A doua raportare științifică – AOȘR-TEAMS-IV, Proiect 443/15.03.2025

Contents

A doua raportare științifică – AOȘR-TEAMS-IV, Proiect 443/15.03.2025.....3

Prezentare generală a proiectului.....3

Obiective abordate.....4

Păsări.....5

Detectarea agenților patogeni transmiși prin vectori la *Rhipicephalus turanicus* colectate de pe puii de huhurez mare (*Bubo bubo*) (articol în pregătire)**.....**5

Detectarea agenților patogeni transmiși de vectori la căpușa *Alveonasus peusi* colectată de la *Cecropis daurica* (articol în pregătire) **.....10**

Liliecii.....14

Care are cel mai mare impact asupra infestării cu purici a lililor palearctici: gazda, sezonul sau tipul adăpostului? (articol submis) **.....24**

Facilitățile miniere abandonate oferă zone cheie de adăpost pentru liliecii dependenti de conservare în regiunea stepei a UE: implicații pentru conservare ale unui decalaj spațial în desemnarea ariilor protejate (articol în pregătire) **.....25**

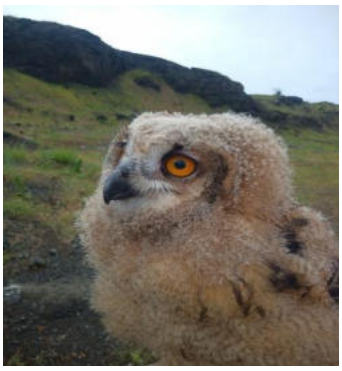
Limitări și Provocări.....31

Planuri Viitoare.....31

A doua raportare științifică – AOȘR-TEAMS-IV, Proiect 443/15.03.2025

Titlul: Transmiterea vectorilor și a patogenilor prin speciile migratoare de păsări şi lilieci
Instituția: Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Cluj-Napoca
Conducător de proiect: Corduneanu Alexandra, PhD
Perioada de raportare: August - December 2025
Codul proiectului: 443/15.03.2025
Program: Programul de cercetare în domeniul științei și inovării în domeniul științei și inovării: AOȘR-TEAMS-IV, Ediția 2025-2026 - „Transformarea digitală în științe”

Poză originală, *Miniopterus schreibersii*


Poză originală, *Bubo bubo*

Prezentare generală a proiectului

Acest proiect investighează modul în care păsările migratoare și liliecii contribuie la diseminarea ectoparaziților și a agenților patogeni zoonotici asociați acestora pe arii geografice extinse. Fiind gazde cu mobilitate ridicată, aceste specii pot transporta o varietate de ectoparaziți—precum căpușe, purici, ploșnițe, acarieni și muște de liliac—care pot acționa ca vectori pentru bacterii de importanță majoră pentru sănătatea publică și veterinară. Prin combinarea recoltării de probe din teren cu metode de diagnostic molecular, proiectul urmărește identificarea principalilor agenți patogeni transmiși prin vectori, inclusiv *Borrelia*, *Rickettsia* și *Bartonella* spp., la lilieci, ectoparaziții acestora și la căpușele colectate de pe păsări.

Proiectul, intitulat „**Transmiterea vectorilor şi a agenților patogeni prin intermediul păsărilor migratoare și al liliecilor**”, se bazează pe vasta experiență a directorului de proiect în acest domeniu. După ce și-a realizat studiile de master, doctorat și postdoctorat pe boli vectoriale

la lilieci, aceasta continuă să fie profund implicată în acest domeniu, având în plan extinderea cercetărilor dincolo de proiectul actual. Recoltarea probelor, majoritatea analizelor de laborator și activitățile computaționale au fost realizate de directorul de proiect și de membrii echipei. Rezultatele sunt și vor fi diseminate în reviste științifice cu peer-review, indexate ISI.

Obiective abordate

Pentru această etapă a proiectului, au fost urmărite trei obiective principale din propunerea inițială (vezi mai jos), iar analizele au fost inițiate pentru detectarea agenților patogeni în probe de păsări, lilieci și ectoparaziții acestora.

O1. Analizarea impactului schimbărilor climatice asupra distribuției bolilor zoonotice este esențială, deoarece creșterea temperaturilor și modificările ecologice influențează direct distribuția vectorilor și a agenților patogeni. Înțelegerea acestor schimbări este crucială pentru dezvoltarea unor strategii eficiente de control și prevenție.

O2. Investigarea rolului vertebratelor mobile, precum păsările migratoare și liliecii, în răspândirea vectorilor și agenților patogeni zoonotici este importantă, deoarece aceste specii transportă ectoparaziți și patogeni pe distanțe geografice mari. Studierea acestui proces permite detectarea timpurie a bolilor emergente și contribuie la prevenirea acestora.

O3. Monitorizarea și analizarea vectorilor ectoparazitari asociați păsărilor și liliecilor este crucială pentru identificarea speciilor de căpușe și a insectelor hematofage care pot introduce noi agenți patogeni în Europa. Acest proces sprijină dezvoltarea strategiilor de supraveghere epidemiologică și ajută la prevenirea răspândirii bolilor.

Păsări

Detectarea agenților patogeni transmiși prin vectori la *Rhipicephalus turanicus* colectate de pe puii de huhurez mare (*Bubo bubo*)

(articol în pregătire)

Introducere

Toate speciile de căpușe sunt artropode hematofage, iar fiecare stadiu de dezvoltare necesită cel puțin o masă sangvină (cu excepția masculilor adulți ai unor specii). În timpul hrănirii, căpușele nu doar consumă resursele energetice ale gazdei, ci pot transmite și o gamă largă de agenți patogeni, incluzând virusuri, bacterii și paraziți. Ele reprezintă printre cei mai importanți vectori ai bolilor zoonotice în regiunile temperate, în special în Europa. Păsările reprezintă gazde esențiale pentru multe căpușe tari (Ixodidae) și joacă un rol semnificativ în transportul acestora pe distanțe lungi de-a lungul rutelor migratorii. Deși speciile de *Ixodes* sunt cele mai frecvent întâlnite la păsările din Europa, și alte genuri pot infesta păsările. Paseriformele migratoare poartă adesea stadii imature de *Hyalomma* și *Haemaphysalis*, iar speciile de *Rhipicephalus* sunt frecvent raportate pe păsările de talie mare din sud-vestul Europei.

Majoritatea studiilor europene privind căpușele de pe păsări se concentrează pe speciile migratoare. Totuși, păsările sedentare pot fi, de asemenea, gazde importante, în special speciile care se hrănesc sau cuibăresc la sol, care adesea poartă încărcături mari de căpușe. Cercetările privind păsările sedentare se limitează de obicei la câteva specii, păsările de vânat și cele marine fiind cel mai studiate, deși căpușele specializate pe gazde aviare sunt bine documentate și la unele paseriforme. Bufnițele (Strigiformes) sunt rar examinate ca gazde pentru căpușe, din cauza abundenței reduse, comportamentului nocturn și locurilor greu accesibile de cuibărire. Studiile existente se bazează în principal pe analiza materialului din cuib sau pe rapoarte ocazionale din centre de reabilitare. În general, parazitarea cu căpușe la bufnițe este considerată rară.

Huhurezul mare (*Bubo bubo*) nu face excepție, existând doar patru mențiuni publicate privind căpușele sale. Fain et al. au raportat câteva exemplare găsite în materialul de cuib, două studii au documentat căpușe colectate de la indivizi internați în centre de reabilitare, iar Ortego și Espada au examinat impactul general al paraziților și agenților patogeni asupra dezvoltării puilor.

Toate datele existente provin din Europa de Vest; nu există informații similare din partea estică a continentului. Nu am identificat studii privind căpușele asociate păsărilor sălbatice în România și Bulgaria, iar exceptând o singură publicație, cercetările din țările vecine s-au concentrat în mare parte pe păsările migratoare. De asemenea, nu există înregistrări privind parazitarea huhurezilor mari cu căpușe în România, Bulgaria sau în regiunile limitrofe.

Huhurezii mari sunt cei mai mari răpitori nocturni din Europa și se reproduc pe întreg continentul. Ei nu construiesc cuiburi, ci depun ouăle direct pe sol, într-o adâncitură simplă, folosind uneori cuiburi abandonate ale altor specii. Locurile de cuibărire — de obicei abrupturi, crevase sau zone deschise la sol — sunt adesea reutilizate ani la rând, uneori generații întregi. Mai multe astfel de teritorii din sud-estul României și Bulgariei sunt monitorizate anual în cadrul unui program dedicat speciei.

Obiectivul nostru a fost investigarea parazitării cu căpușe la puii de huhurez mare în sud-estul României și Bulgariei (vezi Sandor et al., 2021), urmată de un studiu complementar dedicat detectării agenților patogeni transmiși prin vectori în căpușa *Rhipicephalus turanicus*.

Materiale și metode

Colectarea căpușelor

Căpușele au fost colectate de pe puii de huhurez mare din cuiburile monitorizate și din zonele adiacente din sud-estul Bulgariei (regiunea Burgas) în sezoanele de reproducere 2022–2024 (mai–iunie) (Figura 1). Diferite de cuibărire au fost investigate anual, însă căpușele nu au fost colectate în fiecare an din cauza succesului reproductiv redus. Deoarece specia este vulnerabilă la braconaj și persecuție ilegală, coordonatele exacte ale cuiburilor nu sunt făcute publice. În România, câțiva pui au fost găsiți, dar nu au fost detectate căpușe. Fiecare cuib a fost vizitat de cel puțin două ori pentru a evalua succesul reproductiv și a colecta resturi de pradă, utile pentru identificarea surselor potențiale de gazde care ar fi putut introduce căpușele în cuib.

La fiecare vizită, puii au fost examinați cu atenție pentru căpușe — în special pe cap, gât, urechi, sub aripi și în zona cloacală. Toate căpușele au fost îndepărtate cu pensete fine, conservate în etanol 97% și depozitate individual în tuburi separate pentru fiecare pui. Toate inspecțiile și manipulările s-au efectuat conform protocolului Departamentului de Management al Faunei Sălbatice al Universității de Silvicultură din Sofia și în conformitate cu legislația bulgară.

Biologie moleculară

Căpușele au fost identificate la nivel de specie folosind chei morfologice. ADN-ul genomic a fost extras cu kitul QIAamp mini (Qiagen, Hilden, Germania), conform instrucțiunilor producătorului, utilizând 70 µl tampon de eluție, apoi stocat la -20 °C. Căpușele colectate au fost testate pentru prezența mai multor patogeni: *Anaplasmataceae*, *Babesia* spp., *Coxiella burnetii*, *Hepatozoon* spp. și *Rickettsia* spp. (Tabelul 1). S-au utilizat serii de PCR pentru gene diferite ale acestor agenți patogeni, cu primerii menționați în Tabelul 1. Reacțiile au fost efectuate într-un volum de 25 µl, conținând: 12.5 µl 2× MyTaq Red Mix (Meridian Biosciences), 6.5 µl apă, 1 µl din fiecare primer (0.01 mM concentrație finală) și 4 µl ADN. PCR-urile au fost rulate pe T1000™ Thermal Cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, SUA), cu condițiile detaliate în Tabelul 1. Pentru fiecare set (45 probe) s-au folosit două controale negative (apă PCR) și un control pozitiv. Produsele amplificate au fost vizualizate prin electroforeză pe gel de agaroză 1.5%, colorat cu RedSafe™, iar greutatea moleculară a fost comparată cu un marker (Hyperladder IV, Bioline, Londra, UK). Produsele PCR au fost purificate cu Isolate II PCR and Gel Kit (Bioline) și secvențiate în ambele direcții (Macrogen Europe, Amsterdam). Secvențele au fost comparate cu cele din GenBank prin BLAST (în curs de analiză).

Rezultate preliminare

În total au fost colectate 240 de probe de ectoparaziți (căpușe) de la opt pui diferiți, toate fiind identificate ca *R. turanicus*. Căpușele au fost testate pentru cinci patogeni: *Anaplasmataceae*, *Babesia* spp., *Coxiella burnetii*, *Hepatozoon* spp. și *Rickettsia* spp. Rezultatele au arătat: 8 probe pozitive pentru *Anaplasmataceae* (3,33%), 14 pentru *Babesia* spp. (8,83%), niciuna pentru *Coxiella burnetii*, 21 pentru *Hepatozoon* spp. (8,75%) și 3 pentru *Rickettsia* spp. (1,25%). Toate probele pozitive au fost trimise pentru secvențiere, iar secvențele obținute vor fi utilizate în analiza filogenetică. Un manuscris privind prezența patogenilor transmisi prin căpușele asociate păsărilor este în curs de redactare.

Discuții

Acesta este primul studiu privind detectarea patogenilor în căpușele de pe huhurezul mare în Europa de Est. Rapoartele privind prezența adulților de *Rhipicephalus turanicus* pe păsări sunt rare, cu excepții notabile precum păsările din centrele de reabilitare din Portugalia și unele cazuri izolate din Rusia. Studiile privind huhurezii mari aflați în creștere — fie pui, fie cuiburi — raportează în general o singură specie de căpușă. Ortego și Espada au raportat doar *Rhipicephalus*

spp. la pui, considerând specia „comună”, fără impact vizibil asupra sănătății. Colectările din cuiburi din Belgia au conținut doar nimfe și larve de *Ixodes ricinus*, fără date despre pui. În toate aceste situații, căpușele au fost considerate introduse în cuib prin prada adusă de adulți. O notă recentă pune sub semnul întrebării prezența *R. turanicus* în Portugalia, sugerând posibile erori de identificare în lucrările anterioare.

În sud-estul Bulgariei, însă, *R. turanicus* a fost cea mai frecventă specie de căpușă pe puii de huhurez mare. R. turanicus este o căpușă cu trei gazde, cu o distribuție largă în Africa și în regiunile aride sau mediteraneene din Eurasia, fiind comună în țările europene cu climă mediteraneană. Aceasta aparține complexului *R. sanguineus* sensu lato, alcătuit din specii morfologic similare, răspândite în bazinul mediteranean. Analizele filogenetice indică faptul că R. turanicus are o distribuție similară cu *R. sanguineus* s.l., haplotipurile sale prezentând o distribuție parapatrică în regiune. Factorii care modelează aceste distribuții rămân neclarificați, fiind sugerate posibile influențe ale distribuției gazdelor, adaptărilor locale la climă sau izolării glaciare urmate de amestec antropic.

Modelările privind utilizarea terenului în jurul cuiburilor au evidențiat rezultate notabile: terenurile arabile au constituit cel mai puternic predictor negativ al abundenței căpușelor, iar suprafețele mari și compacte de pădure sau pajiști au avut, de asemenea, un efect negativ.

Puii de huhurez mare au găzduit o comunitate diversă și numeroasă de căpușe, *R. turanicus* fiind specia dominantă în sud-estul Bulgariei. Prezența frecventă a adulților de R. turanicus pe pui subliniază rolul păsărilor care cuibăresc la sol în menținerea populațiilor de căpușe tipic asociate mamiferelor de talie medie, oferind gazde alternative atunci când acestea lipsesc. În plus, prezența patogenilor transmisi prin capuse nu a fost raportată anterior în căpușele colectate de pe această specie de pasăre, ceea ce face ca studiul de față să reprezinte o contribuție nouă, extinzând cunoștințele despre distribuția căpușelor și a genților patogeni asociați acestora.

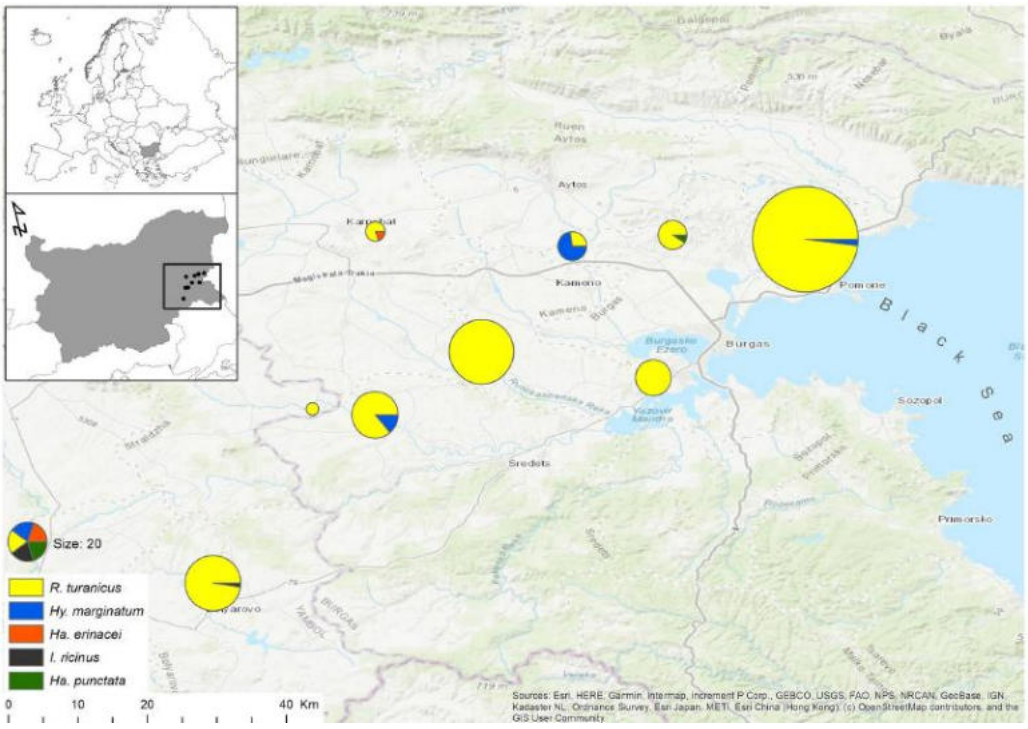


Figura 1 Locațiile pentru colectarea căpușelor de pe *Bubo bubo*

Detectarea agenților patogeni transmiși de vectori la căpușa *Alveonasus peusi* colectată de la *Cecropis daurica*

(articol în pregătire)

Introducere

Rândunica roșcată (*Cecropis daurica*), este o specie mică de pasăre insectivoră aeriană din familia Hirundinidae. Este larg răspândită în bazinul mediteranean și în unele regiuni din Europa de Est, inclusiv zona sud-estică. *C. daurica* este o specie migratoare pe distanțe lungi, care iernează în Africa sub-sahariană și revine în zonele de reproducere primăvara. În mod tipic, își construiește cuiburi deschise din lut, atașate de stânci, surplombe sau structuri antropice precum clădiri și poduri, formând adesea colonii mici. Aceste cuiburi sunt durabile și pot fi reutilizate mai multe sezoane la rând, oferind microhabitate stabile ce pot susține diverși ectoparaziti. Specia se hrănește cu insect și, datorită comportamentului său migrator, poate contribui la dispersia pe distanțe mari a ectoparaziților și potențial a agenților patogeni. Deși ecologia și comportamentul acestei specii sunt bine documentate, rolul ei ca gazdă pentru ectoparaziți, în special pentru căpușe, rămâne insuficient cunoscut, precum și contribuția la circulația agenților patogeni transmiși de vectori (VBPs) în Europa.

Căpușele sunt vectori importanți pentru numeroși agenți patogeni – bacterii, protozoare și virusuri – cu impact major asupra sănătății umane și animale. Căpușele tari (Ixodidae) sunt studiate extensiv la păsări, în special la paseriforme, datorită capacității lor de a transporta larve și nimfe pe distanțe lungi. În schimb, căpușele moi (Argasidae), ectoparaziți rapizi și nidicoli, trăiesc în medii adăpostite precum cavități, crăpături sau cuiburi închise. Deși Argasidae sunt cunoscute ca parazitând porumbei, lilieci sau unele păsări care cuibăresc în cavități, prezența lor la insectivori aerieni precum *C. daurica* rămâne practic neexplorată.

În Europa, speciile de *Alveonasus* sunt, în general, strict nidicole, asociate cu microhabitate adăpostite, și sunt rareori raportate la păsări cuibăritoare în cuiburi deschise. Până în prezent, nu au fost publicate dovezi privind prezența unor căpușe moi, inclusiv *Alveonasus*, la *C. daurica*, iar natura expusă a cuiburilor sale sugerează că astfel de asocieri sunt puțin probabile. Totuși, investigarea interacțiunilor potențiale dintre păsări și căpușele moi este importantă, deoarece aceste specii pot fi vectori pentru diverse bacterii, unele cu potențial zoonotic, subliniind

necesitatea de a studia astfel de relații ecologice, în special în Europa de Est – o regiune puțin explorată din acest punct de vedere.

În Europa, agenții patogeni transmiși de vectori – inclusiv *Borrelia*, *Rickettsia*, *Bartonella* și diverse virusuri – sunt detectați din ce în ce mai frecvent atât în căpușe tari, cât și în căpușe moi, reflectând dinamica complexă dintre gazde sălbatice, vectori și mediul înconjurător. Totuși, majoritatea studiilor se concentrează pe Europa de Vest și Centrală, lăsând un gol semnificativ de cunoaștere în Europa de Est, unde condițiile ecologice, rutele migratorii și comunitățile locale de păsări pot influența distribuția și prevalența atât a căpușelor, cât și a agenților patogeni pe care îi poartă. Înțelegerea ectoparazitelor de la *C. daurica* și a potențialei prezențe a patogenilor în această `regiune este esențială pentru clarificarea rolului acestei specii în menținerea și dispersia agenților patogeni.

Materiale și metode

Colectarea căpușelor

Căpușele au fost colectate de la *Cecropis daurica* din cuiburi monitorizate și din zonele adiacente din Turcia în perioada 2021–2023. Diferite cuiburi au fost evaluate anual, deși nu s-au obținut căpușe în fiecare an. În România, nu au fost găsite căpușe la această specie. Fiecare cuib a fost vizitat de cel puțin două ori pentru verificarea succesului reproductiv și colectarea resturilor trofice, utile pentru identificarea potențialelor gazde ale căpușelor găsite. Păsările au fost examinați atent, iar toate căpușele au fost îndepărtate cu pensete fine, depozitate în etanol 97% și păstrate individual. Toate procedurile s-au desfășurat conform protocoalelor de monitorizare a faunei sălbatice și legislației naționale din Turcia.

Biologie moleculară

Căpușele au fost identificate morfologic și molecular. ADN-ul genomic a fost extras folosind kitul QIAamp (Qiagen, Hilden, Germany), iar probele au fost analizate pentru prezența diversilor patogeni: *Borrelia* (grupul febrei recurente), *Coxiella burnetii*, *Hepatozoon* spp., *Rickettsia* spp. Reacțiile PCR au fost efectuate folosind MyTaq Red Mix (Meridian Bioscience), iar produsele amplificate vor fi vizualizate prin electroforeză, purificate și secvențiate (Macrogen Europe). Secvențele vor fi comparate cu GenBank folosind BLAST (analize în curs).

Rezultate preliminare

În total, au fost colectate 40 de căpușe de la diferite cuiburi ale *C. daurica*, toate fiind identificate morfologic ca *Alveonasus peusi*. Identificarea moleculară, folosind genele 12S rRNA

și 16S rRNA, a confirmat aceste observații. Probele vor fi testate pentru prezența patogenilor (*Coxiella burnetii*, *Hepatozoon* spp., *Rickettsia* spp., *Borrelia* – febra recurentă). Toate probele pozitive vor fi secvențiate pentru analize filogenetice. Un manuscris preliminar privind epidemiologia patogenilor transmisi prin vectori este în pregătire.

Discuții

Detectarea speciilor *Alveonasus peusi* la *Cecropis daurica* reprezintă o descoperire neașteptată și ecologic importantă, deoarece căpușele moi (Argasidae) sunt rareori raportate la paseriforme care cuibăresc în cuiburi deschise sau semi-deschise. În mod obișnuit, *A. peusi* și speciile înrudite sunt asociate cu păsări care cuibăresc în cavități, porumbei sau lilieci, unde microhabitatele stabile favorizează modul lor de viață nidicol. În contrast, *C. daurica* construiește cuiburi de lut atașate structurilor antropice sau suprafețelor naturale, care, deși par expuse, pot oferi condiții microclimatice adecvate pentru supraviețuirea căpușelor moi (umiditate, temperatură constantă, protecție parțială). Prezența *A. peusi* în astfel de cuiburi sugerează că comportamentul de cuibărire al acestei specii poate crea nișe ecologice favorabile dezvoltării căpușelor moi, extinzând astfel gama de gazde cunoscute pentru acest grup.

Această descoperire este relevantă pentru Europa de Est, unde diversitatea căpușelor moi și asocierile lor cu gazdele sunt insuficient documentate. Prezența *A. peusi* pe *C. daurica* aduce noi informații biogeografice și ridică întrebări privind rolul potențial al acestei specii în menținerea sau dispersia agenților patogeni. Căpușele moi sunt vectori cunoscuți ai unor patogeni importanți, precum *Coxiella burnetii*, *Borrelia* (febra recurentă), *Rickettsia* spp. și protozoare precum *Hepatozoon*. Deși analizele asupra agenților patogeni sunt încă în desfășurare, combinația dintre un vector nidicol și o specie migratoare pe distanțe lungi este de interes epidemiologic, mai ales în contextul conectării zonelor de reproducere eurasiatice cu cartierele de iernare africane.

În plus, fidelitatea ridicată față de cuib și tendința unor populații de a forma colonii pot facilita dezvoltarea populațiilor locale de căpușe și menținerea ciclurilor de infestare, în special în medii antropice unde cuiburile persistă mai mulți ani. Acest lucru evidențiază capacitatea căpușelor moi de a exploata nișe ecologice neobișnuite în peisaje modificate de om.

Per ansamblu, aceste rezultate subliniază necesitatea monitorizării aprofundate a căpușelor moi la gazde aviare atipice, cu accent pe Europa de Est, unde lipsa de date rămâne semnificativă. Analizele moleculare continue ale căpușelor colectate și ale gazdelor lor vor fi esențiale pentru a

determina competența vectorială și relevanța pentru sănătatea publică a acestei asocieri emergente între căpușe și păsări.

Liliecii

Care are cel mai mare impact asupra infestării cu purici a lililor palearctici: gazda, sezonul sau tipul adăpostului? (articol trimis pe 17.11.2025 la Ecology & Evolution)

Introducere

Formele de viață parazitare prezintă o diversitate ridicată și există paraziți adaptați să exploateze orice organism cunoscut. Deși pot fi atât morfologic, cât și filogenetic diverși, toți paraziții împărtășesc mai multe caracteristici comune, cum ar fi dependența de resursele energetice ale gazdei pentru hrănire și utilizarea corpului gazdei ca habitat. Formele ectoparazitare au, de regulă, o etapă de viață în afara gazdei, când resursele gazdei pot fi mai puțin importante; totuși, împerecherea, reproducerea și dispersia sunt de obicei legate de corpul gazdei. Ectoparaziții sunt printre factorii importanți care reglează majoritatea populațiilor de animale, în principal prin exploatarea resurselor energetice ale gazdelor (în principal țesuturile acestora), dar și prin capacitatea lor vectorială de transfer al patogenilor. Ectoparaziții sunt cei mai importanți vectori de patogeni nu doar pentru animale, ci și pentru bolile zoonotice ale omenirii.

Stilul de viață ectoparazitar este deosebit de frecvent printre animalele terestre, păsările și, în special, mamiferele găzduind comunități diverse de ectoparaziți. Dintre mamifere, liliecii (Chiroptera) se caracterizează printr-un număr mare de ectoparaziți, liliecii palearctici găzduind regulat acarieni (Acari), căpușe (Ixodoidea), muște de lilieci (Nycteribiidae și Streblidae), căpușe de lilieci (Cimicidae) și purici (Siphonaptera) pe corpul lor. Dintre aceste grupuri, puricii de lilieci (Ischnopsyllidae) sunt specializați în hrănirea exclusivă cu sângele liliecilor. Aceste specii, ca toți ceilalți purici, prezintă dezvoltare individuală tipică (ouăle sunt depuse departe de gazdă și larvele se dezvoltă independent de gazdă) și manifestă adaptări remarcabile pentru coabitarea cu liliecii gazdă. Deși compoziția speciilor de purici europeni a fost subiectul multor publicații, încă lipsesc detalii importante despre factorii care determină dinamica gazdă-parazit a liliecilor și puricilor acestora. Aceasta se datorează, parțial, dificultăților de studiu a liliecilor, dar și intensității muncii, având în vedere întâlnirile rare cu puricii pe lilieci (doar puricii adulți se hrănesc cu gazdele și prezintă, de asemenea, rate ridicate de părăsire a gazdei). În această lucrare, am analizat o colecție

mare de purici colectați de pe lilieci din Europa Centrală și de Est pentru a răspunde întrebărilor legate de prezența puricilor pe gazde. Intenția noastră a fost să evaluăm importanța speciei gazdă, ecologia gazdei (tipul de adăpost) și sezonul în reglarea apariției puricilor de lilieci palearctici.

Materiale și metode

Materialul utilizat în acest studiu a fost colectat în principal de la gazde. Majoritatea liliecilor au fost capturați aproape de adăposturi în momentul ieșirii pentru hrănire, dar și în timpul vânătorii în Europa Centrală și de Est. Capturile au fost realizate cu plase tip „mist-net" și capcane tip harp, iar liliecii extrași au fost păstrați individual în săculeți textili sterili până la procesare. Gazdele au fost identificate pe specii, vârstă și sex, fiind înregistrate și date morfometrice (greutate și lungimea antebrațului). Fiecare liliac a fost examinat cu atenție pentru prezența ectoparaziților, iar orice parazit observat a fost colectat cu penseta și păstrat într-un vial individual în etanol 97%. Unii purici au fost găsiți accidental în adăposturi; în acest caz, puricii individuali au fost colectați din substratul local sau din guano. Puricii au fost identificați în laborator, folosind chei dicotomice. Femelele foarte asemănătoare ale speciilor *Ischnopsyllus simplex* și *I. mysticus* au fost identificate prin analize moleculare. ADN genomic de la purici a fost extras folosind kit-ul QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germania), conform protocolului producătorului. Toate probele de ADN au fost păstrate la –20 °C până la procesarea ulterioară. Identificarea moleculară a puricilor a fost realizată prin amplificarea și secvențierea unui fragment al genei mitocondriale citocrom c oxidază subunitatea 1 (cox1), folosind primerii universali pentru nevertebrate LCO/HCO, așa cum s-a descris anterior. Reacția a fost realizată într-un volum total de 25 µL, conținând 12,5 µL PCRBIO Taq DNA Polymerase (PCR Biosystems, Londra, UK), 6,5 µL apă fără nuclease, 1 µL din fiecare primer (10 pmol/µL) și 4 µL ADN extras. Amplificările PCR au fost efectuate pe un cicler termic T1000™ (Bio-Rad, Londra, UK) în condițiile: denaturare inițială la 95 °C pentru 1 minut; urmată de 40 cicluri de denaturare la 95 °C timp de 15 secunde, annealing la 45 °C timp de 15 secunde și extensie la 72 °C timp de 20 secunde; cu o extensie finală la 72 °C timp de 1 minut. Secvențele rezultate au fost comparate cu secvențele de referință din baza de date GenBank® folosind instrumentul BLAST.

Datele legate de gazdă au fost disponibile doar pentru puricii colectați în Bulgaria (n = 707 gazde, 7 locații distincte) și România (n = 7422 gazde, 100 locații). Acestea au fost utilizate pentru calcularea indicilor parazitologici și investigarea cauzalității interacțiunilor gazdă-parazit. Speciile de lilieci au fost grupate conform afinității pentru un anumit tip de adăpost în perioada non-

înhibernării în două grupuri: (1) locuitori subterani (în principal peșteri și mine), (2) locuitori ai fisurilor (în principal specii arboricole). De asemenea, liliecii au fost diferențiați în funcție de obiceiurile lor de adăpostire: (1) solitari (indivizii petrec ziua singuri, fie în adăpost subteran, fie într-o fisură), (2) adăpostire comunală (indivizii se adăpostesc în grupuri strânse, independent de dimensiunea grupului/adăpostului). Ciclu anual de viață al liliecilor a fost împărțit în trei sezoane principale: (1) toți liliecii capturați înainte de mijlocul lunii iulie au fost alocați primăverii (înainte de înțărcarea și dispersia puilor), în timp ce (2) liliecii capturați după reproducere (în perioada iulie-octombrie) au fost alocați grupului de toamnă (după alăptare activă și înțărcare). Nu au fost organizate capturi țintite între noiembrie și sfârșitul lui martie, pentru a evita perturbarea în perioada critică a hibernării; totuși, mai mulți lilieci au fost examinați ca urmare a intervențiilor de salvare datorate apariției accidentale timpurii, perturbării umane etc. Aceste înregistrări sunt tratate ca hibernare (3). Intensitatea medie, frecvența, prevalența și intervalul de încredere 95% (CI) au fost calculate folosind software-ul Quantitative Parasitology 3.0 și software-ul statistic R. Valorile de prevalență și intensitate au fost comparate folosind testul exact Fisher și testul Mann-Whitney U, respectiv. Diferențele au fost considerate semnificative când $p < 0,05$.

Rezultate

În total, au fost colectați 1026 de purici de pe lilieci sau din adăposturi de lilieci, în 77 de locații diferite din patru țări (Bulgaria, Ungaria, România și Slovacia; pentru distribuția geografică a locațiilor – vezi Fig. 1). Dintre aceștia, 820 de purici aparținând a 12 specii au fost găsiți pe 454 de lilieci individuali (aparținând a 27 de specii gazdă), împreună cu 193 de purici colectați din șapte adăposturi (aparținând a patru specii de purici și cinci specii de gazde). În cazul a trei indivizi de purici, gazda nu a fost identificată (vezi Tabelul 1 pentru detalii despre toate înregistrările de purici).

Majoritatea puricilor găsiți sunt specialiști ai liliecilor, aparținând familiei Ischnopsyllidae, însă au fost colectați câțiva indivizi din două specii non-specialiste: *Ceratophyllus hirudinis* și *Megabothris turbidus* de pe doi indivizi *Vespertilio murinus*. Specia de purici de lilieci cea mai răspândită a fost *Rhinolophopsylla unipectinata*, colectată de pe 132 de lilieci aparținând a zece specii, capturați în 27 de locații geografice distincte și trei țări (Bulgaria, Ungaria și România; vezi și Tabelul 2). Cea mai rară specie (trei indivizi) a fost *Nycteridiopsylla dictena*, colectată de două ori de pe *Nyctalus noctula* și o dată de pe *Plecotus austriacus* (aceasta fiind, de asemenea, prima înregistrare geografică în Ungaria), în toate cazurile pe lilieci treziți accidental din hibernare. Două

noi specii au fost înregistrate pentru România (*Ischnopsyllus simplex* și *I. mysticus*), ambele fiind găsite pe lilieci locuitori ai fisurilor.

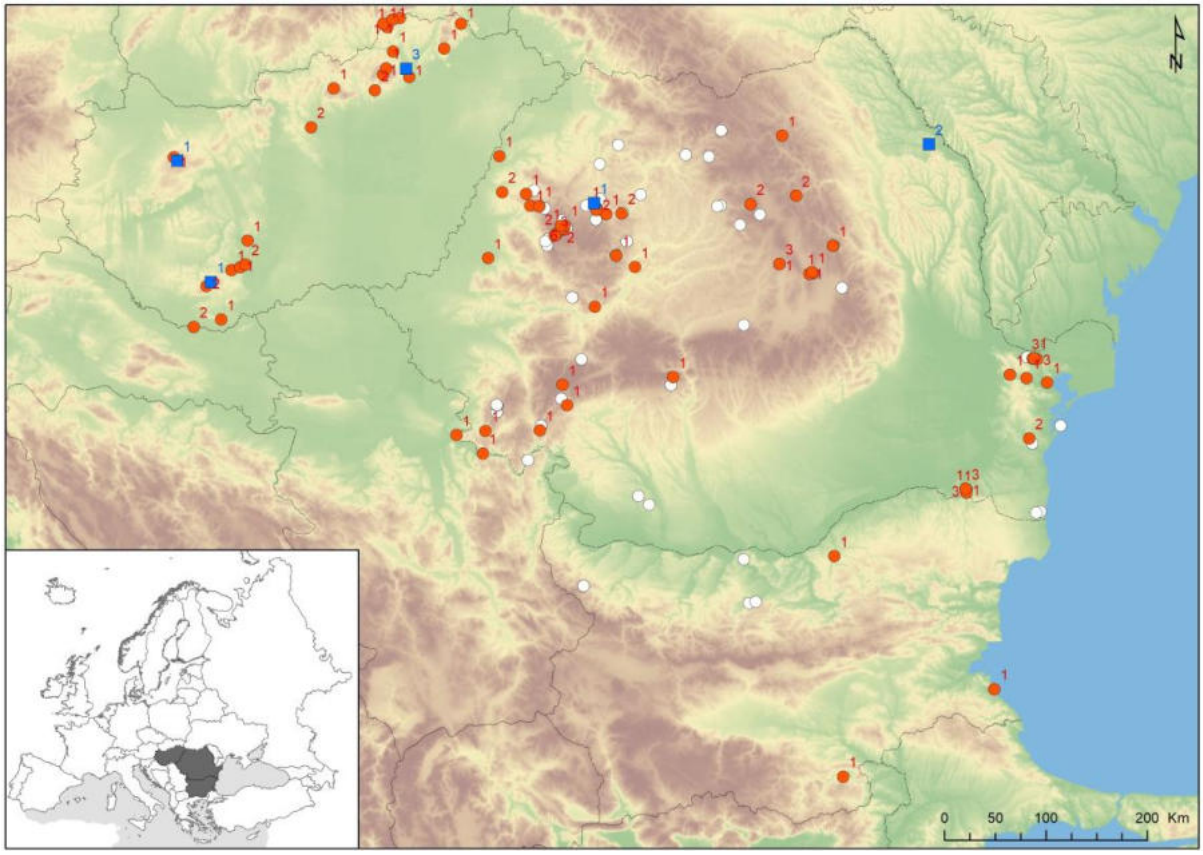


Fig. 1 Hartă a regiunii de studiu, care arată locațiile geografice unde au fost capturați lilieci pentru studiul puricilor lor. Simbolurile umplute reprezintă locațiile unde puricii au fost colectați fie de pe gazdă (cercuri roșii umplute), fie din adăposturi (pătrate albastre umplute). Cercurile goale indică capturi în care nu au fost găsiți purici. Numerele indică diversitatea locală a puricilor (numărul de specii de purici recuperate).

Table 1. Distributia purecilor in functie de locurile de colectare, sezon

		Gazde colectate*	Adăpost
Numar pureci		820 (12)	194 (6)**
Numar locatii		73	6
Sezon	Primavara-Vara	552 (10)	130 (1)
	Toamna	188 (9)	18 (2)
	Hibernare	77 (7)	44 (2)
Tip adapost	Subteran	136 (8)	3 (2)
	Cladiri	621 (11)	191 (5)
	Crapaturi	42 (9)	-

Ecologia gazddei	Adapost comun	608 (11)	194 (6)

Table 2. Speciile de pureci colectate de pe lilieci, cu numarul gazdelor si numarul locatiilor de colectare.

Specii pureci	**Numar**	**Numarul de pureci colectati**	**Sex ratio (m/f)**	**Numarul de gazde**
Ischnopsyllus (Hexactenopsylla) hexactenus	14	20	0.42	7
Ischnopsyllus elongatus	34	44	0.84	4
Ischnopsyllus intermedius	74	175	0.60	8
Ischnopsyllus mysticus	51	144	0.33	4
Ischnopsyllus obscurus	39	47	0.42	4
Ischnopsyllus octactenus	56	94	0.44	9
Ischnopsyllus simplex	7	10	0.10	2
Ischnopsyllus variabilis	22	42	0.35	5
Nycterydopsylla dictena	2	3	0.50	2
Nycterydopsylla eusarca	24	62	0.60	1
Rhinolophopsylla unipectinata	132	187	0.83	10

Am constatat diferențe semnificative în prevalența puricilor în general între gazdele liliecilor. Anumite specii de lilieci au fost parasitate regulat de purici, în timp ce alte specii au fost gazde rare (Tabelul 3, Fig. 2). Prevalența puricilor a fost semnificativ mai mare la speciile de lilieci locuitori ai fisurilor, comparativ cu gazdele care locuiesc în peșteri ($X^2 = 520,7536$, $p < 0,00001$), prezentând și intensități mai mari ale infestării cu purici ($t(26) = 1,96069$, $p = 0,030574$). Când comportamentul de adăpostire (grup strâns vs. adăpostire solitară) este luat în considerare, configurația adăpostului a fost mai puțin importantă, liliecii care se adăpostesc în grupuri comunale prezentând o prevalență mai mare (6,37 % vs. 5,40 %) și o intensitate mai mare (2,0 vs. 1,5), deși diferențele nu au fost semnificative. Per total, liliecii masculi au prezentat o prevalență mai mare a infestării cu purici (6,8 %) decât femelele (5,8 %), diferența nefiind semnificativă. Intensitatea infestării a fost semnificativ mai mare la femele (2,01) decât la masculi (1,61, $t(26) = 2,41341$, $p = 0,008165$), indiferent de socialitatea liliecilor sau de ecologia adăpostului.

Apariția puricilor a prezentat fluctuații sezoniere, cu cea mai mare prevalență înregistrată la lilieci primăvara (8,6 %), urmată de liliecii aflați în hibernare (7,9 %). Prevalența puricilor a fost semnificativ mai mică toamna (2,8 %, $X^2 = 122,5277$, $p < 0,00001$). Am constatat diferențe în compoziția speciilor de paraziți, cu două specii (*N. dictena* și *N. eusarca*) apărând doar pe gazde

în perioada hibernării, în timp ce cinci specii (*I. hexactenus*, *I. intermedius*, *I. mysticus*, *I. simplex* și *I. variabilis*) au fost înregistrate doar în perioada activă a liliecilor.

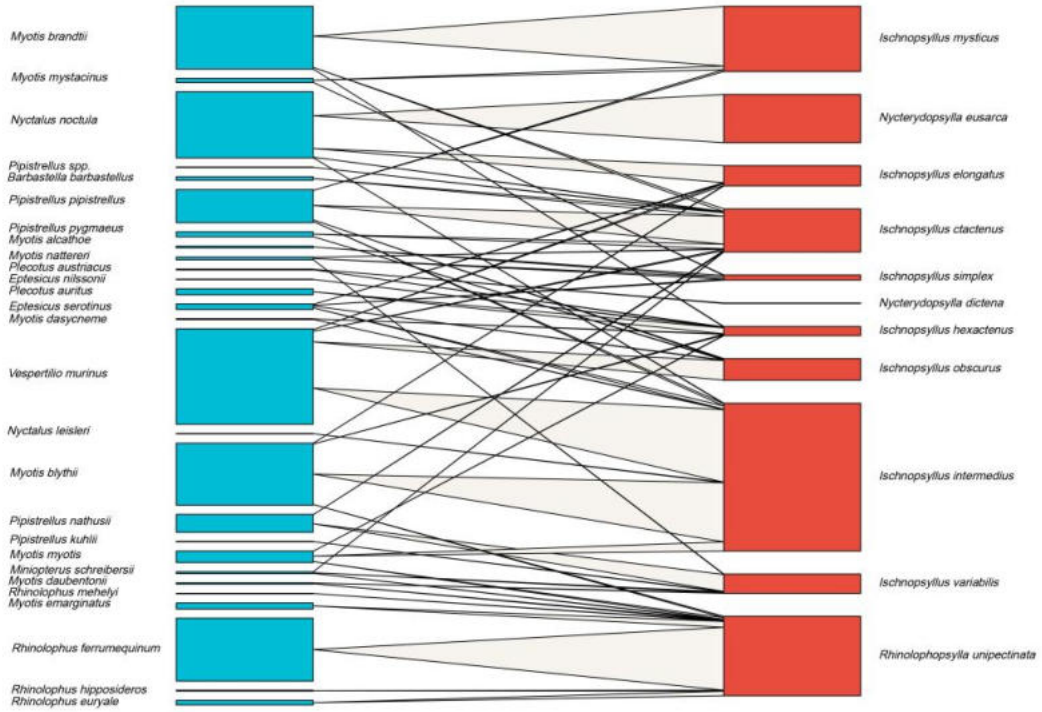


Fig. Reprezentare bipartită a rețelei parazitare a puricilor specifici liliecilor și a liliecilor gazdă, utilizând o rețea cantitativă de interacțiuni bazată pe relațiile individuale gazdă-parazit. Legăturile dintre noduri reprezintă suma aparițiilor individuale ale puricilor pentru o anumită pereche specie de liliac – specie de purice (bare albastre deschise – specii de lilieci, bare roșii – specii de purici, triunghiuri gri – legături gazdă-parazit).

Puricii au prezentat rapoarte de sex puternic dezechilibrate, cu un raport global mascul/femelă de 1/1,8. Speciile individuale de purici au prezentat abateri ușoare față de acest raport, *I. elongatus* și *R. unipectinata* având cel mai mic dezechilibru, în timp ce *I. mysticus*, *I. simplex* și *I. variabilis* au prezentat cel mai mare dezechilibru sexual în apariție. Raportul de sex al puricilor colectați de pe gazdă a diferit semnificativ față de cel al puricilor colectați din adăposturi (1/1,9 vs. 1/1,2, $X^2 = 9,9698$, $p = 0,0015$).

Table 3. Speciile de lilieci capturați, prevalența și intensitatea infestării cu purici și numărul de purici colectați.

Speciile gazdă	Numarul de gazde analizate	Numarul de gazed infectate	Numarul de pureci colectati	Prevalenta	Intensitatea	Numarul de specii de pureci	Adapost*	Tip adapost'
Barbastella barbastellus	290	5	8	1.72	1.60	1	s	cr
Eptesicus nilssonii	3	1	1	33.33	1.00	1	s	cr
Eptesicus serotinus	51	7	12	13.73	1.71	4	s	cr
Miniopterus schreibersii	2657	3	4	0.11	1.333	3	c	un
Myotis alcathoe	31	4	4	12.90	1.00	1	s	cr
Myotis blythii	508	7	7	1.38	1.000	4	s	un
Myotis brandtii	119	44	137	36.97	3.11	3	c	cr
Myotis dasycneme	8	2	2	25.00	1.00	2	s	cr
Myotis daubentonii	447	3	3	0.67	1.000	2	c	un
Myotis emarginatus	525	15	17	2.86	1.133	1	c	un
Myotis myotis	385	6	6	1.56	1.000	3	s	un
Myotis mystacinus	42	6	9	14.29	1.50	1	s	cr
Myotis nattereri	187	6	6	3.21	1.00	4	s	cr
Nyctalus leisleri	2	1	1	50.00	1.00	1	c	cr
Nyctalus noctula	234	55	101	23.50	1.84	4	c	cr
Pipistrellus kuhlii	4	1	1	25.00	1.00	1	c	cr
Pipistrellus nathusii	48	20	39	41.67	1.95	2	s	cr
Pipistrellus pipistrellus	168	39	72	23.21	1.85	4	c	cr
Pipistrellus pygmaeus	16	7	11	43.75	1.57	2	c	cr
Plecotus auritus	74	6	13	8.11	2.17	1	s	cr
Plecotus austriacus	86	2	2	2.33	1.00	2	s	cr
Rhinolophus blasii	36	3	3	8.33	1.000	1	s	un
Rhinolophus euryale	303	9	10	2.97	1.111	1	s	un
Rhinolophus ferrumequinum	727	87	137	11.97	1.575	1	s	un

Rhinolophus hipposideros	329	6	9	1.82	1.500	1	s	un
Rhinolophus mehelyi	186	1	1	0.54	1.000	1	s	un
Vespertilio murinus	198	105	208	53.03	1.98	4	c	cr
Other species***	465	0	0					
TOTAL	8129	444	824	5.46	1.856			

* Comportament de adăpostire: c – adăpostire comunală, s – adăpostire solitară. **Tip de adăpost: cr – locuitor al fisurilor, un – adăpost subteran. ***Alte specii: specii de lilieci fără nicio înregistrare de infestare cu purici (Hypsugo savii n=16, Myotis aurascens n=17, Myotis bechsteinii n=161, Myotis capaccinii n=270, Nyctalus lasiopterus n=1).

Discuții

Studiul nostru a evidențiat un ansamblu divers de specii de purici la liliecii din Europa Centrală și de Est. În total, au fost înregistrate 14 specii de purici pe gazde, realizându-se o paletă variată de conexiuni gazdă-parazit. Majoritatea înregistrărilor se referă la puricii aparținând familiei Ischnopsyllidae, o familie care conține exclusiv specii specializate pe lilieci. Numărul mare de gazde examinate a oferit oportunitatea de a întâlni toate, cu excepția a trei specii de purici vreodată înregistrate la liliecii din Europa Centrală și de Est.

Dintre speciile lipsă, două (*Nycteridopsylla ancyluris johanae* și *Nycteridopsylla trigona balcanica*) sunt extrem de rare, cunoscute doar din holotipurile colectate în Bulgaria, în timp ce *Nycteridopsylla pentactena* a fost înregistrată în regiune doar în Ungaria. Deși majoritatea puricilor colectați în studiul nostru sunt paraziți obișnuiți ai liliecilor din regiunea Palearctică, am reușit să înregistrăm trei recorduri naționale printre puricii specialiști pe lilieci. Astfel, prezentăm prima înregistrare a *N. dictena* colectată în Ungaria (o femelă de pe *Plecotus austriacus*), iar pentru România, înregistrările pentru *Ischnopsyllus simplex* și *I. mysticus* reprezintă observații noi. Aceste ultime specii au fost înregistrate de mai multe ori, cu două conexiuni gazdă-parazit realizate în cazul lui *I. simplex* și patru în cazul lui *I. mysticus* (Tabelul 2). *Ischnopsyllus mysticus* este un purice obișnuit al *Myotis brandtii*, cu nouă înregistrări geografice distincte. Pe lângă gazda sa principală, a fost înregistrat și pe *M. mystacinus* și *Pipistrellus pipistrellus*, dar numai atunci când indivizi ai acestor două specii de lilieci erau înregistrați împreună cu *M. brandtii* în același adăpost. Ambele specii de purici par să fie paraziți regulati ai liliecilor forestieri care locuiesc în fisuri, pe întreaga regiune.

Speciile de purici au prezentat variații mari în alegerea gazdei. *Rhinolophopsylla unipectinata* a fost înregistrată pe cele mai multe specii gazdă (zece) și a fost cel mai comun purice

înregistrat. Aceasta a fost găsită în principal la lilieci care locuiesc în adăposturi subterane, fiind înregistrată pe toate speciile gazdă, cu excepția uneia, obișnuite în peșteri în perioada activă. O altă specie polixenă a fost *I. octactenus* (nouă specii gazdă), parazit exclusiv al liliecilor forestieri specializați în fisuri, cu o singură înregistrare neobișnuită la un liliac de peșteră (*Miniopterus schreibersii* mascul). Această înregistrare a fost observată toamna și poate reprezenta un individ rătăcit de purice, aterizând accidental pe o nouă gazdă, în timp ce mulți indivizi ai speciei sale gazdă obișnuite (în principal *Pipistrellus* spp. și *Plecotus* spp.) erau frecvent prezenți la locul capturii. Specia de purice cea mai specifică gazdei în regiunea studiată este *N. eusarca*, toți indivizii fiind colectați de pe o singură specie gazdă (*Nyctalus noctula*).

Studiul nostru a înregistrat două specii de purici care nu sunt specialiști pe lilieci: *Megabothris turbidus*, răspândit și specific rozătoarelor, și *Ceratophyllus hirudinis*, un purice de păsări, întâlnit frecvent la rândunele, privighetoare și vrăbii care utilizează cuiburi de rândunele. Ambele specii de purici au fost găsite pe aceeași specie de gazdă, liliacul cu pete (*Vespertilio murinus*). Apariția speciilor de purici care nu aparțin familiei Ischnopsyllidae este un fenomen rar în rândul liliecilor palearctici, iar, până unde știm, ambele observații reprezintă primele înregistrări vreodată. Interesant, ambele înregistrări au fost făcute la lilieci care foloseau clădiri. *Megabothris turbidus* a fost colectat de pe un liliac care a ieșit dintr-un adăpost de numai masculi, într-o clădire abandonată. Aici liliecii foloseau fisuri din spatele cadrelor ferestrelor, locuri unde mai mulți indivizi de *Glis glis* (dihorul de grădină) se adăposteau. Această specie (printre alte rozătoare care locuiesc în cuiburi) este o gazdă comună pentru *M. turbidus*. Descoperirea unei femele *C. hirudinis* poate fi efectul unui obicei al liliecilor de a împărți locurile de adăpost cu păsările. Deși *C. hirudinis* este prin excelență un purice al rândunelelor și privighetorilor (genurile *Hirundo*, *Delichon* și *Riparia*), utilizarea cuiburilor abandonate de rândunele ca adăpost ocazional a fost deja demonstrată pentru mulți lilieci.

Puricii sunt paraziți rari ai liliecilor, cu o prevalență generală puțin peste 5% (Tabelul 3). Această prevalență este foarte scăzută în rândul ectoparaziților liliecilor, care în general prezintă prevalențe între 20-98%. Prevalența scăzută poate fi rezultatul rarității generale a puricilor din familia Ischnopsyllidae, dar poate fi cauzată și de ecologia liliecilor. Rezultatele noastre sugerează acest din urmă aspect, deoarece am constatat diferențe semnificative în infestarea cu purici a liliecilor care se adăpostesc în spații largi deschise (adăposturi subterane) față de cei care folosesc

fisuri mici. Spațiile strâmte pot favoriza localizarea gazdei pentru ectoparaziții foarte mobili și pot contribui, de asemenea, la supraviețuirea parazitului în absența unei gazde.

Nu doar configurația adăpostului, ci și organizarea socială din interiorul acestuia este importantă. Liliecii care se adăpostesc în grupuri strânse prezintă infestări mai mari decât cei solitari, indiferent de substratul adăpostului. Acest fenomen nu este unic în relația dintre mamifere și ectoparaziții lor; majoritatea mamiferelor sociale prezintă niveluri mai ridicate de infestare cu ectoparaziți decât rudele lor solitare, cel mai probabil datorită transferului mai ușor de paraziți între membrii grupului.

Sexul gazdei poate fi, de asemenea, un factor determinant în alegerea gazdei de către puricii liliecilor. Spre deosebire de alți ectoparaziți ai liliecilor, cum ar fi căpușele sau mușteleе nycteribiide, puricii au fost mai frecvent întâlniți pe gazde masculi decât pe femele, deși diferențele nu au fost semnificative. În același timp, femelele gazdă infestate au prezentat o povară de purici semnificativ mai mare decât masculii infestați (1,5:1). Femelele prezintă o intensitate mai mare a infestării pentru majoritatea grupurilor de paraziți la lilieci, ceea ce poate fi rezultatul selecției țintite pentru dimensiunea gazdei. Dimensiunea corpului gazdei a fost demonstrată ca fiind determinantul principal al alegerii gazdei pentru mai multe grupuri de ectoparaziți la mamifere. Deoarece femelele sunt sexul mai mare la liliecii insectivori, majoritatea ectoparaziților prezintă o abundență mai mare pe femele.

Ciclul anual al liliecilor boreali are un impact major asupra infestării lor cu purici. Majoritatea puricilor au fost observați primăvara, perioadă care se suprapune cu cerințele energetice maxime și cea mai slabă imunitate generală (ieșirea din hibernare și maternitatea timpurie). În contrast, mobilitatea ridicată și schimbările frecvente de adăpost caracteristice perioadei de swarming din toamnă au acționat împotriva infestării cu purici, reducând atât prevalența, cât și intensitatea puricilor pe gazde. Anumite specii de purici au prezentat o temporalitate diferită a prezenței pe gazdă, cele două specii *Nycteridopsylla* fiind găsite doar la liliecii în hibernare. Observații similare au fost deja publicate în Germania și Republica Cehă.
Majoritatea populațiilor de ectoparaziți de pe gazdă sunt caracterizate prin rapoarte de sex dezechilibrate. Puricii liliecilor nu fac excepție; acest grup fiind caracterizat prin predominanța femelelor (1:1,3 mascul/femelă) în regiunea noastră de studiu. În timp ce anumite specii polixenice (*I. elongatus* și *R. unipectinata*) au prezentat rapoarte de sex mai echilibrate, majoritatea speciilor de purici au avut rapoarte de sex foarte dezechilibrate.

Există mai multe ipoteze pentru explicarea rapoartelor de sex dezechilibrate la insectele ectoparazite, cum ar fi efectele de eșantionare (sexul mai mare și mai vizibil este înregistrat mai frecvent), curățarea selectivă de către gazdă (îndepărtarea mai frecventă a unui sex), supraviețuirea sau capacitatea de dispersie diferențiată a sexelor sau dezechilibrul pre-partum (mai mulți indivizi se nasc dintr-unul dintre sexe). Efortul diferențiat de eșantionare poate favoriza înregistrarea puricilor femele la lilieci; totuși, metoda noastră de eșantionare (colectarea tuturor indivizilor) exclude această părtinire. Curățarea selectivă de către gazdă ar trebui să elimine disproporționat femelele mai mari în cazul liliecilor, acționând astfel împotriva unui număr mai mare de femele. Informațiile despre capacitatea de dispersie sau supraviețuire a puricilor liliecilor sunt reduse; singurul studiu existent nu a găsit nicio diferență în supraviețuirea între sexe la *Ischnopsyllus (Hexactenopsylla) hexactenus*.

Pe baza rezultatelor puricilor colectați în interiorul adăposturilor (pe care bănuim că sunt indivizi recent ieșiți din pupe și pot fi reprezentativi pentru raportul de sex pre-partum), raportul natural de sex la Ischnopsyllidae este aproape egal. Deoarece femelele de purici se hrănesc mai mult și consumă cantități mai mari de sânge în majoritatea grupurilor de purici studiate, ne așteptăm ca femelele de purici ai liliecilor să petreacă, de asemenea, mai mult timp pe gazde pentru a-și crește aportul alimentar. Sugestia noastră este că acesta ar putea fi motivul probabil al ratei lor mai mari de întâlnire pe gazde.

Which bears the highest impact on flea infestation of Palearctic bats: host, season or roost type?

Attila D. SÁNDOR[1,2,3*], Sándor A. BOLDOGH[4], Alexandra CORDUNEANU[5,6], Péter ESTÓK[7], Tamás GÖRFÖL[8], Áron PÉTER[2], Sándor HORNOK[1,2]

Facilitățile miniere abandonate oferă zone cheie de adăpost pentru liliecii dependenti de conservare în regiunea stepei a UE: implicații pentru conservare ale unui decalaj spațial în desemnarea ariilor protejate (în pregătire)

Introducere

Pierderea accelerată a biodiversității a devenit una dintre cele mai semnificative probleme de mediu cu care se confruntă societățile moderne. Schimbările determinate de activitatea umană – precum distrugerea și modificarea habitatelor, exploatarea nesustenabilă a resurselor naturale, poluarea și răspândirea speciilor non-native – au remodelat profund ecosistemele și au redus complexitatea lor biologică. Ca răspuns la aceste presiuni, crearea unor rețele extinse de arii protejate a fost promovată ca o strategie cheie pentru a încetini sau preveni declinul biodiversității. În Uniunea Europeană, acest demers este reprezentat de rețeaua Natura 2000, instituită pentru a asigura supraviețuirea pe termen lung a anumitor specii și habitate în diferite regiuni biogeografice. O regiune este considerată protejată corespunzător atunci când fiecare tip de habitat și fiecare specie listată în Directiva Habitate este suficient reprezentată în bioregionul corespunzător.

Liliecii reprezintă aproximativ o treime din toate speciile de mamifere din Europa și constituie grupul de mamifere cel mai amenințat de pe continent. Patruzeci și patru specii (din 53 care apar regulat în Europa) sunt de interes pentru conservare, necesitând desemnarea de Arii Speciale de Conservare (SAC/SCI) în cadrul rețelei Natura 2000 pentru a le asigura perspectivele pe termen lung. În ciuda dimensiunii geografice relativ mici – acoperind doar 0,9% din UE și situată integral în România – Bioregionul Stepei adăpostește un număr excepțional de habitate și specii endemice. Acesta include 59 de specii de mamifere și șapte specii de lilieci de interes pentru conservare. Pentru protejarea acestor taxoni, mai multe situri Natura 2000 au fost desemnate până în 2011 și ulterior recunoscute oficial ca arii protejate în conformitate cu Directiva Habitate. Aceste situri acoperă acum aproximativ 25% din Bioregionul Stepei și reprezintă principalul instrument de conservare implementat în zonă.

Deși liliecii sunt capabili de deplasări pe distanțe lungi, supraviețuirea lor depinde de disponibilitatea unor adăposturi adecvate, în special cuiburi materne vara și situri sigure de hibernare iarna. Aceste adăposturi pot consta în fisuri înguste din copaci sau formațiuni stâncoase sau în sisteme subterane mari, precum peșteri și mine. Este important de remarcat că toți liliecii

care locuiesc în peșteri și majoritatea speciilor care folosesc fisuri depind puternic de adăposturi subterane în timpul hibernării. Scopul acestui studiu a fost evaluarea dacă rețeaua Natura 2000 răspunde suficient cerințelor ecologice ale speciilor de lilieci care populează Bioregionul Stepei. Pentru aceasta, am analizat utilizarea adăposturilor subterane aflate în interiorul și în afara ariilor protejate și am evaluat gradul de dependență al populațiilor de lilieci de aceste situri desemnate. Abordarea noastră a implicat inspectarea tuturor adăposturilor subterane majore cunoscute din regiune, documentarea stării de conservare, a compoziției speciilor și a dimensiunii coloniei, și evaluarea rolului lor general în menținerea populațiilor regionale de lilieci.

Materiale și Metode

Zona de studiu

Cercetarea a fost realizată în Bioregionul Stepei al Uniunii Europene, situat în sud-estul României. Această regiune include câmpiile Dunării și peisajele colinare din Dobrogea Centrală și de Vest (Fig. 1), acoperind aproximativ 15.570 km². Istoric, zona a susținut ecosisteme extinse de păduri-stepă eurasiatice și păduri xerice. Astăzi, însă, agricultura intensivă domină peisajul, cu teren arabil intercalat cu pajiști semi-naturale, păduri fragmentate și zone umede asociate Dunării și Deltei sale. Clima este temperată continentală, cu caracteristici de secetă, influențată de proximitatea Mării Negre.

Între 2015 și 2025, toate adăposturile subterane de lilieci documentate anterior – inclusiv peșteri naturale, mine abandonate, puțuri miniere și clădiri operaționale din apropiere – au fost inspectate. Evaluările s-au concentrat pe prezența liliecilor în interiorul adăposturilor și pe capturarea sezonieră a indivizilor în apropierea intrărilor. Au fost incluse doar observațiile clar legate de utilizarea adăposturilor subterane.

Inspecții vizuale

Toate adăposturile accesibile au fost inspectate cel puțin o dată pe sezon pentru a determina ocuparea în perioadele critice, cum ar fi reproducerea și hibernarea. Identificarea speciilor s-a bazat pe observații directe și documentare fotografică a indivizilor sau grupurilor. Dimensiunea populațiilor a fost estimată prin numărători directe sau pe baza fotografiilor, după caz. Atenție specială a fost acordată clădirilor abandonate asociate complexelor miniere, care servesc frecvent ca adăposturi diurne, cuiburi materne sau hibernacula.

Puțurile miniere nu au putut fi inspectate integral din cauza riscurilor structurale sau a galeriilor inaccesibile. Pentru aceste situri, semnificația lor pentru speciile care hibernează a fost

inferată prin observații în perioada de swarming de toamnă – un indicator de încredere, deoarece liliecii folosesc frecvent aceleași situri atât pentru swarming, cât și pentru hibernare. Această metodă a permis evaluarea importanței potențiale a secțiunilor subterane mai adânci, inaccesibile.

Capturi de lilieci

Capturile sezoniere au fost realizate folosind capcane cu harpa și, după caz, plase de tip mist-net, instalate în apropierea intrărilor. Pentru a minimiza perturbarea, fiecare sit a fost eșantionat o singură dată pe sezon. Capcanele au fost instalate înainte de apus și operate în perioada de activitate maximă a liliecilor (20:00–02:00), asigurând cel puțin patru ore de eșantionare după întunericul complet. Indivizii capturați au fost plasați în saci de pânză până la procesare. Identificarea speciilor s-a realizat pe baza criteriilor morfologice, iar fiecare liliac a fost sexat și clasificat ca adult/subadult. Pentru adulți, s-a înregistrat starea reproductivă, inclusiv lactația, sarcina sau activitatea reproductivă a masculilor. Probe de țesut și ectoparaziți au fost colectate de la indivizi selectați pentru studii parazitologice în curs.

Capturile s-au desfășurat în principal primăvara (martie–mai) și toamna (august–octombrie). Adăposturile cu colonii materne active și toate siturile din perioada hibernării (noiembrie–martie) au fost evitate pentru a preveni perturbarea. Pentru evaluarea tendințelor pe termen lung, datele noastre au fost comparate cu studii istorice efectuate între 1955 și 2014.

Rezultate

Capturi de lilieci

Între mai 2015 și octombrie 2025, am efectuat 60 de sesiuni de captură în nouă puțuri miniere și trei clădiri miniere abandonate, completate de zece capturi în cele trei peșteri naturale cele mai mari din regiune. Într-o clădire și în mai multe puțuri miniere mici, complet accesibile, capturile nu au fost necesare, efectuându-se doar inspecții vizuale.

În total, 2836 de lilieci aparținând a 24 de specii au fost capturați. Liliacul cu aripi lungi eurasiatic (*Miniopterus schreibersii*) a dominat capturile ori de câte ori era prezent (cinci din 15 situri), reprezentând 1265 indivizi (44,6%). Cele mai răspândite specii au fost *Myotis daubentonii* (11 situri, n=370), *Rhinolophus ferrumequinum* (11 situri, n=326) și *Rhinolophus mehelyi* (8 situri, n=136). Toate speciile, cu excepția lui *Myotis mystacinus* și *Nyctalus lasiopterus* (fiecare cu o singură înregistrare), au fost detectate la multiple situri și în cel puțin două sezoane; aceste două specii au fost considerate vizitatori accidentali și excluse din analize.

Richețea speciilor a variat semnificativ între situri, cu o medie de 7,7 specii pe sit (interval 2–16). Mai multe situri au avut asamblaje excepțional de diverse, peste zece specii fiind capturate în două puțuri și o clădire, un puț găzduind până la 14 specii.

Deși majoritatea indivizilor au fost capturați toamna (n=1668; 58,8%), richețea speciilor nu a diferit între sezoane (21 specii fiecare). Atât speciile care trăiesc în peșteri, cât și cele forestiere au folosit regulat minele abandonate pe tot parcursul anului, cu excepția lui *Myotis nattereri*, absent din mine primăvara, deși forma o colonie maternă într-o clădire.

Rapoartele de sex au diferit semnificativ între sezoane: aproape egal în primăvară (0,47), dar puternic masculin-biased toamna (0,67). Un model sezonier similar a fost observat la liliacul cu degete lungi (*M. capaccinii*), o specie cunoscută pentru structura socială mixtă, sugerând intensificarea comportamentului masculilor de căutare a partenerilor în toamnă.

Inspecții vizuale

Inspecțiile vizuale au fost efectuate la toate cele 16 adăposturi, dar acoperirea spațială completă a fost posibilă doar pentru nouă situri (cinci puțuri, trei clădiri și o peșteră). Restul puțurilor au fost inspectate parțial din cauza inaccesibilității sau a riscurilor de siguranță, rezultând în aproximativ 20% din lungimea totală verificată.

Un total de 19 specii au fost confirmate vizual (toate fiind, de asemenea, capturate), arătând diferențe sezoniere marcante în abundență și compoziția asamblajului. Colonii materne au fost identificate în patru puțuri, toate cele trei clădiri și două peșteri naturale. Fiecare sit matern a găzduit mai multe specii reproducătoare, cu o medie de 3,3 specii (interval 2–5) și 14 specii reproducătoare în total. Structurile miniere din zona Canaraua Fetii au avut cele mai diverse asamblaje (12 specii în două puțuri și două clădiri, Figura 2) și au susținut cele mai mari populații materne.

Liliecii aflați în hibernare au fost detectați în 11 din cele 16 situri, deși accesul limitat a făcut ca numărătoarea să reflecte, în general, doar indivizii din apropierea intrărilor. În total, 14 specii au fost observate în hibernare, cu încă cinci specii presupuse că folosesc secțiuni mai adânci, inaccesibile ale puțurilor.

Discuții

Investigația noastră asupra infrastructurilor miniere abandonate a relevat descoperiri neașteptate privind comportamentul reproductiv al liliecilor. În special, am documentat trei colonii materne de Myotis daubentonii, specie asociată de obicei cu habitate forestiere, împreună cu

dovezi ale reproducerii subterane la Myotis emarginatus. Clădirile miniere au găzduit, de asemenea, colonii rare și anterior neînregistrate. Raportăm prima colonie maternă confirmată de Hypsugo savii în România, localizată în clădirea administrativă a carierei de calcar Cerna, și o mică colonie maternă de Myotis nattereri în fisuri din pereți de beton în Canaraua Fetii. În plus, singurele colonii materne înregistrate ale speciilor Nyctalus noctula și Vespertilio murinus din regiune par să reprezinte unele dintre cele mai sudice înregistrări de reproducere din Europa.

Rapoartele de sex puternic masculin-biased observate în capturile de toamnă indică faptul că multe dintre mine funcționează nu doar ca adăposturi diurne, ci și ca situri importante de swarming. Astfel de situri au o valoare de conservare excepțională, servind atât ca arene de împerechere, cât și ca hub-uri pentru schimbul de informații sociale. În plus, van Schaik et al. au demonstrat că majoritatea liliecilor care utilizează un sit subteran pentru swarming folosesc același sit și pentru hibernare. Acest aspect este deosebit de relevant aici, având în vedere că aproximativ 92% din puțuri au fost inaccesibile dincolo de intrare. Prin urmare, numărătoarea noastră de hibernare este probabil subestimată, iar speciile înregistrate la swarming, dar neobservate în hibernare, ar putea de fapt ierna mai adânc în puțuri.

Minele abandonate s-au dovedit a găzdui asamblaje de lilieci mult mai diverse decât peșterile naturale protejate legal din regiune. Această tendință a fost consistentă în cazul indivizilor capturați, al coloniilor materne și al populațiilor aflate în hibernare. Doar o treime din cele 24 de specii documentate în regiunea stepei au fost observate în peșteri naturale, în timp ce toate cele 24 de specii au fost înregistrate folosind facilități miniere abandonate. Aceste descoperiri subliniază importanța critică a structurilor subterane antropice pentru menținerea diversității liliecilor în acest peisaj și evidențiază necesitatea unor măsuri de conservare țintite pentru a asigura protecția și accesibilitatea lor pe termen lung.

Abandoned mining facilities provide key roosting areas for conservation dependent bats in the Stepic Region of EU: conservation implications of a spatial mismatch in protected area designation

Attila D. Sándor[1,2,3*], Levente Barti[4], Alexandra Corduneanu[5,6], Cristina Daniela Pop[6,7], Sándor Hornok[1,2], Áron Péter[2]

Limitări și Provocări

• Accesul la unele situri de eșantionare a fost restricționat de condițiile meteo și reglementările de conservare

• Unele grupuri de ectoparaziți (de ex., purici, acarieni) necesită verificare taxonomică suplimentară

• Sunt necesare secvențieri suplimentare pentru a confirma speciile de ectoparaziți și identitatea patogenilor

Planuri Viitoare

• Finalizarea testelor ADN pentru ectoparaziții colectați până în prezent

• Începerea comparațiilor sezoniere, dacă este posibil, cu noi excursii de teren în 2026 Depunerea secvențelor preliminare pentru BLAST și analize filogenetice

• Integrarea cadrului „One Health” pentru interpretarea interacțiunilor vector-patogen-gazdă

• Publicarea articolelor ISI în acces deschis

Conducător proiect,

Dr. Corduneanu Alexandra, Ph.D.

Membru proiect,

Dr. Cristina Daniela Pop, Ph.D.

Tabel 1. Secvențe de oligonucleotide și parametrii ciclurilor PCR pentru identificarea agenților patogeni

Tip PCR	Patogenul testat	Gena testată (mărime amplicon)	Amorse (5'-3')	Denaturare inițială	Cicluri denaturare	Ciclu antrenare	Ciclu extindere	Extindere finală
cPCR	**Anaplasmataceae**	16S rRNA (345 bp) (Parola et al., 2000)	**EHR16SD** (GGTACCYACAGAAGAAGTCC) **EHR16SR** (TAGCACTCATCGTTTACAGC)	95°C, 5 m	94°C, 30 s	45°C, 30 s	72°C, 30s	72°C, 5 m
nPCR	***Babesia* spp.**	18S rRNA (561 bp)	**BTH-1F** (CCTGAGAAACGGCTACCACATCT) **BTH-1R** (TTGCGACCATACTCCCCCCA)	95°C, 3 m	95°C, 30 s	60°C, 30 s	72°C, 1 min	72°C, 7 m
		18S rRNA (561 bp)	**GF2** (GTCTTGTAATTGGAATGATGG) **GR2** (CCAAAGACTTTGATTTCTCTC)	95°C, 3 m	95°C, 30 s	50°C, 30 s	72°C, 40 s	72°C, 7 m
cPCR	***Bartonella* spp.**	ITS (600 bp) (Dinz et al., 2007)	**325s** (CTTCAGATGATGATCCCAAGCCTTCTGGCG) **1100as** (GAACCGACGACCCCCTGCTTGCAAAGA)	95°C, 3 m	95°C, 30s	66°C, 30 s	72°C, 30s	72°C, 5 m
cPCR	***Borrelia* spp.**	ITS (350 bp)	**5SB** (CGACCTTCTTCGCCTTAAAGC) **23SB** (AGCTCTTATTCGCTGATGGTA)	94°C, 15 m	94°C, 30 s/ 94°C, 20 s	70°C,30s/ 60°C,30s	72°C, 30s	72°C, 5 m
nPCR	***Hepatozoon* spp.**	18S rRNA (1700 bp)	**HAM1F** (GCCAGTAGTCATATGCTTGTC) **HPF-2R** (GACTTCTCCTTCGTCTAAG)	95°C, 1 m	95°C, 15 s	55°C, 15 s	72°C, 30 s	72°C, 5 m
		18S rRNA (1600 bp) (Hrazdilova et al., 2021)	**EF_M** (AAAACTGCAAATGGCTCATT) **Hep1615R** (AAAGGGCAGGGACGTAATC)	95°C, 1 m	95°C, 15 s	55°C, 15 s	72°C, 30 s	72°C, 5 m
cPCR	**Rickettsiaceae**	*glt*A (381 bp) (Regnery et al., 1991)	**RpCS.877p** (GGGGGCCTGCTCACGGCGG) **RpCS.1258n** (ATTGCAAAAAGTACAGTGAACA)	95°C, 2 m	95°C, 30 s	58°C, 30 s	72°C, 30s	72°C, 2 m