

**“BABEȘ-BOLYAI” UNIVERSITY FROM CLUJ-NAPOCA**

**Faculty of Biology and Geology**

**Doctoral School of Integrative Biology**

**Taxonomia integrativă a Dipterelor acvatice și semiacvatice  
din România (Insecta, Diptera) și implicațiile în evaluarea  
biologică a apelor dulci pe baza datelor molecular**

**REZUMAT**

**PhD student:**

**TEREC Andrei-Bogdan**

**Scientific Supervisor:**

**Assoc. Prof. dr. Lujza KERESZTES**

**Cluj-Napoca,**

**2026**

## REZUMAT

Dipterele, sau muștele adevărate, reprezintă unul dintre cele patru grupuri megadiverse de insecte: Diptera, Coleoptera, Lepidoptera și Hymenoptera, care alcătuiesc majoritatea biodiversității animale a Pământului. Originile evolutive ale ordinului Diptera datează din perioada Permian târziu–Triasic timpuriu (aproximativ acum 245 de milioane de ani), dovezile fosile și filogenetice sugerând divergența acestora din linii ancestrale mecopteroide, alături de ordinele Trichoptera, Lepidoptera și Siphonaptera (Hennig 1981, Krzemiński și Evenhuis 2000, Marshall 2012). Având o istorie evolutivă atât de îndelungată, dipterele au colonizat cu succes toate regiunile biogeografice și zonele ecologice, inclusiv medii extreme, precum Antarctica (Usher și Edwards 1984). De asemenea, dipterele constituie o componentă importantă a biodiversității mediilor acvatice și semiacvatice, prezentând adaptări variate la o gamă largă de tipuri de ape (Adler și Courtney 2019).

Denumirea Diptera provine din cuvintele grecești *di* (doi) și *ptera* (aripi), făcând referire la trăsătura morfologică definitorie a grupului: prezența unei singure perechi de aripi funcționale. A doua pereche (posterioară) de aripi este redusă evolutiv la structuri mici cunoscute sub numele de haltere. Această adaptare la zborul cu o singură pereche de aripi a condus la dezvoltarea accentuată a mezotoracelui, segmentul toracic median, care reprezintă un caracter morfologic-cheie în identificarea multor specii de diptere (Yeates și Wiegmann 2005).

Dipterele prezintă metamorfoză completă (holometabolă), caracterizată printr-un ciclu de viață format din patru stadii distincte: ou, larvă, pupă și adult. Stadiul de ou este, de regulă, scurt, durând de la câteva zile până la câteva săptămâni. Dezvoltarea larvară implică, în general, trei stadii larvare la Brachycera și patru la dipterele inferioare, deși anumite grupuri, precum Simuliidae, Tabanidae, Thaumaleidae și unele Chironomidae, pot prezenta stadii suplimentare. Durata stadiului larvar variază de la aproximativ două săptămâni până la câteva luni, în funcție de taxon și de condițiile de mediu. Și stadiul pupal diferă ca durată între specii. Longevitatea adulților este extrem de variabilă, de la mai puțin de două ore la unele Deuterophlebiidae, până la câteva săptămâni sau chiar luni la alte taxoane (Courtney et al. 2017, Adler și Courtney 2019, Sarwar 2020).

Ordinul Diptera este împărțit în mod tradițional în două subordine: subordinul Nematocera – considerate „primitive”, un grup eterogen de muște în general delicate, cu antene multisegmentate (de exemplu, muștele negre, țânțarii, muștele de baltă, musculițele fără mușcătură, țânțarii de ciuperci) – și subordinul Brachycera, care include muștele „avansate”, în general mai compacte, cu antene scurte, stiliforme (musca domestică, tăunii, muștele albină,

muștele snipe). Ambele grupuri sunt subdivizate în numeroase superfamilii și familii (Oosterbroek 2006, Marshall 2012).

Nematocera reprezintă un grup artificial, parafiletic, unele dintre taxoane fiind mai strâns înrudite cu subordinul Brachycera și caracterizate prin trăsături primitive sau plesiomorfe, similare celor întâlnite la ordine înrudite (de exemplu, Mecoptera). În schimb, Brachycera constituie un grup natural, monofiletic, cu caractere care nu sunt împărtășite de alte grupuri. Subordinul Brachycera poate fi împărțit în „Brachycera inferioare” și Empidoidea, pe de o parte, și Brachycera superioare (sau Cyclorrhapha), pe de altă parte (Yeates et al. 2007, Marshall 2012).

### **Diptere acvatice și semiacvatice – sinteză succintă**

În ecosistemele acvatice, dipterele reprezintă mai mult de jumătate din totalul speciilor de insecte înregistrate (Sundermann et al. 2007), ocupând o gamă excepțional de largă de habitate, inclusiv mări, oceane, bălți saline litorale, toate tipurile de ape stagnante (lacuri, iazuri, mlaștini), ape subterane, izvoare reci sau termale (Courtney și Cranston 2015). Ele pot supraviețui și prospera în toate tipurile de habitate de apă dulce și domină frecvent comunitățile de macroinvertebrate bentonice din punct de vedere numeric (Sundermann et al. 2007, Marshall 2012, Dobson 2013, Oosterbroek 2016, Borkent et al. 2018).

Majoritatea larvelor de diptere sunt libere și se deplasează activ în habitatele lor, care pot include apa, sedimentele, lemnul saturat, frunzișul umed, fructele sau materia organică în descompunere. În timp ce familii precum Chaoboridae, Chironomidae, Culicidae și Simuliidae sunt tipic acvatice, altele exploatează sedimentele (Ceratopogonidae, Psychodidae, Tabanidae, Tipulidae), lemnul și frunzele (Axymyiidae, Limoniidae, Syrphidae) sau substraturile organice în descompunere (Ephydriidae, Muscidae, Sarcophagidae, Sphaeroceridae), ilustrând diversitatea ecologică remarcabilă a habitatelor larvare din cadrul Diptera (Courtney et al. 2017, Adler și Courtney 2019). În general, delimitarea speciilor strict acvatice de cele dependente de apă este dificilă (Wagner et al. 2008, Dobson 2013).

Stadiul pupal al dipterelor acvatice reflectă, de asemenea, această diversitate ecologică și poate fi încadrat în patru categorii principale: (1) pupe înotătoare libere, care se ridică la suprafață la emergența adultului (de exemplu, Chaoboridae, Culicidae și majoritatea Chironomidae); (2) pupe atașate de substratul bentonic (de exemplu, Blephariceridae, Deuterophlebiidae, Simuliidae și unele Chironomidae, Psychodidae și Tipuloidea); (3) pupe care pătrund în substraturile marginale (de exemplu, Athericidae, Tabanidae și unele Tipuloidea); și (4) pupărirea (de

exemplu, Ephydriidae, Sciomyzidae, Stratiomyidae și Syrphidae), o formă specială de pupare în interiorul tegumentului ultimei larve (Adler și Courtney 2019).

Deși majoritatea adulților de diptere acvatice rămân în apropierea apei, unele specii se pot dispersa pe distanțe de câțiva kilometri față de habitatele acvatice pentru a obține mesele de sânge necesare dezvoltării ovariene (Ceratopogonidae, Culicidae, Simuliidae, Tabanidae), în timp ce altele își petrec mare parte din viața adultă planând deasupra suprafeței apei (Chironomidae, Empididae, Dolichopodidae). Per ansamblu, majoritatea adulților au doar o asociere directă limitată cu mediile acvatice (Adler și Courtney 2019).

Conform estimărilor recente, aproximativ 46.000 de specii de Diptera prezintă cel puțin un stadiu de dezvoltare asociat mediului acvatic, fie ca larve, fie ca pupe (Adler și Courtney 2019). La nivel global, din cele 158 de familii de Diptera recunoscute, 41 de familii (aproximativ 26%) includ specii cu stadii acvatice în ciclul de viață, dintre care 20 sunt considerate acvatice cel puțin în stadiul larvar (Adler și Courtney 2019). În Europa, au fost înregistrate 130 de familii de diptere, dintre care aproximativ 25 sunt asociate cu habitatele acvatice (Oosterbroek 2006).

### **Evaluarea biologică a apelor dulci folosind Diptera acvatice și semiacvatice – probleme și perspective**

Dipterele acvatice sunt indicatori excelenți ai calității apei (Adler și Courtney 2019). Cunoașterea și înțelegerea vieții acvatice sunt esențiale pentru înțelegerea istoriei naturale, a evoluției și a ecologiei.

Prima evaluare documentată de biomonitorizare datează din 1907, când indicele saprobic a fost utilizat pentru detectarea poluării organice în Europa Centrală (Kolkwitz et al. 1909). De atunci, metodele s-au dezvoltat și diversificat, utilizând diferite grupuri biologice.

Pentru protejarea ecosistemelor acvatice este esențial ca poluanții, indiferent de natura lor, să poată fi detectați și monitorizați. Un obiectiv principal al biomonitorizării apelor dulci este evaluarea impactului relativ al poluării asupra comunităților biologice din apele de suprafață (Metcalf 1989, Morse et al. 2007). În ultimele decenii, programe de evaluare și biomonitorizare a ecosistemelor acvatice au fost implementate la nivel global pentru a sprijini evaluările de impact asupra mediului și pentru a furniza date solide destinate protecției și restaurării ecosistemelor de apă dulce (Directiva-cadru privind apa a UE, Clean Water Act din SUA) (Elbrecht și Leese 2017a). Macronevertebratele sunt recunoscute ca indicatori-cheie ai integrității ecologice a sistemelor de apă dulce și reprezintă în prezent cele mai utilizate organisme în evaluarea calității apei la nivel mondial (Leese et al. 2018, Ge et al. 2021). Insectele acvatice sunt bioindicatori deosebit de robuști ai calității apelor dulci, deoarece multe

taxoane prezintă răspunsuri distincte și adesea previzibile la variațiile condițiilor de mediu, oferind informații valoroase despre starea ecosistemelor și impactul antropic (Metcalf 1989, Lenat 1993, Barbour et al. 1999, Morse et al. 2007, Sundermann et al. 2007, Elbrecht și Leese 2017b, Adler și Courtney 2019, Santos și Ferreira 2020).

Implementarea Directivei-cadru privind apa (DCA) în anul 2000 a asigurat ca integritatea ecosistemelor să devină un element central în managementul resurselor de apă (EC 2000). Scopul principal al DCA este stabilirea unui cadru cuprinzător pentru implementarea strategiilor de gestionare durabilă a apelor, asigurând protecția pe termen lung a resurselor de apă. Statele membre sunt obligate să evalueze starea ecologică a corpurilor de apă prin compararea condițiilor actuale cu starea de referință așteptată, utilizând un sistem de monitorizare riguros structurat și standardizat la nivel de specie (Leese et al. 2016, 2018). Obiectivele principale includ protecția și îmbunătățirea calității mediului acvatic și atingerea „stării bune” pentru toate corpurile de apă de suprafață și subterane până în anul 2015 (EC 2000) sau cel târziu până în 2027 (Poikane et al. 2014).

Se utilizează o metodă de eșantionare multihabitat, care permite o evaluare mai specifică a condițiilor râurilor pe baza principalelor grupuri de bioindicatori (Cheshmedjiev et al. 2011). Această metodologie integrează șapte indici principali: saprobic, Ephemeroptera–Plecoptera–Trichoptera (EPT), Oligochaeta–Chironomidae, bogăția familială, diversitatea Shannon–Wiener, tipul de hrănire și preferința pentru zonarea cursului de apă (AQEM 2002). Calcularea acestor indici, care generează împreună Indicele Multimetric (IM) utilizat pentru caracterizarea stării ecologice a habitatelor de apă dulce, necesită identificarea la nivel de specie și cunoașterea detaliată a trăsăturilor bioindicative asociate fiecărei specii.

Identificarea indivizilor la nivel de specie pe baza criteriilor morfologice rămâne o problemă majoră (dacă nu imposibilă) în majoritatea grupurilor, în special în cazul larvelor morfologic criptice. De la adâncurile oceanelor până la izvoarele de pe vârfurile munților, viața acvatică reflectă condițiile de mediu și oferă servicii ecosistemice pentru o gamă largă de comunități (Rouillard et al. 2018, Borgwardt et al. 2019). Din aceste motive, capacitatea de a evalua biodiversitatea acvatică și de a urmări modificările sale temporale este de importanță crucială, nu doar pentru prevenirea pierderii biodiversității, ci și pentru protejarea bunăstării umane (Weigand et al. 2019).

## Obiectivele tezei

(1) Obiectivul principal al acestei teze de doctorat este actualizarea și extinderea cunoștințelor existente privind fauna de Diptera din România printr-o abordare taxonomică integrativă, care combină date moleculare, analiza morfologică clasică și caracterizarea ecologică, incluzând rolurile trofice și preferințele de habitat. Această cercetare își propune să acopere lacune critice de cunoaștere prin generarea și aplicarea informațiilor genetice. Integrarea acestor date devine din ce în ce mai importantă, nu doar pentru delimitarea corectă a speciilor în taxonomie, ci și pentru aplicațiile în evaluarea ecologică și practicile de biomonitorizare.

(2) Al doilea obiectiv al cercetării este evaluarea utilității metodelor de barcodare, în special a secvențelor barcode *mtCOI*, pentru identificarea speciilor în taxonomia Diptera. Identificarea la nivel de specie este esențială, însă abordările morfologice clasice eșuează adesea în distingerea speciilor criptice.

(3) Al treilea obiectiv major al studiului este îmbunătățirea protoalelor naționale de bioevaluare a ecosistemelor de apă dulce prin introducerea de noi specii bioindicator potrivite pentru biomonitorizare în România. Acest lucru va fi realizat prin dezvoltarea unei baze de date genetice de referință (bibliotecă de coduri de bare ADN) pentru taxonii locali de Diptera.

## MATERIALE ȘI METODE

Stațiile de eșantionare includ ape dulci din Carpați, desemnați drept regiunea biogeografică EC10 de către Illies (1966), întrucât majoritatea faunei regionale (endemice) sau insuficient studiate de Diptera se regăsește în apele montane.

Probele au fost colectate din Carpații Orientali – în special Munții Rodnei, Maramureșului și Bucovinei –, din Carpații Meridionali, incluzând Munții Bucegi, Făgăraș, Parâng și Retezat-Godeanu, precum și din Carpații Occidentali ai României, respectiv Munții Banatului și Munții Apuseni. În total, au fost investigate 371 de situri diferite în perioada 2018–2024. Descrieri detaliate sunt furnizate pentru siturile în care au fost identificate specii noi pentru fauna României. De asemenea, au fost incluse și examinate în această teză mai multe exemplare colectate de alți cercetători, numele colectoarelor fiind menționate acolo unde a fost cazul.

## REZULTATE

În perioada 2018–2024 au fost colectate peste 20.000 de exemplare de Diptera din diverse locații. Dintre acestea, un total de 8.832 de indivizi de Diptera acvatice și semiacvatice (4.366 larve, 387 pupe, 3.267 masculi adulți și 812 femele adulte), aparținând a 32 de familii (18 familii

din subordinul Nematocera și 14 familii din subordinul Brachycera), au fost selectați pentru analiza morfologică.

### **Reevaluarea biodiversității Diptera acvatice și semiacvatice din România, pe baza datelor morfologice și moleculare – revizuire taxonomică a unor grupuri selectate**

Secvențe de cod de bare ADN au fost obținute cu succes pentru un total de 1.643 de exemplare, incluzând 614 larve, 21 de pupe și 1.008 adulți. În total, au fost identificate 465 de secvențe barcode distincte, corespunzătoare la 323 de specii. Dintre acestea, 99 de secvențe barcode reprezintă contribuții noi în baza de date BOLD. Per ansamblu, au fost documentate 587 de specii de Diptera acvatice și semiacvatice în România, dintre care 63 sunt raportate pentru prima dată în fauna națională.

### **Morfologia și datele moleculare relevă prezența genului *Mochlonyx* Loew, 1844 în Carpați, cu o listă adnotată a familiei Chaoboridae (Insecta, Diptera) din România**

Țânțarii fantomă (Chaoboridae, Diptera) sunt muște ce aparțin unei familii de diptere inferioare acvatice (Culicomorpha), fiind strâns înrudite cu țânțarii (Culicidae) (Sæther 1970, 1997; Borkent 2012; da Silva et al. 2020; Lorenz et al. 2021). Adulții sunt foarte asemănători cu Culicidele prin nervația aripilor, prezența perișorilor solzoși pe marginea aripilor și antenele mari, penate, la masculi, însă se deosebesc prin piese bucale mai mici, iar femelele nu se hrănesc cu sânge (Borkent 2012; Salmela et al. 2021).

Larvele și pupele de Chaoboridae sunt acvatice, întâlnite frecvent în diverse tipuri de ape stagnante permanente sau temporare (Sardella și Carter 1983). Larvele trec prin patru instare de dezvoltare. Ultimul instar prezintă larve de dimensiuni variabile – mici (6–9 mm) până la mari (10–22 mm) (Sæther 2002; Salmela et al. 2021) – cu mandibule puternice și antene prehensile utilizate pentru a captura prada, în special microcrustacee și larve de Culicidae (Lock et al. 2014; Kruppert et al. 2019). Prezența a două sau trei perechi de saci aerieni permite ajustarea poziției în apă în funcție de comportamentul prădător (Teraguchi 1975). Majoritatea larvelor trăiesc în bălți mici, adesea temporare, formate prin topirea zăpezii sau ploi abundente de vară, și prezintă spiracule metapneustice adaptate la respirația aeriană (*Mochlonyx* și *Cryophila*). Genul *Chaoborus*, singurul strict lacustru, a dezvoltat un sistem apneustic și respirație cutanată (Krogh 1911; Cook 1956). *Chaoborus flavicans* Meigen, 1830 și *Ch. crystallinus* (De Geer, 1776) sunt excepții adaptate la lacuri mari cu pești, prin migrație verticală și toleranța la concentrații scăzute de oxigen din adâncimi, evitând astfel prădarea (Dawidowicz et al. 1990). Pupele prezintă palete

natatoare articulate la ultimul segment abdominal și un sistem respirator specific ce le asigură poziționarea verticală și stabilitatea în timpul emergenței (Parma 1971; Borkent 2012).

La nivel global au fost descrise doar 53 de specii de Chaoboridae (Salmela et al. 2021). Conform ultimei clasificări (Sæther 2002), familia este reprezentată de numai 6 genuri actuale. Exceptând genul cosmopolit *Chaoborus* A.A.H. Lichtenstein, 1800, celelalte au distribuții mai restrânse: *Mochlonyx* Loew, 1844 este holarctic; *Cryophila* Edwards, 1930 este palearctic; *Eucorethra* Coquillett, 1903 este nearctic; *Australomochlonyx* Freeman, 1962 și *Promochlonyx* Edwards, 1930 aparțin regiunii australiene. În Europa sunt cunoscute 11 specii de Chaoboridae, aparținând genurilor *Cryophila*, *Mochlonyx* și *Chaoborus* (Edwards 1930; Borkent 1993, 2011, 2014; Salmela et al. 2021), dintre care numai 6 specii au fost semnalate până acum în Europa Centrală (Sæther 2002).

### ***Twinnia hydroides* Novák, 1954 (Diptera: Simuliidae) în Carpații României: date moleculare și morfologice integrative oferă clarificări asupra unei dileme de lungă durată**

Identificarea la nivel de specie a devenit, în ultimele decenii, piatra de temelie a evaluării biologice a apelor dulci (Sayer et al. 2025). Disponibilitatea pe scară largă a studiilor morfologice detaliate și a instrumentelor moleculare permite o evaluare completă a biodiversității chiar și în cadrul taxonilor dificil de studiat sau neglijați (Ratnasingham și Hebert 2007, Stein et al. 2014, Weigand et al. 2019). Familia Simuliidae (Insecta, Diptera) contribuie semnificativ la serviciile ecosistemice acvatice, datorită modului de hrănire filtrant al larvelor în diverse tipuri de ape dulci (Ciadamirado et al. 2016, Tepliuk 2019). Adulții au o importanță medicală și veterinară majoră, deoarece femelele hematofage pot fi vectori ai agenților patogeni în multe regiuni ale lumii, inclusiv în Europa (Rivera și Currie 2009, Adler et al. 2010, Hamada et al. 2010, Adler și McCreadie 2019).

Genul *Twinnia* Stone și Jamnback, 1955 este un gen mic de Simuliidae, cu doar 10 specii în regiunea Holarctică (Adler 2025). Genul a fost descris pentru prima dată de Stone și Jamnback (1955) în America de Nord, fiind denumit în onoarea lui C.R. Twin, pentru contribuțiile sale remarcabile la cunoașterea țânțarilor negri canadieni (*Simuliidae*). *Twinnia* se deosebește de genul înrudit cel mai apropiat, *Gymnopais* Stone, 1949, prin mai multe trăsături morfologice ale adulților, pupelor și larvelor (Stone și Jamnback 1955, Jedlička și Stloukalová 1997).

Majoritatea speciilor de *Twinnia* sunt distribuite în Asia (șase specii) și America de Nord (trei specii) (Adler 2025). În Europa, singura specie semnalată este *Twinnia hydroides* (Novák 1956) (Usova 1987, Jedlička și Stloukalová 2004, Jedlička 2006). Totuși, au existat probleme și date incerte privind taxonomia și distribuția *T. hydroides*, datorită dificultăților de comunicare

științifică din anii 1950 și lipsei de date faunistice regionale actualizate, ceea ce a ridicat întrebări asupra prezenței speciei în Carpații Sud-Estici (Kúdela și Stloukalová 2007, Stloukalová și Jedlička 2007, Jedlička 2019, Adler 2025).

Genul *Twinnia* (sub denumirea *Gymnopais*) a fost raportat pentru prima dată în zona paleartică de Novák (1956), care a descris specia *T. hydroides* ca *Gymnopais* sp. (*hydroides* mihi), acum plasată în genul *Twinnia* (Jedlička 2019). Descrierea inițială s-a bazat pe o pupe femelă și o exuvie pupală din Munții Tatra Inferiori (Lučianka, sub Ďumbier, Slovacia), urmând taxonomia și nomenclatura lui Rubtsov (1940). Denumirea „*hydroides*” se referă la filamentul branhial al pupei, asemănător unei hidre (Cnidaria) (Novák 1956).

Descrierea *T. hydroides* a reprezentat o provocare taxonomică, rezumată recent de Jedlička (2019) într-o sinteză a vieții și cercetării lui Novák. Descrierea taxonomică poate fi reconstruită din surse multiple și dovezi indirecte, uneori incluzând evoluții neașteptate și înregistrări discutabile. În același an, Rubtsov (1956) a publicat o monografie asupra faunei Simuliidae din fostul URSS, listând specia ca *G. hydroides* Novák, 1956, însoțită de o descriere detaliată, dar fără referințe citate. Aceasta se baza probabil pe un manuscris oferit de Novák, completat cu material suplimentar (masculi, exuvii masculine și larve) colectat și crescut în laborator de Novák, trimis lui Rubtsov pentru examinare (Novák 1957a, Jedlička 2019).

Ulterior, Novák a revizuit denumirea genului la *Twinnia* (conform Stone și Jamnback 1955) și a redescris specia în 1957 ca *Twinnia hydroides* sp. n., folosind exemplare colectate din izvoare și habitate montane din Boemia de Nord-Est (Cehia) și Tatra Înaltă (Slovacia), incluzând larve, pupe și adulți, precum și locații suplimentare și informații morfologice noi (Novák 1957a, 1957b, Jedlička 2019).

Comparând populațiile din Carpați (Slovacia) și sistemele muntoase Hercyniene (Cehia), Novák a observat diferențe minore în morfologia larvelor, masculilor și femelelor (dar nu a pupelor), precum și în altitudinea și momentul emergenței diferitelor stadii de dezvoltare. Aceste observații l-au determinat să descrie o nouă specie, *T. tatrensis* Novák, 1959, bazată pe material din Munții Tatra, colectat din aceeași localitate unde *T. hydroides* fusese descris inițial. Comparând mai multe exemplare și observând variabilitatea morfologică suprapusă, Knoz (1980) a concluzionat că aceeași specie se găsește atât în Carpați, cât și în Munții Hercynieni, respectiv *T. hydroides*.

Un ultim aspect important provine din colecția Institutului Zoologic din St. Petersburg (Rusia), în colecția Pávay, unde un mascul de *T. hydroides* a fost depozitat, cu date de colectare din 1923 din Munții Rodnei, România (Yankovsky 2010). Acest exemplar a fost cel mai probabil necunoscut lui Novák (1956, 1957a, 1959) și lui Dinulescu (1966), care în monografia sa despre Simuliidae din România menționa ambele specii ca potențial prezente în Carpați. Totuși, datele

lui Dinulescu au fost tratate ca informații faunistice reale de către autori ulteriori, posibil din cauza dificultăților de traducere a informațiilor originale publicate în română.

Scopul principal al acestui studiu a fost să aducem date noi privind distribuția *T. hydroides* în Carpații Sud-Estici și să confirmăm prezența speciei în două enclave distincte din Munții Apuseni și Munții Rodnei, România. Pe baza datelor integrative, ne propunem, de asemenea, să clarificăm dilema dacă în Carpații României există una sau două specii diferite de *Twinnia*.

### **Lista adnotată a dipterelor acvatice și semiacvatice din România – contribuții cu date faunistice și taxonomice noi**

Un total de 32 de familii de Diptera, cuprinzând aproximativ 2.075 de specii acvatice și semiacvatice, au fost raportate anterior din România. Dipterele reprezintă grupul de macroinvertebrate cu cea mai mare bogăție specifică în ecosistemele acvatice investigate de noi, fiind identificate 587 de specii aparținând a 32 de familii diferite, susținute și de datele noastre de coduri de bare ADN (Figura 80 și Anexa 1), dintre care 63 reprezintă noi înregistrări pentru fauna României. Aceste specii nou raportate sunt distribuite în 37 de genuri din cadrul a 17 familii (Figura 81). În consecință, numărul total cunoscut de specii de Diptera acvatice și semiacvatice din România crește la 2.138.

Biblioteca de coduri de bare ADN dezvoltată în acest studiu constituie primul set de date de referință la nivel regional, incluzând 323 de morfospecii, și are potențialul de a îmbunătăți semnificativ biomonitorizarea apelor dulci de înaltă calitate (Anexa 1). Cu toate acestea, lacunele substanțiale identificate în biblioteca regională de coduri de bare ADN, împreună cu lipsa unor revizuri taxonomice cuprinzătoare, continuă să limiteze aplicabilitatea largă a markerului mitocondrial citocrom c oxidaza subunitatea 1 (mtCOI) ca metodă eficientă, economică și fiabilă de identificare la nivel de specie.

### **Îmbunătățirea protocoalelor naționale de bioevaluare a apelor dulci pe baza datelor moleculare ale speciilor de Diptera acvatice și semiacvatice din România**

Aproximativ 2.075 de specii acvatice și semiacvatice de Diptera, aparținând a 32 de familii, au fost raportate anterior din România. Un total de 8.832 de indivizi de Diptera acvatice și semiacvatice (4.366 larve, 387 pupe, 3.267 masculi adulți și 812 femele adulte), reprezentând 32 de familii, au fost selectați pentru analiza morfologică. Investigația noastră a identificat 587 de specii de Diptera acvatice și semiacvatice, incluzând 63 de noi înregistrări pentru fauna

națională. Aceste taxoane nou raportate aparțin la 37 de genuri din cadrul a 17 familii, ridicând numărul total cunoscut de specii de Diptera acvatică și semiacvatică din România la 2.138.

Datele moleculare au îmbogățit suplimentar acest inventar. Coduri de bare ADN au fost obținute cu succes pentru 1.643 de exemplare (614 larve, 21 de pupe și 1.008 adulți), generând 465 de secvențe barcode unice, corespunzătoare la 323 de specii. Dintre acestea, 99 de coduri de bare reprezintă intrări noi în sistemul Barcode of Life Data System (BOLD), în timp ce alte 46 de secvențe – deși în prezent fără identificare la nivel de specie – constituie, de asemenea, contribuții noi la biblioteca globală de referință (Figura 83).

Pentru a facilita aplicarea rezultatelor noastre în biomonitorizare, furnizăm un set de date ce include trei parametri bioindicator esențiali – valori saprobice, tipuri de hrănire și preferințe pentru zonarea cursului de apă. Acești parametri sunt necesari pentru calcularea indicelui multiparametric, punctul final al metodei de eșantionare multihabitat utilizate în monitorizarea specifică a stării ecologice (Marcoci 1984, Schmidt-Kloiber și Hering 2015). Pentru fiecare specie sunt furnizate, de asemenea, codurile BIN asociate, prin intermediul sistemului BOLD.

Prin generarea de noi date genetice pentru 323 de specii de Diptera acvatică și completarea unor lacune critice din bazele de date internaționale de referință, acest studiu contribuie substanțial la îmbunătățirea practicilor de biomonitorizare. La nivel național, lista actualizată a Diptera, împreună cu integrarea parametrilor de bioindicație, permite completarea listei oficiale de macroinvertebrate bioindicator cu încă 366 de specii bine documentate.

## CONCLUZII GENERALE

(1) Această teză oferă o contribuție amplă la cunoașterea dipterelor din România, prin integrarea datelor morfologice, ecologice și moleculare. Au fost identificate 587 de specii de Diptera acvatică și semiacvatică, incluzând 63 de specii nou înregistrate pentru fauna României. Aceste taxoane nou documentate aparțin la 37 de genuri și 17 familii, crescând numărul total cunoscut de specii de Diptera acvatică și semiacvatică din România la 2.138. Pentru speciile identificate sunt furnizate, de asemenea, tipul de hrănire și preferința pentru zonarea cursului de apă, precum și indicele saprobic, acolo unde este disponibil.

(2) Rezultatele confirmă utilitatea barcodării ADN, în special a secvențelor *mtCOI*, ca instrument eficient și fiabil pentru identificarea speciilor de Diptera acvatică și semiacvatică. Coduri de bare ADN au fost obținute cu succes pentru 1.643 de exemplare, rezultând 465 de secvențe unice. Pentru 323 de specii s-a observat un grad ridicat de concordanță între datele morfologice și delimitarea moleculară a speciilor, demonstrând fiabilitatea barcodării ADN atunci când sunt disponibile baze de date de referință de înaltă calitate. Recomandăm integrarea acestor metode

noi, accesibile și eficiente în protocoalele oficiale naționale de bioevaluare, în vederea creșterii rigurozității și acurateței evaluărilor ecologice.

(3) Un total de 46 de BIN-uri noi corespund unor exemplare care nu au putut fi identificate morfologic la nivel de specie. Aceste limitări reflectă stadiul de dezvoltare al materialului (larve, pupe sau femele adulte lipsite de caractere diagnostice), proveniența exemplarelor din regiuni slab investigate și apartenența acestora la grupuri taxonomice insuficient studiate în România (de exemplu, Ceratopogonidae, Chironomidae, Psychodidae și Empididae). Mai mult, unele dintre aceste BIN-uri reprezintă probabil specii încă nedescrise, subliniind necesitatea unor revizuri taxonomice cuprinzătoare, pe care intenționăm să le abordăm în studii viitoare. Absența secvențelor de referință corespunzătoare din bazele de date internaționale împiedică în prezent identificarea la nivel de specie chiar și prin metode moleculare, evidențiind lacunele existente în depozitele genetice și necesitatea continuării cercetărilor taxonomice integrative.

(4) Ca rezultat major al acestei cercetări, a fost creată o bibliotecă de referință cuprinzătoare de coduri de bare ADN, care include în prezent 323 de specii de Diptera confirmate morfologic din România. În plus, identificarea a 366 de specii propuse ca bioindicatori noi nu doar că îmbogățește inventarul faunistic național, ci oferă și date valoroase care vor sprijini și îmbunătăți acuratețea și eficiența protocoalelor de bioevaluare a apelor dulci. Cele 99 de secvențe barcode ADN nou generate reprezintă o contribuție importantă la bazele de date genetice internaționale, susținând eforturile de îmbunătățire a bazelor globale de referință privind biodiversitatea. Majoritatea acestor înregistrări noi provin din comunități de Diptera acvatice și semiacvatice care au fost istoric insuficient studiate, în special cele din ecosisteme montane de altitudine mare, precum izvoarele reocrine, pâraiele alimentate de izvoare, izvoarele mlăștinoase și izvoarele minerale.

(5) În ansamblu, această cercetare avansează semnificativ înțelegerea biodiversității Diptera acvatice și semiacvatice din ecosistemele de apă dulce ale României. Prin furnizarea unor instrumente de identificare de înaltă acuratețe, extinderea bibliotecii de referință de coduri de bare ADN și evidențierea taxonilor și habitatelor neglijate, teza oferă o bază solidă pentru cercetări taxonomice viitoare, consolidează protocoalele regionale de bioevaluare și sprijină conservarea pe termen lung și gestionarea durabilă a ecosistemelor de apă dulce.

## Performanța științifică

### Lista publicațiilor incluse în teză

**Terec AB**, Dénes AL, Dénes A, Jancsó B-Z, Dénes A, Keresztes L (2025) *Twinnia hydroides* Novák, 1956 (Diptera: Simuliidae) in the Romanian Carpathians: integrative molecular and morphological data shed light on a long-standing dilemma. The European Zoological Journal 92(1): 863–875. <https://doi.org/10.1080/24750263.2025.2534163>.

**Terec AB**, Dénes AL, Dénes A, Jancsó B-Z, Keresztes L (2024) Morphology and molecular data reveal the presence of *Mochlonyx* Loew, 1844 in the Carpathians with an annotated list of Chaoboridae (Insecta, Diptera) from Romania. North-Western Journal of Zoology 20 (2): 99–108. Article No.: e241303.

Keresztes L, **Terec AB**, Jancsó B-Z, Dénes AL, Dénes A (2023) Small flies with high conservation value: first reliable record of *Hyperoscelis veternosa* (Diptera, Canthyloscelidae) from Romania supported by DNA barcode data. Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle “Grigore Antipa” 66(1): 165–171. <https://doi.org/10.3897/travaux.66.e105107>.

Keresztes L, Cîmpean M, Battes K, Denes A, **Terec AB** (2021) *Dicranomyia (Idiopyga) nigristigma* Nielsen, 1919 (Diptera, Limoniidae) recorded for the first time from calcareous springs in Romania. Entomologica Romanica 25: 31–34. <http://dx.doi.org/10.24193/entomolrom.25.4>.

### Lista publicațiilor neincluse în teză

Mabrouki Y, **Terec AB**, Taybi FA, Dénes A, Keresztes L (2023) Taxonomic notes and key to the West Palearctic *Antocha* (*Antocha*) Osten Sacken, 1860 (Diptera, Limoniidae) with description of a new species from Morocco. Biodiversity Data Journal 11: e103849. <https://doi.org/10.3897/BDJ.11.e103849>.