

REZUMATUL TEZEI

Titlu teză: Evidențierea variabilității fenotipice din populațiile adulte de *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte în condiții bioecologice diverse.

Structura propriu-zisă a tezei:

Rezumatul (română și engleză)

Introducere

Partea de stadiu actual al cunoașterii: 26 pagini

Partea de cercetări proprii: 94 pagini

Concluzii și recomandări

Elementele de originalitate

Părți adiționale:

Lista de abrevieri

Lista lucrărilor publicate ca rezultat al cercetărilor

Bibliografia

Anexe

Elemente tabelare și grafice

Tabele: 58

Figuri: 90

Surse bibliografice: 156

Raport antiplagiat/ coeficient de similitudine: 0,1%.

INTRODUCERE

Obiectiv principal: identificarea cauzei variabilității coloristice de fond a insectelor adulte de *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte din diverse populații prin interacțiunea dintre insectă și sursa de hrană.

Obiective specifice:

- evidențierea dinamicii populaționale a adulților în diferite tipuri de hibrizi de porumb
- stabilirea structurii sexuale în populații
- identificarea grupelor fenotipice (morfologice și coloristice) în populații diverse
- influența tipului de hrană asupra coloristicii adultului
- analiza polifenolilor și flavonoidelor din corpul insectelor adulte, prin metode spectrofotometrice de determinare cantitativă a polifenolilor și flavonoidelor

Importanța și actualitatea temei

Specia *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte, cunoscută popular ca "viermele vestic al rădăcinilor de porumb", a constituit subiectul a numeroase publicații, din anul 1992 până în prezent, de când a fost semnalată în Europa. Deși, încă se situează la nivel de instalare în Europa, aceasta continuă să fie studiată prin prisma a numeroase aspecte, în special axate pe monitorizare și combatere.

Insecta studiată este un coleopter crisomelid din categoria gândacilor de frunze, cu caracter invaziv, care supraviețuiește doar în culturile de porumb unde provoacă pierderi semnificative de producție, mai ales în timpul apariției mătăsii și polenului. Aceasta are o perioadă de activitate extinsă, respectiv din iunie până în septembrie, uneori chiar octombrie, ceea ce atrage un consum semnificativ de mătase, polen și limb foliar.

Prin lucrarea de doctorat ne-am dorit astfel, să aducem în atenție un subiect de actualitate, altul decât cele abordate până în prezent, care tratează variabilitatea fenotipică din populațiile adulte de *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte în condiții bioecologice diverse. Stadiul de dezvoltare studiat este adultul de *Diabrotica*, iar planta de cultură vizată este porumbul (*Zea mais*), sub forma mai multor tipuri de hibrizi.

Majoritatea studiilor existente vizează stadiul larvar al speciei, considerat a fi responsabil de scăderile de producție. Este cunoscut că larvele se hrănesc cu rădăcinile plantelor de porumb și trăiesc doar în sol, capacitatea de mobilitate a speciei în acest stadiu fiind scăzută. Ca atare, se poate menționa că cercetările asupra larvei sunt mai ușor de efectuat, în comparație cu stadiul de adult, care este mobil, acesta din urmă având o capacitate de deplasare mare. Acesta poate să se deplaseze în zbor, pe zeci de km, doar într-un an.

Tema aleasă contribuie la actualizarea informațiilor legate de specia *Diabrotica*, dar nu la un nivel repetitiv cu schimbarea arealului de cercetare, ci la un nivel inedit de abordare (grupe coloristice

tegumentare ale formei adulte, corelații dintre coloritul insectei și hrana ingerată, analize chimice asupra insectei adulte de determinare a unor compuși organici și metaboliți secundari ai plantelor etc).

Motivația alegerii temei

Ca plan inițial de cercetare, am ales să testăm mai mulți hibrizi de porumb (porumbul fiind planta gazdă preferată) pretabili pentru zona de vest și să depistăm legătura dintre atractivitatea insectei spre un anumit hibrid de porumb și indirect imprimarea coloristicii acestuia.

O motivație de bază a fost și abordarea inedită la nivel mondial; un astfel de subiect nu a fost tratat la specia *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte. Și alte aspecte de morfologie dar și analize chimice au fost abordate, bineînțeles, pentru a facilita experimentele esențiale, cauzele variabilității coloristice în populații rămânând în prim plan.

O altă motivație este aceea că insecta luată în studiu este considerată o specie neautohtonă, invazivă pentru Europa și implicit pentru România, cu importanță economică în culturile de porumb, la ora actuală existând puțin prădători sau paraziți care să contribuie la reducerea indivizilor. Recunoașterea morfologică și identificarea plantelor preferate (hibridi de porumb preferați) constituie astfel, abordări esențiale în strategia preventivă de combatere a speciei dăunătoare.

PARTEA I-a: STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Capitolul 1.1. Evoluția cercetărilor realizate asupra speciei *Diabrotica virgifera virgifera* Leconte. Este prezentată evoluția cercetărilor realizate asupra speciei *Diabrotica virgifera* la nivel global, prin prisma scenariilor de extindere dar și al abordărilor evolutive ale cercetărilor la nivelul României (de la prima semnalare până în prezent). De asemenea, aspecte de încadrare legislativă a speciei în categoria organismelor de carantină la nivel European precum și reglementările interne de luare a măsurilor de protecție împotriva introducerii în România, au fost tratate în acest capitol.

Capitolul 1.2. Aspecte de morfologie externă și recunoaștere a speciei. În care se tratează aspecte de morfologie externă și recunoaștere a speciei mai ales a adulților, prin prezentarea comparativă și complementară a studiilor realizate la nivel internațional. Au fost evidențiate posibile confuzii morfologice ale genului *Diabrotica* și aspecte de taxonomie precum și metode de observare și analiză morfologică a adulților genului *Diabrotica*, la nivel generalizat.

Capitolul 1.3. Polimorfismul insectelor. Capitolul tratează polimorfismul insectelor cu exemplificarea la nivel de ordin, deoarece la nivelul speciei, care face obiectul tezei de doctorat (*Diabrotica* v.v.), nu există abordări. Este tratat atât polimorfismul geografic, non-genetic cât și cel genetic. Este tratată colorația la insecte, tipurile de culoare și factorii care influențează culoarea. Tot la acest capitol sunt prezentate structura și dinamica în populațiile de insecte, adaptările morfologice și mecanismele proprii de reglare a efectivului populațional.

PARTEA II-a: CERCETĂRI PROPRII

Partea de cercetări proprii este structurată în capitole de caracterizare a condițiilor de cercetare, metodologie și rezultate proprii.

Capitolul. 2.1. Condiții de desfășurare a cercetării. Sunt detaliate toate aspectele de organizare a loturilor experimentale, de descriere a hibridilor de porumb testați și caracterizare ecologică a zonei de cercetare.

Cercetările propriu-zise, desfășurate pe o perioadă de 3 ani (2016-2018) și o perioadă de 1 an de pre-testare (2015-2016), au fost realizate în zona de vest a României. Elementele esențiale care au constituit baza cercetării au fost: specia artropodă *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte și hibridii de porumb.

Schema de cercetare a inclus 2 abordări: un lot comun (mixt) cu numeroase variante (hibridi de porumb) și mai multe loturi individuale cu hibrizi de porumb diferiți.

Loturile individuale (principale) au fost în număr de 7 și au fost organizate în localități diferite din 2 județe (Arad și Timiș). Fiecare lot experimental a fost instalat într-o localitate în prealabil aleasă. Hibridii de porumb selectați din lotul comun sunt cuprinși în grupe de maturitate diferite, și anume: DKC 3811 (tip extra-timpuriu), SY Respect și SY Zephyr (tip semi-timpuriu), P8523, SY Arioso, SY Irridium (tip timpuriu) și DKC 5276 (tip semi-târziu).

Localitățile în care s-au înființat loturile de cercetare au fost Jimbolia, Sănnicolau Mare, Grabaț, Nerău, Variaș, Felnac și Zăbrani.

O scurtă caracterizare pedo-climatică și floristică a zonei de vest evidențiază că zona este propice dezvoltării culturii porumbului dar și a insectei *Diabrotica*.

Cercetările s-au desfășurat atât în condiții de câmp cât și de laborator.

Au fost utilizate materiale de câmp și materiale de laborator, materiale pentru colectare, capturare, transport, conservare pentru observații morfologice de detaliu, împărțire pe grupe fenotipice și analize chimice.

Materialele utilizate în capturarea și colectarea insectelor adulte de *Diabrotica* au fost cuprinse în cadrul a 4 activități distincte:

-capturarea insectelor prin cuantificare directă pe capcane în vederea stabilirii nivelului populațional și a structurii populației,

-colectarea insectelor capturate pe capcane în vederea studiului morfologic și a grupelor fenotipice,

- colectarea insectelor vii în vederea corelării cu hrana,

-colectarea insectelor vii în vederea analizei chimice și stabilirii polifenolilor și flavonoidelor, substanțe esențiale în pigmentare.

Pentru efectuarea activităților de capturare a insectelor prin cuantificare directă în vederea stabilirii nivelului populațional și a structurii populației cât și pentru colectarea insectelor în vederea studiului morfologic și a grupelor fenotipice au fost utilizate capcane Csalomon PAL.

Pentru a avea un material (probe) intact, fără substanță adezivă în vederea unor studii și analize am recurs la colectare manuală direct din lotul experimental.

Probele supuse analizei chimice (analiza polifenolilor și flavonoidelor prin metode spectrofotometrice) au fost gândaci de *Diabrotica* (forma adultă), colectați în prealabil din fiecare lot experimental reprezentând hibrizi diferiți de porumb. Aceștia au fost recoltați manual în anii 2017 și 2018.

Capitolul. 2.2. Cercetări proprii. Rezultatele cercetărilor care fac obiectul prezentei lucrări de doctorat reflectă nivelul populațional și dinamica în populații, la un moment dat, în loturi cu hibrizi de porumb diferiți, structura în populații, caracteristicile morfologice de diferențiere a indivizilor-adulți, grupele fenotipice în populații, influența tipului de hrană asupra coloristicii adultului, corelații dintre coloritul insectei și hrana ingerată și factorii climatici (temperatură și precipitațiile) precum și analize chimice asupra insectei adulte, de determinare a polifenolilor și flavonoidelor prin metode spectrofotometrice.

2.2.1 Contribuții proprii privind dinamica în populațiile de adulți de *Diabrotica virgifera*

Obiectivul principal al acestui studiu a fost de a evidenția nivelul populațional al adulților de *Diabrotica virgifera* în loturi experimentale cu hibrizi de porumb diferiți, la un moment dat și pentru a stabili dacă există vreă influență a acestora asupra apariției și dezvoltării insectei. În plus, structura sexuală (raportul de sex) a fost de asemenea supusă observațiilor. De asemenea, influența factorilor climatici în dimensiunea populațiilor a fost unul dintre obiectivele acestui studiu major, ca efect al activităților de monitorizare.

Prin aceste cercetări vor fi readuse în atenție aspecte legate de nivelul actual al speciei în populațiile din vestul țării (2 județe cu potențial productiv mare de porumb, care este planta gazdă principală) și certificarea statutului de insectă periculoasă pentru culturile de porumb din partea vestică a țării.

Rezultatele observațiilor efectuate în loturile individuale au arătat că specia invazivă (*Diabrotica virgifera*) este încă prezentă în număr mare, cu diferențe de nivel populațional între hibrizii de porumb testați. În timpul zborului adulților, cel mai mare număr de capturi a fost înregistrat la sfârșitul lunii iulie și începutul lunii august. Prezența mare a adulților în loturile experimentale a fost cumva asociată cu apariția și întreținerea mătăsii și a polenului.

Datele brute înregistrate în urma observațiilor aferente nivelului populațional, în perioada 2015-2017, au fost interpretate statistic. Statisticile descriptive de bază au fost: media, minimul, maximum, quartila inferioară, quartila superioară, varianța, deviația standard și coeficientul de asimetrie. Pentru fiecare variabilă s-au realizat statistici descriptive/an.

2.2.1.1 Rezultate privind nivelul populațional al adulților de *Diabrotica virgifera* în loturile experimentale

O analiză detaliată a probabilităților aproximative prin compararea variantelor între ele, în ceea ce privește nivelul capturilor de indivizi de *Diabrotica* arată că există diferențe statistice semnificative între varianta experimentală DKC 381 și variantele: DKC 5276 ($p=0,000179$) / ($p<0,05$), SY ZEPHYR ($p=0,004900$), SY ARIOSO ($p=0,035339$) și SY RESPECT ($p=0,009108$).

Capturile înregistrate în varianta cu lotul individual DKC 5276 nu au fost semnificativ diferite statistic față de cele înregistrate în hibridii din loturile SY IRRIDIUM și P 8523 ($p=0,134232/p=0,290265$), unde $p>0,05$. Între capturile din SY IRRIDIUM și celelalte variante nu au existat diferențe semnificative statistic, doar raportat la varianta cu hibridul DKC 5276 ($p=0,000066$). Numărul de capturi din SY ARIOSOS și SY RESPECT a fost semnificativ distinct față de DKC 3811 ($p=0,035339/p=0,009108$) și DKC 5276 ($p=0,000038/p=0,000032$), iar cel din P8523 față de DKC 5276 ($p=0,000091$) și SY ZEPHYR ($p=0,033716$).

În concluzie, în anul 2015, hibridul DKC 5276 (tip semi-târziu) a fost cel mai atractiv pentru adulții speciei *Diabrotica*, unde s-a înregistrat cea mai mare valoare (321,00 indivizi). Cei mai puțini adulți au fost înregistrați în lotul cu hibridul SY ZEPHYR, care este de tip extra-timpuriu (22,33 ind.).

Valorile emise prin Testul Duncan evidențiază că între nivelul capturilor de indivizi din variantele/loturile individuale (cu hibridi diferiți de porumb) pot exista sau nu diferențe statistice semnificative. Astfel, există diferențe semnificative ($p<0,05$), între varianta experimentală DKC 3811 și variantele: SY ZEPHYR ($p=0,002131$), (SY ARIOSOS ($p=0,023525$) și SY RESPECT ($p=0,013205$)).

Și în anul 2016, situația a fost similară anului precedent. Hibridul semi-târziu, DKC 5276 fiind puternic atractiv pentru specia *Diabrotica*, în comparație cu hibridul extra-timpuriu SY ZEPHYR care a atras cei mai puțini gândaci.

Datele obținute în anul 2017 evidențiază faptul că există diferențe semnificativ statistice între varianta experimentală DKC 3811 și varianta DKC 5276 ($p=0,00254$ unde $p<0,05$). În lotul cu hibridul DKC 5276, numărul de capturi a prezentat diferențe față de toate variantele analizate, acestea prezentând valori sub pragul de semnificație ($p<0,05$).

Capturile înregistrate în varianta cu lotul individual SY ZEPHYR au fost semnificativ diferite din punct de vedere statistic doar față de cele înregistrate în lotul cu hibridul DKC 5276 ($p=0,000114$). Între capturile din SY IRRIDIUM și P8523 și 2 variante reprezentând DKC 5276 și SY RESPECT, valorile înregistrate s-au situat sub nivelul pragului de semnificație ($p=0,012584/p=0,010439$ la DKC5276 și respectiv $p=0,000034/p=0,017673$ la Sy Respect). Hibridul DKC 5276, care face parte din grupa de maturitate semi-târzie, a atras cei mai mulți gândaci de *Diabrotica*, la polul opus situându-se hibridii semi-timpurii (SY ZEPHYR și SY RESPECT).

Concluziv, hibridii însămânțați mai târziu au atras mai multe insecte decât cei timpurii.

Analiza comparativă între valorile din 2015 și 2017, în lotul cu hibridul DKC 3811 a evidențiat un $p=0,061086$ și faptul că nu au existat diferențe semnificative. În lotul cu DKC 5276 între 2015 și 2016, diferența a fost semnificativă, deoarece $p<0,05$ ($p=0,000062$). În loturile cu hibridii SY ZEPHYR, SY IRRIDIUM, SY ARIOSOS P8523 și SY RESPECT valorile înregistrate au depășit pragul de semnificație, $p>0,5$ ceea ce înseamnă că nu au existat diferențe semnificative între anul 2015 și 2017 ($p=0,601601$, $p=0,724868$, $p=0,756535$, $p=0,653582$ și $p=0,603643$).

Între 2016 și 2017, s-a constatat că în lotul cu hibridul DKC 3811 între cei 2 ani analizați, nu s-au înregistrat diferențe statistice semnificative deoarece $p=0,116848$. De altfel, între indivizii de *Diabrotica* înregistrați în anul 2016 în toate loturile cu hibridi de porumb și cei înregistrați în anul 2017, nu au existat diferențe. Valorile înregistrate în acestea au fost situate peste p ($p>0,5$).

2.2.1.2 Rezultate privind dinamica lunară a adulților de *Diabrotica virgifera* în loturile experimentale.

Analizând rezultatele de dinamică s-a putut observa că în luna august în toți anii studiați valorile au fost distincte, raportat la celelalte luni analizate, numărul de capturi fiind situat la valori maxime. Dinamica populațională a adulților de *Diabrotica virgifera* în loturile experimentale a fost influențată de perioada de activitate a insectei și de fenofaza plantei (porumbului). În primele faze de vegetație, când porumbul a avut între 2 și 6 frunze (sf.mai-înc.iunie), insecta *Diabrotica virgifera virgifera* nu a fost prezentă în cultură, dacă ne referim la hibridii timpurii și extra-timpurii (care predomină în loturile experimentale).

Avansând în vegetație, în fenofaza de 8-14 frunze a porumbului, insecta a fost prezentă la un nivel slab spre mediu (sf. iunie-înc. iulie).

Când apar organele sexuale ale plantei (paniculul și știuletele) se poate spune că activitatea insectei este intensă atingând un nivel maxim al dinamicii de zbor.

Perioada în care insectele adulte au excelat în porumb a fost din iulie până în august, când majoritatea hibridilor au prezentat mătase și polen.

Spre toamnă, în septembrie, în fenofaza de maturitate, insecta a început să descrească atât populațional cât și dpdv al activității.

2.2.1.3 Rezultate privind influența factorilor climatici în dinamica zborului adulților. Temperatura și precipitațiile sunt factori care pot influența nivelul populațional dar și dinamica de zbor a adulților (așa

cum se menționează în majoritatea cazurilor de analiză corelativă). Din cele prezentate, indiferent de scara de evaluare, numărul de capturi nu a fost influențat de precipitații.

O singură specificitate este legată de lunile iunie și septembrie, când nivelul precipitațiilor a fost ridicat iar numărul de capturi de adulți a fost scăzut. Dar aici poate interveni explicația că luna iunie este luna de start a apariției în masă și a colectării indivizilor iar luna septembrie este luna când adulții își reduc zborul, ultimii adulți fiind observați la începutul lunii octombrie.

2.2.1.3 Rezultate privind structura de gen în populațiile de insecte din loturile individuale.

Pentru a determina raportul dintre femele și masculi, formele adulte ale speciei *Diabrotica virgifera virgifera* au fost colectate de pe capcane, după ce în prealabil capcanele au fost introduse în recipiente de plastic și transportate la laborator pentru analizare detaliată.

Raportul dintre femele și masculi în aceste variante experimentale cu diferiți hibridi de porumb a fost de aproximativ 2:1 (F:M). Acest raport a fost observat în toate loturile reprezentând cei șapte hibridi aflați în studiu.

Analizând numărul total de capturi în anul 2016, se constată că acesta a variat de la 7,57 la 169,85%, în favoarea femelelor. Cele mai multe femele au fost observate în lotul experimental cu hibridul DKC 5276, urmat la distanță considerabilă de hibridii DKC 3811, P8523 și SY IRRIDIUM (68,23 / 68,16 și 63,06 % femele). Situația a fost similară și pentru 2017.

2.2.2 Rezultate privind grupele fenotipice în populațiile de adulți de *Diabrotica virgifera*

Pentru a identifica cauzele variabilității fenotipice, au fost efectuate studii morfologice pe mai multe probe colectate din hibridi de porumb diferiți, pe parcursul anului 2017.

Insectele au fost colectate direct din câmp, fie manual fie de pe capcane. O primă abordare a fost de măsurători morfologice și grupare pe categorii a femelelor și masculilor (din rândul indivizilor colectați direct de pe plante).

Metoda de lucru și implicit procedura de lucru au fost adaptate unor metode consacrate altor coleoptere.

2.2.2.1 Rezultate asupra grupelor morfologice din populații

Pentru o interpretare corectă, femelele care au prezentat abdomenul umflat și plin de ouă (observație vizibilă numai pe microscop) au fost eliminate din analiză și măsurători.

Măsurătorile antenei au vizat numai antena dreaptă a fiecărui individ, atât pe setul de masculi cât și pe setul de femele analizate. Toți indivizii analizați au prezentat 11 segmente la fiecare antenă, cu excepția cazului în care au fost rupte accidental.

Rezultatele măsurătorilor morfologice privind lungimea corpului au arătat că în cele mai multe loturi experimentale, femelele au prezentat o lungime mai mare a corpului decât cea a masculilor. Diferența, nu este vizibilă macroscopic, decât atunci când aceasta are abdomenul plin cu ouă.

Valorile indivizilor evaluați au relevat o diferență (la limita minimă) de 0,015 mm. Femelele au variat între 4,385 și 6,80 mm, iar masculii între 4,20 și 6,60 mm. Explicația valorilor mai mici decât cele deja menționate în literatura de specialitate ar fi că numai femele fără ouă au fost analizate. Toate datele brute au fost interpretate statistic.

3.3. Rezultate privind grupele coloristice din populații

În activitățile de monitorizare a acestei specii invazive s-a observat că există confuzii frecvente între femele și masculi dar și între femele și femele sau masculi și masculi. Pentru a stabili cauza, s-au făcut observații asupra legăturii posibile dintre planta gazdă și influența coloristicii acesteia asupra insectei.

Capturarea insectelor a fost făcută direct din culturi folosind capcanele colorate lipicioase și feromonale (Csalomon®), pe parcursul anilor 2016 și 2017.

Observațiile de detaliu asupra coloristicii s-au efectuat la laboratorul disciplinei, folosind un stereomicroscop. Metoda de identificare și împărțire a culorilor pe categorii de culori a fost una adaptată caracteristicilor oferite la un moment dat în literatura de specialitate. Primele elemente analizate s-au bazat pe utilizarea informațiilor privind caracteristicile morfologice deja descrise și stabilirea primei categorii de culoare denumită-categoria standard. Ulterior, celelalte grupe de culoare au fost stabilite prin analiză comparativă.

Rezultatele au arătat că există indivizi care acoperă toate grupele coloristice, în care sunt exprimate procentele în care femelele și masculii din fiecare lot/ hibrid se încadrează într-o grupă sau alta. Femelele au avut o paletă coloristică mai mare decât masculii. Astfel, femelele au fost împărțite în 5 grupe de culori iar masculii în 4 grupe.

Diferența de culoare de fond poate fi vizibilă, între culorile de bază, respectiv între categoria de culoare galbenă și categoria de culoare roșie. De fapt, cele două culori standard ale adulților de *Diabrotica virgifera*, sunt galben cu negru, galben fiind culoarea de fond. Singura culoare schimbată de la un grup la altul a fost cea galbenă.

Pentru fiecare grupă coloristică și categorie analizată (femele sau masculi) s-au realizat tabele de frecvență.

Rezultatele au evidențiat mai multe grupe de culori în raport cu caracteristicile standard descrise în literatură. În toate loturile au predominat femelele care au prezentat mai multe combinații coloristice decât masculii. Paleta de culori a elitrelor (element de bază în coloristică) a variat în loturi. Hibrizii cu maturitate târzie au prezentat mai multe grupe de culoare, în timp ce hibrizii mai timpurii au prezentat mai puține combinații de culori. Cu toate acestea, majoritatea observațiilor (masculi și femele) au evidențiat culorile standard. De asemenea, a existat o corelație între culoarea mătăsii de porumb și culoarea de fond a adulților.

Există diferențe morfologice între gândacii ce au provenit din diferite populații, dar și între gândacii aparținând aceleiași populații. În plus, variația de colorare a întărit faptul că hrana prin culoarea ei poate imprima o nuanță similară culorii de fond a gândacului și acest lucru se datorează faptului că se hrănește intens pe aceleași organe de plantă.

2.2.3. Rezultate privind influența tipului de hrană asupra coloristicii adultului

Pentru a stabili legătura dintre colorarea adulților de *Diabrotica* și imprimarea unei nuanțe asemănătoare cu culoarea organului de plantă ingerat (frunze, mătase galbenă-verzuie și mătase roșiatică), s-a urmărit locul de unde acestea au fost colectate. Din fiecare lot experimental s-au colectat manual câte 50 de indivizi.

Rezultatele obținute, au arătat că hrana, prin culoare poate influența culoarea de fond a adulților de *Diabrotica virgifera virgifera*. Aceasta poate imprima o nuanță specifică insectei care se hrănește intens cu organele de plantă de aceeași nuanță. Compușii chimici imprimă de regulă culoarea unei specii.

Studiile noastre au arătat că apariția formelor morfologice exprimate prin culoarea elitei se datorează în mare parte pigmentilor din planta de porumb. Mătasea de porumb, care este cel mai consumat organ al plantei de către adulții de *Diabrotica*, conține o cantitate considerabilă de vitamine, proteine și carotenoide.

La hibrizii cu maturitate semi-târzie, gândacii analizați au prezentat nuanțe predominant maronii-roșietice față de gândacii care s-au hrănit în loturile cu hibridi mai timpurii, aceștia au avut o culoare preponderentă, galben-verzuie.

De asemenea, a existat o corelație între culoarea mătăsii de porumb și culoarea de fond a gândacilor. O explicație ar fi abundența populațiilor de insecte, în special în perioada de apariție a mătăsii, dar nu se poate exclude atracția lor către acest organ al plantei gazdă și imprimarea pigmentului de culoare la culoarea de fond a insectei (forma adultă).

Femelele au fost observate consumând mai mult mătase. Cele mai multe au fost prezente pe mătase roșiatică (16-26 indivizi/50 indivizi colectați), cu un maxim observat în lotul cu hibridul SY IRRIDIUM. Atracția femelelor spre mătase colorată în roșiatică s-a reflectat și în culoarea roșiatică a culorii corpului și a elitrelor).

În ceea ce privește legătura dintre culoarea țesutului de plantă ingerat și colorarea masculilor, se poate menționa faptul că aceștia au fost observați consumând mai mult frunze.

Puțini masculi au fost observați pe mătasea roșiatică, în comparație cu femelele. În lotul cu hibridul SY ZEPHYR, un număr mare de masculi a fost observat pe frunze (25 indivizi/50 insecte colectate).

Indicatorii statistici de bază, elementele descriptive și frecvența femelelor și masculilor în raport cu variabilele studiate, au fost interpretate de asemenea pentru a certifica rezultatele.

Ierarhizarea preferințelor la femele: mătase roșiatică, mătase galbenă-verzuie, frunze.

Ierarhizarea preferințelor la masculi: frunze, mătase roșiatică, mătase galbenă-verzuie.

2.2.4 Contribuții privind analiza polifenolilor și flavonoidelor prin metode spectrofotometrice

Pentru a stabili dacă există legătură între hrana ingerată de către insecte la un moment dat și culoarea de fond a insectelor, mai exact dacă pigmentarea are cauze chimice, s-au determinat, în baza probelor recoltate în perioada 2017-2018 și conform metodologiei descrise polifenolii și flavonoidele, considerându-se reprezentativi.

La baza studiului au stat considerentele generale existente la nivelul coleopternelor, printre care aceea că insectele pot avea o culoare pigmentară determinată de pigmentii din hrana consumată.

Cele 7 probe au reprezentat extracte din insectele colectate din cele 7 loturi experimentale (respectiv din cei 7 hibrizi) în luna august, când toate organele plantei au fost formate.

Testul Duncan pentru evaluarea probabilităților aproximative a cantității polifenolilor dintre probele analizate a arătat că între probele supuse extracțiilor chimice de polifenoli au existat diferențe statistice semnificative între proba 1 și proba 3/proba 4 ($p=0,014770$, $p=0,016911$) ($p<0,05$). De asemenea au existat diferențe semnificative între proba 3 și proba 5 ($p=0,008563$) și între proba 4 și proba 5 ($p=0,010142$). Între celelalte combinații de probe nu au existat diferențe statistice ($p>0,05$).

S-a constatat că între proba 1 și celelalte probe nu au existat diferențe statistice semnificative, p fiind mai mare de 0,05 ($p>0,05$) ($p=0,465609$, $=0,250059$, $p=0,267471$, $p=0,971528$, $p=0,992265$ și $p=0,146400$). S-au găsit diferențe semnificative doar între proba 2 și proba 7 ($p=0,045618$, unde $p<0,05$).

La insectele analizate, respectiv probele studiate, polifenolii au variat mai mult decât flavonoidele, care nu au prezentat diferențe prea mari între probe.

PARTEA III-a: CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI (SELECTIV)

Insecta *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (viermele vestic al rădăcinilor de porumb) este o specie invazivă pentru culturile de porumb din Europa. În România încă continuă să constituie o problemă majoră pentru cultivatorii de porumb.

Prin lucrarea de față am abordat un subiect într-un mod inedit (nerepetitiv) evidențiind atractivitatea dăunătorului *Diabrotica virgifera* (prin dimensiune și structură populațională la un moment dat) spre un anumit hibrid de porumb.

Aspectele bibliografice necesare abordării tematicii alese au fost în special cele legate de structură și dinamică populațională, morfologie a adultului, polimorfism precum și factorii care influențează culoarea insectelor.

Metodologia utilizată la nivelul populațional a fost în mare parte adaptată sau inedită, pentru aproape toate aspectele abordate (cu excepția dimensiunii și structurii populaționale) unde s-a folosit principiul capturării cu ajutorul capcanelor.

Rezultatele observațiilor de dimensiune în populații au arătat că specia invazivă este încă prezentă în număr mare, cu diferențe de nivel populațional între hibridii de porumb testați.

Hibridii însămânțați mai târziu au atras mai multe insecte decât cei timpurii. Se recomandă astfel pentru zona de vest (sau zonele cu condiții similare), în vederea evitării dezvoltării în exces a populațiilor de *Diabrotica*, să se însămânțeze hibridii târzii. În acest sens, foarte utilă ar fi opțiunea cu hibridul SY ZEPHIR.

În dinamică lunară în fiecare an studiat, nivelul populațional a arătat că există diferențe semnificative între luna iunie și august, iulie și august, august și septembrie.

În luna august în toți anii studiați valorile au fost distincte, raportat la celelalte luni analizate, numărul de capturi fiind situat la valori maxime, ceea ce înseamnă că mătasea apărută mai târziu (caracteristic hibridilor târzii) poate asigura creșterea nivelului populațional.

Raportul dintre femele și masculi în toate variantele experimentale cu diferiți hibridi de porumb a fost de aproximativ 2: 1 (F:M). Deși masculii au fost mai puțini (date brute) în toate fenofazele analizate în perioada 2016-2017, analiza statistică nu a arătat diferențe semnificative.

Rezultatele brute ale măsurătorilor morfologice privind lungimea corpului au relevat o diferență de 0,015 mm. Explicația valorilor mai mici decât cele deja menționate în literatura de specialitate ar fi că numai femele fără ouă au fost analizate.

Femelele au avut o paletă coloristică mai mare decât masculii. Astfel, femelele au fost împărțite în 5 grupe de culori iar masculii în 4 grupe. Paleta de culori a elitrelor (element de bază în coloristică) a variat în loturi. Hibridii cu maturitate târzie au prezentat mai multe grupe de culoare, în timp ce hibridii mai timpurii au prezentat mai puține combinații de culori.

Din observații s-a constatat că hrana, poate influența culoarea de fond a adulților de *Diabrotica virgifera virgifera*. Aceasta poate imprima o nuanță specifică insectei care se hrănește intens cu organele de plantă de aceeași nuanță.

În urma observațiilor, ierarhizarea preferințelor la femele arată astfel: mătase roșietică-mătase galbenă-verzuie, frunze iar la masculi, astfel: frunze, mătase roșietică, mătase galbenă-verzuie.

Abordările noastre (inedite) au arătat că apariția diversității în populații prin culoarea elitrei se datorează în mare parte pigmentilor din planta de porumb. Mătasea de porumb, care este cel mai consumat organ al plantei de către adulții de *Diabrotica*, conține o cantitate considerabilă de vitamine, proteine și carotenoide.

Cu toate acestea, rezultatele determinărilor chimice din probele cu insecte adulte, sunt incerte și s-ar putea spune ca variabilitatea coloristică a acestei specii este probabil determinată de compoziția chimică a plantelor consumate.

PARTEA IV-a: ELEMENTE ORIGINALE

Ideea propriu-zisă care a stat la baza tematicii nu a fost una inspirată, ci a constituit o abordare inedită în mare măsură.

Aspectele de identificare a grupelor fenotipice și influența tipului de hrană asupra coloristicii adultului (care reprezintă de fapt, esența tezei de doctorat) nu avut la bază nici o metodă sau metodologie consacrată. La ora actuală sunt puține informații asupra comportamentului în hrănire sau deloc dacă ne referim la imprimarea coloristicii țesutului consumat în coloristica adultului.

În ceea ce privește evidențierea dinamicii populaționale și structurii în populații a adulților în diferite tipuri de hibrizi de porumb, s-a adaptat o metodologie de evaluare prin utilizarea capcanelor feromonale, menționată în literatură pentru activitățile de monitorizare pentru o anumită zonă (indiferent de hibrid), dar necesar a fi adaptată la condițiile de lot experimental individual cu hibrizi de porumb diferiți.

Rezultatele de structură populațională și dinamică în populații sunt contribuții originale dacă ne referim la nivelul populațional prezent la un moment dat în cei 7 hibrizi de porumb supuși cercetărilor.

Rezultatele privind grupele coloristice din populații sunt de asemenea contribuții originale prin paleta de culori a elitrelor (element de bază în coloristică) rezultată în populațiile de femele și masculi provenind din loturi diverse de porumb.

Elemente de originalitate sunt evidențiate de asemenea prin rezultatele care arată că în mare măsură hrana prin culoarea ei poate imprima o nuanță similară culorii de fond a gândacului dacă acesta se hrănește intens pe aceleași organe de plantă.

Contribuții originale au fost aduse și prin diferențele morfologice dintre gândacii ce au provenit din diferite populații, dar și între gândaci aparținând aceleași populații.

O abordare inedită la nivelul speciei *Diabrotica* a fost asociată cu analizele chimice (extracte din probe cu insecte adulte) cu scopul de a afla dacă există legătură între hrana ingerată de către insecte la un moment dat și culoarea de fond a insectelor, mai exact dacă pigmentarea are cauze chimice.

Bibliografia conține 156 de surse referențiale, inclusiv realizările proprii (publicații, proiecte, referate).

Anexele conțin file suplimentare cu informații statistice tabelare și grafice care prin dimensiunea lor ar fi împiedicat cursivitatea în teza propriu-zisă, acestea au corespondență în textul de bază.

SUMMARY OF THE THESIS

Title of thesis: Evidence of phenotypic variability in adult populations of *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte under various bioecological conditions.

Structure of the thesis:

Summary (Romanian and English)

Introduction

Current stage of knowledge: 26 pages

Own research part: 94 pages

Conclusions and recommendations

Elements of originality

Additional parts:

List of abbreviations

List of papers published as a result of research

Bibliography

Annexes

Tabular elements and graphics

Tables: 58

Figures: 90

Bibliographic sources: 156

Anti-plagiarism report/percent of coefficient of similarity: 0.1%.

INTRODUCTION

Main objective: Identify the cause of the background color variation of adult insects of *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte from various populations through insect-source food interaction.

Specific objectives:

- a) highlighting the population dynamics of adults in different types of maize hybrids
- b) establishing the sexual structure in the population
- c) identification of phenotypic (morphological and coloristic) groups in diverse populations
- d) the influence of the type of food on the color of the adult
- e) analysis of polyphenols and flavonoids in adult insects body by spectrophotometric methods of quantitative determination of polyphenols and flavonoids

The importance and actuality of the topic

The species *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte, popularly known as the "western corn rootworm", has been the subject of numerous publications since 1992, since it was reported in Europe. Although it is still at the installation level in Europe, it continues to be studied through many aspects, particularly on monitoring and control.

The studied insect is an invasive chrysomelid species, which survives only in corn cultures where it produces significant production losses, especially during the appearance of silk and pollen. It has an extended period of activity, from June to September, sometimes even October, which attracts significant damage on silk, pollen and foliage.

Through the doctoral thesis we wanted to bring in attention a current topic other than those addressed so far, which treats the phenotypic variability of the adult populations of *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte under various bioecological conditions. The developmental stage studied is the adult of *Diabrotica*, and the target crop plant is corn (*Zea mais*), under the form of several types of hybrids.

Most existing studies address the larval stage of the species, considered to be responsible for the production losses. It is known that larvae feed on the roots of corn plants and live only in the soil, with the mobility capacity of the species at this stage being low. As such, it can be mentioned that research on the larvae is easier to perform, compared to the adult stage, which is mobile, the adult having a high moving capacity. It can move in flight, tens of kilometers, in just one year.

The chosen theme contributes to the updating of the *Diabrotica* species, but not to a repetitive level with just the change of the research area, but to a new level of approach (coloring groups of the adult form, correlations between insect color and ingested food, chemical analysis on the insect adult determination of organic compounds and secondary metabolites of plants etc).

Motivation of choosing the theme

As an initial research plan, we chose to test more maize hybrids (maize being the preferred host plant) suitable for the West part of Romania, and to detect the link between the insect's attractiveness to a particular corn hybrid and the indirect printing of its color.

A main motivation was also the new approach; such a subject has not been treated in the species *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte. Other aspects of morphology as well as chemical analyzes have been approached, of course, to facilitate essential experiments, and the causes of coloristic variability in populations remain at the forefront.

Another reason is that the studied insect is considered a non-autochthonous species, invasive for Europe and implicitly for Romania, with economic importance in maize crops, at present there are few predators or parasites that contribute to the reduction of individuals. Morphological recognition and identification of preferred plants (preferred maize hybrids) are thus essential approaches in the preventive strategy for control the pest species.

PART I: THE STATE OF KNOWLEDGE

Chapter 1.1. Evolution of research on the species *Diabrotica virgifera virgifera* Leconte. The evolution of research on *Diabrotica virgifera* at global level is presented in terms of expansion scenarios and evolutionary approaches of research at Romania level (from the first signaling to present). Also, aspects of legislative framing of the species in the category of quarantine organisms at the European level as well as the internal regulations of taking measures of protection against introduction into Romania, have been treated with in this chapter.

Chapter 1.2. Aspects of external morphology and species recognition. In which are treated with aspects of external morphology and recognition of the particular species of adults, through the comparative and complementary presentation of the studies at the international level. Possible morphological confusions of the *Diabrotica* genus and aspects of taxonomy as well as methods of observation and morphological analysis of adults of the genus *Diabrotica* have been highlighted at a generalized level.

Chapter 1.3. Insect polymorphism. The chapter deals with insect polymorphism with exemplification at order level, because at the species level, which is the subject of the doctoral thesis (*Diabrotica* v.v.), there are no approaches. Both geographic, non-genetic and genetic polymorphisms are treated. Insect coloring, color types, and color-affecting factors are treated. Also in this chapter are presented the structure and dynamics in insect populations, the morphological adaptations and the own mechanisms of regulation of population.

PART II: OWN RESEARCH

The part of its own research is structured in chapters to characterize its research conditions, methodology and its own results.

Chapter. 2.1. Conditions for performed research. All aspects of organizing the experimental lots, describing the maize hybrids tested and the ecological characterization of the research area are detailed.

The actual researches, conducted over a period of 3 years (2016-2018) and 1 year of pre-testing (2015-2016), were carried out in the western part of Romania. The key elements of the research were: *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte arthropod species and maize hybrids.

The research scheme included two approaches: a mixed (mixed) lot with many variants (maize hybrids) and several individual lots with different corn hybrids.

The individual (main) lots were in number 7 and were organized in different localities in 2 counties (Arad and Timis). Each experimental lot was installed in a previously chosen locality. Selected maize hybrids from the common lot are comprised of different maturity groups, namely: DKC 3811 (extra-early type), SY Respect and SY Zephyr (semi-early type), P8523, SY Arioso, SY Irridium and DKC 5276 (semi-late type).

The localities where the research lots were set up were Jimbolia, Sănnicolau Mare, Grabat, Nerău, Variaș, Felnac and Zăbrani.

A brief pedo-climatic and floristic characterization of the western area reveals that the area is conducive to the development of corn and *Diabrotica* insects.

Research has been conducted both in field and laboratory conditions.

Field materials and laboratory materials, materials for collection, capture, transport, conservation for detailed morphological observations, phenotypic grouping, and chemical analysis were used.

The materials used to capture and collect *Diabrotica* adult insects were included in four distinct activities:

-catching insects by direct trapping in order to determine the population level and population structure,

- collecting trapped insects for morphological study and phenotypic groups,

- collecting live insects for correlation with food,

-the collection of live insects for chemical analysis and the establishment of polyphenols and flavonoids, essential pigmentary substances.

The Csalomon PAL traps were used to perform insect catching activities by direct quantification to determine the population level and population structure and to collect insects for morphological study and phenotypic groups.

In order to have an intact material (s) without adhesive, for studies and analyzes, we have recourse to manual collection directly from the experimental lot.

Samples subjected to chemical analysis (polyphenols and flavonoids analysis by spectrophotometric methods) were *Diabrotica* (adult form) beetles, previously collected from each experimental lot representing different maize hybrids. These were harvested manually in the years 2017 and 2018.

Chapter. 2.2. Own research. The research results of the present PhD thesis reflect the population and dynamics in populations at a time in lots with different corn hybrids, structure in populations, morphological characteristics of differentiation of adult individuals, phenotypic groups in populations, type influence feeding on the color of the adult, correlations between insect color and ingested food and climatic factors (temperature and precipitation) as well as chemical analysis on the adult insect, for the determination of polyphenols and flavonoids by spectrophotometric methods.

2.2.1 Own contributions to dynamics in adult populations of *Diabrotica virgifera*

The main objective of this study was to highlight the adult population of *Diabrotica virgifera* in experimental lots with different corn hybrids at a given time and to determine if there is any influence on the appearance and development of the insect. In addition, the sexual structure (sex ratio) was also subject to observations. Also, the influence of climatic factors on population size was one of the objectives of this major study, as a result of monitoring activities.

Through these researches, attention will be paid to issues related to the current species level in Western insect populations (2 counties with high production potential of maize, which is the main host plant) and certification of the dangerous insect status for maize crops in the western part of the country.

The results of the observations made in the individual lots showed that the invasive species (*Diabrotica virgifera*) is still present in large numbers, with population differences between maize hybrids tested. During the adult flight, the largest number of catches was recorded at the end of July and early August. The large presence of adults in the experimental groups was somehow associated with the appearance and maintenance of silk and pollen.

Gross data recorded as a result of population-level observations during the period 2015-2017 were statistically interpreted. The base descriptive statistics were: average, minimum, maximum, inferior quartile, upper quartile, variance, standard deviation, and asymmetry coefficient. For each variable, descriptive statistics/year, were made.

2.2.1.1 Results on the population level of adults of *Diabrotica virgifera* in the experimental lots.

A detailed analysis of the approximate probabilities by comparing variants between them in terms of the catches of individuals of *Diabrotica* shows that there are statistically significant differences between the experimental variant DKC 381 and the variants: DKC 5276 ($p = 0.000179$) / ($p < 0.05$), SY ZEPHYR ($p = 0.004900$), SY ARIOSO ($p = 0.035339$), and SY RESPECT ($p = 0.009108$).

The catches recorded in the DKC 5276 individual lot were not statistically significantly different from those recorded in the hybrids in the groups SY IRRIDIUM and P 8523 ($p = 0.134232$ / $p = 0.290265$), where $p > 0.05$. There were no statistically significant differences between the catches in SY IRRIDIUM and the other variants, compared to the hybrid variant DKC 5276 ($p = 0.000066$). The number of catches in SY ARIOSO and SY RESPECT was significantly different from DKC 381 ($p = 0.035339$ / $p = 0.009108$) and DKC 5276 ($p = 0.000038$ / $p = 0.000032$) P8523 versus DKC 5276 ($p = 0.000091$) and SY ZEPHYR ($p = 0.033716$).

In conclusion, in 2015, the DKC 5276 (semi-late type) hybrid was the most attractive for adults of the *Diabrotica* species, where the highest value (321.00 individuals) was recorded. The smallest adults were recorded in the hybrid SY ZEPHYR, which is of the extra-early type (22.33 ind.).

Duncan test values show that there may or may not be statistically significant differences between catches of individuals in individual variants/ lots (with different maize hybrids). Thus, there are significant differences ($p < 0.05$) between experimental variant DKC 3811 and the variants: SY ZEPHYR ($p = 0.002131$), SY SYIOSO ($p = 0.023525$) and SY RESPECT).

And in 2016, the situation was similar to the previous year. The semi-late hybrid, DKC 5276 being highly attractive to the *Diabrotica* species, compared to the extra-early hybrid SY ZEPHYR which attracted the fewest beetles.

The data obtained in 2017 show that there are statistically significant differences between experimental variant DKC 3811 and DKC variant 5276 ($p = 0.00254$ where $p < 0.05$). In the hybrid lot DKC 5276, the number of catches showed differences from all the analyzed variants, which showed values below the significance threshold ($p < 0.05$).

The catches recorded in the variant with the individual lot SY ZEPHYR were statistically significantly different from those recorded in the hybrid lot DKC 5276 ($p = 0.000114$). Between the catches in SY IRRIDIUM and P8523 and two variants representing DKC 5276 and SY RESPECT, the recorded values were below the significance threshold ($p = 0.012584$ / $p = 0.010439$ at DKC5276 and $p = 0.000034$ / $p = 0.017673$ to Sy Respect). The hybrid DKC 5276, which is part of the semi-late maturity lot, attracted most of the *Diabrotica* beetles, with the semi-early hybrid hybrids (SY ZEPHIR and SY RESPECT) at the opposite end.

Conclusively, hybrids sown later attracted more insects than the early ones.

The comparative analysis between the 2015 and 2017 values in the hybrid lot DKC 3811 revealed a $p = 0.061086$ and the fact that there were no significant differences. In the DKC 5276 lot between 2015 and 2016, the difference was significant because $p < 0.05$ ($p = 0.000062$). In the hybrid SY ZEPHYR, SY IRRIDIUM, SY ARIOSO, P8523 and SY RESPECT hybrids, the values recorded exceeded the significance threshold, $p > 0.5$, meaning that there were no significant differences between 2015 and 2017 ($p = 0.601601$, $p = 0.724868$, $p = 0.756535$, $p = 0.653582$ and $p = 0.603643$).

Between 2016 and 2017, it was found that in the lot with the DKC 3811 hybrid, between the two analyzed years, there were no statistically significant differences because $p = 0.116848$. In fact, between the *Diabrotica* individuals registered in 2016 in all maize hybrids and those registered in 2017, there were no differences. Their values were above $p > 0.5$.

2.2.1.2 Results on the monthly dynamics of adults of *Diabrotica virgifera* in the experimental lots.

Analyzing the results of the dynamics it was observed that in August all the studied years the values were distinct, in relation to the other analyzed months, the number of catches being at maximum values. Population dynamics of adults of *Diabrotica virgifera* in experimental groups was influenced by insect activity and plant phenophase (maize). In the early stages of vegetation, when corn had between 2 and 6 leaves, the *Diabrotica virgifera virgifera* insect was not present in culture if we refer to early and extra early hybrids (which predominate in experimental lots).

Advancing in the vegetation, in the 8-14 leaf of corn, the insect was present at a low to medium level (end of June - July).

When the sexual organs of the plant (panicle and ear) appear, it can be said that the activity of the insect is intense reaching a maximum level of flight dynamics.

The period when adult insects excelled in maize was from July to August, when most hybrids presented silk and pollen.

Towards autumn, in September, in the maturity phenophase, the insect began to decrease both population and activity.

2.2.1.3 Results on the influence of climatic factors on the flight dynamics of adults.

Temperature and precipitation are factors that can influence the population level but also the flight dynamics of adults (as mentioned in most cases of correlation analysis). Of the above, irrespective of the evaluation scale, the number of catches was not influenced by precipitation.

One specificity is related to June and September, when precipitation levels were high and the number of adult catches was low. But here is the explanation that June is the starting month for mass appearances and the collection of individuals, and September is the month when adults decrease their flight, the last adults being seen in early October.

2.2.1.3 Results on gender structure in insect populations in individual lots.

In order to determine the ratio between females and males, the adult forms of *Diabrotica virgifera virgifera* were collected

from traps after were previously placed in plastic containers and transported to the laboratory for detailed analysis.

The ratio of females to males in these experimental variants with different maize hybrids was approximately 2:1 (F: M); this report was observed in all lots representing the seven hybrids under study.

Analyzing the total number of catches in 2016, it is found that it varied from 7.57 to 169.85%, in favor of females. Most females were observed in the experimental lot with the hybrid DKC 5276, followed at a considerable distance by the hybrids DKC 3811, P8523 and SY IRRIDIUM (68.23/ 68.16 and 63.06% females). The situation was similar for 2017.

2.2.2 Results on phenotypic groups in adult populations of *Diabrotica virgifera*

In order to identify the causes of phenotypic variability, morphological studies were carried out on several samples collected from different maize hybrids during the year 2017.

Insects were collected directly from the field, either manually or from traps. A first approach was morphological measurements and grouping of females and males (among individuals collected directly from plants).

The working method and implicitly the working procedure have been adapted to methods for other coleopteran.

2.2.2.1 Results on morphological groups in populations

For an accurate interpretation, females who showed the swollen and egg-shaped abdomen (visible only on a microscope) were removed from the analysis and measurements.

The antenna measurements only focused on the individual antenna of each individual, both on the set of males and on the set of females analyzed. All analyzed individuals presented 11 segments on each antenna, unless they were accidentally broken.

The results of morphological measurements of body length showed that in most experimental lots, females showed a longer body length than males. The difference is not visible macroscopically, except when the abdomen is full of eggs.

The values of the evaluated individuals revealed a difference (at the minimum limit) of 0.015 mm. Females varied between 4.385 and 6.80 mm and males between 4.20 and 6.60 mm. Explanation of lower values than those already mentioned in the literature would be that only non-egg females were analyzed. All gross data has been statistically interpreted.

3.3. Results on color groups in populations

In the monitoring activities of this invasive species, it has been observed that there is frequent confusion between females and males but also between females and females or males and males. To establish the cause, observations were made on the possible link between the host plant and the influence of its coloring on the insect.

Insect catching was done directly from crops using sticky and pheromone colored traps (Csalomon®) during 2016 and 2017.

The detail observations on the coloristic were performed at the laboratory of the discipline using a stereomicroscope. The method of identifying and dividing colors by color categories was one adapted to the characteristics offered at one time in the literature. The first elements analyzed were based on the use of information on the morphological characteristics already described and the establishment of the first category of color called the standard category. Subsequently, the other color groups were determined by comparative analysis.

The results showed that there are individuals covering all color groups, in which are expressed the percentages in which the females and males in each lot/hybrid fall into one group or another. Females had a larger color palette than males. Thus, the females were divided into 5 groups of males and the males in 4 groups.

The background color difference can be seen between the base colors, respectively, between the yellow category and the red color category. In fact, the two standard colors of adults of *Diabrotica virgifera*, are yellow with black, yellow being the background color. The only color changed from one group to another was the yellow color.

For each color group and analyzed category (females or males), frequency tables were created.

The results highlighted several groups of colors in relation to the standard features described in the literature. In all groups, females that had more coloristic combinations than males predominated. The color palette of the elytra (basic element in color) varied in lots. Late mature hybrids presented several color groups, while earlier hybrids exhibited fewer color combinations. However, most observations

(males and females) highlighted standard colors. There was also a correlation between the color of corn silk and the background color of adults.

There are morphological differences between beetles from different populations, but also among beetles belonging to the same populations. In addition, the color variation has pointed the fact that the food through its color can imprint a shade similar to the background color of the beetle, and this is because it feeds intensely on the same plant organs.

2.2.3. Results on the influence of the type of food on adult coloring

In order to establish the connection between adult's coloring of *Diabrotica* and the printing of a similar color to the color of the ingested plant organ (leaves, yellow-green silk and reddish silk), the place where they were collected was followed. From each experimental lot, 50 individuals were collected manually.

The results obtained showed that food by color can influence the background color of adults of *Diabrotica virgifera virgifera*. It can imprint a shade specific to the insect that feeds intensely on plant organs of the same shade. Chemical compounds usually print the color of a species.

Our studies have shown that the appearance of morphological forms expressed by the color of the elytra is largely due to pigments in the corn plant. Corn silk, which is the most consumed organ of the plant by adults of *Diabrotica*, contains a considerable amount of vitamins, proteins and carotenoids.

In semi-late mature hybrids, the analyzed beetles showed predominantly reddish-brown shades over the beetles fed in early hybrids, they had a predominant yellowish-green color.

There was also a correlation between the color of the corn silk and the background color of the beetles. An explanation would be the abundance of insect populations, especially during the period of silk emergence, but it cannot be excluded their attraction to this organ of the host plant and the color pigment printing to the background color of the insect (adult form).

Females were observed consuming more silk. Most were present on reddish silk (16-26 individuals/50 collected individuals), with a peak observed in the SY IRRIDIUM hybrid lot. The attraction of females to silk colored in reddish was also reflected in the red color of body color and elytra.

Regarding the relationship between the color of the ingested plant tissue and the coloring of the males, it can be mentioned that they were observed consuming more leaves.

Few males have been seen on reddish silk compared to females. In the SY ZEPHYR hybrid lot, a large number of males were observed on the leaves (25 individuals/ 50 collected insects).

Basic statistical indicators, descriptive elements and female and male frequency versus variables studied were also interpreted to certify the results.

Hierarchy of preferences in females: red silk, yellow-green silk, leaves.

Prioritization of preferences in males: leaves, red silk, yellow-green silk.

2.2.4 Contributions to the analysis of polyphenols and flavonoids by spectrophotometric methods

In order to determine whether there is a link between the ingested food by the insects at one time and the background color of the insects, more precisely if the pigmentation has chemical causes, the polyphenols and flavonoids, considered representative.

The basis of the study was the general considerations of the coleoptera, including that the insects may have a pigmentary color determined by the pigments in the consumed food.

The 7 samples were extracted from the insects collected from the 7 experimental plots (respectively from the 7 hybrids) in August, when all organs of the plant were formed.

The Duncan test for estimating the approximate probability of polyphenols between the samples analyzed showed that there were statistically significant differences between samples 1 and sample 3/ sample 4 ($p = 0.014770$, $p = 0.016911$) between the samples subjected to chemical polyphenol extractions (<0.05). There were also significant differences between sample 3 and sample 5 ($p = 0.008563$) and between sample 4 and sample 5 ($p = 0.010142$). There were no statistical differences between the other combinations of samples ($p > 0.05$).

It was found that there were no statistically significant differences between sample 1 and the other samples, p being greater than 0.05 ($p > 0.05$) ($p = 0.465609$, $p = 0.250059$, $p = 0.267471$, $p = 0.971528$, $p = 0.992265$ and $p = 0.146400$). Significant differences were found only between sample 2 and sample 7 ($p = 0.045618$, where $p < 0.05$).

In the analyzed insects, respectively the studied samples, the polyphenols varied more than the flavonoids, which did not show too large differences between the samples.

PART III: CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS (SELECTIVE)

The *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (western corn rootworm) is an invasive species for corn crops in Europe. In Romania, it continues to be a major problem for maize growers.

Through this thesis it was approached a subject in a novel way (unrepeatable) highlighting the attractiveness of the *Diabrotica virgifera* pest (by size and population structure at a given time) towards a certain corn hybrid.

The bibliographic aspects necessary for approaching the chosen theme were mainly those related to population structure and dynamics, adult morphology, polymorphism as well as factors influencing the color of insects.

The methodology used at the population level was largely adapted or new for almost all aspects (except for the size and population structure) where the trapping principle was used.

The results of size observations in populations have shown that the invasive species is still present in large numbers, with population differences between maize hybrids tested.

Sow hybrids later attracted more insects than the early ones. It is therefore recommended for the western area (or areas with similar conditions), in order to avoid the excessive development of the populations of *Diabrotica*, sowing late hybrids. In this sense, the SY ZEPHIR hybrid would be very useful.

In the monthly dynamics of each studied year, the population level showed that there are significant differences between June and August, July and August, August and September.

In August, in all the years studied, the values were distinct, compared to the other months analyzed, the number of catches being at maximum values, which means that later silk (characteristic of the late hybrids) can ensure population growth.

The ratio between females and males in all experimental variants with different maize hybrids was approximately 2:1 (F: M); although, the males were fewer (gross data) in all the phenophases analyzed (between 2016 and 2017), the statistical analysis did not show significant differences.

The gross results of morphological measurements on body length revealed a difference of 0.015 mm. Explanation of lower values than those already mentioned in the literature would be that only non-egg females were analyzed.

Females had a larger color palette than males. The color palette of the elytra (basic element in color) varied in lots.

From the observations it was found that food can influence the background color of adult beetles. It can imprint a shade specific to the insect that feeds intensely on plant organs.

Following the observations, the hierarchy of preferences in females is as follows: silk-yellow silk-green silk, leaves and in males, as follows: leaves, red silk, yellow-green silk.

The emergence of diversity in coloristic populations is largely due to the pigments in the corn plant. Corn silk, which is the most consumed organ of the plant by adults of *Diabrotica*, contains vitamins, proteins and carotenoids.

The results of chemical determinations in adult insect samples are uncertain and one could say that the color variation of this species is probably determined by the chemical composition of the plants consumed.

PART IV: ORIGINAL ELEMENTS

The own idea as a hole behind the subject was not an inspired one, but a very novel approach.

Aspects of identifying phenotypic groups and the influence of the type of food on adult coloring (which in fact is the essence of the doctoral thesis) were not based on any established method or methodology. At present there is few information (of our knowledge) on feeding behavior or not at all if we are referring to printing the color of the tissue consumed in the adult coloring.

With regard to highlighting population dynamics and adult populations in different maize hybrids, an assessment methodology has been adapted using pheromone traps, referred to in the literature for monitoring activities for a particular area (regardless of hybrid), but necessary to be adapted to individual experimental lot conditions with different corn hybrids.

Population structure and dynamic population outcomes are original contributions if we refer to the population level currently present in the seven maize hybrids under observations.

The results for the coloring groups in the populations are also original contributions through the color palette resulting from the populations of females and males from different lots of maize.

Elements of originality are also highlighted by the results that show that, to a large extent, the food through its color can imprint a shade color similar to the background color of the beetle.

Original contributions were also brought about by the morphological differences between beetles from different populations, as well as between beetles belonging to the same populations.

A novel approach to the species of *Diabrotica* was associated with chemical analyzes (extracts from samples of adult insects) to find out whether there is a link between ingested food by insects.

The bibliography contains 156 reference sources, including own achievements (publications, projects, papers).

The annexes contain additional points with tabular and graphical statistical information that by their size would have reduced the cursively in the actual thesis, they have correspondence in the basic text.