

# DNA-Barcoding von Schmetterlingen Österreichs – vom nationalen Fokus zur Internationalität

Peter HUEMER & Gerhard TARMANN

Aktuell liegen aus Österreich bereits 10.000 Barcode Sequenzen (COI-Gen) von ca. 2.700 Schmetterlingsarten vor. Diese genetischen Daten wurden seit 2011 im Rahmen der iBOL (International Barcode of Life) Kampagne „Lepidoptera of the Alps“ ermittelt, zuletzt auch im Rahmen des Projektes ABOL. Über die globale Datenbank BOLD, zusammen mit weiteren umfassenden nationalen Barcode-Initiativen, erlauben diese Daten bereits überregionale genetische Vergleiche österreichischer mit anderen Lepidoptera-Faunen. Geographisch korrelierbare Divergenz, synonymierelevante Barcodeübereinstimmung und faunistische Ergebnisse im internationalen Kontext werden beispielhaft gezeigt.

**HUEMER P. & TARMANN G., 2016: DNA barcoding Austrian butterflies and moths – from a national focus to internationality.**

Currently the global database BOLD already contains 10,000 barcode sequences (COI gene) from Austrian Lepidoptera, covering about 2700 species of butterflies and moths. These genetic data were obtained since 2011 within the framework of iBOL (International Barcode of Life) and the campaign „Lepidoptera of the Alps“, supported by the project ABOL. In the context of other comprehensive national barcode initiatives on BOLD, the data already enable an international genetic comparison of Austrian Lepidoptera with other countries. We give some examples of geographically correlated divergence, barcode-sharing suggesting synonymy and faunistic results in this international context.

**Keywords:** Lepidoptera, DNA barcoding, Austria, geographic divergence, faunistics.

## Einleitung

Im Rahmen der vom Bundesministerium für Wissenschaft, Forschung und Wirtschaft geförderten Austrian Barcode of Life Initiative (ABOL) werden in einer ersten initialen Anstoßphase von 2014–2017 vier Tiergruppen mittels DNA-Barcode genetisch erfasst, darunter die Schmetterlinge als Teil der megadiversen Insekten. Diese Ordnung ist in Österreich mit mehr als 4.000 Arten vertreten und eignet sich nach bisherigen Kenntnissen besonders gut als Modellgruppe für eine genetische Artabgrenzung. DNA-Barcodes, das sind Sequenzen einer Standardregion des mitochondrialen Cytochrom C-Oxidase Gens, ermöglichen bei gut 95 % der Schmetterlingsarten eine zweifelsfreie Identifikation der Arten. Die Methode des DNA-Barcodings hat daher in den letzten Jahren in der Lepidopterologie eine breite Akzeptanz gefunden und wird zunehmend auch im Bereich der integrativ orientierten Taxonomie angewendet (KAILA et al. 2015, KIRICHENKO et al. 2015).

Für die erste Projektphase von ABOL wurden gerade für Schmetterlinge höchst ambitionierte Zielvorgaben definiert, die etwa 9.000–10.000 Barcodes von ca. 2.500 Arten umfassen sollen. Vor allem dank zahlreicher projektbezogener und zu einem erheblichen Teil drittmittelfinanzierter Initiativen konnte dieses Ziel tatsächlich bereits im Sommer 2016 erreicht werden. Der Anteil der über ABOL generierten Daten ist mit etwa 3.000 Barcodes demgegenüber bescheidener. Das finale Ziel im Rahmen des ABOL Hauptprojektes von vier möglichst geographisch gestreuten Barcodes pro Art soll letztlich zumindest 3.500 Arten und wenigstens 14.000 Barcodes inkludieren.

Wesentliche Voraussetzung für eine sinnvolle Interpretation der ermittelten DNA-Barcodes ist einerseits ein ausreichender Datenstand zur innerartlichen Variationsbreite und andererseits umfassende Kenntnis zwischenartlicher Divergenzen (barcode gap). Dank einer aktiven Barcoding-Community, gerade im Bereich der Lepidopterologie, wurde hier im Rahmen zahlreicher internationaler, nationaler und regionaler Initiativen bereits eine substantielle Basis geschaffen. Die öffentlich zugängliche Referenzdatenbank BOLD (Barcode of Life Data Systems – <http://www.boldsystems.org/>) (RATNASINGHAM & HEBERT 2007), umfasst aktuell bereits fast 5 Mio. Barcodes von ca. 500.000 Arten, darunter ein besonders großer Anteil von Schmetterlingsbarcodes. Insgesamt liegen bereits von mehr als 100.000 Schmetterlingsarten Barcodes vor (<http://www.lepbarcoding.org/>) vor. Erst die Nutzung dieses Datensatzes ermöglicht den Blick über den nationalen Tellerrand und trägt somit zum Verständnis österreichischer Barcodedaten im überregionalen Kontext bei.

## Material

Insgesamt wurden aus Österreich bisher (Stand 1.6.2016) 10.515 Individuen aus 2.761 Arten untersucht. Das Material stammt größtenteils aus den Naturwissenschaftlichen Sammlungen der Tiroler Landesmuseen (7.236 Individuen) und weiteren Institutionen, wie insbesondere dem Landesmuseum Kärnten (1.553 Proben), der inatura Erlebnis Naturschau Dornbirn (874) sowie aus etlichen privaten Sammlungen, allen voran die von Peter BUCHNER. Der Rest kommt aus öffentlich zugänglichen Daten in BOLD, überwiegend aus der Zoologischen Staatssammlung München sowie aus GenBank.

Das Belegmaterial stammt schwerpunktmäßig aus rezenten Aufsammlungen der letzten fünf bis sechs Jahre, zu einem geringen Teil auch aus älteren Sammlungsbeständen. Sämtliche Tiere wurden etikettiert, georeferenziert und im Programm BioOffice digitalisiert sowie nach den Vorgaben von BOLD photographisch dokumentiert. Von den Belegtieren wurden Gewebeproben (Bein oder Teil eines Beines) entnommen und auf Standardplatten von jeweils 95 Proben verteilt sowie für die weiteren Arbeitsschritte an das Canadian Center for DNA Barcoding (CCDB) der Universität Guelph (Ontario, Kanada) versendet. Detaildaten zum Material, einschließlich der ermittelten Sequenzen finden sich im Datensatz DS-LEALPSAT Lepidoptera of the Alps - Austria in BOLD.

## Ergebnisse – der Blick über die Grenzen

Die genetischen Untersuchungen führten bei exakt 10.000 Proben zu einer CO1 Sequenz, davon sind 9.484 barcodekonform und erfüllen die von BOLD vorgegebenen Standards. Die Artabdeckung ist mit Barcodes von 2.717 Arten ähnlich gut. Somit weist Österreich bereits eine beachtliche Abdeckung des Artenbestandes auf, was bereits fundierte Auswertungen möglich macht.

Eine erste umfassende Studie, die wesentlich auf österreichischem und finnischem Material beruht, kommt zu dem Schluss, dass von 1004 gemeinsamen Arten des Datensatzes 880 Arten trotz großer geographischer Distanzen eine geringe Divergenz von weniger als 2% aufweisen. Immerhin 124 Arten sind jedoch mit einer innerartlichen Distanz von >2% zwischen diesen beiden Regionen unterschieden. Trotzdem konnten 98,8% des Artenbestandes anhand diagnostischer Barcodes zweifelsfrei zugeordnet werden (HUEMER et al. 2014). Die möglichen Fälle geographisch korrelierter kryptischer Diversität zwischen

Finnland und Österreich lassen sich am Datenstock sehr leicht eingrenzen und können in weiterer Folge mit einem integrativen Ansatz näher verfolgt werden. Überregionales DNA-Barcoding in Kombination mit einer international bespielten Datenbank zeigt gerade hier besondere Stärke, denn bislang war es in artenreichen Gruppen de facto undurchführbar, konsequent Material aus verschiedensten Regionen zu vergleichen. Der enorme Arbeitsaufwand der Organisation und zumeist morphologischen Untersuchung von Vergleichsproben war daher vor allem Monographien und Revisionen kleiner Gruppen vorbehalten. Durch die Nutzung der Datenbank BOLD ist der uneingeschränkte Vergleich genetischer Daten selbst in globaler Hinsicht möglich. Die Vorteile liegen auf der Hand. Die Barcode-Vergleiche erlauben ein Screening möglicher kritischer Fälle und in einem weiteren Schritt deren Analyse. Dies ist bei Schmetterlingen ansatzweise bereits geschehen und zeugt vom enormen Potential des globalen Ansatzes.

## Geographische korrelierte Divergenzen

Innerartliche Barcode Splits deuten einerseits auf mögliche kryptische Vielfalt und basieren somit auf einer artifiziiellen innerartlichen Divergenz, andererseits können sie auch auf andere Ursachen wie phylogeographische Muster, Introgression oder *Wolbachia*-Infektion zurückgehen (HURST & JIGGINS 2005, SIMONSEN & HUEMER 2014). Geographisch korrelierbare Divergenzen sind hier logischerweise nur über den Vergleich eines größeren, regional diversifizierten Datensatzes zu bewerten. Die geplante umfassende Analyse der österreichischen Fauna mittels DNA-Barcoding wird in diesem Kontext ohne Zweifel dazu beitragen, zukünftige Artbestimmungen auf eine solidere Basis zu stellen. Eine vergleichende Analyse der Fauna Südtirols und Tirols hat beispielsweise bereits ergeben, dass etwa 50 von 1500 untersuchten Arten nördlich und südlich des Alpenhauptkammes unterschiedlich clustern (HUEMER & HEBERT 2016). Teilweise handelt es sich nach heutigen Kenntnissen um kryptische Arten (KIRICHENKO et al. 2015), die meisten fraglichen Fälle sind aber noch unbearbeitet. Stärker und länger isolierte Populationen wie beispielsweise arkoalpine Arten zeigen vielfach bereits derartig signifikante Divergenzen, dass in vielen Fällen eine Konspezifität zweifelhaft ist. So weist mehr als die Hälfte angeblich identer Arten diese Verbreitungstyps in den Alpen und Nordamerika Divergenzunterschiede von >2% im Barcode auf (MUTANEN et al. 2012). Dass bei dieser Methode allopatrisch verbreitete Taxa ohne Divergenzen nicht erfasst werden können liegt auf der Hand, hier setzen jedoch bereits weitere Methoden des Next Generation Sequencing an.

## Barcode-Sharing – unerkannte Synonymien

Identische Barcodes (=Barcode-Sharing) deuten üblicherweise auf evolutiv junge Arten, oder auch auf Hybridisierung und Introgression hin. Sie können aber auch nichts anderes sein als eine bisher unbekannte Synonymie. So wurde über den Vergleich mit nordamerikanischen Barcodes das aus den USA beschriebene Taxon *Blastobasis glandulella* als der ältere Name für die mitteleuropäische *Blastobasis huemeri* erkannt (LANDRY et al. 2013). Tatsächlich handelt es sich hier um ein aus Nordamerika eingeschlepptes Neozoon. Weitere Fälle unterschiedlicher Namen in unterschiedlichen Gebieten sind aktuell noch zu prüfen, so ist z. B. eine Konspezifität der nordeuropäischen *Erebia polaris* mit der in Mitteleuropa verbreiteten *Erebia medusa* sehr wahrscheinlich (MUTANEN et al. 2012).

## Faunistischer Mehrgewinn

Die Förderung der faunistischen Forschung durch Barcoding-Ergebnisse in Mitteleuropa wurde bereits vielfach belegt, darunter spektakuläre Nachweise wie der Wickler *Olethreutes subtilana* und der Zwergminierfalter *Ectoedemia beckfordi* (HUEMER & HEBERT 2015, SEGERER et al. 2011) sowie zuletzt der Spanner *Perizoma juracolaria* als Neufund für Österreich (HUEMER et al. 2015). Besonders eindrucksvoll ist der Beitrag eines abgeschlossenen Tiroler Barcodingprojektes aus einem Gebiet mit scheinbar höchstem Durchforschungsgrad der regionalen Schmetterlingsfauna. Insgesamt wurden alleine im Rahmen dieser Studie 77 Neufunde für Südtirol und 21 für Tirol veröffentlicht, darunter 41 Arten Erstmeldungen aus Nordtirol und 2 aus Osttirol. 6 Arten wurden neu für Österreich belegt, *Elachista deriventa* und *Chrysoclista abchasica* waren selbst aus Mitteleuropa noch unbekannt (HUEMER 2014, HUEMER & HEBERT 2016). Die Barcode-Datenbank BOLD hat sich hier ganz besonders für eine Erstansprache der Arten bewährt, weil viele morphologisch kryptische Arten an Hand der bereits existierenden Barcode-Bibliothek mit deutlich geringerem Arbeitsaufwand und gleichzeitig mit größerer fachlicher Präzision determiniert werden konnten.

## Literatur

- HUEMER P., 2014: DNA-Barcoding der Schmetterlinge (Lepidoptera) des zentralen Alpenraumes (Tirol, Südtirol) faunistische Neufunde. Wissenschaftliches Jahrbuch der Tiroler Landesmuseen 7, 188–201.
- HUEMER P., FRIEBE J.G., WIESMAIR B., MAYR T., HIERMANN U. & SIEGEL Ch., 2015: Zur Verbreitung von *Perizoma juracolaria* (Lepidoptera, Geometridae, Larentiinae) – Erstnachweise aus Österreich, Liechtenstein und Italien. inatura-Forschung online 25, 9S.
- HUEMER P. & HEBERT P.D.N., 2015: DNA-Barcoding der Schmetterlinge (Lepidoptera) Vorarlbergs (Österreich) - Erkenntnisse und Rückschlüsse. inatura-Forschung online 15, 36 S.
- HUEMER P. & HEBERT P.D.N., 2016: DNA Barcode Bibliothek der Schmetterlinge Südtirols und Tirols (Italien, Österreich) – Impetus für integrative Artdifferenzierung im 21. Jahrhundert. Gredleriana (im Druck).
- HURST G.D.D. & JIGGINS F.M., 2005: Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts. Proc. R. Soc. Ser. B-Bio. 272, 1525–1534.
- KAILA L., BARAN T. & MUTANEN M., 2015: A revision of the *Elachista dispilella* complex (Lepidoptera: Gelechioidea: Elachistidae). Zootaxa 3963, 517–560.
- KIRICHENKO N., HUEMER P., DEUTSCH H., TRIBERTI P., ROUGERIE R. & LOPEZ-VAAMONDE C., 2015: Integrative taxonomy reveals a new species of *Callisto* (Lepidoptera, Gracillariidae) in the Alps. ZooKeys 473, 157–176. doi: 10.3897/zookeys.473.8543.
- LANDRY J.-F., NAZARI V., DEWAARD J., MUTANEN M., LOPEZ VAAMONDE C., HUEMER P. & HEBERT P.D.N., 2013: Shared but overlooked: 30 species of Holarctic Microlepidoptera revealed by DNA barcodes and morphology. Zootaxa 3749, 001–093. DOI:10.11646/zootaxa.3749.1.1.
- MUTANEN M., HAUSMANN A., HEBERT P.D.N., LANDRY J.-F., DEWAARD J. & HUEMER P., 2012: Allopatry as a Gordian knot for taxonomists: patterns of DNA barcode divergence in arctic-alpine Lepidoptera. PLoS ONE 7: e47214. doi:10.1371/journal.pone.0047214
- RATNASINGHAM S. & HEBERT P.D.N., 2007: BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodeoflife.org). Mol. Ecol. Notes 7, 355–364. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x

SEGERER A.H., HASLBERGER A. & GRÜNEWALD T., 2011: *Olethreutes subtilana* (Falkovich, 1959): Unexpected occurrence of an 'eastern' leaf roller in Central Europe, uncovered by DNA barcoding (Tortricidae: Olethreutinae). *Nota lepid.* 33, 197–206.

SIMONSEN T.J. & HUEMER P., 2014: Phylogeography of *Hepialus humuli* (L.) (Lepidoptera: Hepialidae) in Europe: Short distance vs. large scale postglacial expansions from multiple Alpine refugia and taxonomic implications. *Insect Syst. Evol.* 45, 209–250. DOI:10.1163/1876312X-44032104.

**Anschriften:**

Mag. Dr. Peter HUEMER, Naturwissenschaftliche Sammlungen, Tiroler Landesmuseen Betriebsges.m.b.H., Feldstraße 11a, A-6020 Innsbruck.  
E-Mail: p.huemer@tiroler-landesmuseen.at

Mag. Dr. Gerhard TARMANN, Naturwissenschaftliche Sammlungen, Tiroler Landesmuseen Betriebsges.m.b.H., Feldstraße 11a, A-6020 Innsbruck.  
E-Mail: g.tarmann@tiroler-landesmuseen.at

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien. Frueher: Verh.des Zoologisch-Botanischen Vereins in Wien. seit 2014 "Acta ZooBot Austria"](#)

Jahr/Year: 2016

Band/Volume: [153](#)

Autor(en)/Author(s): Huemer Peter, Tarmann Gerhard Michael

Artikel/Article: [DNA-Barcoding von Schmetterlingen Österreichs - vom nationalen Fokus zur Internationalität 163-167](#)