

UNIVERSITATEA „BABEȘ-BOLYAI” CLUJ-NAPOCA

Facultatea de Biologie și Geologie

Școala Doctorală Biologie Integrativă

**Taxonomia integrativă a plecopterelor din România (Insecta,
Plecoptera) și implicarea în evaluarea biologică a apelor
dulci pe baza datelor moleculare**

REZUMAT

Student-doctorand:

DÉNES Anna

Conducător științific:

Conf. univ. dr. KERESZTES Lujza

Cluj Napoca,

2025

REZUMAT

Plecoptere (Insecta: Plecoptera) sunt un grup de insecte acvatice vechi, hemimetabolice, cu stadii de viață de ou, nimfă și adult, foarte esențiale în rețelele trofice acvatice și terestre, importante în evaluările biologice, istoria lor evolutivă, ajută la înțelegerea proceselor biogeografice și filogenetice și a relațiilor dintre diferiți taxoni, de asemenea posedă trăsături evolutive unice. Toate acestea fac din ele un grup de insecte cu adevărat special, dar insuficient explorat, și atrag atenția asupra conservării lor.

Taxonomia plecopterelor a început în lucrarea istorică a lui C. Linné, *Systema Naturae* (1758), iar până în sec. al XXI-lea, când a început să fie aplicată o abordare taxonomică integrativă, datorită noilor metode moleculare disponibile, caracteristicile morfologice, în principal structurile genitale ale adulților au însemnat baza taxonomiei, alături de unele trăsături ecologice și comportamentale, cum ar fi bioacustica. În ciuda disponibilității pe scară largă a acestor noi metode moleculare, pentru România secvențele ADN a plecopterelor sunt rare, practic inexistente în bazele de date internaționale (BOLD, NCBI).

Lucrarea lui Kis Béla este remarcabilă și de bază în taxonomia plecopterelor românească, lucrarea sa detaliată cartea faunistică a plecopterelor din România (Kis 1974) este un ghid util pentru identificarea în stagiul adult a speciilor din țară și este o lucrare de referință cunoscută la nivel mondial pentru fauna de plecoptere din Carpați. Munții Carpații, sunt considerați un hotspot de biodiversitate pentru insectele acvatice, datorită poziției geografice (cu accent pe izolare), altitudinii reduse, fragmentării, geomorfologiei și peisajului eterogen, habitatelor bine conservate și impactului scăzut al glaciațiunii pleistocene, au primit întotdeauna o atenție deosebită în studiile faunei de Plecoptera din România.

Ca ordin major de insecte acvatice, plecoptere indică calitatea habitatelor de apă dulce, reacționând rapid la degradarea habitatelor, la schimbările condițiilor termice și la îmbogățirea cu nutrienți, însă identificarea larvelor lor pare imposibilă la nivel de specie. Metodele de ADN cu coduri de bare urmăresc să faciliteze identificarea la nivel de specie a taxonilor și stagiilor de viață critice din punct de vedere morfologic, în special în cazul insectelor bioindicatoare, îmbunătățind astfel bioevaluarea habitatelor acvatice. Această metodă este eficientă numai atunci când există biblioteci de referință cu coduri de bare complete pentru anumiți taxoni.

Schița tezei:

Primul și principalul obiectiv al acestei teze este actualizarea cunoștințelor noastre despre fauna de plecoptere din România din punct de vedere taxonomic integrativ, care include date

moleculare, trăsături de comportament și morfologie clasică. Până în prezent datele moleculare despre speciile de plecoptere din țară sunt puține, deși acestea pot însemna informații cheie în zilele noastre, când abordarea genetică devine tot mai populară și disponibilă, fiind aplicată nu doar în taxonomie, ci și în bioevaluare.

Deoarece markerul molecular utilizat în studiile noastre a fost secvența codului de bare *mtCOI*, al doilea obiectiv important al acestui studiu este testarea eficacității metodelor de cod de bare în taxonomia plecoptelor și evidențierea semnificației acestora în îmbunătățirea biomonitorizării, unde identitatea la nivel de specie a stadiilor larvare criptice din punct de vedere morfologic este foarte importantă, dar imposibil de realizat pe baza caracteristicilor morfologice în cazul plecopterelor, unul dintre cei mai sensibili taxoni bioindicatori.

Prin testarea eficacității secvențelor de coduri de bare în identificarea la nivel de specie a larvelor de plecoptere, care sunt aproape imposibil de identificat pe baza morfologiei, și, în plus, prin crearea unei biblioteci naționale de referință de coduri de bare de plecoptere, al treilea obiectiv principal este de a furniza informații moleculare utile și un nou instrument eficient tuturor sistemelor de biomonitorizare și managerilor de conservare din România. Aplicarea metodelor de cod de bare va conduce la o mai bună strategie de conservare a habitatelor noastre de apă dulce, care sunt puternic amenințate de pierderea biodiversității, schimbarea mediului, degradare, poluare și extincție.

Având în vedere că zona noastră de studiu include în cea mai mare parte izvoarele și pâraurile montane din părți române a Munților Carpați, un hotspot major de biodiversitate în Europa, recunoscut ca regiune biogeografică EC10 (Illies 1966), al patrulea obiectiv al acestui studiu este de a sublinia importanța regiunii, în contextul biodiversității plecopterelor, ca hotspot de speciație și endemism.

Aceste obiective sunt urmărite în următoarele capitole ale tezei:

CAPITOLUL III: Date faunistice de plecoptere din România - o listă adnotată de specii bazată pe date recente

Fauna de plecoptere din România este bine documentată în cartea faunistică a plecopterelor din România (Kis 1974), dar de la publicarea acestei literaturi de bază, au fost publicate mai multe lucrări noi, care adaugă noi date faunistice la lista țării. De asemenea, colecția noastră de plecoptere conține specii noi pentru faună și specii noi pentru știință, care completează cunoștințele noastre despre plecoptere la nivel mondial și național. Ca urmare, prezentăm în acest capitol o listă de verificare adnotată a speciilor de plecoptere din România. Pe lângă aceasta, ne-am concentrat asupra familiei Capniidae, unde în ultimul deceniu au fost făcute revizuirii majore, care au schimbat

relațiile sistematice. În funcție de aceasta, oferim o nouă cheie de identificare a speciilor românești aparținând acestei familii. În acest capitol oferim o descriere morfologică detaliată a unei noi specii *Zwicknia* Murányi, 2014, cu date moleculare, comportamentale și ecologice suplimentare ale speciei, conform unei abordări taxonomice integrative. De asemenea, indicăm existența a două noi specii *Nemoura* Latreille, 1796, dar aici oferim doar o scurtă prezentare a speciilor și a morfologiei lor. În conformitate cu conținutul capitolului menționat anterior, acest lucru susține primul și al patrulea obiectiv al tezei.

CAPITOLUL IV: Crearea unei biblioteci referință de coduri de bare ADN de Plecoptera din România - studii de caz de taxonomie integrativă pe adulți

În prezent, metodele moleculare și, în special, codurile de bare ADN au devenit o bază majoră a taxonomiei integrative și a bioevaluării. Secvența codului de bare mtCOI pare să îmbunătățească taxonomia diferiților taxoni, precum și taxonomia plecopterelor, ajutând la detectarea unor specii noi, a unor specii criptice sau a diversității genetice în cadrul speciilor cunoscute, și formează concepția noastră generală privind delimitarea speciilor. Acest lucru este posibil datorită faptului că, în majoritatea cazurilor, regiunea codului de bare are o variabilitate intraspecifică mai mică decât variabilitatea interspecifică, ceea ce o face un instrument util care ajută la delimitarea speciilor pe baza distanței genetice dintre secvențele moleculare. Această metodă funcționează bine și poate fi aplicată în taxonomie numai dacă există secvențe de coduri de bare de referință fiabile de la specii clar definite și bine identificate morfologic. Bazele de date care adună aceste secvențe moleculare se numesc biblioteci de referință cu coduri de bare. Există inițiative globale, naționale și regionale de creare a unor astfel de biblioteci de referință și pentru speciile de plecoptere, deoarece acestea nu sunt utile doar în taxonomie, ci îmbunătățesc și biomonitorizarea habitatelor acvatice, în cazul plecopterelor, un grup bioindicator major, unde identificarea larvelor la nivel de specie este destul de dificilă chiar și pentru specialiști. În funcție de acestea, am inițiat o bibliotecă de referință românească de coduri de bare a plecopterelor, bazată în mare parte pe secvențe provenite de la exemplare adulte, pentru a stabili bazele taxonomiei integrative a plecopterelor din România și a îmbunătăți bioevaluarea națională a ecosistemelor de apă dulce. Am început constituirea acestei biblioteci de referință pornind de la un hotspot de biodiversitate a insectelor acvatice, Munții Apuseni, subliniind necesitatea continuării examinării acestor regiuni hotspot și în cazul plecopterelor. Prin urmare, acest capitol încearcă să îndeplinească toate obiectivele acestei teze.

CAPITOLUL V: Evaluarea biologică a apelor dulci utilizând taxoni bioindicatori - o contribuție privind datele referitoare la larve

Secvențele codului de bare *mtCOI* sunt un instrument dovedit în identificarea la nivel de specie a stadiilor de viață morfologic criptice ale insectelor acvatice, printre care larvele de plecoptere, care sunt recunoscute ca importante componente bioindicatoare ale ecosistemelor de apă dulce, datorită sensibilității lor la schimbările din mediul acvatic. Aceasta înseamnă că putem obține date detaliate și de înaltă calitate privind comunitățile acvatice și compoziția lor în specii, ceea ce duce la o mai bună înțelegere a funcționării și fragilității ecosistemelor de apă dulce. Prin aplicarea metodelor de cod de bare, identificarea la nivel de specie a larvelor de plecoptere poate fi realizată la o scară mai largă, fiind disponibilă și pentru neexperți. Astfel, putem crește cantitatea și acuratețea datelor privind ecologia, rolul și importanța plecopterelor în ecosistemele acvatice, care ar putea contribui la gestionarea și conservarea habitatelor acestora. Acest lucru este realizabil numai dacă avem secvențe de coduri de bare de referință de la specimene adulte bine identificate ale tuturor speciilor de plecoptere prezente într-o anumită regiune, țară. Am început să construim o astfel de bază de date de referință pentru speciile de plecoptere din România și am testat eficiența codului de bare în identificarea la nivel de specie a larvelor de plecoptere din habitate naturale de apă dulce bine conservate, în zona de izvoare a râului Someșul Cald, în Munții Apuseni. Bazându-se pe datele noastre, sistemul național de biomonitorizare și managerii apelor dulci pot obține date mai exacte despre ecosistemele noastre acvatice și, prin urmare, pot elabora strategii de conservare mai bune pentru aceste habitate. Astfel, acest capitol este dedicat susținerii celui de-al doilea și al treilea obiectiv principal al acestei teze.

Cuvinte cheie: ADN mitocondrial, bibliotecă de referință cu coduri de bare, BOLD, listă faunistică, identificare la nivel de specie, Capniidae, *Zwicknia*, larve de plecoptere, Carpați, hotspot de biodiversitate, cheie de identificare, bioevaluare

CUPRINS

Abrevieri.....	1
CAPITOL I	3
1. INTRODUCERE GENERALĂ	3
1.1. Plecoptere (Insecta: Plecoptera) - o prezentare generală	3
1.2. Taxonomia plecopterelor (Plecoptera).....	5
1.2.1. Scurt istoric al taxonomiei clasice mondiale și europene a plecopterelor.....	5

1.2.2. Istoria taxonomiei clasice românești a plecopterelor	6
1.2.3. Taxonomia integrativă și implicațiile în taxonomia europeană a plecopterelor	7
1.3. Carpații ca hotspot de biodiversitate al Europei.....	8
1.3.1. Importanța Carpaților ca hotspoturi de biodiversitate a apelor dulci	8
1.3.2 Carpații ca hotspot de biodiversitate a plecopterelor	9
1.4. Conservarea și protecția apelor dulci pe baza datelor moleculare - importanța datelor privind larvele	10
2. Schița tezei	13
CAPITOL II.....	17
MATERIALE ȘI METODE.....	17
1. Zona de studiu și locurile de colectare	17
2. Colectarea și depozitarea specimenelor	20
3. Metode morfologice.....	20
3.1. Identificarea morfologică a exemplarelor adulte.....	21
3.2. Documentarea caracteristicilor morfologice ale organelor genitale.....	21
3.3. Identificarea morfologică a exemplarelor de larve.....	21
4. Înregistrări bioacustice.....	22
5. Metode moleculare	22
5.1. Barcoding și prelucrarea datelor.....	22
5.2. Identificarea la nivel de specie a larvelor de plecoptere pe baza secvențelor genetice.....	23
CAPITOL III	25
Date faunistice de plecoptere din România - o listă adnotată de specii bazată pe date recente	25
1. Introducere	25
2. Rezultate	27
2.1. Lista de specii a plecopterelor din România	27

2.2. Descrierea unei noi specii de <i>Zwicknia</i> Murányi, 2014 din Munții Bucegi, Carpații Meridionali.....	31
2.3. Noi date faunistice privind familia Capniidae (Plecoptera) din Carpați (România și Ucraina).....	36
2.3.1. Prima semnalare a specie <i>Zwicknia acuta</i> Murányi & Orci, 2014 din Carpați	36
2.3.2. Prima semnalare a speciei <i>Zwicknia kovacsi</i> Murányi & Gamboa, 2014 din Ucraina	36
2.3.3. Date suplimentare despre <i>Zwicknia bifrons</i> (Newman, 1838) and <i>Capnia vidua rilensis</i> Raušer, 1955 în România	39
2.4. Scurtă prezentare a două noi specii <i>Nemoura</i> Latreille, 1796 din Munții Retezat, Carpații Meridionali și Munții Rodnei, Carpații Orientali.....	39
2.4.1. <i>Nemoura</i> sp. n. 1 Munții Retezat, Carpații Meridionali	39
2.4.2. <i>Nemoura</i> sp. n. 2 Munții Rodnei, Carpații Orientali	41
2.5. Noi date faunistice suplimentare - Prima semnalare a speciei <i>Leuctra bronislawi</i> Sowa, 1970 din România	42
3. Discuție	42
3.1. Cheia de identificare a masculilor adulți de Capniidae din România.....	43
4. Concluzie.....	45
CAPITOL IV.....	47
Crearea unei biblioteci referință de coduri de bare ADN de Plecoptera din România - studii de caz de taxonomie integrativă pe adulți.....	47
1. Introducere.....	47
2. Rezultate.....	49
2.1. Morfologie	49
2.2. Secvențierea și analizele distanței genetice	50
2.3. Utilizarea codurilor de bare ADN pentru a sprijini identificarea la nivel de specie a larvelor necunoscute	57

2.4. Date de distribuție a unor specii selectate de plecoptere la zona de izvoare a râului Someșul Cald, Munții Apuseni.	58
3. Discuție.....	63
4. Concluzie.....	68
CAPITOL V.....	69
Evaluarea biologică a apelor dulci utilizând taxoni bioindicatori - o contribuție privind datele referitoare la larve	69
1. Introducere	69
2. Rezultate	73
2.1. Morfologie.....	73
2.2. Secvențierea și analizele distanței genetice.....	75
2.3. Utilizarea codurilor de bare ADN pentru a sprijini identificarea la nivel de specie a larvelor necunoscute	75
2.4. Parametrii bioindicatori ai speciilor de plecoptere identificate în prezentul studiu.....	77
3. Discuție.....	79
3.1. Identificarea la nivel de specie a larvelor de plecoptere cu ajutorul codurilor de bare ADN	79
3.2. Datele codului de bare ADN care susțin identificarea la nivel de specie a larvelor morfologic criptice de plecoptere.....	80
3.3. Sugestii pentru îmbunătățirea bioevaluării apelor dulci din România pe baza plecoptereleor	81
4. Concluzie.....	82
CAPITOL V.....	85
CONCLUZII GENERALE	85
Bibliografie	86
Performanță științifică.....	105
Lista publicațiilor incluse în teză	105
Lista publicațiilor care nu sunt incluse în teză.....	105
Lista prezentărilor verbale	106

Lista prezentărilor de postere	107
Alte activități științifice.....	107
Recunoștințe și aprecieri.....	109
Anexe	111
Anexa 1	111

CONCLUZII GENERALE

(1) Această teză include date morfologice, comportamentale și moleculare importante despre plecoptere. Prin adăugarea de noi specii la fauna românească de plecoptere și descoperirea a trei specii noi pentru știință, teza completează cunoștințele noastre generale despre plecoptere la nivel național și global și susține aplicarea abordării taxonomice integrative în cercetarea plecoptelor.

(2) Lista de specii a plecoptelor din România oferă de acum înainte o referință de bază pentru studii taxonomice și ecologice ulterioare și facilitează bioevaluarea națională a habitatelor de apă dulce. Conform noii liste, în prezent există 120 de specii, aparținând la 23 de genuri și 7 familii.

(3) Ca urmare a activității noastre sunt disponibile în baze de date moleculare internaționale (BOLD) date cu coduri de bare ADN a plecoptelor din populațiile românești, care pot fi aplicate în taxonomia generală a plecoptelor.

(4) Am inițiat pentru prima dată o bibliotecă de referință cu coduri de bare ADN a plecoptelor din România, care sprijină taxonomia integrativă a plecoptelor și aplicarea metodelor moleculare în bioevaluarea locală a habitatelor de apă dulce curgătoare. Ne propunem să continuăm și să dezvoltăm această bază de date de referință cu date moleculare de înaltă calitate și bine conservate.

(5) Am demonstrat că secvențele de coduri de bare ADN pot îmbunătăți identificarea la nivel de specie a larvelor criptice de plecoptere, care sunt organisme bioindicatoare importante ale ecosistemelor acvatice și ajută la bioevaluarea calității apei. Sugerăm aplicarea acestor noi metode disponibile și eficiente în protocoalele naționale oficiale de bioevaluare.

(6) Studiul nostru furnizează date moleculare utile care pot fi implementate în protocoale mai specifice de bioevaluare a habitatelor de apă dulce, furnizând date detaliate și specifice despre

comunitățile acvatice, ajutând specialiștii să obțină o mai bună înțelegere a ecosistemelor de apă dulce și managerii de conservare să ia măsuri mai precise pentru a păstra biodiversitatea acvatică.

(7) Această teză furnizează dovezi solide privind importanța Carpaților ca hotspot major de biodiversitate a insectelor acvatice, în special a plecopterelor. Sugerăm continuarea studiilor în regiunile muntoase pentru a descoperi o dimensiune mai realistă a biodiversității de plecoptere din Carpații Românești și Munții Apuseni.