developed.

TABLE 2. Morphological characters states.

	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Baetis_macani	1000	0 0001	0 0111	1 0010	0 0100	1 0000	0 0000	0 0001	1 0100	1 00
Baetis_venus	1000	0 0001	0 0111	1 0020	0 1000	1 0000	0 0001	0 0001	1 1110	1 00
Baetis_braaschi	1100	0 0001	0 0111	1 0000	0 1000	1 1100	0 0010	0 1001	1 1100	2 00
Baetis_lutheri	1000	0 0001	0 0112	0 0001	0 2011	1 0010	0 0110	2 0001	1 1110	1 00
Baetis_baksan	1100	0 0001	0 0111	1 0010	0 0000	1 1121	0 0010	0 0000	1 1100	2 00
Baetis_cf_gadeai	1100	0 0001	0 0111	1 0000	0 0000	1 1120	0 0011	0 0???	? ???? ? ??	
Baetis_ilex	1100	0 1001	0 0211	0 0000	0 0000	1 1101	0 0011	0 0???	? ???? ? ??	
Baetis_vardarensis	1000	0 0001	0 0112	0 0001	0 2011	1 0010	0 0100	0 0001	1 1110	1 00
Baetis_rhodani	1100	0 0001	0 0111	1 0000	0 P000	1 1101	0 0011	0 1001	1 1100	2 00
Baetis_buceratus	1000	0 0001	0 0111	0 0020	0 1010	1 0010	0 0000	0 0001	0 0111	2 00
Baetis_digitatus	0010	0 1000	0 1112	2 0020	1 0120	0 0000	1 0001	0 1000	0 0110	0 00
Baetis_niger	0010	0 1000	0 1102	2 0020	1 0120	0 0000	0 0001	0 1000	0 0110	0 00
Baetis_atrebatinus	1011	0 0101	0 1120	2 0120	0 0120	0 0000	0 0001	0 0010	1 1000	2 01
Baetis_tricolor	1011	0 0001	0 1120	2 0120	0 0120	0 0000	0 0001	0 1010	1 0000	2 01
Baetis_muticus	0010	0 1010	1 1112	0 0020	1 0120	0 0000	0 1001	0 0001	0 1100	2 00
Baetis_gracilis	0010	0 1010	0 1002	2 0020	1 1120	0 1000	0 0001	0 1001	0 0000	0 00
Baetis_fuscatus	1000	0 0001	0 0112	1 0020	0 1000	1 0000	0 0000	0 1001	1 0110	1 00

	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45
<i>Ephemerella ignita</i>	0000	1 0-1-	0 1---	0 1020	1 1100	1 0000	0 0-00	0 010-	- 1110	1 10
<i>Ameletus inopinatus</i>	0000	1 1-1-	1 1---	0 1010	1 1100	1 0000	0 0-00	0 110-	- 1100	1 10

Remark: Non-aplicable characters in the outgroup taxa refers to the morphological structures present in the genus *Baetis* only. Missing data in the adult characteristics refers to the species with imaginal stage unknown at present, P means polymorphism.

Data analysis

a) Phylogeny

Phylogenetic relationships were estimated by several methodological approaches. In order to examine the effect of individual data partitions in the combined analyses, the molecular dataset was additionally analyzed separately. In both datasets (molecular and combined), all 55 specimens were used. Phylograms were visualized using TreeView v1.2.2 (Page 1996).

A maximum parsimony analysis was conducted using methods implemented in Paup* (Swofford 2002) for both molecular and combined datasets. Tree searches were conducted using the heuristic search option with tree bisection and reconnection (TBR) branch swapping. Branches collapsed (creating polytomies) if the maximum branch length was zero. Gaps were treated as missing data. A 50% majority-rule consensus tree was constructed based on the most-parsimonious trees. Bootstrap values were calculated with 500 replicates.

Baysian inference was performed on the molecular and combined datasets in MrBayes (v3.1.2) (Huelsenbeck & Ronquist 2001, Ronquist & Huelsenbeck 2003). For the combined dataset, mixed models were used, in order to include the morphological partition. In total, 2 000 000 generations, running on four chains, were sampled every 100 generations in both molecular and combined dataset analysis. The first 500 000 generations were excluded (as the burn in).

b) Intraspecific variability

For estimating genetic variability within individual species, Kimura-2-parameter (K2P, Kimura 1980) distances were calculated using MEGA4 (Tamura *et al.* 2007) under default parameters. The K2P model is appropriate when genetic distances are low (Nei & Kumar 2000) and has previously been used in studies of mtDNA barcoding of mayflies (e.g. Herbert *et al.* 2003, Ball *et al.* 2005, Webb *et al.* 2007). This simple neighbor-joining algorithm was used in order to compare results of the present study with already published papers dealing with ranges of intra- and interspecific distances in mayflies and test its reliability in distinguishing species.

Results

Analysis of phylogenetic relationships

We obtained a molecular dataset of 490 nucleotides for 55 specimens from 19 species (17 ingroup and 2 outgroup species), from which 199 were parsimony-informative. In the combined analysis, this molecular dataset was augmented by the morphological dataset of 47 characters.

Individual species were well defined in both molecular and combined dataset analysis. In every species for which more than one specimen was available, the species was monophyletic in every tree.

1. Parsimony analysis using combined dataset (Figs. 1, 2)

Phylogenetic analyses recovered 31 418 most-parsimonious topologies and a 50% majority-rule consensus tree of 1551 steps was constructed. The consistency index was 0.2972 and retention and homoplasy indexes were 0.7322 and 0.7028, respectively.

Two large clades were recovered in the analysis. First one consisted of the subgenera *Labiobaetis* + *Nigrobaetis*. Both subgenera were recovered as monophyletic and formed sister lineages within the clade. Subgenus *Nigrobaetis* was further divided into two branches (*B. niger* + *B. digitatus* and *B. gracilis* + *B. muticus*).

In the clade representing the remaining part of the genus, *B. vernus* species-group was recovered as monophyletic and forms a sister lineage to the remaining taxa. Two major clades were recovered within these remaining taxa; assemblage of *B. buceratus* + *B. fuscatus* species-groups and the clade consisting of the *B. lutheri* species-group + subgenus *Rhodobaetis*.

Within *Rhodobaetis*, *B. rhodani* + *B. baksan* was recovered as sister lineage to other representatives of the subgenus. The rest of *Rhodobaetis* was divided into two clades, *B. ilex* + *B. cf. gadeai* and *B. braaschi*.

Nevertheless, bootstrap support values of the resulting cladogram were not particularly high, therefore the branching scheme has to be taken with caution (see Fig. 1).

Unique morphological apomorphies with consistency index 1.0 were mapped on the cladogram (Fig. 2). Changes of all morphological characters in individual branches are summarized in Table 3. In the set of 47 characters used in the analysis, 24 were recovered as unique apomorphies (~50 %). However, several of these characters are shared by other taxa, not included in the analysis (for details see Discussion).

2. Bayesian analysis using combined dataset (Fig. 3)

At the end of 2 000 000 generations, the average standard deviation of split frequencies was ~0.008. Two large clades were recovered, one of which consisted of the subgenera *Labiobaetis* and *Nigrobaetis* and a second one comprising the rest of the genus. The *Labiobaetis* + *Nigrobaetis* clade is further divided into two branches. One represents the subgenus *Labiobaetis*, the other subgenus *Nigrobaetis*. Both subgenera are supported as monophyletic. Within *Nigrobaetis*, *B. niger* + *B. digitatus* form a common clade, second clade formed by *B. gracilis* + *B. muticus*.

From the remaining part of the genus apart from *Labiobaetis* and *Nigrobaetis*, *B. vernus* species-group is recovered as monophyletic and highly supported as the most basal lineage. Within the remaining group, a clade consisting of *B. buceratus* + *B. fuscatus* species-groups was recovered as sister to *Rhodobaetis* + *B. lutheri* species-group. Relationships between *Rhodobaetis* and *B. lutheri* species-group were ambiguous.

Values of the Bayesian posterior probabilities were high in several basal nodes, however some branchings were only poorly supported (see Fig. 3).

3. Parsimony analysis using molecular dataset (Fig. 4)

Phylogenetic analyses recovered 36 300 most-parsimonious topologies and a 50% majority-rule consensus tree of 1433 steps was constructed. The consistency index was 0.2833 and retention and homoplasy indexes were 0.7101 and 0.7167, respectively.

B. digitatus was recovered as a sister clade to other representatives of the genus. *Labiobaetis* together with *Nigrobaetis* formed a paraphyletic group in the basal part of the cladogram. Both of these subgenera were mostly supported as monophyletic (except for the isolated position of *B. digitatus* from *Nigrobaetis*).

Assemblage of *B. buceratus* species-group and *B. fuscatus* species-group was supported as monophyletic and formed a sister clade to the rest of the genus (*B. vernus* species-group, *B. lutheri* species-group and subgenus *Rhodobaetis*). *B. vernus* species group was recovered as monophyletic, however branched as sister group to *B. braaschi* from *Rhodobaetis*. Both *B. lutheri* species-group and subgenus *Rhodobaetis* were recovered as paraphyletic with their representatives mixed together within one clade.

Most of basal nodes had only very weak bootstrap support, topology of the resulting phylogenetic tree is therefore highly unreliable (see Fig. 4).

4. Bayesian analysis using molecular dataset (Fig. 5)

At the end of 2 000 000 generations, the average standard deviation of split frequencies was ~0.034. *B. digitatus* from the subgenus *Nigrobaetis* was recovered as sister clade to all other representatives of *Baetis*. Within the clade of the remaining *Baetis* species, *B. atrebatinus* and *B. tricolor* from the subgenus *Labiobaetis* formed the basal two branches, rendering *Labiobaetis* paraphyletic. Within the remaining taxa, two major clades were recognized, first one consisting exclusively of the representatives of the subgenus *Nigrobaetis* (apart from *B. digitatus*) and second one of *Baetis* s.str. + subgenus *Rhodobaetis*. Within this second lineage, *B. vernus* species-group and the assemblage of *B. buceratus* and *B. fuscatus* species-groups were supported as monophyletic. *B. lutheri* species-group and *Rhodobaetis* clustered together into a single clade, however their representatives were dishevelled and rendered both taxa paraphyletic.

Values of the Bayesian posterior probabilities were considerably low in most nodes, thus the branching scheme has to be regarded as weakly supported and doubtful (see Fig. 5).

Intra- and interspecific sequence divergence

Intraspecific divergences were computed for 11 *Baetis* species, from which more than one specimen was included in the analysis. Divergence values varied considerably (0.000–0.239) according to the particular species; see Table 4 for detailed information. Distance data in general reflected geographic distances between populations, with specimens from more distant localities exhibiting more pronounced differences (e.g. *B. fuscatus*). However, some species were found to be very homogenous even when comparisons of distant populations were made (e.g. *B. braaschi*). Cases of most pronounced differences probably reflect a situation where morphologically undescribed, but molecularly distinct cryptic species occur (*B. muticus*, *B. rhodani*, *B. digitatus*; see part of the Discussion dealing with individual taxa below). When these problematic taxa are excluded from the analysis, intraspecific divergences ranged between 0.000–0.087 (mean 0.021).

Mean interspecific divergences computed for 17 species of *Baetis* ranged from 0.120–0.318 (see Table III). Lowest levels of divergence occurred between several species within *B. atrebatinus* species-group and subgenus *Rhodobaetis*. Mean of all interspecific divergences was computed as 0.256.

Histogram of all pairwise K2P divergences is depicted in Fig. 6.

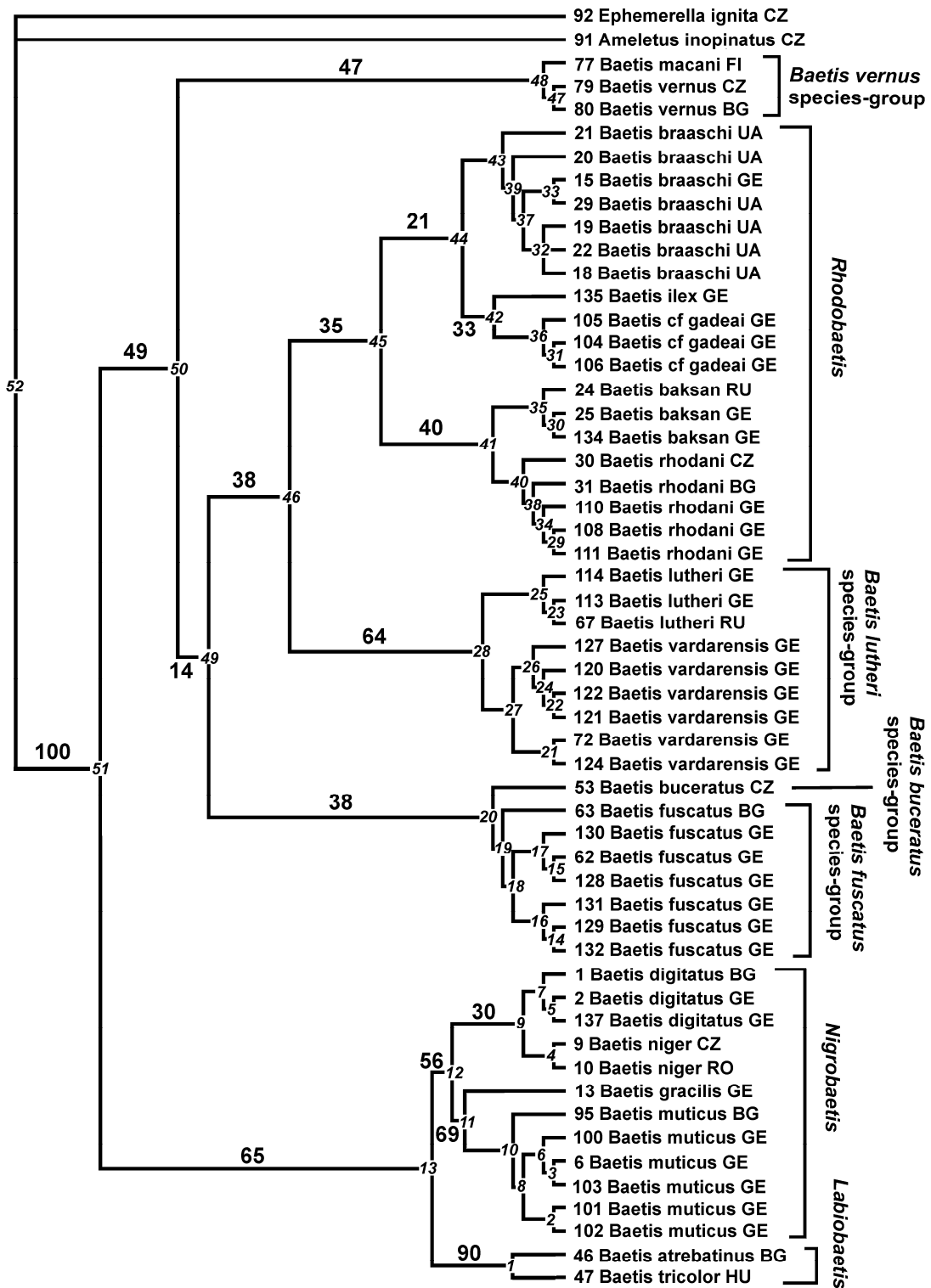


FIGURE 1. Fifty per cent majority-rule consensus tree of the 31 418 most-parsimonious trees (using tree weights) of the combined dataset. The bold numbers above branches are bootstrap values, minor italicized numbers indicate labelling of the individual nodes as used in the Table 3.

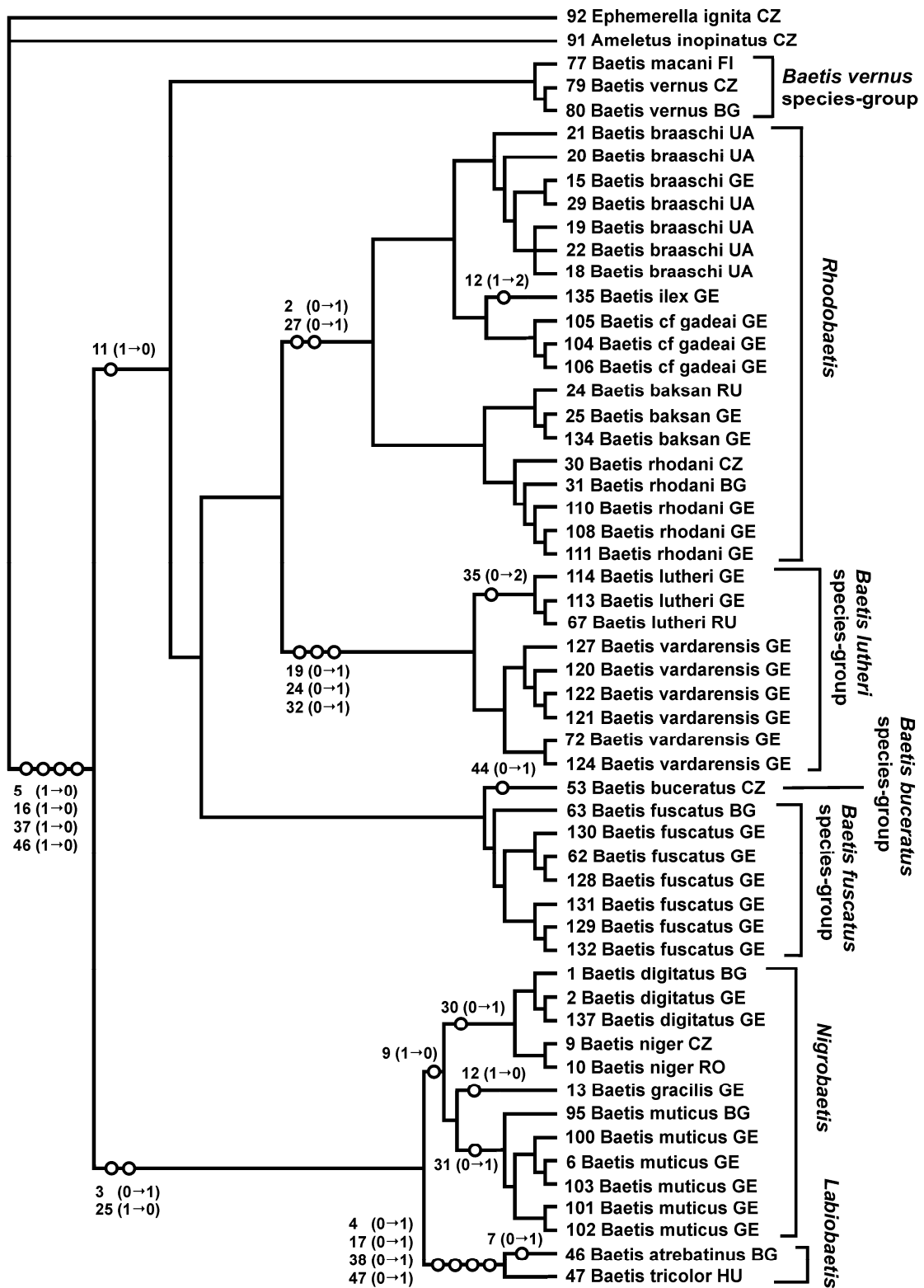


FIGURE 2. Fifty per cent majority-rule consensus tree of the 31 418 most-parsimonious trees (using tree weights) of the combined dataset. Unique apomorphies with consistency index = 1.0 are mapped on the topology.

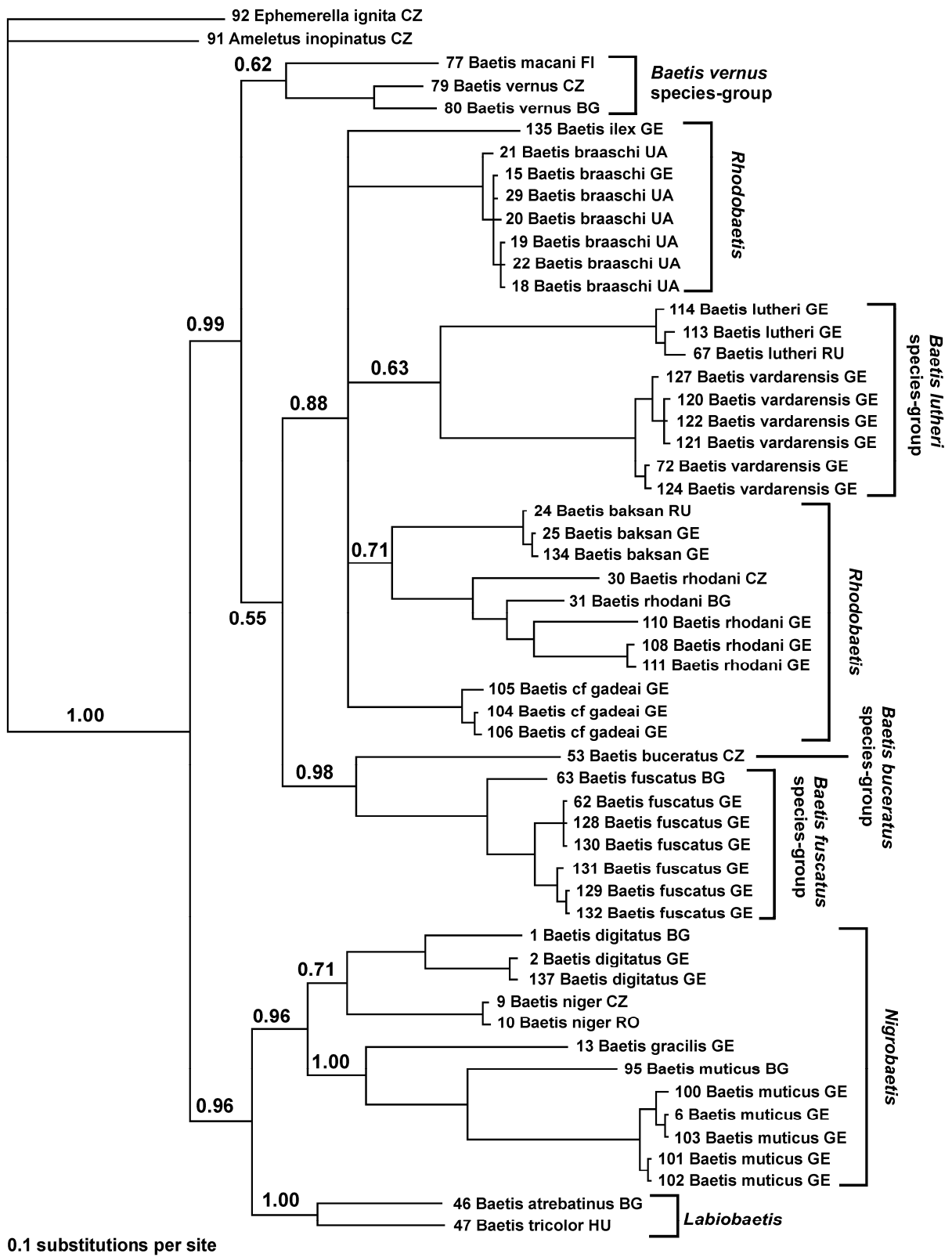


FIGURE 3. Topology of the Bayesian tree of the combined dataset. The numbers on the nodes are values of Bayesian posterior probability.



FIGURE 5. Topology of the Bayesian tree of the molecular dataset. The numbers on the nodes are values of Bayesian posterior probability.

TABLE 3. Apomorphy list

<i>Branch</i>	<i>Character</i>	<i>CI</i>	<i>Change</i>
node 52 --> 92 Ephemerella ignita CZ	43	0.200	0 --> 1
node 52 --> 91 Ameletus inopinatus CZ	6	0.333	0 ==> 1
	10	0.500	0 ==> 1
	18	0.500	2 ==> 1
	36	0.143	0 --> 1
node 52 --> node 51	1	0.500	0 --> 1
	5	1.000	1 ==> 0
	8	0.500	1 ==> 0
	15	0.333	0 --> 1
	16	1.000	1 ==> 0
	20	0.500	1 --> 0
	21	0.250	1 --> 0
	37	1.000	1 ==> 0
	41	0.200	1 --> 0
	46	1.000	1 ==> 0
node 51 --> node 50	11	1.000	1 ==> 0
	14	0.500	0 --> 1
	22	0.500	1 --> 0
	39	0.333	0 --> 1
	43	0.200	0 --> 1
node 48 --> 77 Baetis macani FI	18	0.500	2 ==> 1
	22	0.500	0 --> 1
	43	0.200	1 --> 0
node 48 --> node 47	21	0.250	0 --> 1
	34	0.250	0 ==> 1
	41	0.200	0 --> 1
node 49 --> node 46	18	0.500	2 ==> 0
	33	0.500	0 --> 1
	41	0.200	0 --> 1
node 46 --> node 45	2	1.000	0 ==> 1
	26	0.500	0 ==> 1
	27	1.000	0 ==> 1
	43	0.200	1 --> 0
	45	0.400	1 ==> 2
node 44 --> node 43	21	0.250	0 --> 1
	36	0.143	0 ==> 1
node 44 --> node 42	34	0.250	0 ==> 1
node 42 --> node 36	28	0.500	0 ==> 2
node 42 --> 135 Baetis ilex GE	6	0.333	0 ==> 1
	12	1.000	1 ==> 2
	15	0.333	1 ==> 0
	29	0.500	0 ==> 1
node 45 --> node 41	29	0.500	0 ==> 1
node 41 --> node 35	18	0.500	0 ==> 1
	28	0.500	0 ==> 2
	39	0.333	1 ==> 0
node 41 --> node 40	34	0.250	0 ==> 1
	36	0.143	0 ==> 1
node 38 --> node 34	21	0.250	0 --> 1
node 29 --> 108 Baetis rhodani GE	21	0.250	1 --> 0
node 46 --> node 28	14	0.500	1 --> 2
	15	0.333	1 --> 0
	19	1.000	0 ==> 1
	21	0.250	0 --> 2
	23	0.667	0 ==> 1
	24	1.000	0 ==> 1
	28	0.500	0 ==> 1
	32	1.000	0 ==> 1
node 28 --> node 25	35	1.000	0 ==> 2
node 28 --> node 27	33	0.500	1 --> 0
node 49 --> node 20	21	0.250	0 --> 1
node 20 --> 53 Baetis buceratus CZ	15	0.333	1 --> 0
	23	0.667	0 ==> 1
	28	0.500	0 ==> 1
	40	0.500	1 ==> 0

	39	0.333	0 --> 1
node 11 --> node 10	10	0.500	0 ==> 1
	15	0.333	2 ==> 0
	31	1.000	0 ==> 1
	36	0.143	1 --> 0
	41	0.200	0 --> 1
	45	0.400	0 --> 2
node 11 --> 13 <i>Baetis gracilis</i> GE	12	1.000	1 ==> 0
	13	0.667	1 ==> 0
	21	0.250	0 ==> 1
	26	0.500	0 ==> 1
	42	0.500	1 ==> 0
node 13 --> node 1	4	1.000	0 ==> 1
	13	0.667	1 ==> 2
	17	1.000	0 ==> 1
	38	1.000	0 ==> 1
	42	0.500	1 ==> 0
	45	0.400	0 --> 2
	47	1.000	0 ==> 1
node 1 --> 46 <i>Baetis atrebatinus</i> BG	7	1.000	0 ==> 1
	36	0.143	1 --> 0
	41	0.200	0 --> 1

Remark: "-->" means ambiguous change; "==">" means unambiguous change

TABLE 4. Mean values and ranges of intraspecific sequence divergences (K2P distance) of *COI* mtDNA partial sequences of 17 species of Palearctic *Baetis* for which more than one sequence was analyzed.

<i>Species</i>	<i>No. of specimens</i>	<i>Mean K2P divergence</i>	<i>Range of K2P divergences</i>
<i>Baetis digitatus</i>	3	0.085	0.007–0.124
<i>Baetis braaschi</i>	7	0.006	0.000–0.009
<i>Baetis baksan</i>	3	0.003	0.000–0.005
<i>Baetis cf. gadeai</i>	3	0.009	0.000–0.014
<i>Baetis vardarensis</i>	6	0.013	0.000–0.023
<i>Baetis lutheri</i>	3	0.015	0.011–0.018
<i>Baetis rhodani</i>	5	0.122	0.002–0.168
<i>Baetis fuscatus</i>	6	0.040	0.000–0.087
<i>Baetis muticus</i>	6	0.085	0.000–0.239
<i>Baetis vernus</i>	2	0.077	–
<i>Baetis niger</i>	2	0.005	–

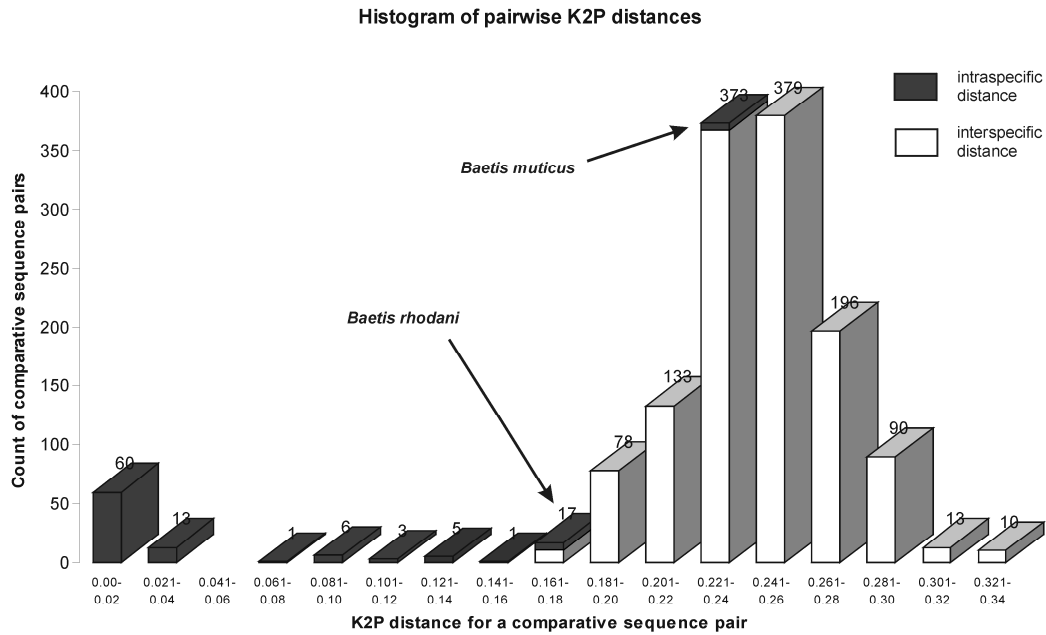


FIGURE 6. Histogram showing the number of intra- and interspecific pairwise K2P distances. Species with particularly high values of intraspecific K2P distances marked with arrows.

TABLE 5. Interspecific divergences (K2P distance) among *COI* mtDNA partial sequences of 17 species of Palearctic *Baetis*. If a comparative pair included at least one species for which multiple sequences were obtained, the mean value of distances between two sequences from the two species in a combination was used.

	<i>Baetis_macani</i>	<i>Baetis_vernus</i>	<i>Baetis_braaschi</i>	<i>Baetis_lutheri</i>	<i>Baetis_baksan</i>	<i>Baetis_cf_gadeai</i>	<i>Baetis_ilex</i>	<i>Baetis_vardarensis</i>	<i>Baetis_rhodani</i>	<i>Baetis_bucерatus</i>	<i>Baetis_digitatus</i>	<i>Baetis_niger</i>	<i>Baetis_atrebatinus</i>	<i>Baetis_tricolor</i>	<i>Baetis_muticus</i>	<i>Baetis_gracilis</i>
<i>Baetis_vernus</i>	0.191															
<i>Baetis_braaschi</i>	0.212	0.186														
<i>Baetis_lutheri</i>	0.255	0.267	0.236													
<i>Baetis_baksan</i>	0.242	0.240	0.212	0.236												
<i>Baetis_cf_gadeai</i>	0.216	0.204	0.200	0.265	0.172											
<i>Baetis_ilex</i>	0.259	0.271	0.223	0.237	0.212	0.199										
<i>Baetis_vardarensis</i>	0.259	0.246	0.227	0.263	0.201	0.225	0.230									
<i>Baetis_rhodani</i>	0.230	0.251	0.240	0.232	0.191	0.211	0.219	0.240								
<i>Baetis_bucерatus</i>	0.237	0.241	0.236	0.259	0.239	0.222	0.262	0.269	0.238							
<i>Baetis_digitatus</i>	0.215	0.229	0.239	0.243	0.220	0.223	0.255	0.235	0.238	0.279						
<i>Baetis_niger</i>	0.201	0.218	0.222	0.257	0.255	0.229	0.242	0.250	0.231	0.272	0.197					
<i>Baetis_atrebatinus</i>	0.226	0.196	0.219	0.241	0.201	0.191	0.259	0.246	0.200	0.248	0.199	0.196				
<i>Baetis_tricolor</i>	0.230	0.200	0.233	0.247	0.220	0.204	0.244	0.250	0.202	0.253	0.183	0.217	0.164			
<i>Baetis_muticus</i>	0.289	0.262	0.281	0.318	0.248	0.279	0.271	0.247	0.258	0.289	0.246	0.248	0.221	0.228		
<i>Baetis_gracilis</i>	0.246	0.267	0.251	0.274	0.259	0.267	0.256	0.302	0.248	0.269	0.239	0.229	0.239	0.246	0.288	
<i>Baetis_fuscatus</i>	0.240	0.228	0.250	0.272	0.232	0.247	0.267	0.269	0.256	0.242	0.243	0.235	0.233	0.233	0.271	0.270

Discussion

Combining molecular and morphological data in phylogenetic analyses is still a controversial issue (for a detailed methodological discussion see e.g. Huelsenbeck *et al.* 1996, Wiens 2004, Wortley & Scotland 2006). Nevertheless in many cases, a combined approach led to more robust and reliable phylogeny reconstructions than using molecular data alone.

In the analyses performed in this study, the addition of a morphological data set into the analysis considerably improved the reliability of the resulting cladograms. The branching scheme was altered in some mostly basal nodes, however these basal branchings had only negligible support in trees based on solely molecular data. Thus, the addition of morphological data significantly helped to resolve possible polytomies.

Apart from phylogeny reconstruction, this study provides an analysis of intra- and interspecific divergences among *Baetis*. Mean for interspecific divergences was counted as 0.256. In the study of Ball *et al.* (2005), mean of congeneric interspecific divergences was 0.181 (in the sample of altogether 11 mayfly families studied). Webb *et al.* (2007) reported a mean value of congeneric interspecific divergences for North American *Heptagenia* of 0.1599 when excluding dubious species. Thus, the diversification of individual lineages within *Baetis* can be considered as rather high and the recognition of several subgenera and species-groups within the genus is certainly justified.

The results do not support the presence of a distinct barcoding gap, with intra- and interspecific sequence divergences differing by at least an order of magnitude, as reported in mayflies by Ball *et al.* (2005) or Webb *et al.* (2007). Instead, intraspecific divergences gradually went over to interspecific divergences; the transitory zone was approximately 0.160–0.180 of K2P divergence (little obscured by the probable existence of cryptic species). These results fully support the study of Wiemers & Fiedler (2007) who interpreted the barcoding gap as artifact of insufficient sampling across taxa.

Nevertheless, most intraspecific sequence divergences lay far below the transitory zone and most *Baetis* species were found to be clearly differentiated from their relatives (for the situation in individual species see Discussion below).

Basal nodes of *Baetis* phylogeny

The genus *Baetis* was always supported as monophyletic in the analyses performed. In both approaches using combined data, parsimony and Bayesian, the genus split into two lineages: basal grouping of subgenera *Labiobaetis* + *Nigrobaetis* and the second clade formed by the rest of the genus.

When using solely molecular data, the basal branching scheme was somewhat altered, however bootstrap support values or Bayesian posterior probabilities of the basal nodes were distinctly diminished and most clades have to be regarded as doubtful. Although monophyly of *Nigrobaetis* or even *Labiobaetis* was not always recognized using the molecular dataset only, the basal position of these taxa within the phylogenetic tree outside *Baetis* s. str. was confirmed even when using molecular data set alone.

In all analyses performed, *Baetis*-complex sensu Waltz & McCafferty (1997) was not supported as monophyletic. According to this concept, species from the subgenus *Nigrobaetis* should form a monophyletic or paraphyletic group sister to all remaining *Baetis* taxa studied. However, *Nigrobaetis* was always recovered as an internal lineage within *Baetis* s.l., most probably sister to *Labiobaetis*. The presence of femoral villopore and antennal flat-tipped sensillae are therefore not supported as apomorphies of the *Baetis*-complex as considered by Waltz & McCafferty (1997) and Gaino & Reborá (1999). These characters can be regarded as

evolutionary novelties at the base of *Baetis* s.l. with secondary loss in *Nigrobaetis*, or the characters which independently evolved in two lineages of *Baetis* s.l. (*Labiobaetis* and *Baetis* s.str + *Rhodobaetis*). From these two scenarios, reduction of this structure in one lineage seems to be more probable, since reduction is generally more likely to occur than independent evolution. Moreover, one of the diagnostic characters for the *Baetis* complex, absence of plesiomorphic cluster of bristles located between the incisors and mola of mandibles (Waltz & McCafferty 1997) was in fact recovered as the apomorphy of the sister clade to *Labiobaetis* + *Nigrobaetis*, with both species of *Labiobaetis* studied herein exhibiting the same plesiomorphic condition as *Nigrobaetis* with the cluster of bristles present. Nevertheless, further analyses encompassing more *Baetis* complex taxa have to be performed to corroborate this result.

Individual taxa included in the analysis

1. *Nigrobaetis*

a) phylogeny

From the subgenus *Nigrobaetis*, four species were analyzed, namely *B. niger*, *B. muticus*, *B. digitatus* and *B. gracilis*.

Monophyly of the subgenus was supported by both analytical methods when using combined dataset. The reduction of the number of labral bristles was recovered as unique apomorphy for *Nigrobaetis*. When using the molecular dataset only, *Nigrobaetis* was always found paraphyletic, with *B. digitatus* forming a distinct clade at the very basis of the genus *Baetis*. However, there is no morphological evidence placing *B. digitatus* outside *Nigrobaetis* at present.

In the combined analyses, two clades were recognized within monophyletic *Nigrobaetis*, *B. digitatus* + *B. niger* and *B. gracilis* + *B. muticus*. Therefore, Müller-Liebenau's (1969) concept of the *B. niger* species group (containing *B. niger* and *B. digitatus*) and *B. gracilis* species-group (containing *B. gracilis* and *B. muticus*), was supported by the combined analysis of the dataset, with both groups recovered as monophyletic. The concept of Novikova & Kluge (1994), who established two different species-groups within the subgenus (*niger-gracilis* species-group and *muticus-acinaciger-maxillaris* species-group) was not supported. Also no support gained Jacob's (2003) treatment of the *B. gracilis* species-group as a subgroup inside *B. niger* species-group.

b) Intraspecific divergences

Intraspecific K2P divergences within *B. muticus* ranged from 0.00 to 0.239 (mean 0.085), with significant separation of the specimen from Bulgaria (DNA No. 95) from other haplotypes from Georgia (K2P distances between five Georgian specimen reached at most 0.014, while distances between Bulgarian and Georgian specimen were 0.232–0.239). Such distances usually occur interspecifically, thus may indicate presence of a cryptic species within *B. muticus*.

Intraspecific K2P divergences within *B. digitatus* ranged from 0.00 to 0.124 (mean 0.085). Divergence between haplotypes from the two parts of its distributional range (Bulgaria and Georgia) is rather high compared to usual intraspecific divergences in mayflies (Ball *et al.* 2005, Webb *et al.* 2007), indicating considerable variability of the species throughout its distributional range. Such a divergence is somewhere between known intra- and interspecific divergences in mayflies.

2. *Labiobaetis*

a) phylogeny

Subgenus *Labiobaetis* was represented by two species in the analysis, namely *B. tricolor* and *B. atrebatinus*. *Labiobaetis* formed a monophyletic group in the combined analysis, supported by four unique apomorphies (presence of protuberance on scape, incurvation on distal segment of maxillar palp, absence of processus costalis on hind wing and well-developed penis cover). However, several of these characters are known also in other taxa of Baetidae, which were not included in the analysis (processus costalis on hind wing is missing also in the genus *Acentrella*, presence of the penis cover is common among Baetidae subfamily Cloeoninae). Thus, they do not in reality represent unique apomorphies of *Labiobaetis*.

The subgenus was recovered sister to *Nigrobaetis*, with *Nigrobaetis* + *Labiobaetis* forming a sister clade to all other representatives of *Baetis* included in the combined analyses trees.

In the cladograms using molecular data only, *Labiobaetis* was recovered as monophyletic (parsimonious tree) or paraphyletic (Bayesian tree), however its representatives were always at the base of the cladogram, sister to all *Baetis* taxa but *B. digitatus*. Such branching was however poorly supported and has to be considered unlikely.

b) Intraspecific divergences

Intraspecific divergences were not computed, since both species were represented by a single specimen in the analysis. Interspecific K2P divergence between two species was 0.165, one of the closest interspecific resemblances among the species studied, both species representing probably very closely related taxa.

3. *Rhodobaetis*

a) phylogeny

From the subgenus *Rhodobaetis*, five species were analyzed, namely *B. braaschi*, *B. illex*, *B. baksan*, *B. rhodani* and *B. cf. gadeai*. The species referred to as *Baetis cf. gadeai* was found in the Caucasus Mountains recently and represents most probably a new species, closely related to *B. gadeai* from the Pyrenees. Occurrence of this new species in Caucasian mountains was already recorded in the past, but referred to incorrectly as “*Baetis gemellus*” in literature (Zimmermann 1980). Godunko *et al.* (2004b) already published a presupposition that „The information of Zimmermann (1980b: 102, fig. 6) on finding of *B. gemellus* Eaton, 1885 in the Caucasus and the Transcaucasus probably regards to a new species of the subgenus *Rhodobaetis*“. This opinion seems to be confirmed and this new species will be described shortly (Sroka *et al.* in prep.).

Rhodobaetis was recovered as monophyletic lineage and placed as sister to *B. lutheri* species-group in the parsimony analysis of the combined dataset only (however, even there with low bootstrap support value of 43). Unique apomorphies supporting monophyly of *Rhodobaetis* were the presence of setae on scape and pedicel, and a row of setae on posterior margin of terga. In the Bayesian analysis of the combined dataset, relationships between *B. lutheri* species-group and subgenus *Rhodobaetis* were ambiguous. Representatives of these groups were mixed within a single clade in the cladograms resulting from analyses of the molecular dataset only; *Rhodobaetis* was then recovered as paraphyletic. Values of bootstrap support and Bayesian posterior probability were however very poor in molecular trees.

In each case, species of *Rhodobaetis* and *B. lutheri* species-group were recovered as closely related, and these taxa nested within one clade in all analyses performed, as already supposed by Soldán & Godunko (2009), who claimed close relationship of *Rhodobaetis* + *B. lutheri* species-group + *B. alpinus* species-group on the basis of morphological similarities.

Within *Rhodobaetis*, *B. rhodani* cluster together with *B. baksan* in each analysis performed. This is fully in accordance with the high level of morphological similarity between these two species (see Soldán 1977). *B. illex* seems to be most closely related to *B. cf. gadeai*, these two species form a single clade in analyses under parsimony criteria using combined or molecular dataset. *B. braaschi* probably occupies a quite independent position within the *Rhodobaetis* species studied.

b) Intraspecific divergences

Intraspecific divergences within individual species of *Rhodobaetis* varied considerably. *Baetis baksan* and *Baetis gadeai* represent species with a little observed variability, exhibiting mean K2P distance 0.003 and 0.009, respectively. However, both species were represented in the analysis by specimens from closely situated localities only.

From *B. braaschi*, specimens from two areas of distribution were included in this study (Eastern Ukraine and Georgia). Intraspecific K2P distances within *B. braaschi* ranged from 0.000 to 0.009 (mean 0.006), thus the species is very homogenous and Georgian specimen from the Caucasus is not forming a haplotype significantly different from the Ukrainian specimens.

Particularly great extent of intraspecific variability within *Rhodobaetis* occurs in *B. rhodani* (range of K2P values 0.002–0.168, mean 0.122) which is consistent with the supposed existence of the cryptic species within this widespread and abundant species (see Williams *et al.* 2006, Gattolliat & Sartori 2008). Definition of these cryptic species within *B. rhodani* is not clear, since all *Rhodobaetis* specimens with spines on the external gill margins were often uncritically attributed to the *B. rhodani* in the past and cryptic species revealed by molecular methods remain without any morphological characterization (Williams *et al.* 2006). On the basis of subtle morphological differences, two subspecies different from *B. rhodani rhodani* were already described in the past, namely *B. rhodani sinespinosus* Soldán & Thomas, 1983 (later raised to the species level by Soldán *et al.* 2005) and *B. rhodani tauricus* Godunko & Prokopov, 2003. Distribution of *B. rhodani rhodani* is considered Palaearctic (Malzacher 1981), or at least Westpalaearctic (Sartori & Landolt 1999), see Soldán & Godunko (2008) for a detailed distributional analysis.

In order to fix the proper *Baetis rhodani rhodani*, the neotype was designated recently by Gattolliat & Sartori (2008). The *COI* sequences of *B. rhodani rhodani* specimens included in this study can not be compared with the population from the type locality, because only cob sequence is known for the topotypes at present (Gattolliat & Sartori 2008).

***B. vernus* species-group**

a) phylogeny

Baetis vernus species-group was represented in the analysis by *B. vernus* and *B. macani*. The species group was recovered monophyletic in every tree using molecular or combined dataset, however it was not supported by unique apomorphies. In the combined analysis, *B. vernus* species-group formed a clade at the base of the assemblage *Rhodobaetis* + *Baetis* s.str.

b) Intraspecific divergences

Intraspecific K2P divergence between *B. vernus* populations the Czech Republic and Bulgaria was 0.077, which is agreeable with the usual range of mayfly intraspecific variability (Ball *et al.* 2005, Webb *et al.* 2007).

***B. lutheri* species-group**

a) phylogeny

From the *B. lutheri* species-group, two species were included in the analysis: *B. lutheri* and *B. vardarensis*. Specimens used represent Caucasian subgenera of the species, *B. lutheri georgiensis* and *B. vardarensis caucasicus*. Comparison of these specimens with haplotypes of the nominal subspecies from Europe and evaluation of morphological and molecular dissimilarities will be subject of the future research.

The species-group was recovered as monophyletic, closely related to the subgenus *Rhodobaetis*, which is in agreement with the presumption about the close relationship of these two taxa stated by Soldán & Godunko (2009); see also the Discussion section concerning *Rhodobaetis* above. *B. lutheri* species-group may in fact represent even an internal clade within *Rhodobaetis*, since internal branching within the clade *Rhodobaetis* + *B. lutheri* species-group was not resolved with high degree of certainty, exhibiting low bootstrap values or Bayesian posterior probabilities. Monophyly of *B. lutheri* species-group was supported by three unique apomorphies (presence of protuberances on thoracic sterna, presence of subapical bristles on claws and rounded marginal teeth on paraproct). However, these character states occur also in other *Baetis* species, not included in the analysis (*B. alpinus* species-group, some other species of *Rhodobaetis*). Autapomorphic state of these characters has to be taken with caution.

b) Intraspecific divergences

Intraspecific divergences within *B. lutheri* and *B. vardarensis* were low (mean K2P distances 0.015 and 0.013, respectively). However, no specimens from distant populations were included in the analysis, thus the variability within these species could be found higher in the future.

***B. fuscatus* species-group and *B. buceratus* species-group**

a) phylogeny

From each of these species-groups, only a single species was included in the analysis (*B. fuscatus* and *B. buceratus*). Representatives of these species-groups were recovered in a single clade in all types of analyses performed and can be considered as close relatives, although not supported by unique morphological apomorphies. This *B. buceratus* + *B. fuscatus* assemblage was supported as a sister lineage to the clade *Rhodobaetis* + *B. lutheri* species-group in analyses using combined dataset or molecular dataset under Bayesian criteria. In the parsimony analysis using only molecular dataset, *B. buceratus* + *B. fuscatus* assemblage was recovered as sister lineage to the clade comprising *Rhodobaetis* + *B. lutheri* species-group + *B. vernus* species-group.

b) Intraspecific divergences

Intraspecific K2P distances were computed for *B. fuscatus* only, since *B. buceratus* was represented by a single specimen sampled. Mean K2P value 0.040 agrees with the usual range

of interspecific variability in mayflies (Ball *et al.* 2005, Webb *et al.* 2007). Specimen from Bulgaria (DNA No. 63) exhibited higher K2P value when compared to specimens from Georgia, however never exceeding 0.087.

Conclusions

Previous studies investigating *COI* sequence in mayflies were directed to the identification of species (Ball *et al.* 2005) or to the investigation of species boundaries within a particular species or species-group (Williams *et al.* 2006, Ståhls & Savolainen 2007, Webb *et al.* 2007). The *COI* sequence already proved to be useful tool for estimating extent of the species boundaries and its distance from the close relatives. These results were also confirmed by the present study. However, presence of a distinct barcoding gap seems to be hardly possible in mayflies and although the *COI* sequences can help to identify and distinguish species, it is necessary to use them in combination with morphological data to avoid misidentifications and confusion.

In the future nevertheless, constructing of the extensive barcode library for mayflies will certainly help in disentangling relationships between individual populations of the morphologically confusing species. Divergences in *COI* can also draw the attention of taxonomists to the possibly cryptic species, which can be subsequently confirmed by the detailed morphological study. Moreover, *COI* sequences can be helpful in associating larvae with adults, where rearing methods are unsuitable or difficult to perform.

For inferring phylogenetic relationships, *COI* sequences can be also useful mainly on the lower taxonomic level, particularly in the combination with morphological data. This contribution represents the first such insight into the intrageneric classification of *Baetis* s.l. using combined (morphological and molecular) data. Results of this study corroborated several partial phylogenetic hypotheses, already presumed on the basis of morphological data (monophyly of already established subgenera and species groups, close relationship of *Rhodobaetis* + *B. lutheri* species-group and *B. buceratus* species-group + *B. fuscatus* species-group). However, concept of the monophyletic *Baetis* complex was not supported. Subgenus *Nigrobaetis* (containing non-*Baetis* complex species) was recovered rather as an internal branch within *Baetis* and formed a sister lineage to the subgenus *Labiobaetis*; branch containing these two subgenera then formed a sister clade to the remaining representatives of the genus. Nevertheless, rejection of the *Baetis* complex monophyly has to be confirmed by future studies using more taxa (covering also other biogeographic regions) and characters.

Acknowledgement

I thank to Dr. Petra Dufková (Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic) for valuable help in the DNA processing and to Dr. Arnold Staniczek (Staatliches Museum für Naturkunde, Stuttgart, SRN) for useful comments on the manuscript. I am indebted also to Prof. Tomáš Soldán, Dr. Roman Godunko, Alexander Martynov and Dr. Gunilla Ståhls, who provided me with material. This study was financially supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Project No. 206/08/1389).

References

- Ball, S.L., Hebert, P.D.N., Burian, S.K. & Webb, J.M. (2005) Biological identifications of mayflies (Ephemeroptera) using DNA barcodes. *Journal of the North American Benthological Society*, 24, 3, 508–524.
- Bauernfeind, E. & Humpesch, U.H. (2001) *Die Eintagsfliegen Zentraleuropas – Bestimmung und Ökologie*. Verlag des Naturhistorischen Museums Wien, Austria, 240 pp.
- Bauernfeind, E. & Soldán, T. (in press) *Ephemeroptera of Europe*. Apollo Books, Stenstrup, Denmark.
- Fialkowski, W., Klonowska-Olejnik, M., Smith, B.D. & Rainbow, P.S. (2003) Mayfly larvae (*Baetis rhodani* and *B. vernus*) as biomonitors of trace metal pollution in streams of a catchment draining a zinc and lead mining area of Upper Silesia, Poland. *Environmental Pollution*, 121, 253–267.
- Gaino, E. & Reborá, M. (1999) Flat-tipped sensillum in Baetidae (Ephemeroptera): a microcharacter for taxonomic and phylogenetic considerations. *Invertebrate Biology*, 118(1), 68–74.
- Gattolliat, J.-L., Monaghan, M.T., Sartori, M., Elouard, J.-M., Barber-James, H., Derleth, P., Glaizot, O., deMoor, F. & Vogler, A.P. (2008) A Molecular analysis of the Afrotropical Baetidae. Pp. 219–232 In: Hauer, F.R., Stanford, J.A. & Newell, R.L. (Eds.) *International advances in the ecology, zoogeography and systematics of mayflies and stoneflies*. University of California Publications in Entomology, vol. 128.
- Gattolliat, J.-L. & Sartori, M. (2008) What is *Baetis rhodani* (Pictet, 1843) (Insecta, Ephemeroptera, Baetidae)? Designation of a neotype and redescription of the species from its original area. *Zootaxa*, 1957, 69–80.
- Godunko, R.J., Prokopov, G.A., Kluge, N.J. & Novikova, E.A. (2004a) Mayflies of the Crimean Peninsula. II. *Baetis braaschi* ZIMMERMANN, 1980 (= *B. stipposus* KLUGE, 1982 syn. n.) (Ephemeroptera: Baetidae). *Acta zoologica cracoviensia*, 47, 155–166.
- Godunko, R.J., Prokopov, G.A. & Soldán T. (2004b) Mayflies of the Crimean Peninsula. III. The description of *Baetis milani* sp. n. with notes on taxonomy of the subgenus *RhodoBaetis* Jacob, 2003 (Ephemeroptera: Baetidae). *Acta zoologica cracoviensia*, 47, 231–248.
- Hall, T.A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95–98
- Hall, T.A. (2010) Biolign alignment and multiple contig editor. <http://en.bio-soft.net/dna/BioLign.html>
- Handfield, L. & Handfield, D. (2006) A new species of *Capis* (Lepidoptera : Noctuidae) from Quebec, Canada. *Canadian Entomologist*, 138(3), 333–338.
- Haybach, A. (2010) *Catalogue of the Mayflies of Germany, Austria and Switzerland and their Synonyms (Insecta, Ephemeroptera)*. Mainzer Naturwissenschaftliches Archiv Beiheft, Mainz, Germany, 76 pp.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & deWaard, J.R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society London, B*, 270, 313–321
- Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17(8), 754–755.
- Huelsenbeck, J.P., Bull, J.J. & Cunningham, C.W. (1996) Combining data in phylogenetic analysis. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(4), 152–158.
- Malzacher, P. (1981) Beitrag zur Insekten-faunistik Südwestdeutschlands: Ephemeroptera – Eintagsfliegen. *Mitteilungen Entomologischer Verein*, 16, 41–72.
- McCafferty, W.P., & Waltz, R.D. (1990) Revisionary synopsis of the Baetidae (Ephemeroptera) of North and Middle America. *Transactions of the American Entomological Society*, 116(4), 769–799.
- McCafferty, W.P. & Waltz, R.D. (1995) *Labiobaetis* (Ephemeroptera: Baetidae): New status, new North American species, and related new genus. *Entomological News*, 106, 19–28.
- Morihara, D.K. & McCafferty, W.P. (1979) The *Baetis* larvae of North America (Ephemeroptera: Baetidae). *Transactions of the American Entomological Society*, 105, 139–221.
- Müller-Liebenau, I. (1969) Revision der europäischen Arten der Gattung *Baetis* Leach, 1815 (Insecta, Ephemeroptera). *Gewässer und Abwässer*, 28–29, 1–214.
- Müller-Liebenau, I. (1984) New genera and species of the family Baetidae from West-Malaysia (River Gombak) (Insecta: Ephemeroptera). *Spixiana*, 7(3), 253–284.
- Nei, M. & Kumar, S. (2000) *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York, 333 pp.
- Novikova E.A. (1987) Mayflies of the group *Baetis transiliensis* Brod. (Ephemeroptera, Baetidae) in Middle Asia. *Entomological Review*, 67(2), 113–117.
- Novikova, E.A. & Kluge, N.J. (1987) Systematics of the genus *Baetis* (Ephemeroptera, Baetidae), with description of new species from Middle Asia. *Vestnik Zoologii*, 1987(4), 8–19. [in Russian]
- Novikova E.A. & Kluge N.J. (1994) Mayflies of the subgenus *Nigrobaetis* (Ephemeroptera: Baetidae, *Baetis* Leach, 1815). *Entomologicheskoe Obozrenie*, 73(3), 623–644.
- Jacob U. (2003) *Baetis* Leach 1815, sensu stricto or sensu lato. Ein Beitrag zum Gattungskonzept auf der Grundlage von Artengruppen mit Bestimmungsschlüsseln. *Lauterbornia*, 47, 59–129.

- Kang, S.C., Chang, H.C., Yang, C.T. (1994) A revision of the genus *Baetis* in Taiwan (Ephemeroptera, Baetidae). *Journal of Taiwan Museum*, 47(2), 9–44.
- Kimura, M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111–120.
- Klapálek, F. (1905) Plecopteren und Ephemeriden aus Java, gesammelt von Prof. K. Kraepelin 1904. *Mitteilungen aus dem Naturhistorischen Museum in Hamburg*, 22, 103–107.
- Larkin, M., Blackshields, G., Brown, N., Chenna, P., McWilliam, H., Valentin, F. et al. (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0". *Bioinformatics*, 23(21), 2947–2948.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1996) Phylogeny and classification of the *Baetodes* complex (Ephemeroptera: Baetidae), with description of a new genus. *Journal of the North American Benthological Society*, 15(3), 367–380.
- Lugo-Ortiz, C.R. & McCafferty, W.P. (1997) *Labiobaetis* Novikova & Kluge (Ephemeroptera: Baetidae) from the Afrotropical region. *African Entomology*, 5(2), 241–260.
- Lugo-Ortiz C.R., & McCafferty W.P. (1998) A new North American genus of Baetidae (Ephemeroptera) and key to *Baetis* complex genera. *Entomological News*, 109(5), 345–353.
- Lugo-Ortiz, C.R., McCafferty, W.P. & Waltz, R.D. (1999) Definition and reorganization of the genus *Pseudocloeon* (Ephemeroptera: Baetidae) with new species descriptions and combinations. *Transactions of the American Entomological Society*, 125(1-2), 1–37.
- Ogden, T.H. & Whiting, M.F. (2005) Phylogeny of Ephemeroptera (mayflies) based on molecular evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37, 625–643.
- Ogden, T.H., Gattolliat, J-L., Sartori, M., Staniczek, A.H., Soldán, T. & Whiting, M.F. (2009) Towards a new paradigm in mayfly phylogeny (Ephemeroptera): combined analysis of morphological and molecular data. *Systematic Entomology*, 34(4), 616–634.
- Page, R.D.M. (1996) TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, 12(4), 357–358.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572–1574.
- Sartori, M., & Landolt, P. (1999) *Atlas de distribution des Ephémères de Suisse (Insecta, Ephemeroptera)*. Fauna helvetica 3, SEG-CSCF, Neuchâtel, 214 pp.,
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. & Flook, P. (1994) Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annales of Entomological Society of America*, 87, 651–701.
- Soldán, T. (1977) *Baetis baksan* sp.n., a new species of mayfly (Ephemeroptera, Baetidae) from Central Caucasus. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, 74(4), 229–231.
- Soldán, T., Godunko, R.J. & Thomas, A.G.B. (2005) *Baetis chelif* n. sp., a new mayfly from Algeria with notes on *B. sinospinosus* SOLDÁN & THOMAS, 1983, n. stat. (Ephemeroptera: Baetidae). *Genus*, 16, 155–165.
- Soldán T. & Godunko R.J. (2009) *Baetis zdenkae* sp. nov., a new representative of the *Baetis buceratus* species-group (Ephemeroptera: Baetidae) from Rhodos (Greece) with notes to species-grouping of the subgenus *Baetis* Leach, 1815 s. str. *Zootaxa*, 1972, 1–19.
- Soldán, T. & Godunko, R.J. (2008) Two new species of the genus *Baetis* Leach, 1815 (Ephemeroptera: Baetidae) from Cyprus. *Annales Zoologici*, 58 (1), 79–104.
- Ståhls, G. & Savolainen, E. (2007) MtDNA COI barcodes reveal cryptic diversity in the *Baetis vernus* group (Ephemeroptera, Baetidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 46, 82–87.
- Swofford, D.L. (2002) PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods), version 4.b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Ratnasingham S. & Hebert P.D.N. (2007) BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, 7(3), 355–364.
- Tamura K., Dudley J., Nei M. & Kumar S. (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24, 1596–1599.
- Waltz, R.D., McCafferty, W.P. & Thomas, A. (1994) Systematics of *Alainites* n. gen., *Dipheter*, *Indobaetis*, *Nigrobaetis* n. stat., and *Takobia* n. stat. (Ephemeroptera, Baetidae). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, 130, 33–36.
- Waltz, R.D. & McCafferty, W.P. (1997) New generic synonymies in Baetidae (Ephemeroptera). *Entomological News*, 108(2), 134–140.
- Waltz, R.D. & McCafferty, W.P. (1987a) New genera of Baetidae for some Nearctic species previously in *Baetis* Leach (Ephemeroptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 80 (5), 667–670.
- Waltz, R.D. & McCafferty, W.P. (1987b) Systematics of *Pseudocloeon*, *Acentrella*, *Baetiella*, and *Liebebiella*, new genus (Ephemeroptera: Baetidae). *Journal of the New York Entomological Society*, 95(4), 553–568.

- Webb J.M., Sun L., McCafferty W.P. & Ferris V.R. (2007) A new species and new synonym in *Heptagenia* Walsh (Ephemeroptera : Heptageniidae : Heptageniinae) based on molecular and morphological evidence. *Journal of Insect Science*, 7, 63, available online: insectscience.org/7.63
- Williams, H.C., Ormerod, S.J. & Bruford, M.W. (2006) Molecular systematics and phylogeography of the cryptic species complex *Baetis rhodani* (Ephemeroptera, Baetidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40(2), 370–382.
- Wiens, J.J. (2004) The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Systematic Biology* 53(4), 653–661.
- Wiemers, M. & Fiedler, K. (2007) Does the DNA barcoding gap exist? - a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Frontiers in Zoology*, 4, doi:10.1186/1742-9994-4-8.
- Wortley, A.H. & Scotland, R.W. (2006) The effect of combining molecular and morphological data in published phylogenetic analyses. *Systematic Biology*, 55 (4), 677–685.
- Zimmermann, W. (1980) Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Baetis* LEACH, 1815 (Insecta, Ephemeroptera) im Kaukasus und in Transkaukasien (UdSSR). *Entomologische Nachrichten*, 25 (78), 97–112.