



**ACADEMIA ROMÂNĂ**

**Școala de Studii Avansate a Academiei Române**

**Institutul de Biologie**

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**DINAMICA ȘI POTENȚIALUL APLICATIV AL  
MICROBIOMULUI SPECIILOR DE DIPTERE**

**CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:**

CSI Dr. Cristina Ligia PURCĂREA

**DOCTORAND:**

Dana-Ștefania (Copoiu) DINU

**2025**

## Cuprins

LISTĂ DE ABREVIERI.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1. INTRODUCERE .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.1. Dinamica insectelor în pomii fructiferi.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.2. Specii de diptere identificate în asociere cu pomii fructiferi.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Genul <i>Drosophila</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Genul <i>Botanophila</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Genul <i>Anthomyia</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Genul <i>Scaptomyza</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Helina reversio</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Delia platura</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Neophyllomyza</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Oscinella</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Desmometopa sordida</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Sapromyza</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Musca domestica</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Adrastus rachifer</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Myzus cerasi</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Fiebrigella</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Physiophora alceae</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.3. Rolul ecologic al insectelor.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.3.1 Diptere din arealuri pomicole .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.4. Rolul speciilor bacteriene asociate speciilor de diptere .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.4.1. Transferul patogenilor.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.4.2 Simbionți cu rol benefic.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4. MATERIALE ȘI METODE .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.1 Zona de studiu și colectarea probelor .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

4.2 Identificarea taxonomică a insectelor pe baza caracteristicilor morfologice.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.3 Identificarea moleculară a insectelor prin metoda identificării codului de bare ADN (DNA barcoding) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.4 Determinarea diversității bacteriene asociate insectelor prin secvențializare Illumina 16S ARNr.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
REZULTATE .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5. DISTRIBUȚIA SPECIILOR DE INSECTE LA NIVELUL POMILOR FRUCTIFERI DINTR-O ZONA POMICOLĂ DIN SUDUL ROMÂNIEI....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5.1 Colectarea insectelor din pomii fructiferi și caracteristicile habitatului .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5.2 Identificarea morfologică și genetică a insectelor asociate pomilor fructiferi și analiza variabilității numerice și taxonomice.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5.3. Influența temperaturii și a stadiului de dezvoltare al fructelor asupra dinamicii insectelor .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5.4 Discuții.....	11
Dinamica insectelor în pomii fructiferi din sudul României .....	11
Rolul temperaturii în dinamica insectelor.....	11
Importanța gradului de coacere al fructelor asupra dinamicii insectelor.....	11
Dinamica entomofaunei asociate speciilor de pomi fructiferi investigate și relevanța ecologică .....	11
6. EXTINDEREA ARIEI DE DISTRIBUȚIE A UNOR SPECII DE DIPTERE RAPORTATE PENTRU PRIMA DATĂ PE TERITORIUL ROMÂNIEI....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.1 <i>Botanophila fugax</i> .....	12
6.1.1. Caracterele morfologice ale speciei <i>B. fugax</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.1.2. Identificarea genetică a speciei <i>B. fugax</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.1.3. Distribuția speciei <i>B. fugax</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.2 <i>Helina reversio</i> Harris 1780.....	12
6.2.1 Caracterele morfologice ale speciei <i>H. reversio</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.2.2 Identificarea genetică a speciei <i>H. reversio</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.2.3. Distribuția speciei <i>H. reversio</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

6.3	<i>Scaptomyza elmoi</i> Takada 1970.....	12
6.3.1	Caracterele morfologice ale speciei <i>S. elmoi</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.3.2	Identificarea genetică a speciei <i>S.elmoi</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.3.3	Distribuția speciei <i>Scaptomyza elmoi</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.4	<i>Drosophila subobscura</i> Collin 1939.....	12
6.4.1	Caracterele morfologice ale speciei <i>D. subobscura</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.4.2	Identificarea genetică a speciei <i>D. subobscura</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.4.3	Distribuția speciei <i>D. subobscura</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.5	<i>Drosophila simulans</i> Sturtevant, 1919.....	13
6.5.1	Caracterizarea morfologică a speciei <i>D. simulans</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.4.2	Identificarea genetică a speciei <i>D. simulans</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.4.3	Distribuția speciei <i>Drosophila simulans</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.6	<i>Fiebrigella</i> sp. Duda 1921 .....	13
6.6.1	Caracterizarea morfologică a speciilor <i>Fiebrigella</i> sp.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.6.2	Identificarea genetică a speciei <i>Fiebrigella</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.6.3	Distribuția speciilor de <i>Fiebrigella</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.7	Discuții.....	13
7.	EVALUAREA COMUNITĂȚILOR BACTERIENE DIN INSECTELE ASOCIATE POMILOR FRUCTIFERI DIN ZONA CLĂTEȘTI, ROMÂNIA .....	14
7.1	Diversitatea bacteriană asociată insectelor prezente în pomii fructiferi .....	14
7.2	Profilul taxonomic al comunităților bacteriene din insecte .....	15
7.3	Discuții.....	17
	Dinamica interacțiunilor bacterii-insecte-pomi fructiferi și rolul potențial al dipterelor ca vectori de transfer .....	17
	Rolul benefic al microbiotei.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
	Rolul potențial al insectelor în transmiterea agenților patogeni la pomii fructiferi .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
	Dinamica bacteriilor simbiote cu potențial efect benefic asupra gazdei.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.	CONCLUZII GENERALE ȘI PERSPECTIVE .....	17

Dinamica insectelor în pomii fructiferi.....	18
Specii de diptere raportate pentru prima dată pe teritoriul României.....	18
Diversitatea și rolul potențial al comunităților microbiene asociate insectelor pomicole ...	18
Perspective .....	19
Bibliografie .....	21
Anexa 1 .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Anexa 2 .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Anexa 3 .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Anexa 4 .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
DISEMINAREA REZULTATELOR.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## 1. Introducere

Deși multe dintre insecte joacă roluri importante în ecosisteme, multe dintre acestea pot reprezenta patogeni periculoși care afectează plantele (Fliszkiewicz și Giejdasz, 2023); (Darwish, 2015).

Între plante și insecte pot exista diverse tipuri de relații, cele din urmă fiind cunoscute ca vectori biologici sau mecanici, putând și să contamineze alimentele și altor suprafețe vegetale datorită surselor variate de hrană (Salerno și colab., 2024; Dhokane și Chavan, 2020); (El-Sherbini, 2011); (Laroche și colab., 2018).

Hemipterele pot transmite patogeni plantelor prin mecanisme precum ingestie sau răspândirea sistemică, un alt motiv pentru această transmitere poate fi că multe insecte reușesc să realizeze relații de mutualism cu bacterii endosimbionte (Heck, 2018).

Dipterele prezintă un interes științific deosebit și variat, cu multiple roluri, incluzând accelerarea descompunerii precum și colonizarea cu alte microorganisme datorită transportării pe exoschelet sau prin regurgitare având ca efect contaminarea fructelor (Flury și colab., 2018); (Park și colab., 2017); (Vega și colab., 2021); (Ercan și colab., 2024).

În consecință studiul acestor specii de bacterii asociate cu dipterele din livezi pot oferi informații vitale cu privire la modul de interacțiune între ele și plante precum și a implicațiilor cu privire la sănătatea culturilor și a producției pomicole.

## 2. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Proliferarea necontrolată a insectelor poate reprezenta o cauză a pierderilor pomilor fructiferi, iar câteva specii cu referire la care s-au realizat studii sunt *Drosophila melanogaster*, cu importanță în ereditate și genetică (O'Grady și DeSalle, 2018), *Drosophila simulans* cu diverse tipuri de substraturi pe care se poate dezvolta (Oakeshott și colab., 1989); (Silva-Lopez și colab., 2023), *Drosophila subobscura* cu răspândire mare, dar și cu importanță genetică (Merayo și colab., 2025); (Mestres și colab., 2004); (Marino și colab., 2024). Alte specii și genuri sunt reprezentate de *Botanophila fugax*, *Anthomyia* sp., *Scaptomyza pallida*, *Scaptomyza elmoi*, *Helina reversio*, *Delia platura*, *Neophyllomyza* sp., *Oscinella* sp.,

*Desmometopa sordida*, *Sapromyza* sp., *Musca domestica*, *Adrastus rachifer*, *Myzus cerasi*, *Fiebrigella* sp. și *Physiphora alceae*.

### 2.3. Rolul ecologic al insectelor

În România, *Ceratitis capitata* a fost studiată și poate infesta numeroase genuri de pomi fructiferi (Thomas și colab., 2001, rev. 2010); (Stanciu, 2007); (Chireceanu și colab., 2013). Multe livezi de pomi fructiferi locali, precum pruni, meri, cireș și piersic prezintă insecte din genurile *Drosophila*, *Musca*, *Delia* și *Anthomyia* acestea având corelații cu genurile bacteriene *Pseudomonas*, *Enterobacter* și *Acinetobacter* (Stoenescu și colab., 2025); (Zhang și colab., 2024; Li și colab., 2025; Ranasinghe și colab., 2023).

Bacteriile pot avea roluri de patogeni, comensali sau pot ajuta speciile de insecte în diferite procese adaptative (Vallet-Gély și colab., 2010; Wielkopolan și colab., 2022); (Ranasinghe și colab., 2023; Monyama și colab., 2023).

### 2.4. Rolul speciilor bacteriene asociate speciilor de diptere

Pentru unele specii, precum *Drosophila melanogaster*, s-a demonstrat că o expunere la comunități bacteriene ajută la o dezvoltare mai accentuată a organismului, dar și o dezvoltare suplimentară a organelor reproducătoare, îndeosebi *Saccharomyce cerevisiae* sau *Acetobacter malorum*, pe când lipsa acestora a determinat o scădere în procesele reproductive (Qiao și colab., 2019); (Elgart și colab., 2016).

Un alt factor important pentru dezvoltarea organismului o reprezintă dieta care poate influența microbiomul (Li și colab., 2021); (Mogren și Shikano, 2021); sau la nivelul microbiomului pot exista fungi entomopatogeni care pot fi utilizați ca și agenți de biocontrol (Picciotti și colab., 2023)

Patogenii prezenți în microbiota insectelor se pot transfera datorită modurilor diverse de hrănire prin intermediul aparatului bucal (Jiang și colab., 2019); (Salerno și colab., 2024); (Picciotti și colab., 2023). Un alt mod de transfer al patogenilor îl poate reprezenta depozitarea oualelor la nivelul fructelor (Lizama și colab., 2025); (Hazir și colab., 2021).

Relațiile de simbioză sunt prezente între plante și insecte și între insecte și bacterii, având rol important în polenizare, digestie, hrănire, reproducere (Salerno și colab., 2024); (Holt și colab., 2024).

## 3. Scopul și obiectivele tezei

**Scopul** acestei teze de doctorat a fost de a investiga diversitatea entomologică și microbială asociată pomilor fructiferi din zona sudică a României (satul Clătești, județul Călărași) printr-o abordare integrativă bazată pe metode genetice.

Obiectivele specifice ale studiului au cuprins

(1) identificarea prin metode genetice pe baza codului de bare ADN a speciilor de insecte asociate cu diverse tipuri de pomi fructiferi aparținând speciilor *Malus domestica*, (măr), *Malus domestica* "Jonagold" (măr Jonagold), *Prunus avium* (cireș), *Prunus persica* (piersic), *Cydonia oblonga* (gutui) și evaluarea preferințelor acestora pentru diferite specii pomicole

(2) raportarea unor specii noi pentru entomofauna României identificate prin metode genetice

(3) caracterizarea comunităților bacteriene asociate specimenelor de diptere aparținând genurilor *Drosophila*, *Botanophila*, *Scaptomyza* și *Anthomyia*, colectate din diferite specii de pomi fructiferi, prin analiza diversității taxonomice a bacteriilor prin secvențierea genei 16S rARN utilizând tehnologia Illumina, evaluarea distribuției acestora în funcție de insecta gazdă și de tipul de pom fructifer, și a rolului potential al acestor bacterii în diseminarea agenților patogeni sau a microorganismelor benefice în cadrul ecosistemelor pomicole.

## **4. MATERIALE ȘI METODE**

### **4.1 Zona de studiu și colectarea probelor**

Zona de studiu a fost reprezentată de regiunea de câmpie a sudului României, sat Clătești, comuna Mitreni, Județul Călărași.

Probele au fost colectate cu ajutorul unor capcane improvizate la nivelul cărora s-au adăugat ca atractanți banane și oțet (Bahrati și colab., 2004), fiind ulterior depozitate în tuburi Eppendorf și congelate.

### **4.2 Identificarea taxonomică a insectelor pe baza caracteristicilor morfologice**

Identificarea s-a făcut morfologic și prin metoda codului de bare ADN pe baza subunității I a genei mitocondriale citocrom oxidaza (COX1) (Hebert și colab., 2003).

#### *Extracție ADN, Amplificare PCR*

Extracția s-a realizat cu ajutorul kitului DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Germania), urmând ca gena mitocondrială COX1 să fie amplificată PCR (Mioduchowska și colab., 2018) folosind Mastercycler ProS System (Eppendorf, Germania), ulterior fragmentelor

obținute au fost purificate folosind un kit QIAquick PCR purification (Qiagen, Germania). Probele au fost concentrate la o valoare minimă de 2 ng/μL ADN pentru secvențializare Sanger.

#### *Secvențializarea Sanger a genei COXI și analiza secvențelor ADN*

Ampliconii COX1 corespunzători insectelor colectate au fost secvențializați de către firma Macrogen, Olanda, iar secvențele nucleotidice obținute au fost editate utilizând software-ul Sequence Assembly and Alignment-CodonCode Aligner (CodonCode Corporation, 2003) și identificare prin compararea cu secvențe omoloage din bazele de date NCBI GenBank (Hebert și colab., 2003), aplicând un prag de 97% identitate, urmând să fie depuse în bazele de date internaționale GenBank.

#### **4.4 Determinarea diversității bacteriene asociate insectelor prin secvențializare Illumina 16S ARNr**

##### *Extracția ADN microbial din insecte, Secvențializarea Illumina a genei 16S ARNr și Analiza secvențelor genei 16S ARNr*

ADN-ul total din insectele capturate a fost izolat utilizând kitul DNeasy Blood and Tissue (Qiagen, GERMANIA) apoi diversitatea bacteriană asociată insectelor a fost determinată prin secvențializarea regiunii V3-V4 amplificate a genei ARNr 16S, iar ampliconii au fost obținuți și secvențializați de către firma Macrogen (Coreea de Sud), utilizând o platformă Illumina MiSeq 300PE. Secvențele genei COXI au fost editate utilizând software-ul CodonCode Aligner (CodonCode Corporation, 2003). Identificarea moleculară a fost realizată utilizând algoritmul BLAST și a bazei de date GenBank (Altschul și colab., 1990; Johnson, 2008). Clasificarea taxonomică a ASV-urilor a fost realizată utilizând baza de date Silva v138 16rRNA ([silva.nr.v138](http://silva.nr.v138)) cu ajutorul platformei MicrobiomeAnalyst 2.0 (Lu și colab., 2023).

Indicii de diversitate alfa și beta au fost determinați utilizând pachetul *phyloseq* (McMurdie și Holmes, 2013). Vizualizarea diferențelor de diversitate beta s-a efectuat prin analiza de Scalare Multidimensională Non-Metrică (NMDS) (Kruskal, 1964). Semnificația statistică a modelelor de grupare observate a fost evaluată prin Analiza Similarităților (ANOSIM) (Clarke, 1993) și analiza de variație multivariată prin permutări (PERMANOVA) (Anderson, 2001), considerând un prag de semnificație statistică de  $p < 0,05$ .

Analizele statistice au fost efectuate cu ajutorul platformei MicrobiomeAnalyst 2.0 (Lu și colab., 2023). Compararea abundențelor medii ale taxonilor între cele două tipuri de probe a fost realizată utilizând testul T Student (Wickham, 2016; Mishra și colab., 2019; R Core Team, 2023).

## REZULTATE

### 5. DISTRIBUȚIA SPECILOR DE INSECTE LA NIVELUL POMILOR FRUCTIFERI DINTR-O ZONA POMICOLĂ DIN SUDUL ROMÂNIEI

#### 5.1 Colectarea insectelor din pomii fructiferi și caracteristicile habitatului

Au fost analizați pomii fructiferi *Malus pumila* (măr), *Malus domestica Jonagold* (măr ionatan), *Prunus persica* (piersic), *Prunus persica* platycarpa (piersic plat), *Prunus avium* (cireș), *Cydonia oblonga* (gutui) și *Prunus domestica* (prun) de la nivelul acestora colectându-se 51 de specimene de insecte, cele mai abundente fiind de la nivelul cireșului. Temperaturile medii pe parcursul colectării au fost de aproximativ 24°C cu fructe în diverse stadii de dezvoltare.

#### 5.2 Identificarea morfologică și genetică a insectelor asociate pomilor fructiferi și analiza variabilității numerice și taxonomice

Identificarea taxonomică a insectelor colectate a fost efectuată pe baza caracteristicilor morfologice (Ackland, 2001; Komzáková și Rozkošný, 2009) evidențiind apartenența la 8 familii de Diptera (*Anthomyiidae*, *Drosophilidae*, *Milichiidae*, *Chloropidae*, *Muscidae*, *Aphididae*, *Ulidiidae* și *Lauxaniidae*), și a unui specimen la familia *Elateridae* (Coleoptera).

Secvențele nucleotidice COX1 corespunzătoare specimenelor de insectă identificate prin codul de bare ADN au fost introduse în GenBank cu numerele de acces OK380902–OK380942, PV153587, PV017878 și PV018814–PV018823.

În urma analizei BLAST (Zhang și colab., 2000) a fragmentelor COXI obținute au fost identificate 18 specii diferite de insecte aparținând ordinului Diptera (*Botanophila fugax*, *Helina reversio*, *Sapromyza* sp., *Anthomyia* sp. ZFMK, *Anthomyia* sp., *Musca domestica*, *Drosophila melanogaster*, *D. subobscura*, *D. simulans*, *Neophyllomyza* sp., *Myzus cerasi*, *Delia platura*, *Oscinella* sp., *Scaptomyza pallida*, *S. elmoi*, *Fiebrigella* sp., *Desmometopa sordida* și *Physiophora alceae*).

Din totalul de insecte colectate, cele mai multe specimene au fost colectate din capcanele montate în cireș – 24, un număr mai redus a provenit din meri-12, în piersici – 6 specimene, iar din prun și gutui câte 4 specimene.

Analiza VENN a prezenței acestor insecte în cele 4 tipuri de pomi fructiferi a indicat o distribuție specifică a tuturor speciilor de insecte cu excepția speciei de *Anthomyia* sp. prezentă atât în măr cât și în cireș și a speciei *Drosophila melanogaster* care a fost identificată în toate tipurile de pomi fructiferi.

### **5.3. Influența temperaturii și a stadiului de dezvoltare al fructelor asupra dinamicii insectelor**

Din totalul de 51 de specimene, 24 au fost colectate în luna iulie, 14 în iunie, în august fiind capturate doar 9 specimene, iar în mai 2 specimene, această abundență fiind corelată cu tipul de pom fructifer, cireșul având fructele coapte, deși au existat și specimene (12) care au fost colectate de la nivelul capcanelor montate în pomi fructiferi ai căror fructe nu erau coapte.

Speciile genului *Drosophila* au avut o prezență constantă la piersic, dar cu variații la celelalte specii, având preferință pentru fructele coapte.

## **5.4 Discuții**

### **Dinamica insectelor în pomii fructiferi din sudul României**

În România, anterior, au fost realizate studii cu privire la ecosistemele forestiere, iar pentru acest studiu s-au realizat și analize moleculare cu importanță crescută în studiul biodiversității.

### **Rolul temperaturii în dinamica insectelor**

Temperatura poate influența dinamica comunităților de insecte, fiind mai abundente în lunile calde, dar și mai variate.

### **Importanța gradului de coacere al fructelor asupra dinamicii insectelor**

Gradul de coacere al fructelor poate influența major preferințele insectelor, acestea având ca influență semnalele senzoriale cu privire la mirosul și culoarea fructelor (Cunningham și colab., 2016).

### **Dinamica entomofaunei asociate speciilor de pomi fructiferi investigate și relevanța ecologică**

Dintre cele 19 specii de insecte, 13 au manifestat o asociere selectivă cu anumite tipuri de pomi fructiferi, iar doar 3 specii au fost prezente la toate tipurile de pomi fructiferi

((*Anthomyia* sp., *Scaptomyza* sp. și *Drosophila melanogaster*). Indivizii genului *Anthomyia* au sugerat o activitate sporită la temperaturi moderate spre ridicate. Genul *Drosophila* a fost studiat în zona sudică a României și a arătat că prezintă o adaptabilitate ridicată (Singh, 2015; Agustin și colab., 2024; Coughlan și colab., 2022), însă, genul s-a remarcat și în Africa de Sud, Hawaii la nivelul multor fructe exotice (Oakeshott și colab., 1989); (Ort și colab., 2012).

## **6. EXTINDEREA ARIEI DE DISTRIBUȚIE A UNOR SPECII DE DIPTERE RAPORTATE PENTRU PRIMA DATĂ PE TERITORIUL ROMÂNIEI**

### **6.1 *Botanophila fugax***

Este o specie cunoscută pentru relațiile trofice diverse (Smith, 1989), iar în acest studiu au fost colectate cinci specimene, la temperaturi medii, în luna iulie, fiind ulterior înregistrate ca primă raportare pe teritoriul României, în urma identificării genetice. Această specie prezintă caractere morfologice distincte, mai ales la nivelul structurilor reproducătoare (Ackland, 2001). Specia are o distribuție medie în țările Europei (GBIF), iar studiile menționează specia ca un potențial vector în transmiterea patogenilor sau contribuie la fertilizarea unor specii de fungi (Rossmann și colab., 2018), (Pagel și colab., 2019).

### **6.2 *Helina reversio* Harris 1780**

*Helina reversio* prezintă distribuție holoartică, având multe surse de hrană, reprezentând totodată și un polenizator important (Pont, 2012); ([Commanster.eu](https://www.commanster.eu), 2025). În prezentul studiu, a fost izolat un singur specimen la sfârșitul lunii iulie, fiind identificat prin caracterele morfologice și prin barcoding ADN.

### **6.3 *Scaptomyza elmoi* Takada 1970**

Este o insectă saprofagă, fiind importantă ca și vector, dar și ca sursă de hrană pentru plante insectivore sau păienjeni (Stewart, 2021). Principalele surse de hrană sunt reprezentate de substraturi aflate în stadiu de fermentație, fiind deci, prezentă în zone cu vegetație bogată (Leblanc și colab., 2009); (DigitalNZ, 2016). În prezentul studiu, specia a fost izolată în luna iunie, în capcanele puse în cireși la temperaturi medii și a fost identificată din punct de vedere

morfologic și genetic, genul prezintă o distribuție vastă la nivel european, iar specia *S. elmoi* fiind raportată în România prin intermediul acestui studiu (GBIF, 2025).

#### **6.4 *Drosophila subobscura* Collin 1939**

*Drosophila subobscura* este o specie cosmopolită, prezentă în medii mai răcoroase precum pădurile de foioase, fiind dependentă de materia vegetală aflată în descompunere atât pentru hrană cât și pentru reproducere (Krimbas și Loukas, 1980); (Smart, 1945). În acest studiu, s-au izolat două specimene, în luna iunie, pe baza caracteristicilor distinctive morfologice și genetice (gena COX1), fiind și primele raportări ale speciei pentru România.

#### **6.5 *Drosophila simulans* Sturtevant, 1919**

*Drosophila simulans* este o specie similară morfologic cu *Drosophila melanogaster*, fiind mai sensibilă la condițiile de mediu, diurnă și cosmopolită cu o nutriție saprofagă (David și colab., 1982); (Chandler și colab., 2011). În prezentul studiu, a fost izolat un singur specimen, în iulie, fiind caracterizat prin structuri reproducătoare specifice și identificat prin metode genetice și morfologice, prezența acestei specii fiind semnalată în România prin intermediul acestui studiu.

#### **6.6 *Fiebrigella* sp. Duda 1921**

Speciile genului *Fiebrigella* se găsesc la nivelul pășunilor și pajiștilor, dar și în alte zone cu material organic aflat în descompunere putând să se hrănească cu acesta sau cu nectar, sevă sau rezervele albinelor, larvele fiind micofage (Bodsworth și colab., 2005); (Smith și colab., 2008); (Hall și Gerhardt, 2002). În studiul prezent, au fost identificate 3 specimene aparținând acestui gen, în luna iunie; speciile au fost identificate în urma caracteristicilor morfologice și genetice, reprezentând prima raportare a acestui gen pe teritoriul României (GBIF, 2025).

#### **6.7 Discuții**

În cadrul acestui studiu doctoral, au fost identificate și raportate pentru prima dată în România, speciile *Drosophila simulans*, *Drosophila subobscura*, *Fiebrigella* sp., *Scaptomyza elmoi*, *Botanophila fugax* și *Helina reversio* (Global Biodiversity Information Facility);

(Copoiu și Purcărea, 2023; Copoiu și colab., 2025). Datele obținute constituie contribuții semnificative la aprofundarea cunoștințelor privind distribuția insectelor în regiunea sud-europeană. *Helina reversio* și *Scaptomyza elmoi* prezintă o distribuție largă la nivel european, *Drosophila subobscura* și *Drosophila simulans* predomină în regiunile nordice și vestice ale Europei. Genul *Fiebrigella* a fost semnalat doar în câteva țări europene, fără conexiuni geografice directe între ele, iar *D. simulans* nu a fost raportată până în prezent în niciuna dintre țările vecine României.

Această primă semnalare regională a celor șase specii de diptere în cadrul agroecosistemelor pomicole din arealul sudic al României aduce o contribuție semnificativă la actualizarea distribuției entomofaunistice europene și deschide noi direcții de cercetare privind ecologia, comportamentul trofic și potențialul agronomic (benefic sau dăunător) al acestor insecte.

## **7. EVALUAREA COMUNITĂȚILOR BACTERIENE DIN INSECTELE ASOCIATE POMILOR FRUCTIFERI DIN ZONA CLĂTEȘTI, ROMÂNIA**

### **7.1 Diversitatea bacteriană asociată insectelor prezente în pomii fructiferi**

Caracterizarea diversității comunităților bacteriene asociate insectelor colectate și evaluarea variabilității acestora în funcție de specia de pom fructifer gazdă au fost realizate prin secvențiere Illumina a genei 16S ARNr. Analiza s-a realizat pentru un număr de 19 specimene aparținând genurilor *Botanophila*, *Anthomyia*, *Drosophila* și *Scaptomyza*, fiecare reprezentat de minimum două exemplare, selectate din totalul de 51 de indivizi colectați de la nivelul merilor, prunilor, cireșilor, piersicilor și gutuilor.

Microbiomul specimenelor de *Drosophila* și *Anthomyia* a prezentat cea mai mare variabilitate cu privire la încărcătura bacteriană, unele specimene cu peste 1.500 de ASV-uri, similar și pentru genul *Botanophila*, iar probele analizate pentru genul *Scaptomyza* au prezentat o diversitate mai scăzută cu valori mai mici ale ASV-urilor.

#### *Diversitatea alfa*

Este un indicator al structurii microbiomului asociat insectelor cu privire la abundența taxonomică, dar și a uniformității distribuției acesteia (Willis, 2019). Proba AI1 a prezentat diversitatea cea mai ridicată, corespunzătoare valorilor indicilor Shannon (7,02), Fisher (328,8) și Chao-1 (1595) și o uniformitate crescută prin indicele de uniformitate (Evenness) cu valoarea de 0,7016. În schimb, proba PR2 a fost caracterizată de cele mai mici valori ale acestor indici

- Shannon (4,125), Fisher (15,12), Chao-1 (138), corespunzător unei diversități mai reduse și unei populații amestecate fără echilibru aparent conform indicelui de uniformitate de 0,4482. Proba G5 a prezentat cea mai redusă uniformitate (0,2735), sugerând o dominanță crescută a unora dintre specii, coroborat cu indici Shannon și Chao-1 cu valori moderate

Rezultatele evidențiază o variabilitate crescută în structura comunităților bacteriene asociate diferitelor specii de insecte, în care microbiomul probei AI1 se remarcă printr-un nivel ridicat al diversității și uniformității bacteriene, în timp ce probele PR2 și G5 reflectă o diversitate redusă și o dominanță scăzută a anumitor specii.

**În funcție de tipul de pom** fructifer, analiza PCoA bazată pe distribuția valorilor indicelui Chao1 a indicat o variație semnificativă a diversității bacteriene. Astfel, o variabilitate crescută a comunităților bacteriene s-a observat în cazul insectelor asociate cu *Malus domestica* și *Prunus avium*, în timp ce insectele colectate din *Cydonia oblonga* au prezentat cele mai reduse comunități bacteriene având în vedere că speciile izolate de aici au fost toate reprezentate de *Drosophila melanogaster*.

Distribuțiile și valorile mediane crescute sugerează că, în ciuda similitudinii taxonomice, speciile din același gen pot găzdui comunități bacteriene caracterizate de o variabilitate semnificativă.

**În funcție de genul insectei** la *Drosophila* s-a observat o variabilitate crescută a diversității bacteriene, pe când *Botanophila* și *Anthomyia* au avut valori medii pentru indicele Chao1 cu diversitate moderată. *Scaptomyza* a prezentat o comunitate bacteriană mai puțin diversă. Aceste diferențe între genuri putând fi influențate de tipul de comportament de hrănire, dar și de interacțiunile cu plantele gazdă (Naveed și colab., 2024).

### ***Diversitatea beta***

Analiza de scalare multidimensională non-metrică (NMDS) a ASV-urilor rezultate a indicat o distribuție a comunităților bacteriene asociate insectelor variabilă în funcție de specia pomului fructifer și genul insectei.

Comunitățile bacteriene asociate insectelor au prezentat o variabilitate semnificativă **în funcție de specia pomicolă gazdă** (ANOSIM -  $R = 0,79$ ;  $p < 0,001$ ), evidențiind o separare clară și statistic semnificativă între grupuri, cu suprapuneri minime. Valoarea ridicată a coeficientului R sugerează diferențe marcante în structura comunităților bacteriene în funcție de specia arboricolă gazdă. Datorită formării clusterelor distincte, sau a suprapunerii parțiale s-a determinat că există factori specie-specificali ai pomilor fructiferi care exercită o influență determinantă asupra structurării comunităților bacteriene asociate insectelor. În contrast,

compoziția comunităților bacteriene nu a prezentat diferențe semnificative **în funcție de genul insectelor gazdă**.

## 7.2 Profilul taxonomic al comunităților bacteriene din insecte

Variantele de secvență ale ampliconilor 16S ARNr (ASV) ale comunităților microbiene identificate în cazul insectelor investigate au fost clasificate taxonomic în 4 filumuri, 6 clase, 17 ordine, 31 de familii și 51 de genuri bacteriene, evidențiind o diversitate microbiană complexă și bine structurată. Taxonii aparținând filumurilor *Pseudomonadota* și *Bacillota* au prezentat o abundență relativă dominantă în toate probele de insecte analizate. Filumul *Pseudomonadota* a fost dominant în comunitățile bacteriene asociate insectelor colectate din *Malus domestica* Jonagold, *Prunus domestica* și *Prunus persica*. În schimb, filumul *Bacillota* a prezentat o abundență relativ ridicată în probele provenite de la *M. domestica* și *Prunus avium* împărțind totodată un nucleu taxonomic comun cu *Pseudomonadota*. Filumul *Actinomycetota* a fost detectat într-o proporție redusă la nivelul insectelor colectate din *Cydonia oblonga* având o prezență limitată în cazul probelor AI1 și N1 provenite din mărul Jonagold și piersic. Filumul *Bacteroidota* a fost identificat doar în proba AI5 colectată din mărul Jonagold, indicând o distribuție restrânsă a acestui grup bacterian în ansamblul dipterelor analizate.

**La nivel de clasă**, comunitățile bacteriene au fost dominate de filumurile *Pseudomonadota* și *Bacillota*, iar **la nivel de gen**, s-a observat o variabilitate ridicată a comunităților bacteriene asociate insectelor colectate din diversele tipuri de pomi fructiferi.

Dintre taxonii identificați în aceste diptere, genul *Gluconobacter* prezintă o prevalență importantă în insectele prezente în toate tipurile de pomi fructiferi, genul *Wolbachia* a prezentat un conținut ridicat în microbiomul specimenelor PR2 și AI2, fiind însă complet absent în insectele colectate din *Cydonia oblonga* și *Prunus persica*. De asemenea, o prezență notabilă a speciilor de *Fructobacillus* a fost detectată mai frecvent la *Prunus avium* și *Malus domestica*, iar *Acetobacter* a avut o distribuție mai uniformă cu o prezență ridicată în cazul *Malus domestica* JONAGOLD, dar cu o abundență scăzută pentru *Malus domestica*.

**Analiza Heatmap** a densității comunităților bacteriene asociate cu cele patru genuri de insecte (*Anthomyia*, *Botanophila*, *Drosophila* și *Scaptomyza*) a indicat diferențe mari la nivelul compoziției și abundenței relative ale genurilor bacteriene de la nivelul insectelor. Astfel, microbiomul *Drosophila* a fost caracterizat de o prevalență crescută de specii ale *Bacillus*, *Morganella* și *Pantoea*. *Scaptomyza* a prezentat un profil microbial diferit reprezentat majoritar de *Pseudomonas*, *Corynebacterium* și *Staphylococcus*, speciile de *Anthomyia* au

prezentat o diversitate bacteriană omogenă, iar insectele din genul *Botanophila* au fost caracterizate de o abundență relativă crescută de *Fructobacillus*, *Wolbachia* și *Lactobacillus*.

Dintre genurile bacteriene identificate, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Enterococcus* și *Bacteroides* cunoscute ca **potențiali patogeni** umani, au fost detectate la nivelul diferitelor insecte înregistrând abundențe variabile.

### 7.3 Discuții

#### **Dinamica interacțiunilor bacterii-insecte-pomi fructiferi și rolul potențial al dipterelor ca vectori de transfer**

Analiza diversității taxonomice în funcție de specia de pom fructifer și de specia de insectă gazdă a bacteriomului din insectele aparținând genurilor *Anthomyia*, *Botanophila*, *Drosophila* și *Scaptomyza* colectate din pomii fructiferi din regiunea Clătești, Călărași a pus în evidență o variabilitate diferită în funcție de cele două variabile.

Comunitățile bacteriene asociate acestor diptere aparțin filumurilor Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidota și Actinobacteria, indicând o dominanță clară a taxonilor din filumul Proteobacteria.

Diversitatea taxonomică variabilă a celor 4 genuri de insecte a indicat cel mai mare numărul total de filumuri bacteriene în cazul *Drosophila* (patru filumuri), urmat de *Anthomyia* și *Botanophila* (trei filumuri), în timp ce *Scaptomyza* a prezentat bacterii doar din două filumuri. Aceste rezultate sugerează o diversitate microbiană diferențiată între genurile de insecte, influențată de ecologia fiecăruia și de potențialele interacțiuni trofice sau de habitat.

Analiza microbiomului insectelor colectate **de pe diferite specii de pomi fructiferi** a evidențiat o variabilitate semnificativă a compoziției bacteriene în funcție de planta gazdă.

La multe dintre insectele analizate s-au observat și specii bacteriene cu potențial patogen, dar și specii bacteriene cu rol benefic, ambele categorii putând fi transmise gazdelor insectelor sau altor speciemene din cadrul aceleiași specii.

## 8. CONCLUZII GENERALE ȘI PERSPECTIVE

Acest studiu doctoral reprezintă prima caracterizare complexă a relațiilor dintre speciile de pomi fructiferi, insectele asociate și comunitățile bacteriene din România, generând date originale care contribuie la o mai bună înțelegere a ecologiei microbiene și entomologice din

agroecosistemele locale și oferind un punct de plecare pentru studii viitoare privind rolul insectelor în diseminarea microorganismelor între plante.

În cadrul studiului desfășurat în sudul României, în localitatea Clătești, județul Călărași, în perioada mai–august 2021, au fost colectate 51 de exemplare de insecte de pe diferite specii de pomi fructiferi care includ *Malus pumila*, *Malus domestica* 'Jonagold', *Prunus domestica*, *Prunus avium*, *Prunus persica*, *Prunus persica* var. *platicarpa* și *Cydonia oblonga*.

Speciile de insecte au fost identificate prin analiza codului de bare ADN, utilizând secvențierea genei mitocondriale *COXI*, iar comunitățile bacteriene asociate dipterele apartinand genurilor *Anthomyia*, *Botanophila*, *Drosophila* și *Scaptomyza* colectate din pomii fructiferi au fost caracterizate prin secvențiere Illumina a genei 16S ARNr.

### **Dinamica insectelor în pomii fructiferi**

Majoritatea speciilor izolate au aparținut genului *Drosophila*, la nivelul tuturor tipurilor de pomi fructiferi, iar majoritatea genurilor insectelor au fost izolate într-un singur exemplar. Speciile genului *Anthomyia* au fost prezente la nivelul merilor și prunilor, ale genului *Scaptomyza* la nivelul cireșilor și piersicilor, iar *Botanophila fugax* a fost colectat în mai multe exemplare și doar la nivelul merilor.

Diversitatea mare a insectelor a fost înregistrată la cireși și meri, iar cel mai important aspect a fost reprezentat de gradul de coacere al fructelor. Comune pentru câte două tipuri de pomi fructiferi au fost *Anthomyia* sp. și *Scaptomyza* sp., iar *Drosophila melanogaster* a fost comună pentru toate speciile de pomi fructiferi.

### **Specii de diptere raportate pentru prima dată pe teritoriul României**

Specimenele de diptere aparținând speciilor *Fiebrigella* sp. [OK380918], [OK380920] și [OK380922], *Drosophila simulans* [OK380938], *Drosophila subobscura* [OK380908] și [OK380906], *Helina reversio* [OK380925], *Scaptomyza elmoi* [OK380933], *Botanophila fugax* [OK380924], [OK380928], [OK380929], [OK380932] și [PV018814] au fost raportate pentru prima dată pe teritoriul României în cadrul acestui studiu în urma identificării prin metode genetice pe baza genei COX1, extinzând arealul de distribuție identificat pentru aceste diptere pe teritoriul Europei.

## **Diversitatea și rolul potențial al comunităților microbiene asociate insectelor pomicole**

Analiza microbiotei bacteriene a evidențiat variații semnificative între genurile de Diptera investigate, atât în ceea ce privește diversitatea filogenetică, cât și distribuția pe filumuri bacteriene. Astfel, genurile *Anthomyia* și *Botanophila* au fost asociate cu bacterii aparținând filurilor Proteobacteria, Firmicutes și Bacteroidota, în timp ce *Scaptomyza* a fost asociată doar cu bacterii din Proteobacteria și Firmicutes. Genul *Drosophila* a prezentat cea mai mare diversitate bacteriană prezentând filurile: Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidota și Actinobacteria. Toate genurile studiate au fost dominate de bacterii din filumul Proteobacteria, iar la *Anthomyia*, *Botanophila* și *Scaptomyza* s-a observat o frecvență a filumului Firmicutes. Filumul Actinobacteria a fost identificat exclusiv la *Drosophila*, ar putea reflecta capacități adaptative superioare în raport cu sursele alimentare disponibile.

Filumul *Bacillota* a fost predominant la insectele de pe măr și cireș, în timp ce *Pseudomonadota* a fost asociat cu prun, piersic și soiul de măr Jonagold.

Analiza diversității alpha a ASV-urilor obținute prin secvențializare Illumina a genei ARNr 16S a microbiomului insectelor a demonstrat o variabilitate ridicată a comunităților bacteriene la nivelul speciilor de pomi fructiferi, indicând influențe specie-specifice. Analiza NMDS a diversității beta a evidențiat, de asemenea, diferențe pronunțate ale microbiomului insectelor în funcție de speciile de pomi gazdă.

În contrast, variațiile compoziției microbiene între genurile de insecte au fost neesențiale din punct de vedere statistic, cu excepția genului *Drosophila* care a prezentat o diversitate bacteriană considerabil mai ridicată comparativ cu celelalte genuri analizate.

Aceste rezultate susțin ipoteza conform căreia identitatea gazdei vegetale reprezintă un factor determinant major în structurarea comunităților bacteriene ale insectelor, având o influență mai puternică decât filogenia gazdei entomologice.

Variabilitatea compoziției bacteriene la nivel de gen, identificată în rândul dipterelelor, a evidențiat prezența unor bacterii cu potențial patogen, totodată, anumite genuri bacteriene identificate în microbiomul insectelor colectate de pe pomi fructiferi, pot conferi beneficii funcționale gazdelor, contribuind la procese precum digestia, sinteza de compuși esențiali și protecția împotriva agenților patogeni.

Diversitatea remarcabilă a bacteriomului din speciile de insecte aparținând genurilor *Anthomyia*, *Botanophila*, *Drosophila* și *Scaptomyza* colectate de la nivelul celor cinci specii de pomi fructiferi din sudul României sugerează faptul că aceste diptere pot avea un rol important în facilitarea transportului microbial între meri, cireșe, piersici, pruni și gutui, sugerând

existența unui mecanism multifactorial de dispersie microbiană influențată atât de particularitățile substratului cât și de diverși factori de mediu.

## **Perspective**

Pentru o înțelegere mai aprofundată a relației dintre insecte și microbiomul acestora în contextul pomilor fructiferi, viitoarele cercetări ar trebui să urmărească extinderea ariei geografice de eșantionare și creșterea numărului de exemplare analizate, pentru a permite o caracterizare statistică mai robustă a diversității bacteriene.

De asemenea, includerea diferențierii pe sexe în procesul de colectare și analiză ar putea evidenția posibile variații ale microbiomului în funcție de fiziologia reproductivă a insectelor, oferind o imagine mai detaliată asupra ecologiei microbiene specifice fiecărui sex.

Un alt demers important ar fi extinderea temporală a studiului, acoperind întregul sezon de vegetație – de la înflorire până la coacerea completă a fructelor – pentru a surprinde eventualele variații sezoniere ale microbiomului și dinamica distribuției insectelor în raport cu dezvoltarea plantelor gazdă.

În plus, experimentele desfășurate în condiții controlate, în care insectele sunt crescute și hrănite exclusiv cu material vegetal provenit de la o singură specie de pom fructifer, ar permite evaluarea influenței directe a dietei asupra compoziției microbiomului, eliminând interferențele generate de prezența altor surse trofice.

Aceste direcții de cercetare pot contribui semnificativ la înțelegerea mecanismelor de interacțiune dintre insecte, plante și microbiom, cu aplicații potențiale în protecția plantelor, controlul biologic și managementul bolilor fitopatogene.

## Bibliografie

1. Abdelfattah, E. A. (2021). Effect of different concentration and application time of vitamin b12 on antioxidant response of *Physiophora alceae*. *African Journal of Biological Sciences*, 0(0), 189-203. <https://doi.org/10.21608/ajbs.2021.88898.1021>
2. Agrawal, A. & Tamrakar, V. (2016) Pattern of Distribution of *Drosophila* Species: A Global Scenario. *Shodh. Darpan*. 2(1), 1–6.
3. Agustin, M., Zubaidah, S., Susanto, H., & Habiddin. (2024). Study of *Drosophila* kinship from three regions in East Java, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1312(1), 012050. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1312/1/012050>.
4. Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J. (1990). "Basic local alignment search tool." *Journal of Molecular Biology*. 215 (3), 403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
5. Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26(1), 32–46. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x>
6. Angelina T L., Hill J. E., Khachatourians G. G., Hemmingsen S. M., & Hegedus D. D. (2006). Biochemical and taxonomic characterization of bacteria associated with the crucifer root maggot (*Delia radicum*). *Canadian Journal of Microbiology*, 52(3): 197-208. <https://doi.org/10.1139/w05-123>
7. Ankut, S., Karaca, S., & Özdemir, Z. (2017). *Aphis pomi* De Geer (Hemiptera: Aphididae) (apple aphid) and its parasitoids in Isparta province. *Turkish Bulletin of Entomology*, 7(4), 311–319. <https://doi.org/10.15832/ankutbd.722483>
8. Ashburner, M., Golic, K. G., & Hawley, R. S. (2005). *Drosophila: A laboratory handbook* (2nd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
9. Austin, C. J., & Moehring, A. J. (2013). Optimal temperature range of a plastic species, *Drosophila simulans*. *Journal of Animal Ecology*, 82(3), 663–672. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12041>

10. Auyero, J. (2009). Page 1 of 22. *Science*, (December), 1–22.
11. Bandzo, K., Popovska, M., Bandzo, S. (2012). Influence of the time of first fruit color change and the duration of fruit ripening of cherry varieties on the infestation by *R. cerasi*. *Агрознање*, 13. <https://doi.org/10.7251/AGREN1201039B>
12. Begon, M. (1978). Population densities in *Drosophila obscura* Fallén and *D. subobscura* Collin. *Ecological Entomology* 3, 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1978.tb00898.x>.
13. Begun, D. J., Holloway, A. K., Stevens, K., Hillier, L. D. W., Poh, Y. P., Hahn, M. W., ... Langley, C. H. (2007). Population genomics: Whole-genome analysis of polymorphism and divergence in *Drosophila simulans*. *PLoS Biology*, 5(11), 2534–2559. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050310>
14. Bertelloni, F., Bresciani, F., Cagnoli, G., Scotti, B., Lazzerini, L., Marcucci, M., Colombani, G., Bilei, S., Bossù, T., De Marchis, M.L. (2023). House Flies (*Musca domestica*) from Swine and Poultry Farms Carrying Antimicrobial Resistant Enterobacteriaceae and *Salmonella*. *Veterinary Sciences*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/vetsci10020118>.
15. Bharathi, T., Sathiyandam, V.K., David, P.M.M. (2004). Attractiveness of some food baits to the melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 24, 125-134, <https://doi.org/10.1079/IJT200412>
16. Billeter, J- C., Bailly T. P. M., & Kohlmeier P. (2025). ‘The Social Life of *Drosophila melanogaster*’. *Insectes Sociaux* 72,(2), 127–40. <https://doi.org/10.1007/s00040-024-00990-3>
17. Bodsworth, E., Shepherd, P., & Plant, C. (2005). Exotic plant species on brownfield land: their value to invertebrates of nature conservation importance. *English Nature Research Report*, 650, 1–25.
18. Bottone, E.J. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Review*, 23, 382–398. <https://doi.org/10.1128/cmr.00073-09>
19. Brochu, K. & Wheeler, T. A. (2009). Systematics and ecology of the nearctic species of *Neophyllomyza*(Diptera: Milichiidae). *The Canadian Entomologist*, 141(2), 103-111. <https://doi.org/10.4039/n09-001>
20. Broderick, N.A., Lemaitre, B. (2012). Gut-associated microbes of *Drosophila melanogaster*. *Gut Microbes*, 3, 307–321. <https://doi.org/10.4161/gmic.19896>

21. Bultman, T. L., Lembicz, M., & Leuchtman, A. (2022). Does the degree of mutualism between *Epichloë* fungi and *Botanophila* flies depend upon the reproductive mode of the fungi?. *Journal of Fungi*, 8(12), 1270. <https://doi.org/10.3390/jof8121270>
22. CABI (2025). Species Datasheets. <https://www.cabi.org/isc>
23. Cadavid Sanchez, I., Amat, E. & Gómez-P, L.-M. (2015). Enterobacteria Isolated From Synanthropic Flies (Diptera, Calyptratae) in Medellín, Colombia. *Caldasia*, 37, 319. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v37n2.53594>
24. Cafarchia, C., Lia, R. P., Romito, D., & Otranto, D. (2009). Competence of the housefly, *Musca domestica*, as a vector of *Microsporium canis* under experimental conditions. *Medical and Veterinary Entomology*, 23(1), 21-25. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2008.00785.x>
25. Callahan B.J., McMurdie P.J., Rosen M.J., Han A.W., Johnson A.J., Holmes S.P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
26. Carroll, L. E., & Dickinson, J. L. (2009). Mouthparts and feeding behavior in Drosophilidae. In M. E. Irwin, F. G. Bartlett, & R. J. Packer (Eds.), *The Diptera: Biology of Flies* (pp. 203–220). CRC Press.
27. Castonguay-Vanier, J., Vial, L., Tremblay, J., & Déziel, É. (2010). *Drosophila melanogaster* as a model host for the *Burkholderia cepacia* complex. *PLoS ONE*, 5(7), e11467. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011467>
28. Cazan, C. D., Păstrav, I. R., Ionică, A. M., Oguz, G., Erisoz Kasap, O., Dvorak, V., ... Mihalca, A. D. (2019). Updates on the distribution and diversity of sand flies (Diptera: Psychodidae) in Romania. *Parasites and Vectors*, 12(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3507-7>
29. Chandler, J. A., Lang, J. M., Bhatnagar, S., Eisen, J. A., & Kopp, A. (2011). Bacterial communities of diverse *Drosophila* species: Ecological context of a host–microbe model system. *PLoS Genetics*, 7(9), e1002272. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002272>
30. Chen, H., Boutros, P.C. (2011). VennDiagram: A package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R. *BMC Bioinformatics*, 12, 35, <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-35>
31. Cherian, P. T. (2012). Revision of some genera of tribe Fiebrigellini and description of nine new species of *Anacamptoneurum* Becker from the Oriental Region (Diptera:

- Chloropidae: Oscinellinae). *Acta Zoologica Cracoviensia* 55(1), 1-32. [https://doi.org/10.3409/azc.55\\_1.01](https://doi.org/10.3409/azc.55_1.01)
32. Chireceanu, C., Iamandei, M., Stănică, F., & Chiriloaie, A. (2013). The presence of the mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Romania. *Romanian Journal for Plant Protection*, 6 1-4.
  33. Chireceanu, C., Chiriloaie, A., Teodoru, A. (2015). First Record of the Spotted Wing drosophila *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Romania. *Romanian Journal for Plant Protection*, 8, 86–95.
  34. Clarke, K. R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, 18(1), 117–143. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x>
  35. Clatesti\_2\_2\_3. (n.d.). Retrieved February 8, 2025, from <https://indib4e9e990e259.maps.arcgis.com/apps/mapviewer/index.html?webmap=f6b68c68d1c0499e8cdef4443391c341>
  36. Cocuzza, G. M. (2024). *Myzus Cerasi* (Black Cherry Aphid).
  37. Contreras-Miranda J.A., Piovesan B., Ueno B., Bernardi D., Botton M., Nava D.E. (2021). Use of Preservatives in Vegetable Protein-Based Food Attractants for Monitoring *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) in Peach Orchards. *Neotropical Entomology*, 50(3):476-483. <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00852-8>
  38. Coolen, S., Magda, R.D., Welte, C.U. (2022). The secret life of insect-associated microbes and how they shape insect-plant interactions. *FEMS Microbiology Ecology*, 98. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiac083>.
  39. Copoiu, D., Purcarea, C. (2023). First report on the presence of *Botanophila fugax* (Meigen, 1826) (Diptera: Anthomyiidae) in Romania. *Romanian Journal of Biology - Zoology*, 68, 11–18.
  40. Copoiu, D.S., Lavin, P., Iteus, C., Purcarea, C. (2025). Patterns of Insect Distribution in Fruit Trees of South Romania and Their Role as Bacterial Vectors. *Diversity*, 17, 295. <https://doi.org/10.3390/d17040295>
  41. Coughlan, J. M., Dagilis, A. J., Serrato-Capuchina, A., Elias, H., Peede, D., Isbell, K., ... Matute, D. R. (2022). Patterns of Population Structure and Introgression among Recently Differentiated *Drosophila melanogaster* Populations. *Molecular Biology and Evolution*, 39(11), 1–18. <https://doi.org/10.1093/molbev/msac223>

42. Cox, C.R., Gilmore, M.S. (2007). Native microbial colonization of *Drosophila melanogaster* and its use as a model of *Enterococcus faecalis* pathogenesis. *Infect Immun.*, 75, 1565–1576. <https://doi.org/10.1128/iai.01496-06>
43. Crotti, E., Rizzi, A., Chouaia, B., Ricci, I., Favia, G., Alma, A., Sacchi, L., Bourtzis, K., Mandrioli, M., Cherif, A.,... Daffonchio, D. (2010). Acetic acid bacteria, newly emerging symbionts of insects. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 6963–6970. <https://doi.org/10.1128/aem.01336-10>
44. Cunningham, J., Carlsson, M., Villa, T., Dekker, T. & Clarke, A. (2016). Do Fruit Ripening Volatiles Enable Resource Specialism in Polyphagous Fruit Flies? *Journal Chemical Ecology* 42, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0752-5>
45. Darwish, A. (2015). Susceptibility of certain fruit trees to infestation with the white peach scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni -Tozzetti), with some ecological aspects. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 8(2), 49-58. <https://doi.org/10.21608/eajbsa.2015.12900>
46. David, J. R., Capy, P., & Van Herrewege, J. (1982). Interspecific comparison of habitat choice in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Heredity*, 48(2), 157–165. <https://doi.org/10.1038/hdy.1982.17>
47. De Jonge, N., Michaelsen T. Y., Ejbye-Ernst R., ...& Schjørring S. (2020) ‘Housefly (*Musca Domestica* L.) Associated Microbiota across Different Life Stages’. *Scientific Reports* 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64704-y>
48. Dhokane, A. B., & Chavan, R. J. (2023). Review on insect pollinators of fruit crops. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 11(5), 130–134. DOI: <https://doi.org/10.22271/j.ento.2023.v11.i5b.9242>
49. DigitalNZ. (2016, December 15). *Scaptomyza elmoi* (female, image). [Image record]. DigitalNZ. <https://digitalnz.org/records/40956270/scaptomyza-elmoi>
50. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., (2006). Eds., *Springer New York: New York, NY, USA,*, pp. 163–200.
51. Elgart, M., Shay S., Orit S., Yulia G., Yael H., & Yoav S. (n.d) ‘Impact of Gut Microbiota on the FLY’s Germ Line’. *NATURE COMMUNICATIONS*.
52. El-Sherbini, G. T. (2011). The Role of Insects in Mechanical Transmission of Human Parasites. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 13(9). <https://doi.org/10.5812/kowsar.20741804.2253>

53. Engel, P., & Moran N. A. (2013). 'The Gut Microbiota of Insects – Diversity in Structure and Function'. *FEMS Microbiology Reviews* 37, no. 5: 699–735. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12025>.
54. EOL (Encyclopedia of Life). (n.d.). *Scaptomyza elmoi*. TraitBank and Taxonomy Browser. [Pomace fly - Encyclopedia of Life](#).
55. Erazo-Garcia, M. P., Sotelo-Proaña, A. R., Ramírez-Villacís, D. X., Garcés-Carrera, S., & León-Reyes, A. (2021). Methyl jasmonate-induced resistance to *Delia platura* (Diptera: Anthomyiidae) in *Lupinus mutabilis*. *Pest Management Science*, 77(12), 5382-5395. <https://doi.org/10.1002/ps.6578>
56. Fliszkiewicz, M. & Giejdasz, K. (2023). Effect of pollination by the *Osmia bicornis* (syn. o. rufa) bee on fruit set, seed set and yield in three apple cultivars. *Journal of Apicultural Science*, 67(2), 125-134. <https://doi.org/10.2478/jas-2023-0011>
57. Flury, P., Vesga, P., Domínguez-Ferreras, A., Tinguely, C., Ullrich, C., Kleespies, R., ... & Maurhofer, M. (2018). Persistence of root-colonizing *Pseudomonas protegens* in herbivorous insects throughout different developmental stages and dispersal to new host plants. *The ISME Journal*, 13(4), 860-872. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0317-4>
58. Folmer, O., Black, M., Wr, H., Lutz, R., Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology*, 3, 294-299.
59. Funmilola A.S., Babatunde O.O., Victor O., Segun A., Folake O.I., Ganiyu O. (2020). Involvement of cholinergic and redox impairments in insecticidal properties of essential oils from fertility tree and horseradish tree leaves in fruit fly (*Drosophila melanogaster*). *J Oleo Sci.*,69(8):941-950. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19247>
60. Gawande, S., Anandhan, S., Ingle, A., Roylawar, P., Khandagale, K., Gawai, T., ... & Singh, M. (2019). Microbiome profiling of the onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae). *Plos One*, 14(9), e0223281. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223281>
61. GBIF.org. (2025). GBIF Occurrence Download. <https://www.gbif.org>
62. Gill, H. K., Goyal, G., & Gillett-Kaufman, J. L. (2013). Seedcorn maggot, *Delia platura* (Meigen) (Insecta: Diptera: Anthomyiidae). *EDIS*, 2013(6). <https://doi.org/10.32473/edis-in1002-2013>

63. Gordon, C., Spurway, H., & Street, P. A. R. (1939). An analysis of three wild populations of *Drosophila subobscura*. *Journal of Genetics*, 38(1–2), 37–90. <https://doi.org/10.1007/BF02982165>
64. Gregor, F., Rozkošný, R., Bartak, M. & Vaňhara, J.. (2002). The Muscidae (Diptera) of Central Europe. *Folia Facultatis Scientiarum Naturalium Universitatis Masarykianae Brunensis, Biologia*. 107. 1-280.
65. Grève, P., Moumen, B., Bouchon, D. (2024). Three feminizing *Wolbachia* strains in a single host species: Comparative genomics paves the way for identifying sex reversal factors. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1416057. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1416057>
66. Grimaldi, D., & Engel, M. S. (2005). *Evolution of the insects*. Cambridge University Press.
67. Grimaldi, D., Ginsberg, P. S., Thayer, L., McEvey, S., Hauser, M., Turelli, M., & Brown, B. (2015). Strange little flies in the big city: Exotic flower-breeding Drosophilidae (Diptera) in urban Los Angeles. *PLoS ONE*, 10(4), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122575>
68. Hall, R. D., & Gerhardt, R. R. (2002). Flies (Diptera). *Medical and Veterinary Entomology*, 127–145. <https://doi.org/10.1016/b978-012510451-7/50010-4>
69. Hanson, M. A., Grollmus, L., & Lemaitre, B. (2023). Ecology-relevant bacteria drive the evolution of host antimicrobial peptides in *Drosophila*. *Science*, 381(6655). <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ADG5725>
70. Harris, M. (1780). *Exposition of English insects* (p. 146, Fig. 62). London: White and Son. Retrieved from <https://archive.org/details/expositiondesins00harr>
71. Hazir, A., Yurtmen, M., & FiDan, H. (2021). ‘Potential Aphid (Hemiptera: Aphididae) Vectors of Plum-Pox Virus (Virus:Potyviridae) and Status of Sharka Disease in Stone Fruit Orchards in the East Mediterranean Region of Turkey’. *Tarım Bilimleri Dergisi, Ankara University Faculty of Agriculture*, 4, 484–92. <https://doi.org/10.15832/ankutbd.722483>
72. Hebert, P.D N., Cywinska, A., Ball, S.L., Dewaard, J.R., (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512),: 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.221>
73. Heck, M. (2018). ‘Insect Transmission of Plant Pathogens: A Systems Biology Perspective’. *mSystems* 3, no. 2. <https://doi.org/10.1128/msystems.00168-17>.

74. *Helina reversio*. (2025). Commanster.eu. <https://www.commanster.eu/Commanster/Insects/Flies/SpFlies/Helina.reversio.html>
75. Henneberg, B., Meiners, T., Mody, K., & Obermaier, E. (2022). Morphological and olfactory tree traits influence the susceptibility and suitability of the apple species *Malus domestica* and *M. sylvestris* to the florivorous weevil *Anthonomus pomorum* (Coleoptera: Curculionidae). *PeerJ*, *10*, e13566. <https://doi.org/10.7717/peerj.13566>
76. Higuchi, T., Kohatsu, S., & Yamamoto, D. (2017). Quantitative analysis of visually induced courtship elements in *Drosophila subobscura*. *Journal of Neurogenetics*, *31*(1-2), 49-57. <https://doi.org/10.1080/01677063.2017.1290613>
77. Holt, J. R., Cavichioli de Oliveira, N., Medina, R. F., Malacrinò, A., & Lindsey, A. R. I. (2024). 'Insect–Microbe Interactions and Their Influence on Organisms and Ecosystems'. *Ecology and Evolution* *14*, no. 7 <https://doi.org/10.1002/ece3.11699>.
78. Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., Sleator, R.D. (2012). *Acinetobacter baumannii*: An emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, *3*, 243–250. <https://doi.org/10.4161/viru.19700>
79. Hubenov, Z. (2021). Species composition and distribution of the Dipterans (Insecta: Diptera) in Bulgaria.. <https://doi.org/10.3897/ab.e68616>
80. Iancu, L., Carter, D. O., Junkins, E. N., & Purcarea, C. (2015). Using bacterial and necrophagous insect dynamics for post-mortem interval estimation during cold season: Novel case study in Romania. *Forensic Science International*, *254*, 106–117. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.07.024>
81. Iancu, L., Junkins, E.N., Necula-Petrareanu, G., & Purcarea, C. (2018). Characterizing forensically important insect and microbial community colonization patterns in buried remains. *Scientific Reports* *8*, 15513, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33794-0>
82. iNaturalist (2025). Global species observations. <https://www.inaturalist.org>
83. Isac, M., Preda, S., Marcu, M. (1998). Aphid species—Vectors of plum pox virus. *Acta Virologica*, *42*, 233–234.
84. Ito, F. & Awasaki, T. (2022). Comparative analysis of temperature preference behavior and effects of temperature on daily behavior in eleven *Drosophila* species.. <https://doi.org/10.1101/2022.04.18.488610>
85. Janet Graham, (2012). *Botanophila fugax*, Deeside, North Wales, March 2012 (17999512341).jpg - Wikimedia Commons. (n.d.). Retrieved February 25, 2025, from [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Botanophila\\_fugax,\\_Deeside,\\_North\\_Wales,\\_March\\_2012\\_\(17999512341\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Botanophila_fugax,_Deeside,_North_Wales,_March_2012_(17999512341).jpg)

86. Jiang, Y., et al. (2019). Challenging battles of plants with phloem feeding insects and phloem-inhabiting prokaryotic pathogens contribute to some of the world's most disastrous crop losses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(40), 19727–19736. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915396116>
87. Johnson, M., Zaretskaya, I., Raytselis, Y., Merezhuk, Y., McGinnis, S., & Madden, T.L. (2008). NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic Acids Research* 36, W5-W9, <https://doi.org/10.1093/nar/gkn201>
88. Jojima, Y., Mihara, Y., Suzuki, S., Yokozeki, K., Yamanaka, S., Fudou, R. (2004). *Saccharibacter floricola* gen. nov., sp. nov., a novel osmophilic acetic acid bacterium isolated from pollen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 2263–2267. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02911-0>
89. Jones, C. D. (2005). The genetics of adaptation in *Drosophila sechellia*. *Genetica*, 123(1–2), 137–145. <https://doi.org/10.1007/s10709-004-2728-6>
90. Junnila, A., Müller, G.C., Schlein, Y. (2011). Attraction of *Phlebotomus papatasi* to common fruit in the field. *Journal of Vector Ecology* 36 (Suppl 1), S206-211. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00132.x>
91. Katoh, T., Izumitani, H. F., Yamashita, S., & Watada, M. (2017). Multiple origins of Hawaiian drosophilids: Phylogeography of *Scaptomyza hardy* (Diptera: Drosophilidae). *Entomological Science*, 20(1), 33-44. <https://doi.org/10.1111/ens.12222>
92. Kersters, K., Lisdiyanti, P., Komagata, K., Swings, J. (2006). The Family Acetobacteraceae: The Genera *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, and *Kozakia*. In *The Prokaryotes: Volume 5: Proteobacteria: Alpha and Beta Subclasses*.
93. Khadem, M., & Krimbas, C. B. (1991). Studies of the species barrier between *Drosophila subobscura* and *D. madeirensis* I: The genetics of male hybrid sterility. *Heredity*, 67(2), 157–165. <https://doi.org/10.1038/hdy.1991.75>
94. Khan, A.S., Dancer, S. J., Humphreys, H. (2012). Priorities in the prevention and control of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* in hospitals. *Journal of Hospital Infection*, 82, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2012.06.013>
95. Knapp, L., Mazzi, D., & Finger, R. (2021). The economic impact of *Drosophila suzukii*: perceived costs and revenue losses of Swiss cherry, plum and grape growers. *Pest Management Science* 77(2):978-1000. <https://doi.org/10.1002/ps.6110>

96. Komzáková, O., & Rozkošný, R. (2009). Identification of central European species of *Botanophila* Lioy, 1864, based on the female terminalia (Diptera: Anthomyiidae). *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 55(4), 321–337.
97. Kopp, A., & True, J. R. (2002). Evolution of male sexual characters in the Oriental *Drosophila melanogaster* species group. *Evolution & Development*, 4(4), 278–291. <https://doi.org/10.1046/j.1525-142X.2002.02017.x>
98. Krams, R., Gudra, D., Popovs, S., Willow, J., Krama, T., Munkevics, M., Megnis, K., Jõers, P., Fridmanis, D., Contreras Garduño, J., și colab. (2022). Dominance of Fructose-Associated *Fructobacillus* in the Gut Microbiome of bumblebees (*Bombus terrestris*) Inhabiting Natural Forest Meadows. *Insects*, 13, 98.
99. Krimbas, C. B., & Loukas, M. (1980). The *Drosophila subobscura* group. In M. Ashburner & T. R. F. Wright (Eds.), *The Genetics and Biology of Drosophila* (Vol. 3b, pp. 1–57). Academic Press.
100. Kruskal, J. B. (1964). Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika*, 29(1), 1–27. <https://doi.org/10.1007/BF02289565>
101. Kupferschmied, P., Chai, T., Flury, P., Blom, J., Smits, T. H. M., Maurhofer, M., ... & Keel, C. (2016). Specific surface glycan decorations enable antimicrobial peptide resistance in plant-beneficial pseudomonads with insect-pathogenic properties. *Environmental Microbiology*, 18(11), 4265-4281. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13571>
102. Lachaise, D., Cariou, M.-L., David, J. R., Lemeunier, F., Tsacas, L., & Ashburner, M. (1988). Historical biogeography of the *Drosophila melanogaster* species subgroup. *Evolutionary Biology*, 22, 159–225. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4634-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4634-9_5)
103. Lachaise, D., Tsacas, L., & Couturier, G., (1982). The Drosophilidae associated with tropical African figs. *Evolution* 36, 141–151.
104. Landcare Research. (2023). *Scaptomyza elmoi*. Biota of New Zealand. <https://biotanz.landcareresearch.co.nz/scientific-names/c43579da-7bd0-4edc-8c62-9e090cf19cf5>
105. Lapoint, R. T., O’Grady, P., & Whiteman, N. K. (2013). Diversification and dispersal of the hawaiian drosophilidae: the evolution of *Scaptomyza*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(1), 95-108. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.04.032>

106. Laroche, M., Raoult D., & Parola, P. (2018). ‘Insects and the Transmission of Bacterial Agents’. *Microbiology Spectrum* 6, no. 5 <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mtbp-0017-2016>.
107. Lasko, P. & Lüthy, K. (2021). Investigating rare and ultrarare epilepsy syndromes with *Drosophila* models. *Faculty Reviews*, 10. <https://doi.org/10.12703/r/10-10>
108. Leal, J., Gregson, D.B., Ross, T., Church, D.L., & Laupland, K.B. (2008). Epidemiology of *Clostridium* species bacteremia in Calgary, Canada, 2000–2006. *Journal of Infection*, 57, 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2008.06.018>.
109. Leblanc, L., O’Grady, P. M., Rubinoff, D., & Montgomery, S. L. (2009). New Immigrant Drosophilidae in Hawaii , and a Checklist of the Established Immigrant Species. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, 41, 121–127.
110. Leitão-Gonçalves, R., Carvalho-Santos, Z., Francisco, A. P., Fioreze, G. T., Anjos, M., Baltazar, C., ... & Ribeiro, C. (2017). Commensal bacteria and essential amino acids control food choice behavior and reproduction. *PLOS Biology*, 15(4), e2000862. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2000862>
111. Lembicz, M., Górczyńska, K., Olszanowski, Z., Michelsen, V., & Leuchtman, A. (2013). The occurrence and preference of *Botanophila* flies (Diptera: Anthomyiidae) for particular species of *Epichloë* fungi infecting wild grasses. *European Journal of Entomology*, 110(1), 129-134. <https://doi.org/10.14411/eje.2013.018>
112. Leseigneur, L. (2011). Réhabilitation de *Adrastus luteipennis* erichson, 1841 , espèce distincte de a. rachifer (Geoffroy, 1875) (Coleoptera: Elateridae).. *Bulletin Mensuel De La Société Linnéenne De Lyon*, 80(7), 179-183. <https://doi.org/10.3406/linly.2011.13808>
113. Lesieur, V., Thomann, T., Jourdan, M., Kashefi, J., & Bon, M. (2025). Fly in the ointment: host-specificity challenges for *Botanophila turcica*, a candidate agent for the biological control of saffron thistle in Australia. *Insects*, 16(4), 357. <https://doi.org/10.3390/insects16040357>
114. Leuchtman, A., & Michelsen, V. (2016). *Botanophila dissecta* cytochrome oxidase subunit II (COII) gene, partial cds; mitochondrial. GenBank accession no. MG673715. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MG673715>
115. Li, H., Zhao, C., Yang, Y., Zhou, Z., Qi, J., & Li C. (2021). ‘The Influence of Gut Microbiota on the Fecundity of *Henosepilachna Vigintioctopunctata* (Coleoptera:

- Coccinellidae)’. *Journal of Insect Science* 21, no. 4  
<https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab061>
116. Li, X., Wang, P., Wang, W., Jiao, B., Zhang, S., Peng, Y., ... & Zhao, Y. (2025). Bacterial volatiles from aphid honeydew mediate ladybird beetles oviposition site choice. *Pest Management Science*, 81(7), 4063-4071. <https://doi.org/10.1002/ps.8771>
  117. Lindsey, A. R., Parish, A. J., Newton, I. L., Tennessen, J. M., Jones, M. W., & Stark, N. (2023). *Wolbachia* is a nutritional symbiont in *Drosophila melanogaster*.
  118. Lindsey, A.R., Tennessen, J.M., Gelaw, M.A., Jones, M.W., Parish, A.J., Newton, I.L., Nemkov, T., D’Alessandro, A., Rai, M., & Stark, N (2024). The intracellular symbiont *Wolbachia* alters *Drosophila* development and metabolism to buffer against nutritional stress. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2023.01.20.524972>.
  119. Ling, J., Li, Y., Zheng, X.L., Lu, W., & Wang, X.Y. (2024). Electroantennographic and behavioral responses of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) adults to the volatiles of plum fruits. *Journal of Economic Entomology* 117(6):2400-2412. <https://doi.org/10.1093/jee/toae225>
  120. Lizama, M., Alves-Santos, F. M., Navas-Gracia, L. M., Martínez-Cisterna, D., Medina, C., Rebolledo, R., ... Bardehle, L. (2025). The Use of Novel Alginate Capsules in a Monitoring System for *Drosophila suzukii* in a Cherry Orchard in the Region of La Araucanía, Chile. *Insects* , 16(1). <https://doi.org/10.3390/insects16010013>
  121. Llorens, J. V., Clark, J. B., Martínez-Garay, I., Soriano, S., Llanos, R. d., & Martínez-Sebastián, M. J. (2008). Gypsy endogenous retrovirus maintains potential infectivity in several species of drosophilids. *BMC Evolutionary Biology*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-302>
  122. Lu, Y., Zhou, G., Ewald, J., Pang, Z., Shiri, T., & Xia, J. (2023). MicrobiomeAnalyst 2.0: Comprehensive statistical, functional and integrative analysis of microbiome data. *Nucleic Acids Research*, 51(1 W), W310–W318. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad407>
  123. Lv, C., Huang, Y.-Z., & Luan, J.-B. (2024). ‘Insect–microbe Symbiosis-Based Strategies Offer a New Avenue for the Management of Insect Pests and Their Transmitted Pathogens’. *Crop Health* 2, no. 1 <https://doi.org/10.1007/s44297-024-00038-9>.
  124. Macrogen Europe. (n.d.). *Sanger sequencing service guide*. Retrieved July 15, 2025, from <https://www.macrogen-europe.com>
  125. Mangoni, M., Petrizzelli, F., Liorni, N., Bianco, S. D., Biagini, T., Napoli, A., ... & Mazza, T. (2023). Investigating mitochondrial gene expression patterns in *Drosophila*

- melanogaster* using network analysis to understand aging mechanisms. *bioRxiv*.  
<https://doi.org/10.1101/2023.05.16.540914>
126. Mansourian S., Enjin A., Jirle, E.V., Ramesh, V., Rehermann G., Becher, P.G., Pool, J.E., Stensmyr, M.C. (2018). Wild African *Drosophila melanogaster* are seasonal specialists on marula fruit. *Current Biology* 28(24), 3960-3968.e3.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.10.033>
  127. MapChart. (2024). World distribution of species X [Map]. MapChart.net. Retrieved July 16, 2025, from <https://www.mapchart.net/world.html>
  128. Marino, A., Leonardi, M., Berrilli, E., Garzia, M., Zambonelli, A., Cerretti, P., & Iotti, M. (2024). Identification of Dipteran species inhabiting *Tuber aestivum* (the summer truffle) ascomata. *Environmental Monitoring and Assessment*, 196, 1239.  
<https://doi.org/10.1007/s10661-024-13401-8>.
  129. Markow, T. A., & O'Grady, P. M. (2005). *Drosophila: A guide to species identification and use*. Academic Press.
  130. Martin, M. (2011) Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads. *EMBnet Journal*, 17, 10-12. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>
  131. Massimino Cocuzza, G. (2024). *Myzus cerasi* (black cherry aphid).
  132. CABI Compendium. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/35634>
  133. Matavelli, C., Carvalho, M. J. A., Martins, N. E., & Mirth, C. K. (2015). Differences in larval nutritional requirements and female oviposition preference reflect the order of fruit colonization of *Zaprionus indianus* and *Drosophila simulans*. *Journal of Insect Physiology*, 82, 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2015.09.003>
  134. Matsunaga, T., Reisenman, C. E., Goldman-Huertas, B., Brand, P., Miao, K., Suzuki, H. C., ... & Whiteman, N. K. (2019). Evolution of olfactory receptors tuned to mustard oils in herbivorous drosophilidae.. <https://doi.org/10.1101/2019.12.27.889774>
  135. Matsunaga, T., Reisenman, C., Goldman-Huertas, B., Brand, P., Miao, K., Suzuki, H., ... & Whiteman, N. (2021). Evolution of olfactory receptors tuned to mustard oils in herbivorous drosophilidae. *Molecular Biology and Evolution*, 39(2).  
<https://doi.org/10.1093/molbev/msab362>
  136. Matta, B. P., & Bitner-Mathé, B. C. (2004). Genetic architecture of wing morphology in *Drosophila simulans* and an analysis of temperature effects on genetic parameter estimates. *Heredity*, 93(4), 330–341. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800508>

137. McCabe, L.M., Boyle, N.K., Pitts-Singer, T.L. (2024). *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae) increase pollination of Washington sweet cherry and pear crops. *Environmental Entomology* 53(4):698-705. <https://doi.org/10.1093/ee/nvae043>
138. McCravy, K. W., Clem, C. S., Bailey, J. B., Elgar, S. A., & Blaauw, B. R. (2024). Hover fly (Diptera: Syrphidae) diversity and seasonality in North Georgia apple and peach orchards. *Journal of Economic Entomology*, 117(4), 1572–1581. <https://doi.org/10.1093/jee/toae103>
139. McEvey, S. F. (2017). The Australian museum lord howe island expedition 2017—Drosophilidae (Diptera). *Technical Reports of the Australian Museum Online*, 26, 19-24. <https://doi.org/10.3853/j.1835-4211.26.2017.1703>
140. McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
141. Medina, L. (1999). *Biology and host plant relationships of Scaptomyza flava leaf miner* (Doctoral thesis). Massey University. Retrieved from Massey Research Online (MRO). <https://mro.massey.ac.nz/handle/10179/3013>
142. Merayo, M., Delgado, K. N., Salguero, D., & Orengo, D. J. (2025). Chromosomal inversions in chromosome U of *Drosophila subobscura*: a story from population studies to molecular level. *Insects*, 16(6), 586. <https://doi.org/10.3390/insects16060586>
143. Mestres, F., Sanz, J. F., & Serra, L. (2004). Chromosomal structure and recombination between inversions in *Drosophila subobscura*. *Hereditas*, 128(2), 105-113. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1998.00105.x>
144. Miller, R M. (n.d.). Ecology of Lauxaniidae (Diptera: Acalyptratae) I. Old and New Rearing Records with Biological Notes and Discussion. *Unpublished manuscript*
145. Mioduchowska, M., Czyz, M. J., Gołdyn, B., Kur, J., Sell, J., (2018). Instances of erroneous DNA barcoding of metazoan invertebrates: Are universal COX1 gene primers too “universal”? *PLoS ONE*, 13(6): 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199609>
146. Mishra, P., Singh, U., Pandey, C., Mishra, P., & Pandey, G. (2019). Application of Student’s t-test, analysis of variance, and covariance. *Annals of Cardiac Anaesthesia*, 22(4), 407-411. <https://doi.org/10.4103/aca.ACA>
147. Mlynarek, J. J. and Sim, K. A. (2021). Identification of morphologically challenging *Delia* (Diptera: Anthomyiidae) species from field vegetable crops using polymerase

- chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *The Canadian Entomologist*, 153(5), 630-639. <https://doi.org/10.4039/tce.2021.22>
148. Mogren, C. L., & Shikano I. (2021). ‘Microbiota, Pathogens, and Parasites as Mediators of Tritrophic Interactions between Insect Herbivores, Plants, and Pollinators’. *Journal of Invertebrate Pathology*, 186, 107589. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107589>.
149. Monteiro, L.B., & Niederheitmann, M. (2022). Effect of a short-cycle apple tree cultivar on oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) development and larval behavior. *Brazilian Journal of Biology* 82, e257991, <https://doi.org/10.1590/1519-6984.257991>.
150. Montenegro, D., Cortés-Cortés, G., Balbuena-Alonso, M.G., Warner, C., & Camps, M. (2024). *Wolbachia*-based emerging strategies for control of vector-transmitted disease. *Acta Tropica*, 260, 107410. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107410>.
151. Montllor, C., Maxmen, A., & Purcell, A. (2002). Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrtosiphon pisum* under heat stress. *Ecological Entomology*, 27, 189–195. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2002.00393.x>.
152. Monyama, M. C., Taioe, M. O., Nkhebenyane, J., Wyk, D. v., Ramatla, T., & Thekisoe, O. (2023). Bacterial communities associated with houseflies (*Musca domestica* L.) inhabiting hospices in South Africa. *Microorganisms*, 11(6), 1440. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061440>
153. Moran, N.A., Russell, J.A., Koga, R., & Fukatsu, T. (2005). Evolutionary relationships of three new species of *Enterobacteriaceae* living as symbionts of aphids and other insects. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 3302–3310. <https://doi.org/10.1128/aem.71.6.3302-3310.2005>.
154. Muthomi, J. W., Kimenju, J. W., Beesigamukama, D., Subramanian, S., Khamis, F. M., & Tanga, C. M. (2023). Occurrence and management of two emerging soil-dwelling pests ravaging cabbage and onions in Kenya. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46190-0>
155. Nakonechnaya, O. V., Koren, O. G., Sidorenko, V. S., Шабалин, С. А., Маркова, Т. О., & Kalachev, A. V. (2021). Poor fruit set due to lack of pollinators in *Aristolochia manshuriensis* (Aristolochiaceae). *Plant Ecology and Evolution*, 154(1), 39-48. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2021.1747>

156. Namigai, E.K., Kenny, N.J., & Shimeld, S.M. (2014). Right across the tree of life: the evolution of left-right asymmetry in the Bilateria. *Genesis*. 52(6), 458-70. <https://doi.org/10.1002/dvg.22748>.
157. Namin, S. M., & Gaimari, S. D. (2018). ‘The Genus *Sapromyza* (Diptera: Lauxaniidae) in Iran with Description of Three New Species’. *Zootaxa* 4471(1).
158. Nartshuk, E. P. (2002). Chloropidae (Diptera) from the forest zone of European Russia and their ecological associations. *Zoologicheskii Zhurnal*, 81(4), 415–424.
159. National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2024). *Auricularia auricula* isolate JZB22110117 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence [GenBank accession OR551371.1]. NCBI Nucleotide Database. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OR551371.1>
160. National Center for Biotechnology Information. (2018). *Drosophila subobscura* voucher drosob36 cytochrome c oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial [GenBank accession MG605147.1]. NCBI Nucleotide Database. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MG605147.1>
161. NatureSpot. (2025). Recording the Wildlife of Leicestershire and Rutland. *NatureSpot – Recording the wildlife of Leicestershire and Rutland*. National Biodiversity Network Trust. <https://www.naturespot.org/home>
162. NatureSpot. (n.d.). *Drosophila subobscura* – species information. Retrieved June 23, 2025, from <https://www.naturespot.org.uk/species/drosophila-subobscura>
163. NatureSpot. (n.d.). *Helina reversio*. Retrieved June 4, 2025, from <https://www.naturespot.org/species/helina-reversio>
164. Naveed, W. A., Liu, Q., Lu, C., & Huang, X. (2024). Symbiotic bacterial communities of insects feeding on the same plant lineage: Distinct composition but congruent function. *Insects*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/insects15030187>
165. Noman, A., Aqeel, M., Qasim, M., Haider, I., Lou, Y. (2020). Plant-insect-microbe interaction: A love triangle between enemies in ecosystem. *Science of the Total Environment*, 699, 134181. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134181>.
166. Nunes, M. D. S., Neumeier, H., & Schlötterer, C. (2008). Contrasting patterns of natural variation in global *Drosophila melanogaster* populations. *Molecular Ecology*, 17(20), 4470–4479. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03944.x>
167. O’Connor, T.K., Humphrey, P.T., Lapoint, R.T., Whiteman, N.K., O’Grady, P.M. (2014). Microbial interactions and the ecology and evolution of Hawaiian

- Drosophilidae. *Frontiers in Microbiology* 5, 616. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00616>.
168. O'Grady, P. & DeSalle, R. (2018). Phylogeny of the genus *Drosophila*. *Genetics*, 209(1), 1-25. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.300583>
169. Oakeshott, J.G., Vacek, D.C., & Anderson, P.R. (1989). Effects of microbial floras on the distributions of five domestic *Drosophila* species across fruit resources. *Oecologia*, 78, 533–541. <https://doi.org/10.1007/bf00378745>
170. Ort, B.S., Bantay, R.M., Pantoja, N.A., & O'Grady, P.M. (2012). Fungal diversity associated with Hawaiian *Drosophila* host plants. *PLoS ONE*, 7, e40550. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040550>.
171. Oyeniran, O.H., Ademiluyi, A.O., & Oboh, G. (2021). Modulatory effects of moringa (*Moringa oleifera* L.) leaves infested with African mistletoe (*Tapinanthus bangwensis* L.) on the antioxidant, antidiabetic, and neurochemical indices in high sucrose diet-induced diabetic-like phenotype in fruit flies (*Drosophila melanogaster* M.). *Journal of Food Biochemistry*. 45(3), e13318, <https://doi.org/10.1111/jfbc.13318>
172. Pagel, L., Bultman, T., Górzynska, K., Lembicz, M., Leuchtman, A., Sangliana, A., & Richards, N. (2019). *Botanophila* flies, vectors of *Epichloë* fungal spores, are infected by *Wolbachia*. *Mycology*, 10, 1–5. <https://doi.org/10.1080/21501203.2018.1515119>.
173. Palmieri, N., Hess, C., Hess, M., & Alispahic, M. (2020). Sequencing of five poultry strains elucidates phylogenetic relationships and divergence in virulence genes in *Morganella morganii*. *BMC Genomics* 21, 579. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07001-2>.
174. Panayidou, S., Ioannidou, E., & Apidianakis, Y. (2014). Human pathogenic bacteria, fungi, and viruses in *Drosophila*: Disease modeling, lessons, and shortcomings. *Virulence*, 5, 253–269. <https://doi.org/10.4161/viru.27524>.
175. Park, J. M., You, Y., Park, J., Kim, H., Ghim, S., & Back, C. (2017). Cutaneous microflora from geographically isolated groups of *Bradysia agrestis*, an insect vector of diverse plant pathogens. *Mycobiology*, 45(3), 160-171. <https://doi.org/10.5941/myco.2017.45.3.160>
176. Pedroncelli, A., & Puopolo, G. (2023). This tree is on fire: a review on the ecology of *Erwinia amylovora*, the causal agent of fire blight disease. *Journal of Plant Pathology*, 106, 823–837. <https://doi.org/10.1007/s42161-023-01397-y>

177. Pehlevan, B. & Kovancı, O. B. (2014). First report of *Adoxophyes orana* in northwestern Turkey: population fluctuation and damage on different host plants. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38, 847-856. <https://doi.org/10.3906/tar-1402-11>
178. Peláez, J., Gloss, A. D., Ray, J. F., Chaturvedi, S., Haji, D., Charboneau, J. L. M., ... & Whiteman, N. K. (2022). Evolution and genomic basis of the plant-penetrating ovipositor: A key morphological trait in herbivorous Drosophilidae. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 289, 20221938. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.1938>
179. Phan, A., Yamaguchi, M., Bamba, T., & Fukusaki, E. (2014). Metabolome analysis of *Drosophila melanogaster* during embryogenesis. *PLoS ONE*, 9(8), e99519. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099519>
180. Picciotti, U., Araujo Dalbon V., Ciancio, A. & colab. (2023). “Ectosphere”: Insects and Microorganism Interactions’. *Microorganisms* 11(2), 440. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020440>.
181. Pieterse, W., Manrakhan, A., Terblanche, J. S., & Addison, P. (2020). Comparative demography of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) and *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) on deciduous fruit. *Bulletin of Entomological Research*, 110(2), 185–194. <https://doi.org/10.1017/S0007485319000592>
182. Pont, A. C. (2012). Distribution records of *Helina* Robineau-Desvoidy, 1830 (Diptera: Muscidae) from the Caucasus Mountains, with the descriptions of three new species. *Zootaxa*, 1830(3409), 30–46. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3409.1.2>
183. Presgraves, D. C., & Meiklejohn, C. D. (2021). Hybrid Sterility, Genetic Conflict and Complex Speciation: Lessons From the *Drosophila simulans* Clade Species. *Frontiers in Genetics*, 12, 1–18. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.669045>
184. Qiagen. (2016). Quick-Start Protocol DNeasy ® Blood & Tissue Kit <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=aa250d94-fc4b-4e27-bb74-d32391ff8a48&lang=en> , 1(April), 5–6. Retrieved from [www.qiagen.com/KB-2061](http://www.qiagen.com/KB-2061)
185. QIAgen. (2018). Quick-Start Protocol; QIAquick® PCR Purification Kit, QIAquick® PCR & Gel Cleanup Kit, (July). Retrieved from [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)
186. Qiao, H., Keeseey, I. W., Hansson, B.S. & Knaden, M. (2019). ‘Gut Microbiota Affects Development and Olfactory Behavior in *Drosophila Melanogaster*’. *Journal of Experimental Biology*, ahead of print. <https://doi.org/10.1242/jeb.192500>.

187. Quan, A. S., & Eisen, M. B. (2018). The ecology of the *Drosophila*-yeast mutualism in wineries. *PLoS ONE*, *13*(5), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196440>
188. Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F.O. (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucl. Acids Res.* *41* (D1): D590-D596.
189. Quinn, W. G., Harris, W. A., & Benzer, S. (1974). Conditioned behavior in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *71*(3), 708–712. <https://doi.org/10.1073/pnas.71.3.708>
190. R Core Team (2023) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://www.R-project.org/>
191. R’Kha, S., Capy, P., & David, J. R. (1991). Host-plant specialization in the *Drosophila melanogaster* species complex: A physiological, behavioral, and genetical analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *88*(5), 1835–1839. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.5.1835>
192. Rakauskas, R., Havelka, J., Zaremba, A., & Bernotienė, R. (2014). Mitochondrial COI and morphological evidence for host specificity of the black cherry aphids *Myzus cerasi* (Fabricius, 1775) collected from different cherry tree species in Europe (Hemiptera, Aphididae). *Zookeys* *388*, 1–16. <https://doi.org/10.3897/zookeys.388.7034>.
193. Ranasinghe, K., Perera, E. H. L., Mudalige, M. D. D. W., Perera, W. A. N. S., Hasangika, M. G. P. G., Prarthana, W. M. P., ... & Diwyanjalee, D. G. R. (2023). Detection of mechanically transmitted bacteria by *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in Malabe Medical Officer Of Health (MOH) division, Sri Lanka. *Journal of Science of the University of Kelaniya*, *16*(2), 105-112. <https://doi.org/10.4038/josuk.v16i2.8085>
194. Reid, C. A. M., Jenkins Shaw, J., & Jensen, A. R. (2018). The Australian Museum Lord Howe Island Expedition 2017—Coleoptera. *Technical Reports of the Australian Museum Online*, *26*, 53–67. <https://doi.org/10.3853/j.1835-4211.26.2018.1706>
195. Ren, C., Webster, P., Finkel, S.E., & Tower, J. (2007). Increased internal and external bacterial load during *Drosophila* aging without life-span trade-off. *Cell Metabolism*, *6*, 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.06.006>.
196. Reyes, J.A., & Lira-Noriega, A. (2020). Current and future global potential distribution of the fruit fly *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *The Canadian Entomologist* *152*, 587–599. <https://doi.org/10.4039/tce.2020.3>.

197. Ribeiro, P., Butenko, A., Linke, D., Ghanavi, H.R., Meier, J.I., Wahlberg, N., & Matos-Maraví, P. (2025). Pervasive horizontal transmission of *Wolbachia* in natural populations of closely related and widespread tropical skipper butterflies. *BMC Microbiology*, 25, 5. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03719-1>.
198. Riegler, M., & O'Neill, S. L. (2007). Evolutionary dynamics of insect symbiont associations. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(12), 625–627. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.08.013>
199. Rooney, O., Shade, J., Salzberg, A., Cho, C. Y., & Poveda, K. (2025). Founding and maintaining a seedcorn maggot (*Delia platura*) colony. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*. <https://doi.org/10.1111/eea.13593>
200. Roos, I. & Hattingh, M. (1988). Systemic invasion of immature sweet cherry fruit by *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* through blossoms. *Journal of Phytopathology*, 121(1), 26-32. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1988.tb00949.x>
201. Roslin, T., Somervuo, P., Pentinsaari, M., Hebert, P. D. N., Agda, J., Ahlroth, P., ... Mutanen, M. (2022). A molecular-based identification resource for the arthropods of Finland. *Molecular Ecology Resources*, 22(2), 803–822. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13510>
202. Rossmann, S., Dees, M.W., Perminow, J., Meadow, R., & Brurberg, M.B. (2018). Soft Rot *Enterobacteriaceae* are carried by a large range of insect species in potato fields. *Applied Environmental Microbiology*. 84. <https://doi.org/10.1128/aem.00281-18>.
203. Rotheray, G. E. (2016). Improving knowledge of the *Cyclorrhaphan* larva (Diptera). *Journal of Natural History*, 50(35-36), 2169-2198. <https://doi.org/10.1080/00222933.2016.1180434>
204. Sabrosky, C. W. (1980). Family Chloropidae. In A. Stone, C. W. Sabrosky, W. W. Wirth, R. H. Foote, & J. R. Coulson (Eds.), *A catalog of the Diptera of America north of Mexico* (Agriculture Handbook No. 276). USDA.
205. Salas, B., Conway, H., Schuenzel, E., Breaux, K., Vitek, C., Vacek, D. (2017). *Morganella morgani* (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae) is a lethal pathogen of Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) Larvae. *Florida Entomologist* 100, 743–751. <https://doi.org/10.1653/024.100.0422>.
206. Salerno, G., Rebora, M., Gorb, E., & Gorb, S. (2024) ‘Mechanoecology: Biomechanical aspects of insect-plant interactions’. *Journal of Comparative Physiology A* 210 (2), 249–65. <https://doi.org/10.1007/s00359-024-01698-2>.

207. Santos, L. M., & Melo, G. A. R. (2014). Updating the taxonomy of the bee genus *Megalopta* (Hymenoptera: Apidae, Augochlorini) including revision of the Brazilian species. *Journal of Natural History*, 49(11-12), 575-674. <https://doi.org/10.1080/00222933.2014.946106>
208. Semelbauer, M. & Kozánek, M. (2014). The immatures of lauxaniid flies (Diptera: Lauxaniidae) and their taxonomical implications. *Zootaxa*, 3780(3). <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3780.3.1>
209. Senneby, E., Petersson, A.C., & Rasmussen, M. (2012). Clinical and microbiological features of bacteraemia with *Aerococcus* urinae. *Clinical Microbiology and Infection*, 18, 546–550. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03609.x>.
210. Shang, S., Li, L., Liu, X., Wang, J., & Tang, X. (2022). Bacterial community in the gut of *Neanthes japonica* and its association with surrounding environment. *Diversity*, 14(7), 514. <https://doi.org/10.3390/d14070514>
211. Shehata, A., El-Waseif, A. A., Waheeb, H., Emam, D., El-Tabakh, M. A. M., & El-Ghwas, D. E. (2024). Abundance and molecular identification of house fly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) with study to associated pathogenic bacteria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 13(5), e10580. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.10580>
212. Shiraiwa, T. (2008). Multimodal chemosensory integration through the maxillary palp in *Drosophila*. *PLoS ONE*, 3(5), e2191. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002191>
213. Showell, J. (2012). *Botanophila fugax*, Deeside, North Wales, March 2012 [Photograph]. Wikimedia Commons. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Botanophila\\_fugax,\\_Deeside,\\_North\\_Wales,\\_March\\_2012\\_\(17999512341\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Botanophila_fugax,_Deeside,_North_Wales,_March_2012_(17999512341).jpg)
214. Shu, R., & Wong, A. C. (2021). Hybrid nanopore-Illumina genome assembly of a *Drosophila suzukii* gut bacterial symbiont, *Gluconobacter cerinus* flw-1. *Microbiology Resource Announcements*, 10(16). <https://doi.org/10.1128/mra.00190-21>
215. Silva-López, J., Godoy, P., Jara, L., Godoy-Herrera, R. (2023). Interaction and integration among behaviors of adult *Drosophila* in nature. *PLoS ONE*, 18, e0278427. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278427>
216. Singh, B. A. S. H. I. S. T. H. N. (2015). Species and genetic diversity in the genus *Drosophila* inhabiting the Indian subcontinent. *Journal of Genetics*, 94(2), 351–361. <https://doi.org/10.1007/s12041-015-0515-z>

217. Skelly, J., & O'Callaghan, A. (2001). Fire blight (FS 01-56). University of Nevada Cooperative Extension. <https://extension.unr.edu/publication.aspx?PubID=3223>
218. Smart, J. (1945). *Drosophila Subobscura* Collin: Descriptive Notes on the Species With Comments on Its Nomenclatorial Status (Diptera). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series B, Taxonomy*, 14(3–4), 53–56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.1945.tb00017.x>
219. Smith, A. R., Wcislo, W. T., & O'Donnell, S. (2008). Body size shapes caste expression, and cleptoparasitism reduces body size in the facultatively eusocial bees *Megalopta* (Hymenoptera: Halictidae). *Journal of Insect Behavior*, 21(5), 394–406
220. Smith, K. G. V. (1989). *An introduction to the immature stages of British flies*. Handbooks for the Identification of British Insects, 10(14), 1–163. Retrieved from [https://www.royensoc.co.uk/sites/default/files/Vol10\\_Part14\\_MainText.pdf](https://www.royensoc.co.uk/sites/default/files/Vol10_Part14_MainText.pdf)
221. Staats, S., Lüersen, K., Wagner, A. E., & Rimbach, G. (2018). *Drosophila melanogaster* as a Versatile Model Organism in Food and Nutrition Research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(15), 3737–3753. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05900>
222. Stanciu, I. (2007). *Comportarea unor soiuri de kaki în condițiile Câmpiei Române* [Unpublished doctoral dissertation], University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine, Bucharest, Romania.
223. Staubach, F., Baines, J. F., Künzel, S., Bik, E. M., & Petrov, D. A. (2013). Host species and environmental effects on bacterial communities associated with *Drosophila* in the laboratory and in the natural environment. *PLoS ONE*, 8(8), e70749. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070749>
224. Stefani, S., & Goglio, A. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Related infections and antibiotic resistance. *International Journal of Infectious Diseases*, 14 (Suppl. 4), S19–S22. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2010.05.009>.
225. Stein, C.P., Teixeira, E.P., & Novo, J.P.S., (2003). Aspectos biológicos da mosca do figo, *Zaprionus indianus* Gupta, 1970 (Diptera: Drosophilidae). *Entomotropica* 18, 219–221.
226. Stewart, T.J., Wang, X.G., Molinar, A., & Daane, K.M. (2014). Factors limiting peach as a potential host for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Economic Entomology*, 107(5), 1771–1779. <https://doi.org/10.1603/EC14197>
227. Stewart, C. D. (2021). Field Release of *Ganaspis brasiliensis* (Hymenoptera: Figitidae) for Biological Control of Spotted-wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii* (Diptera:

- Drosophilidae), in the Continental United States: *Environmental Assessment*. United States Department of Agriculture.
228. Stoenescu, A. M., Stoica, M. I., Popescu, L., & Năstase, D. (2025). Dinamica comunităților de insecte în agroecosisteme de pomi fructiferi din România. *Institutul Național de Cercetări pentru Protecția Plantelor*.
  229. Sturtevant, A. H. (1919). A New Species Closely Resembling *Drosophila melanogaster*. *Psyche (New York)*, 26(6), 153–155. <https://doi.org/10.1155/1919/97402>
  230. Sturtevant, A. H. (1919). *A revision of the American species of Drosophila* (Carnegie Institution of Washington Publication No. 301). Carnegie Institution of Washington.
  231. Sun, S., Zhang, H., Lu, S., Lai, C., Liu, H., & Zhu, H. (2016). The metabolic flux regulation of *Klebsiella pneumoniae* based on quorum sensing system. *Scientific Reports*, 6, 38725. <https://doi.org/10.1038/srep38725>.
  232. Sun, Y., Yolitz, J., Wang, C., Spangler, E. L., Zhan, M., & Zou, S. (2013). Aging studies in *Drosophila melanogaster*. *Methods in Molecular Biology*, 77-93. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-556-9\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-556-9_7)
  233. Takada, H. (1970). *Scaptomyza (Parascaptomyza) pallida* (Zetterstedt) and two related new species, *S.(P.) elmoi* n.sp. and *S.(P.) himalayana* n. sp. (Diptera: Drosophilidae )1)2), 43(3), 142–147.
  234. Takahashi, S., Tomita, J., Nishioka, K., Hisada, T., & Nishijima, M. (2014). Development of a prokaryotic universal primer for simultaneous analysis of Bacteria and Archaea using next-generation sequencing. *PLoS One*, 9, e105592, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105592>
  235. Tanaka, R., Higuchi, T., Kohatsu, S., Sato, K., & Yamamoto, D. (2017). Optogenetic activation of the fruitless-labeled circuitry in *Drosophila subobscura* males induces mating motor acts. *Journal of Neuroscience*, 37(48), 11662–11674. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1943-17.2017>
  236. Teodoru, A., Chiriloaie, A., & Chireceanu, C. (2015). The Hawthorn Fruit Fly, *Anomoia purmunda* Harris-A Less Known Species In Romania. *Romanian J. Plant Prot.*, 8, 47–53.
  237. Thomas, M. C., Heppner, J. B., Woodruff, R. E., Weems, Jr., H. V., Steck, G. J., & Fasulo, T. R. (1969). Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Insecta: Diptera: Tephritidae). *Edis*, 2004(8). <https://doi.org/10.32473/edis-in371-2001>

238. Thorpe, P., & Escudero-Martinez, C. M. (2019). *Transcriptional Changes in the Aphid Species Myzus Cerasi under Different Host and Environmental Conditions*.
239. Tschirnhaus, M. v. and Nartshuk, E. P. (2012). Case 3576 *Oscinella* Becker, 1909 (Insecta, Diptera, Chloropidae): proposed conservation by reversal of precedence with *Melanochaeta* Bezzi, 1906 and *Pachychaetina* Hendel, 1907. (1), 37-43. <https://doi.org/10.21805/bzn.v69i1.a13>
240. Tseng, S., Hsu, P., Lee, C., Wetterer, J. K., Hugel, S., Wu, L., ... & Yang, C. S. (2020). Evidence for common horizontal transmission of *Wolbachia* among ants and ant crickets: Kleptoparasitism added to the list. *Microorganisms*, 8(6), 805. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060805>
241. Vallet-Gély, I., Opota, O., Boniface, A., Новиков, А. В., & Lemaître, B. (2010). A secondary metabolite acting as a signalling molecule controls *Pseudomonas entomophila* virulence. *Cellular Microbiology*, 12(11), 1666-1679. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2010.01501.x>
242. Vansia, R., Smadi, M., Phelan, J., Wang, A., Bilodeau, G. J., Pernal, S. F., ... & Griffiths, J. S. (2024). Viral Diversity in Mixed Tree Fruit Production Systems Determined through Bee-Mediated Pollen Collection. *Viruses*, 16(10). <https://doi.org/10.3390/v16101614>
243. Vega, G. J. d. l., Triñanes, F., & González, A. (2021). Effect of *Drosophila suzukii* on blueberry vocs: chemical cues for a pupal parasitoid, *Trichopria anastrephae*.. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-320923/v1>
244. Wang, Q., Yang, Y., Liu, M., & Zhang, D. (2014). Fine structure of *Delia platura* (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae) revealed by scanning electron microscopy. *Microscopy Research and Technique*, 77(8), 619-630. <https://doi.org/10.1002/jemt.22380>
245. Werren, J. H., Baldo, L., & Clark, M. E. (2008). *Wolbachia*: Master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 741–751. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1969>
246. White, I., & Elson-Harris, M. (1992) *Fruit Flies of Economic Significance*. CABI Digital Library. <https://doi.org/10.1079/9780851987903.0000>
247. Wickham, H. (2016). Getting Started with ggplot2. In: ggplot2. Use R!. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4_2)
248. Wielkopolan, B., Frąckowiak, P., Wiczorek, P., & Obrepalska-Stęplowska, A. (2022). The impact of *Oulema melanopus*—associated bacteria on the wheat defense response

- to the feeding of their insect hosts. *Cells*, 11(15), 2342. <https://doi.org/10.3390/cells11152342>
249. Wikispecies contributors. (2024, May 21). *Scaptomyza elmoi*. Wikispecies. [https://species.wikimedia.org/wiki/Scaptomyza\\_elmoi](https://species.wikimedia.org/wiki/Scaptomyza_elmoi)
  250. Willis, A. D. (2019). Rarefaction, alpha diversity, and statistics. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 2407 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02407>
  251. Wong, D.W., Nielsen, T.B., Bonomo, R.A., Pantapalangkoor, P., Luna, B.M., & Spellberg, B. (2016). Clinical and Pathophysiological Overview of *Acinetobacter* Infections: A Century of Challenges. *Clinical Microbiology Reviews*, 30, 409–447.
  252. Xider, K. M. and Amin, H. M. (2018). Ovarian development of house fly (*Musca domestica* l.) (Diptera: Muscidae). *Kurdistan Journal of Applied Research*, 3(1), 45-51. <https://doi.org/10.24017/science.2018.1.9>
  253. Xin, X.-F., Kvitko, B., & He, S. Y. (2018). ‘*Pseudomonas syringae*: What It Takes to Be a Pathogen’. *Nature Reviews Microbiology* 16 (5), 316–328. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.17>.
  254. Yang, P., Zhao, L., Gao, Y.G., & Xia, Y. (2023). Detection, Diagnosis, and Preventive Management of the Bacterial Plant Pathogen *Pseudomonas syringae*. *Plants*, 12, 1765. <https://doi.org/10.3390/plants12091765>.
  255. Yasika, Y., & Shivakumar, M.S. (2025). A comprehensive account of functional role of insect gut microbiome in insect orders. *Journal of Natural Pesticide Research*, 11, 100110. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2024.100110>.
  256. Yee, W.L., Rose, A.C., Milnes, J.M., & Feder, J.L. (2024). Differential water deprivation tolerances of adult *Rhagoletis indifferens* and *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) as a possible factor affecting their distributional abundances in Washington State, USA. *Environmental Entomology* (6):1078-1092. <https://doi.org/10.1093/ee/nvae096>.
  257. Yilmaz, P., Parfrey, L.W., Yarza, P., Gerken, J., Pruesse, E., Quast, C., Schweer, T., Peplies, J., Ludwig, W., & Glöckner, F.O. (2014) The SILVA and "All-species Living Tree Project (LTP)" taxonomic frameworks. *Nucleic Acids Research*. 42(D1), D643-D648
  258. Yu, S., Yu, P., Wang, J., Li, C., Guo, H., Liu, C., Kong, L., Yu, L., Wu, S., Lei, T., & colab. (2019). A Study on Prevalence and Characterization of *Bacillus cereus* in Ready-to-Eat Foods in China. *Frontiers Microbiology*, 10, 3043. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03043>.

259. Yuen, G.J., & Ausubel, F.M. (2014). *Enterococcus* infection biology: Lessons from invertebrate host models. *Journal of Microbiology* 52, 200–210. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4011-6>.
260. Yun, J. H., Roh, S. W., Whon, T. W., Jung, M. J., Kim, M. S., Park, D. S., Yoon, C., Nam, Y. D., Kim, Y. J., Choi, J. H., Kim, J. Y., Shin, N. R., Kim, S. H., Lee, W. J., & Bae, J. W. (2014). Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(17), 5254–5264. <https://doi.org/10.1128/AEM.01226-14>
261. Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., & Miller, W. (2000). A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal of Computational Biology* 7(1-2), 203-14. <https://doi.org/10.1089/10665270050081478>
262. Zhang, Q., Deng, Z., Li, X., Qiao, J., Li, Z., Liu, P., ... & Zhang, H. (2024). Gut commensal bacteria-derived methionine is required for host reproduction by modulating rna m6a methylation of the insulin receptor.. <https://doi.org/10.1101/2024.08.20.608724>
263. Zierke, L., Mourad, R., Kohler, T.P., Müsken, M., & Hammerschmidt, S. (2025). Influence of the polysaccharide capsule on virulence and fitness of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1450984. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1450984>.
264. Zivanovic, G., Arenas, C., & Mestres, F. (2025). Temporal and habitat adaptations in *Drosophila subobscura* populations: changes in chromosomal inversions. *Genetica*, 153, 16. <https://doi.org/10.1007/s10709-025-00232-9>

