



Abb. 1: Der Rote Scheckenfalter (*Melitaea didyma*) kommt in Österreich in drei verschiedenen Unterarten vor. Foto: Peter Buchner.

# DNA-BARCODING DER TAGFALTER (LEPIDOPTERA, PAPILIONOIDEA) ÖSTERREICHS

## Unbekannte genetische Vielfalt im Zentrum Europas

Peter Huemer & Benjamin Wiesmair

### ABSTRACT

DNA barcodes of 200 different butterfly species from Austria were successfully generated, encompassing 94.5 % of the 211 species ever found in Austria. Sequences of 1263 specimens of the barcode region, the mitochondrial COI gene, longer than 500 bp were recovered and 1224 were fully barcode compliant. 172 species (86.0 % of the inventory) can be identified correctly with the barcode. In 28 species barcode sharing or overlap was found, which may be due to introgression, hybridisation or phylogenetic young species. 164 species or 77.4 % of the Austrian butterfly fauna have unique Barcode Index Numbers (BINs). 13 species cover more than 1 BIN and likely include cryptic diversity, e.g. in *Melitaea didyma* and *Melitaea cinxia*. The morphologically hardly separable sister species *Leptidea sinapis*/*Leptidea juvernica*, *Colias hyale*/*Colias alfacariensis*, *Boloria napaea*/*Boloria pales* and *Aricia artaxerxes*/*Aricia agestis* are unequivocally separated by their DNA barcodes. *M. athalia celadussa* is recorded for Austria based on DNA barcode sequences, which are probably reflecting introgression. In *Lycaena tityrus*, *L. alciphron* and *Euphydryas aurinia* the disputed alpine subspecies cluster separately from lowland populations, thus supporting different taxonomic status.

### 1. EINLEITUNG

Österreich ist mit knapp 84.000 km<sup>2</sup> ein flächenmäßig kleines, zentraleuropäisches Land. Dank der einzigartigen Lage,

die von den Alpen bis ins Pannonikum reicht, ist die Republik jedoch biologisch ausgesprochen divers. Die Vielfalt spiegelt sich in einer breiten Fülle von 813 Pflanzengesellschaften und damit einhergehend fast 3000 Farn- und Blütenpflanzen, etwa 1000 Moos-, 2300 Flechten-, 5000 Algen- und etwa 10.000 Pilzarten wider. Die Tierwelt umfasst sogar geschätzte 45.000 Arten (PAAR 2004), ist aber in vielen Gruppen wie z. B. Zweiflüglern oder Hautflüglern noch sehr unzureichend erforscht. Schmetterlinge sind mit etwa 4070 bisher nachgewiesenen Arten (HUEMER 2013) eine der megadiversen Gruppen des Landes. Besonders gut untersucht wurden die Tagfalter. Seit etwa 250 Jahren werden sie in Österreich erhoben, kartiert, gezählt und beobachtet, mit einem beachtlichen Ergebnis. Die Alpenrepublik ist mit insgesamt 211 (ehemals) nachgewiesenen Tagfalterarten für europäische Verhältnisse ein ausgesprochen diverses Land. Die Artenzahl übertrifft beispielsweise jene der viel größeren Bundesrepublik Deutschland mit 193 Arten (SETTELE et al. 1999). Der Bestand ist sowohl faunistisch als auch ökologisch und taxonomisch weitgehend erforscht, umfassende Buchprojekte wie über die Tagfalter Wiens (HÖTTINGER et al. 2013) belegen den hohen Kenntnisstand. Auch die Gefährdung der Gruppe ist in der rezenten Roten Liste mit einer Gefährdungskategorie für mehr als 50 % des Artenbestandes (HÖTTINGER & PENNERSTORFER 2005) gut dokumentiert. Umso erstaunlicher erscheint daher der gravierende Mangel an Daten zur genetischen Vielfalt österreichischer Tagfalter, ist diese doch ein wesentliches Kriterium für Anpassungsmechanismen der Arten an regionale Besonderheiten wie Klimafaktoren etc., Studien mit europäischem Schwerpunkt,

wie DINCĂ et al. (2011a, 2015), deuten darüber hinaus, trotz eines bisher postulierten guten Kenntnisstandes, auf ein überraschendes Ausmaß an potentieller kryptischer Diversität bei Tagfaltern, und genetische Daten haben bereits wichtige Hinweise zur Beschreibung kryptischer Arten geliefert z. B. HERNANDEZ-ROLDAN et al. (2016).

DNA-Barcoding hat sich in den letzten Jahren als effektive Methode für eine erste Abschätzung der genetischen Vielfalt etabliert. Es basiert auf einer lediglich 658 Basenpaare (Bp) umfassenden Region der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase I (COI 5'), welche bei mehrzelligen Tieren als einheitlicher Standard verwendet wird. Aufgrund der hohen Zuverlässigkeit in der Unterscheidung von Arten, der Reproduzierbarkeit sowie der relativ geringen Sequenzierungskosten liegen inzwischen große Mengen an öffentlichen Vergleichsdaten auch und gerade für Schmetterlinge vor. Da sich die Tiroler Landesmuseen bereits seit 2010 intensiv und sehr erfolgreich an der globalen DNA-Barcoding Initiative iBOL (International Barcode of Life) beteiligen, war die Methodik somit vorgegeben.

## 2. METHODIK

### 2.1. Sampling

Ziel unserer Studie war es, möglichst zumindest vier Barcodes jeder einzelnen Tagfalterart aus Österreich zu generieren. Um eine ausgewogene geografische Abdeckung zu gewährleisten, wurde das Land in einem pragmatischen und weitgehend nach Bundesländern gegliederten Ansatz in drei Regionen geteilt: Nordostösterreich (Oberösterreich, Niederösterreich, Wien, Burgenland), Westösterreich (Vorarlberg, Nordtirol, Salzburg) und Südösterreich (Osttirol, Kärnten, Steiermark). Für jede Region wurde, basierend auf vorhandenen Meldungen (HUEMER 2013), versucht, Samples zu organisieren und nachfolgend sequenzieren zu lassen. Dabei wurde überwiegend auf bereits bestehendes Sammlungsmaterial zurückgegriffen, woraus sich gewisse Ungleichgewichtungen im geografischen Sampling ableiten lassen (Abb. 2). Um die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Sequenzierung zu

erhöhen, wurde Material jüngerer Sammeldatums präferiert. Die Belege stammen weitaus überwiegend aus den Naturwissenschaftlichen Sammlungen der Tiroler Landesmuseen, weiteres aus dem Landesmuseum Kärnten (Klagenfurt) und dem Haus der Natur (Salzburg). Einige Belege standen aus den Arbeitssammlungen Kurt Lechner, Wolfgang Stark und Patrick Gros zur Verfügung. Schließlich wurde eine beachtliche Zahl von Sequenzen aus rezenten Beprobungen im Rahmen des Projektes EUGENMAP generiert.

Die Bestimmung der einzelnen Belege erfolgte grundsätzlich nach morphologischen Merkmalen und wurde mittels der Zuordnung zu vorhandenen Sequenzen in der globalen Datenbank BOLD (Barcode of Life Data Systems) überprüft. Jeder Beleg ist in der Datenbank BioOffice der Tiroler Landesmuseen digital erfasst und georeferenziert. Darüber hinaus wurden sämtliche Belege im Rahmen der Probenübermittlung fotografisch dokumentiert und Bilder samt allen Daten in der Datenbank BOLD hochgeladen.

### 2.2. DNA-Sequenzierungen/Datenanalysen

Gewebeproben, im Fall der Lepidoptera ein Teil eines Beines oder ein vollständiges Bein, wurden in standardisierte Mikrotiterplatten à 96 Proben überführt und an das Canadian Center for DNA Barcoding (CCDB, University of Guelph, Ontario, Kanada) versendet. Die Gewebeproben bzw. die DNA-Extrakte werden dort als permanente Leihgabe für weitere Untersuchungen gelagert. Die Extraktion, Isolation, Amplifikation wie auch die anschließende Sequenzierung der DNA wurde am CCDB durchgeführt und erfolgte nach den bei DE WAARD et al. (2008) beschriebenen Standardprotokollen.

Die Artbestimmung mittels DNA-Barcode basiert im Wesentlichen auf der Annahme von konstanten interspezifischen Divergenzen zwischen Schwesterarten, auch bei Berücksichtigung intraspezifischer Variation. Das bedeutet, dass ein Exemplar einer Art näher beim nächsten Tier derselben Art gruppiert, als bei der nächst stehenden Art und keine genetischen Überlappungen zwischen den beiden Arten vorkommen. Die Performance der Bestimmung wurde einer-



seits über Barcode Gaps, andererseits über Barcode Index Numbers getestet. Die Berechnung der intra- und interspezifischen Distanzen basiert auf den durch BOLD zur Verfügung gestellten Algorithmen.

Die Barcode Gap Analyse ermittelt die Verteilung von Distanzen innerhalb einer Art sowie zum nächsten Nachbarn. Alle Arten wurden mit Hilfe der Funktionen in BOLD auf die Präsenz eines Barcode Gaps getestet. Die Tests basieren mit wenigen Ausnahmen auf Sequenzen >500 Bp. Für wenige Arten, die in unserem Material ausschließlich mit kürzeren Sequenzen vorlagen, wurden zusätzlich zur Bewertung eines Barcode Gaps auch weitere Sequenzen aus BOLD herangezogen.

Das Barcode Index Nummer (BIN) System clustert Sequenzen in sogenannte Operational Taxonomic Units (OTUs), und zwar unabhängig von ihrer bisherigen taxonomischen Zuordnung. Es beruht auf einem zweistufigen Algorithmus, der die Sequenzen in einem Cluster gruppiert und neue Sequenzen automatisiert zuordnet (RATNASINGHAM & HEBERT 2013). Dabei werden alle Sequenzen >500 Bp und einige weitere Qualitätsansprüche unabhängig von der Projektherkunft erfasst und einem BIN zugeordnet. Das BIN-System ist letztlich ein probates Mittel zur Prüfung der Konkordanz zwischen morpho-taxonomisch basierten Artbestimmungen und COI-Sequenzdaten.

Neighbor-Joining Trees wurden mit dem Kimura-2-Parameter (K2P) Distanzmodell berechnet und mittels des Programmes MEGA 6 (TAMURA et al. 2013) dargestellt. Eine Fundpunktkarte wurde mit dem Programm SimpleMapper erstellt (SHORTHOUSE 2010).

Die Datenanalyse basiert grundsätzlich auf Sequenzen österreichischer Proben. Für insgesamt 11 Arten der nationalen Fauna konnten jedoch keine genetischen Daten ermittelt werden. In diversen Analysen zur Artabgrenzung fließen aber auch Daten dieser Arten aus anderen Regionen ein. Arten mit intraspezifischen Distanzen >0,5 % wurden unter Beiziehung aller verfügbaren Daten aus BOLD auf mögliche geografische Muster geprüft.

Systematik und Nomenklatur folgen weitgehend dem Katalog der Schmetterlinge Österreichs (HUEMER 2013).

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1. Überblick

Von insgesamt 1473 sequenzierten Proben aus allen Regionen Österreichs (Abb. 2) konnten 1320 Sequenzen >200 Bp aus 200 Arten ermittelt werden, 1263 Sequenzen aus

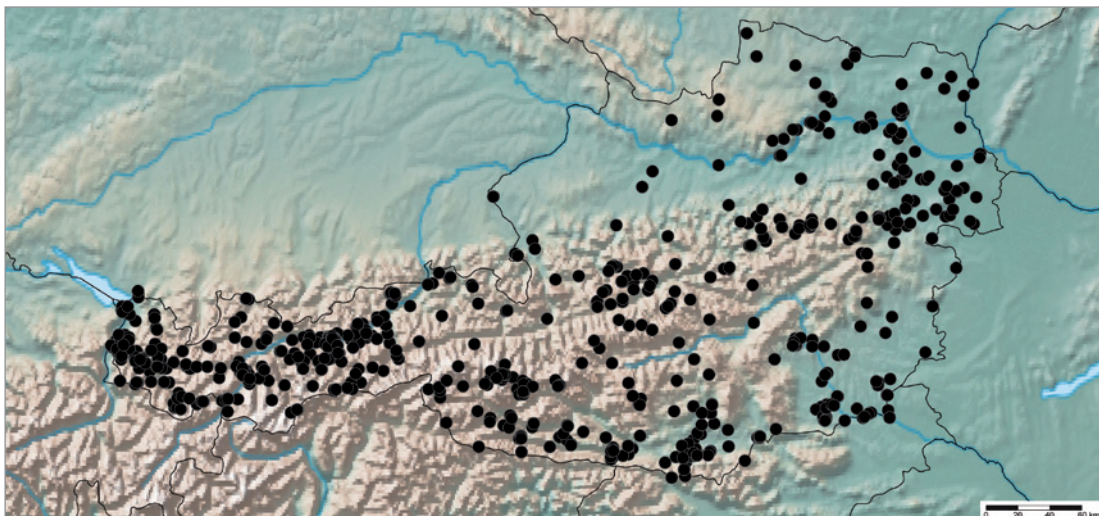


Abb. 2: Geografische Verteilung der Samples in Österreich. Erstellt mit SimpleMapper.

193 Arten weisen eine Länge von >500 Bp auf, 1224 Sequenzen genügen den strengen Kriterien von BOLD und sind als „barcode compliant“ ausgewiesen.

Die Proben verteilen sich auf folgende Familien: Nymphalidae (727), Lycaenidae (350), Pieridae (180), Hesperidae (167), Papilionidae (43) und Riodinidae (6).

### 3.2. Leistungsfähigkeit von DNA-Barcodes für die Artbestimmung

#### Artbestimmung mittels Barcode Gap

Die interspezifische genetische Distanz, der sogenannte Barcode Gap, ermöglicht eine einwandfreie Zuordnung und Bestimmung von Individuen auf Artniveau. Die mittlere Distanz zum nächsten Nachbarn beträgt 6,22 % und erreicht im Maximalfall 10,25 %. Umgekehrt scheitert die Bestimmung einer Art mittels DNA-Barcoding bei fehlendem Barcode Gap zu einer oder mehreren anderen Arten (Tabelle 2).

Im vorliegenden Artenbestand können insgesamt 172 der untersuchten 200 Arten und somit 86 % mittels DNA-Barcoding sicher bestimmt und von den nächststehenden Arten differenziert werden. Bei Berücksichtigung von externen Daten nicht sequenzierter Arten in BOLD lassen sich 180 von insgesamt 212 Arten, das sind 84,9 % der österreichischen Arten sicher mittels DNA-Barcodes determinieren.



Abb. 3: Der Osterluzeifalter (*Zerynthia polyxena*) aus der Familie der Ritterfalter ist eine von 200 nunmehr sequenzierten Tagfalterarten Österreichs. Foto: Peter Buchner.

#### Ritterfalter (Papilionidae) (Abb. 3)

Sequenzierter Artenbestand: 6 Arten; Sequenzen: 42.

Hohe intraspezifische Distanzen >2 %: 1 Art;

geringe Distanzen zum nächsten Nachbarn ≤2 %: 2 Arten.

Keine Art ohne Barcode Gap (intraspezifisch ≥ interspezifisch).

Somit sind sämtliche Papilionidae Österreichs einwandfrei mittels DNA-Barcode bestimmbar (Abb. 4).

#### Dickkopffalter (Hesperidae)

Sequenzierter Artenbestand: 21 Arten; Sequenzen: 150.

Hohe intraspezifische Distanzen >2 %: 2 Arten; geringe

Distanzen zum nächsten Nachbarn ≤2 %: 6 Arten.

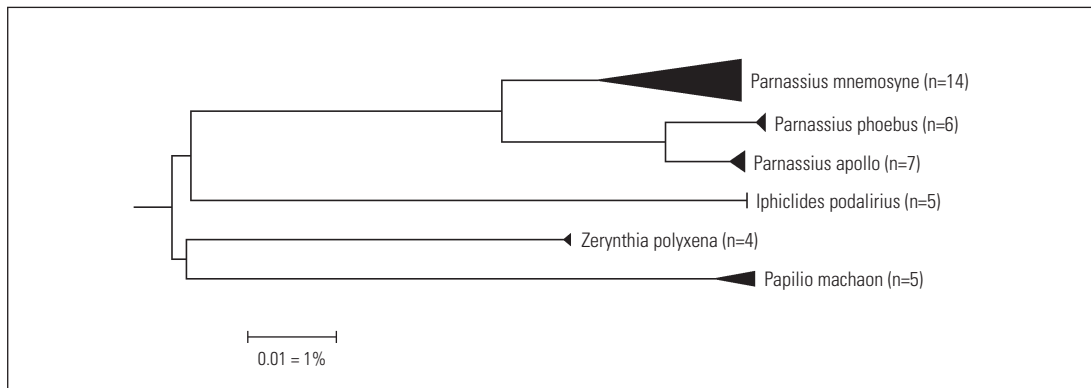


Abb. 4: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der sequenzierten Proben der Familie Papilionidae (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Hinweis: Die Skala bezieht sich nur auf Äste zwischen den Arten. Die Breite der Dreiecke repräsentiert die Anzahl der Proben, die Tiefe die relative genetische Variation innerhalb des Clusters (2x Skala). Datenquelle: BOLD.

Ein Artenpaar ohne Barcode Gap (intraspezifisch  $\geq$  interspezifisch): *Pyrgus alveus*/*Pyrgus warrenensis*. Die darüber hinaus aus Österreich veröffentlichten Arten *Pyrgus carlinae* und *Pyrgus cirsii* teilen nach Daten aus BOLD den Barcode, differieren aber vom nächsten Nachbarn *Pyrgus alveus* minimal 1,31 %. Die ebenfalls aus dem Bundesgebiet publizierte und mutmaßlich ausgestorbene *Spialia orbifer* clustert nahe bei der rezent beschriebenen westmediterranen *Spialia rosae* (gemeinsamer BIN), beide Arten divergieren aber von der in Österreich weit verbreiteten *Spialia sertorius* deutlich. Somit sind 20 von 24 Hesperidae Österreichs einwandfrei mittels DNA-Barcode bestimmbar (Abb. 5).

### Weißlinge (Pieridae)

Sequenzierter Artenbestand: 20 Arten; Sequenzen: 160.

Hohe intraspezifische Distanzen  $>2$  %: 1 Art;

geringe Distanzen zum nächsten Nachbarn  $\leq 2$  %: 6 Arten.

Ein Artenpaar ohne Barcode Gap (intraspezifisch  $\geq$  interspezifisch): *Colias croceus*/*Colias erate*.

Die von uns nicht sequenzierte *Leptidea morsei* weist nach Daten in BOLD eine genetische Distanz von Minimum 2,38 % zur nächststehenden Art in Österreich, *L. sinapis*, auf.

Somit sind 19 von 21 Pieridae Österreichs einwandfrei mittels DNA-Barcode bestimmbar (Abb. 6).

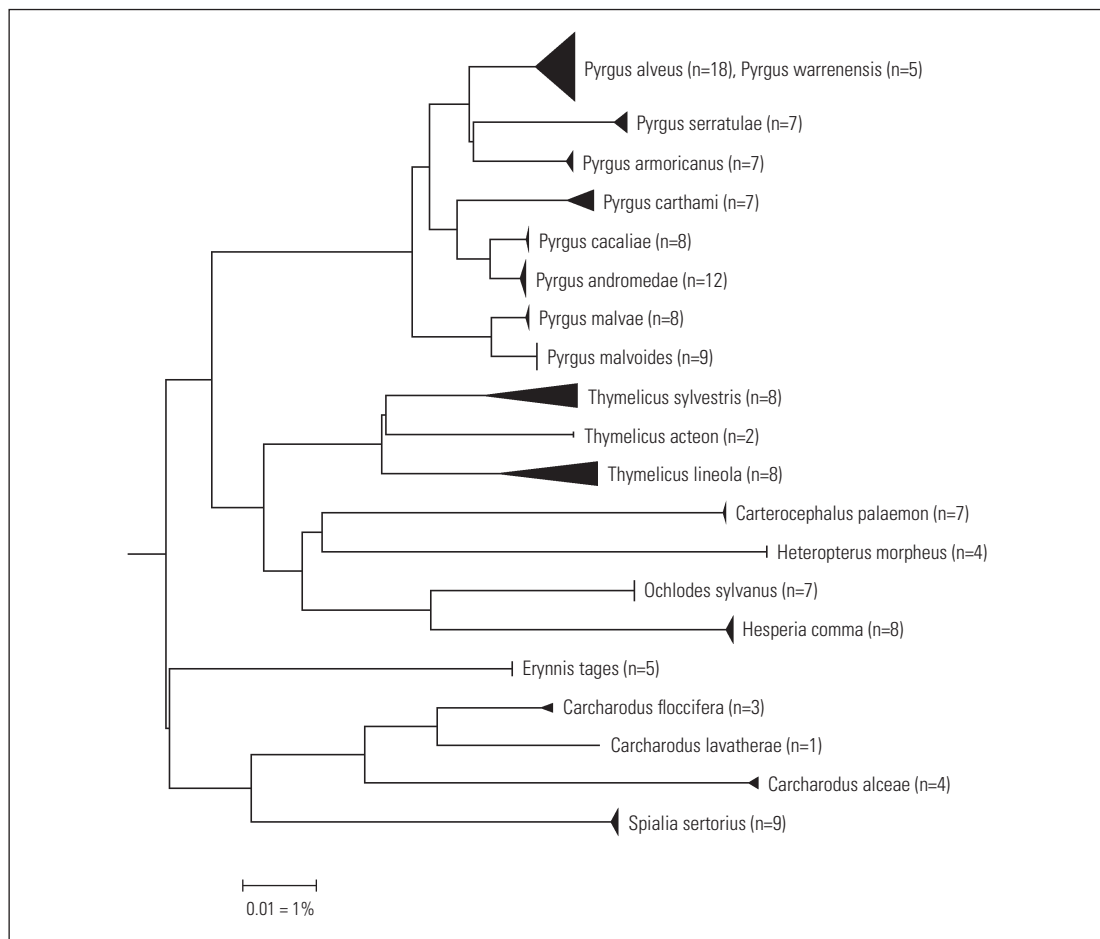


Abb. 5: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der sequenzierten Proben der Familie Hesperidae (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Datenquelle: BOLD.

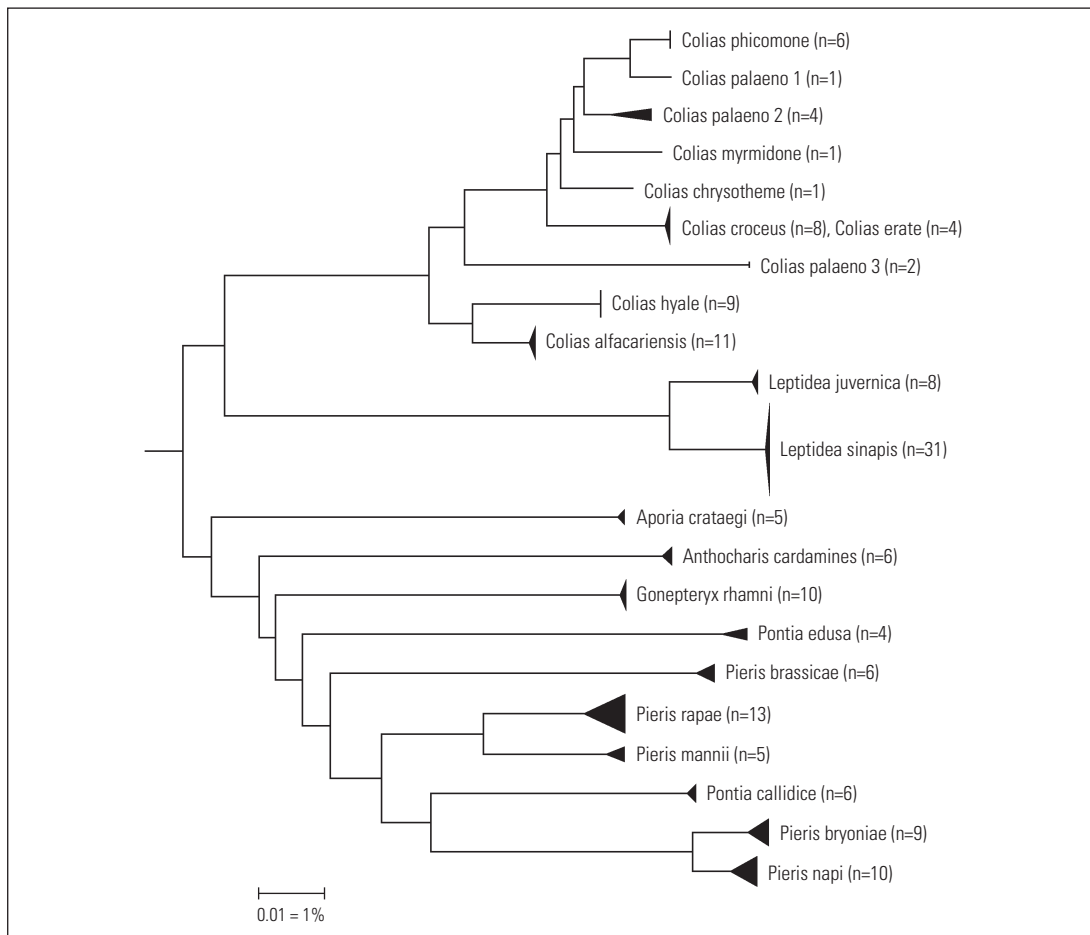


Abb. 6: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der sequenzierten Proben der Familie Pieridae (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Datenquelle: BOLD.



Abb. 7: Der abgebildete Maivogel (*Euphydryas maturna*) unterscheidet sich im DNA-Barcode nicht vom Alpen-Maivogel (*Euphydryas intermedia*). Foto: Peter Buchner.

### Edelfalter (Nymphalidae) (Abb. 7)

Sequenzierter Artenbestand: 100 Arten; Sequenzen: 619.

Hohe intraspezifische Distanzen >2 %: 10 Arten; geringe Distanzen zum nächsten Nachbarn ≤2 %: 22 Arten.

16 Arten ohne Barcode Gap (intraspezifisch ≥ interspezifisch): *Brenthis daphne*/*Brenthis ino*, *Euphydryas maturna*/*Euphydryas intermedia*, *Melitaea aurelia*/*Melitaea asteria*, *Erebia tyndarus*/*Erebia cassioides*/*Erebia nivalis*/*Erebia calcaria*, *Erebia stirius*/*Erebia styx* und *Coenonympha arcania*/*Coenonympha gardetta*/*Coenonympha darwiniana*/*Coenonympha hero*. Darüber hinaus lässt sich die von uns nicht sequenzierte *Apatura metis*, eine in Österreich nur einmal

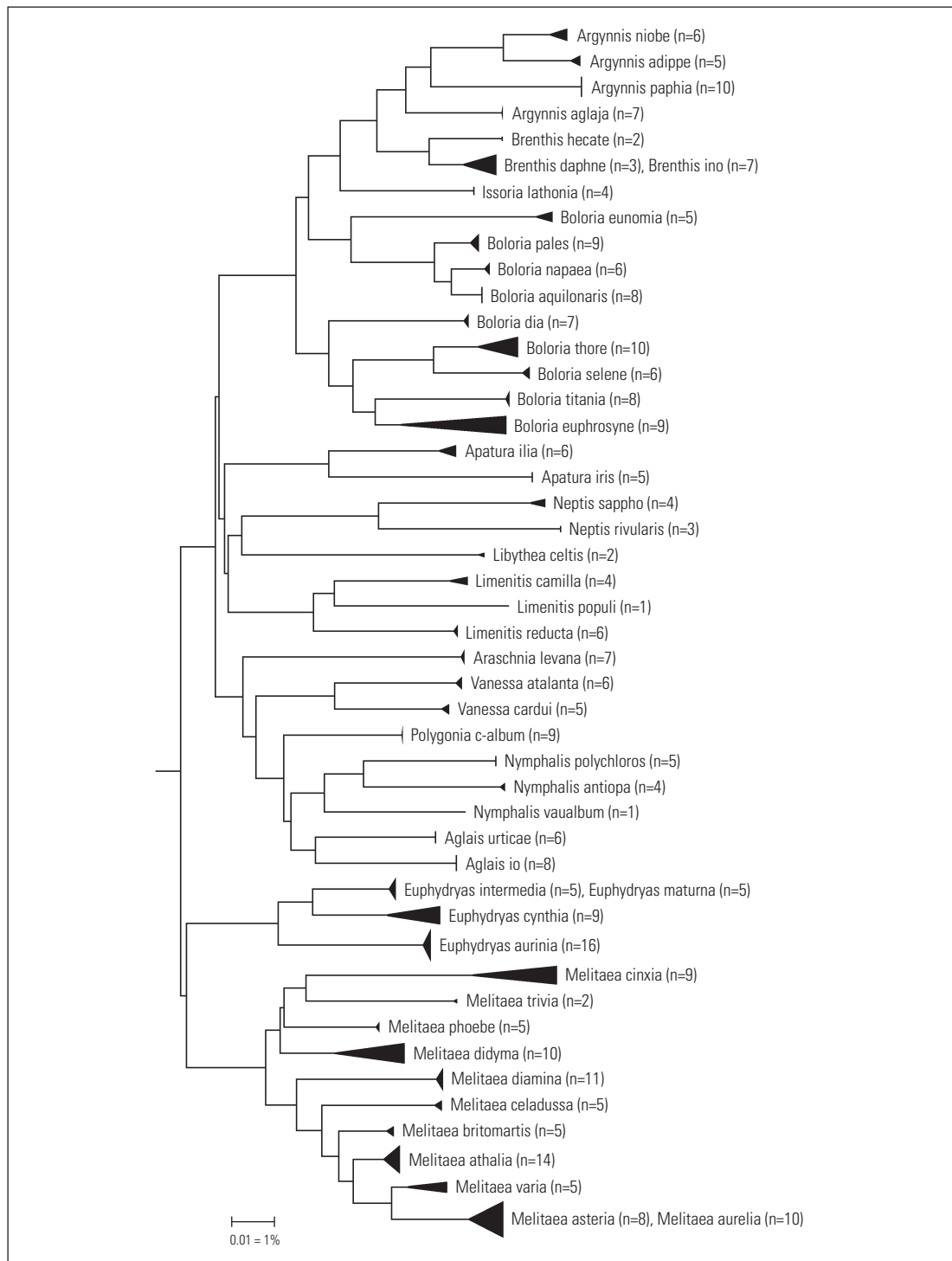


Abb. 8: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der sequenzierten Proben der Familie Nymphalidae (alle Unterfamilien exkl. Satyrinae) (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Datenquelle: BOLD.



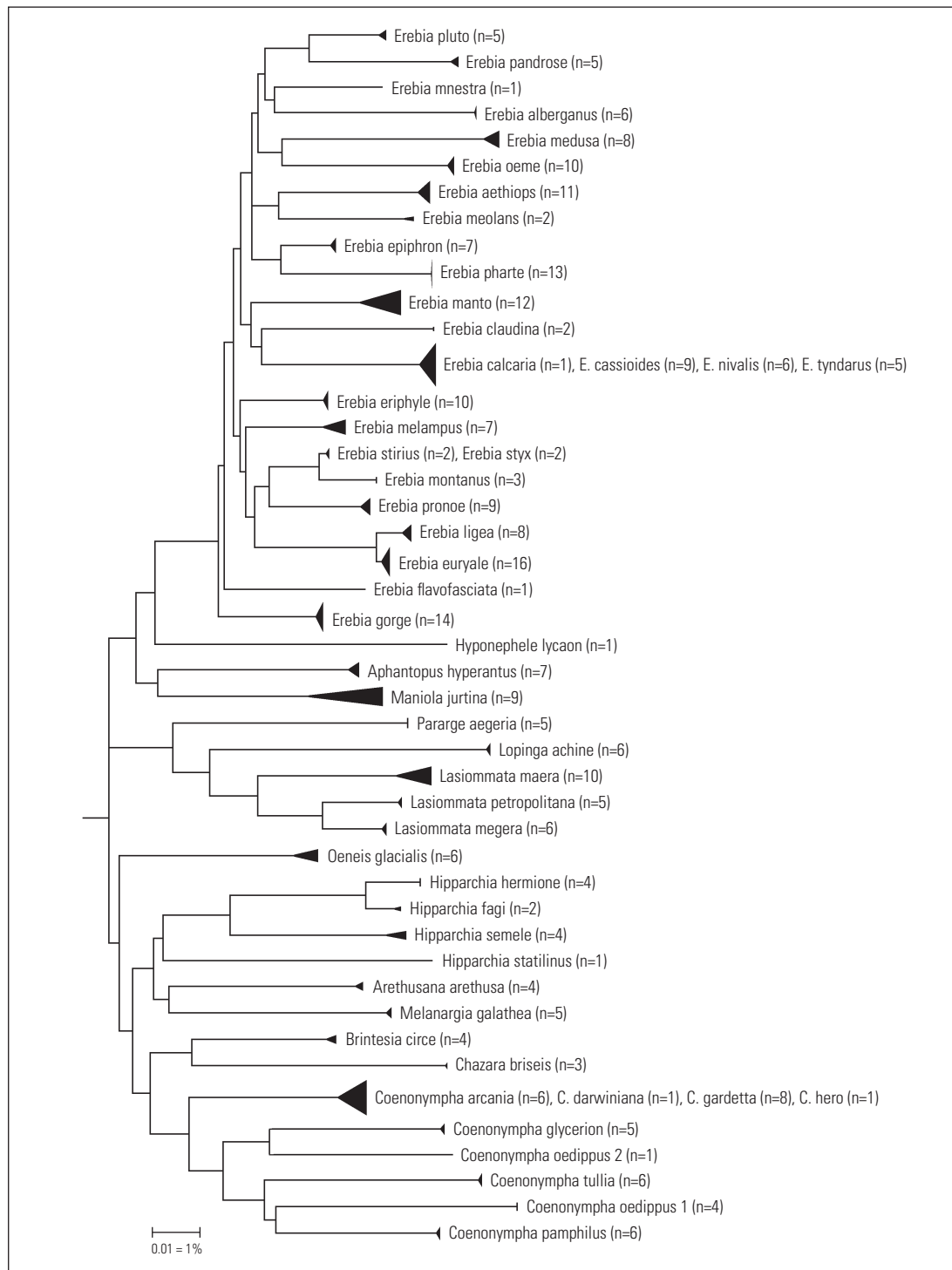


Abb. 9: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der sequenzierten Proben der Nymphalidae – Satyrinae (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Datenquelle: BOLD.

gemeldete, jedoch nicht durch Beleg gesicherte und daher sehr zweifelhafte Art, im DNA-Barcode nicht von *Apatura ilia* unterscheiden.

Weitere in Österreich nachgewiesene, jedoch von uns nicht bzw. erfolglos sequenzierte Arten weisen hingegen deutliche Unterschiede zu anderen Arten der Landesfauna auf: *Argynnis pandora* divergiert vom nächsten Nachbarn in Österreich *Argynnis aglaja* um minimal 6,86 %, *Nymphalis xanthomelas* von *Nymphalis antiopa* um minimal 3,51 % und *Melitaea parthenoides* von *Melitaea aurelia* um minimal 2,91 %. Somit sind 88 von 105 Nymphalidae Österreichs einwandfrei mittels DNA-Barcode bestimmbar (Abb. 8–9).

#### Würfelfalter (Riodinidae)

Sequenzierter Artenbestand: 1 Art; Sequenzen: 6.

Die einzige Riodinidae-Art Österreichs divergiert vom nächsten Nachbarn der Landesfauna *Carchardus flocciferus* um 6,18 % und ist somit zweifelsfrei mittels DNA-Barcode bestimmbar (Abb. 10).

#### Bläulinge (Lycaenidae)

Sequenzierter Artenbestand: 52 Arten; Sequenzen: 298.

Hohe intraspezifische Distanzen >2 %: 3 Arten; geringe Distanzen zum nächsten Nachbarn ≤2 %: 14 Arten.

8 Arten ohne Barcode Gap (intraspezifisch ≥ interspezifisch):

*Cupido alcetas/Cupido decoloratus*, *Lysandra bellargus/Lysandra coridon*, *Pseudophilotes baton/Pseudophilotes vicrama* und *Phengaris alcon/Phengaris rebeli*.

Drei in Österreich nachgewiesene, jedoch von uns nicht sequenzierte Arten, weisen deutliche Unterschiede zu anderen Arten der Landesfauna auf: *Lampides boeticus* divergiert vom nächsten Nachbarn in Österreich *Pseudophilotes vicrama* um minimal 6,11 %, *Leptotes pirithous* von *Phengaris arion* um minimal 8,02 % und *Polyommatus admetus* von *Polyommatus damon* um minimal 4,69 %. Somit sind 47 von 55 Lycaenidae Österreichs einwandfrei mittels DNA-Barcode bestimmbar (Abb. 10).

#### Artbestimmung mit dem Barcode Index Nummer System (BIN)

Die Abgrenzung morphologisch bestimmter Arten mittels BIN führte zu weitgehend kongruenten Ergebnissen.

1263 Proben aus 193 Arten konnten einem BIN zugeordnet werden. Der Großteil der Arten gruppiert in einem einzigen BIN, im Extremfall sind es aber auch innerhalb Österreichs bis zu 3 BINs (Tabelle 1): 180 Arten (1 BIN), 9 Arten (2 BINs), 4 Arten (3 BINs).

Tabelle 1: Tagfalter Österreichs mit mehr als einem BIN (Quelle BOLD)

|                              | n Sequenzen (BOLD) | n BIN AT | n BIN Europa | Verbreitung   |
|------------------------------|--------------------|----------|--------------|---------------|
| <i>Boloria euphrosyne</i>    | 49                 | 2        | 3            | ?parapatrisch |
| <i>Boloria thore</i>         | 28                 | 2        | 2            | sympatrisch   |
| <i>Coenonympha gardetta</i>  | 17                 | 2        | 2            | sympatrisch   |
| <i>Colias palaeno</i>        | 87                 | 3        | 3            | sympatrisch   |
| <i>Euphydryas cynthia</i>    | 12                 | 2        | 2            | parapatrisch  |
| <i>Limenitis camilla</i>     | 43                 | 2        | 2            | allopatrisch  |
| <i>Lysandra bellargus</i>    | 68                 | 2        | 2            | ?parapatrisch |
| <i>Maniola jurtina</i>       | 286                | 2        | 3            | sympatrisch   |
| <i>Melitaea cinxia</i>       | 57                 | 3        | 3            | parapatrisch  |
| <i>Melitaea didyma</i>       | 52                 | 3        | 5            | sympatrisch   |
| <i>Parnassius mnemosyne</i>  | 57                 | 2        | 2            | allopatrisch  |
| <i>Thymelicus lineola</i>    | 165                | 2        | 4            | sympatrisch   |
| <i>Thymelicus sylvestris</i> | 86                 | 3        | 5            | sympatrisch   |

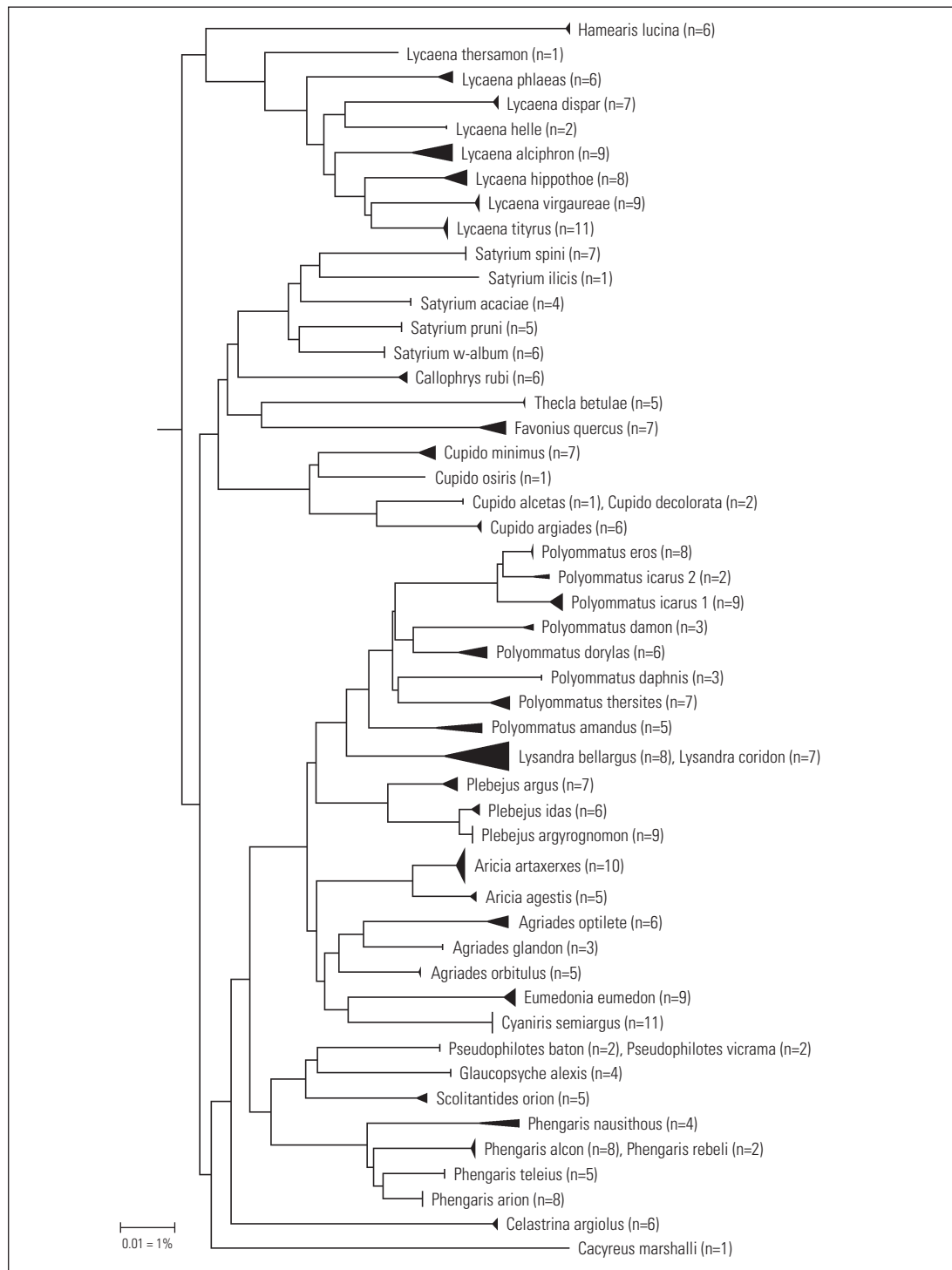


Abb. 10: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der sequenzierten Proben der Familien Riodinidae und Lycaenidae (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Datenquelle: BOLD.

Weitere Arten mit mehreren BINs sind bei umfassenderen zukünftigen Beprobungen durchaus zu erwarten. So clustert beispielsweise *Erebia pronoe* nach heutigen Kenntnissen in Europa in 4 BINs, eine der bisher in Österreich nicht nachgewiesenen parapatrischen genetischen Linien kommt im Bayerischen Allgäu vor und ist sehr wahrscheinlich auch im unmittelbar angrenzenden Vorarlberg präsent.

BIN-Sharing ist naturgemäß für alle im vorherigen Kapitel genannten 31 Arten ohne Barcode Gap gegeben. Weitere Artenpaare mit geteiltem BIN sind: *Pyrgus malvae*/*Pyrgus malvoides*, *Pyrgus andromedae*/*Pyrgus cacaliae*, *Pieris napi*/*Pieris bryoniae*, *Colias palaeno*/*Colias phicomone* (1 BIN), *Boloria aquilonaris*/*Boloria napaea*, *Erebia euryale*/*Erebia ligea*, *Plebejus idas*/*Plebejus argyrognomon* und *Polyommatus icarus*/*Polyommatus eros*. Diese zusätzlichen über BINs nicht unterscheidbaren Taxa divergieren im Barcode geringfügig, jedoch konstant und lassen sich daher genetisch zweifelsfrei abgrenzen. Subsummierend können 164 von 212 Arten bzw. 77,4 % des Artenbestandes mittels BIN sicher determiniert werden.

### Bestimmung morphologisch kryptischer Arten durch DNA-Barcoding

Die Artdifferenzierung in mehreren untersuchten Artengruppen gilt selbst unter Experten als schwierig. DNA-Barcoding kann hier eine wesentliche Hilfe für die Absicherung einer korrekten Bestimmung sein und aufwändige Untersuchungen wie Genitalpräparation ersparen. Dies gilt vor allem für alle schwer bestimmbaren Hesperidae sowie einige Lycaenidae, aber auch für Vertreter der Nymphalidae-Gattungen *Boloria* und *Melitaea* oder verschiedene Pieridae. Nachfolgend wird eine kleine Auswahl besonders kritischer Arten näher besprochen.

#### *Pyrgus malvae*/*Pyrgus malvoides*

Die beiden Arten sind nur genitalmorphologisch sicher zu unterscheiden, weisen darüber hinaus aber auch ein parapatrisches Verbreitungsbild auf, d. h. sie kommen nur in ganz wenigen Regionen gemeinsam vor. Während die intraspezifische Variationsbreite mit maximal 0,16 % bei *Pyrgus malvae* und 0 % bei *P. malvoides* sehr gering ist, liegt die minimale interspezifische Barcode Divergenz bei 1,08 %.



Abb. 11: Die beiden in Österreich weiter verbreiteten Senfweißlingsarten *Leptidea sinapis* und *Leptidea juvernica* lassen sich im DNA-Barcode leicht unterscheiden, äußerlich hingegen gar nicht. Somit ist auch das abgebildete Exemplar mittels Foto nicht auf Artniveau bestimmbar. Foto: Peter Buchner.

#### *Leptidea sinapis*/*Leptidea juvernica* (Abb. 11)

Die erst vor wenigen Jahren differenzierten und inzwischen sogar durch eine dritte europäische Art erweiterten Senfweißlinge (DINCĂ et al. 2011b) sind nach phänotypischen Merkmalen nicht sicher zu trennen, was in der Praxis dazu führt, dass diese Arten in vielen Untersuchungen als Artengruppe behandelt werden. Das daraus resultierende Datendefizit ermöglicht wenige korrekte Angaben zur Verbreitung, Ökologie oder Gefährdung der Arten, mit allen sich daraus ergebenden negativen Konsequenzen.

Im Barcode divergieren beide mitteleuropäischen Arten (aber auch die dritte Art *L. reali* aus SW-Europa) konstant, die österreichischen Proben minimal 2,64 %, bei einer maximalen intraspezifischen Divergenz von 0,31 % (*L. sinapis*) bzw. 0,33 % (*L. juvernica*).

#### *Colias hyale*/*Colias alfacariensis*

Die beiden Arten lassen sich im adulten Stadium morphologisch nur mit Vorbehalt bestimmen, allerdings differieren Ökologie und das Raupenstadium zweifelsfrei. Interspezifische Barcode Divergenzen sind, wie bereits in anderen Studien nachgewiesen (HAUSMANN et al. 2011), auch in unseren Proben mit Minimum von 2,67 % beachtlich.



Abb. 12: Das Männchen des Alpen-Perlmutters (Boloria pales) kann vom Ähnlichen-Perlmutters (Boloria napaea) nur genetisch sicher differenziert werden, eine sichere Bestimmung über Fotos ist unmöglich. Foto: Peter Buchner.

#### ***Boloria pales/Boloria napaea* (Abb. 12)**

*Boloria pales* und *B. napaea* lassen sich zwar im weiblichen Geschlecht morphologisch leicht trennen, die korrekte Bestimmung von Männchen ist hingegen sehr kritisch. In unserem Datensatz wurden jedoch interspezifische Barcode Divergenzen mit Minimum 1,55 % gefunden. Auch die dritte, leichter zu differenzierende Art der Gruppe, *Boloria aquilonaris*, divergiert in ähnlichem Ausmaß mit etwa 1,5 %.

#### ***Aricia artaxerxes/Aricia agestis***

Das Artenpaar *Aricia artaxerxes* und *A. agestis* zählt vor allem in den Tieflagen Mitteleuropas zu den notorisch kritisch zu bestimmenden Tagfaltern (EBERT & RENNWALD 1991) mit vermutlich zahlreichen Fehlbestimmungen. Etliche der von uns gebarcodeten putativen *A. agestis* erwiesen sich jedenfalls *A. artaxerxes* zugehörig. Während morphologische Merkmale wie insbesondere die Ausdehnung der orangen Randflecken der Flügeloberseiten – ausgedehnt bei *A. agestis*, reduziert bei *A. artaxerxes* – in vielen Fällen keine sichere Bestimmung zulassen, unterscheiden sich beide Taxa konstant im DNA-Barcode. In unseren österreichischen Proben im Minimum 1,87 %, bei einer intraspezifischen Divergenz von maximal 0,31 % (*A. agestis*) bzw. 0,46 % (*A. artaxerxes*).

#### **Fehlende Divergenzen im DNA-Barcode – morphologisch basierte Artbestimmung**

Eine überraschend große Zahl von Tagfalterarten Österreichs besitzen idente DNA-Barcodes (Barcode-Sharing) oder weisen eine Barcode-Überlappung (Barcode-Overlap) auf (Tabelle 2). Diese Arten können somit überhaupt nicht oder nur mit Einschränkungen, d. h. nicht alle Exemplare, nach ihren DNA-Barcodes bestimmt werden. Unser Datensatz ergibt für 28 Arten keine zweifelsfreie Bestimmung mittels Barcode. Nachfolgend werden mehrere Artenpaare exemplarisch erläutert.

#### ***Lysandra coridon/Lysandra bellargus***

Beide Arten zeigen eine erhebliche intraspezifische Variabilität im DNA-Barcode mit jeweils einer eigenständigen genetischen Linie sowie einem weiteren gemeinsamen Cluster. Ob und wie weit Introgression für dieses Muster verantwortlich ist, bleibt vorerst ungeklärt. Die Form *polonus* gilt jedenfalls nach der Morphologie als natürlicher Hybrid, was auf mögliche Introgression bei beiden Arten hindeuten würde.

#### ***Pseudophilotes baton/Pseudophilotes vicrama***

Wie von TODISCO et al. (2015) beschrieben und anhand der österreichischen Sequenzen bestätigt wird, sind die Schwesterarten *Pseudophilotes baton* und *P. vicrama* anhand des Barcodes nicht sicher zu trennen. Die Bestimmung unserer sequenzierten Belege wurde daher anhand der Genitalmorphologie überprüft. Ein weiteres, nahe verwandtes Taxon mit Barcode-Überlappung, ist die auf der Iberischen Halbinsel verbreitete *P. panoptes*.

#### ***Pyrgus alveus/Pyrgus warrenensis***

Während HAUSMANN et al. (2011) für Proben beider Taxa aus Deutschland eine konstante interspezifische Distanz von minimal 0,5 % postulieren, kann diese Divergenz nach unseren Daten nicht bestätigt werden, und beide Arten clustern gemeinsam.



Tabelle 2: Artenpaare mit minimalen interspezifischen Distanzen von 0–1 %

| Art                           | Mit. Intra-sp. | Max Intra-sp. | NN                            | Distanz NN |
|-------------------------------|----------------|---------------|-------------------------------|------------|
| <i>Coenonympha arcania</i>    | 0.36           | 0.92          | <i>Coenonympha darwiniana</i> | 0          |
| <i>Coenonympha darwiniana</i> | N/A            | N/A           | <i>Coenonympha gardetta</i>   | 0          |
| <i>Coenonympha gardetta</i>   | 0.85           | 2.18          | <i>Coenonympha darwiniana</i> | 0          |
| <i>Cupido alcetas</i>         | N/A            | N/A           | <i>Cupido decolorata</i>      | 0          |
| <i>Cupido decolorata</i>      | 0              | 0             | <i>Cupido alcetas</i>         | 0          |
| <i>Erebia cassioides</i>      | 0.22           | 0.61          | <i>Erebia nivalis</i>         | 0          |
| <i>Erebia nivalis</i>         | 0.05           | 0.17          | <i>Erebia cassioides</i>      | 0          |
| <i>Erebia stiri</i>           | 0              | 0             | <i>Erebia styx</i>            | 0          |
| <i>Erebia styx</i>            | 0.1            | 0.15          | <i>Erebia stiri</i>           | 0          |
| <i>Euphydryas intermedia</i>  | 0.15           | 0.31          | <i>Euphydryas maturna</i>     | 0          |
| <i>Euphydryas maturna</i>     | 0.09           | 0.15          | <i>Euphydryas intermedia</i>  | 0          |
| <i>Phengaris alcon</i>        | 0.04           | 0.34          | <i>Phengaris rebeli</i>       | 0          |
| <i>Phengaris rebeli</i>       | 0.15           | 0.15          | <i>Phengaris alcon</i>        | 0          |
| <i>Pseudophilotes baton</i>   | 0              | 0             | <i>Pseudophilotes vicrama</i> | 0          |
| <i>Pseudophilotes vicrama</i> | 0.23           | 0.34          | <i>Pseudophilotes baton</i>   | 0          |
| <i>Pyrgus alveus</i>          | 0.4            | 1.4           | <i>Pyrgus warrenensis</i>     | 0          |
| <i>Pyrgus warrenensis</i>     | 0.23           | 0.77          | <i>Pyrgus alveus</i>          | 0          |
| <i>Colias croceus</i>         | 0              | 0             | <i>Colias erate</i>           | 0.15       |
| <i>Colias erate</i>           | 0              | 0             | <i>Colias croceus</i>         | 0.15       |
| <i>Erebia calcaria</i>        | N/A            | N/A           | <i>Erebia nivalis</i>         | 0.15       |
| <i>Erebia tyndarus</i>        | 0.06           | 0.15          | <i>Erebia nivalis</i>         | 0.15       |
| <i>Lysandra bellargus</i>     | 1.24           | 2.67          | <i>Lysandra coridon</i>       | 0.15       |
| <i>Lysandra coridon</i>       | 0.95           | 1.71          | <i>Lysandra bellargus</i>     | 0.15       |
| <i>Melitaea asteria</i>       | 0.3            | 0.46          | <i>Melitaea aurelia</i>       | 0.46       |
| <i>Melitaea aurelia</i>       | 1.01           | 2.03          | <i>Melitaea asteria</i>       | 0.46       |
| <i>Plebejus argyrognomon</i>  | 0              | 0             | <i>Plebejus idas</i>          | 0.46       |
| <i>Plebejus idas</i>          | 0.1            | 0.31          | <i>Plebejus argyrognomon</i>  | 0.46       |
| <i>Brenthis daphne</i>        | 0.56           | 1.4           | <i>Brenthis ino</i>           | 0.62       |
| <i>Brenthis ino</i>           | 0.61           | 1.87          | <i>Brenthis daphne</i>        | 0.62       |
| <i>Erebia euryale</i>         | 0.09           | 0.62          | <i>Erebia ligea</i>           | 0.66       |
| <i>Erebia ligea</i>           | 0.15           | 0.5           | <i>Erebia euryale</i>         | 0.66       |
| <i>Pyrgus andromedae</i>      | 0.06           | 0.15          | <i>Pyrgus cacaliae</i>        | 0.85       |
| <i>Pyrgus cacaliae</i>        | 0.08           | 0.17          | <i>Pyrgus andromedae</i>      | 0.85       |
| <i>Polyommatus eros</i>       | 0.08           | 0.31          | <i>Polyommatus icarus</i>     | 1          |
| <i>Polyommatus icarus</i>     | 0.82           | 2.5           | <i>Polyommatus eros</i>       | 1          |

### *Colias croceus/Colias erate*

Barcode-Sharing zwischen den morphologisch sehr ähnlichen Arten *Colias croceus* und *C. erate* wird bereits von DINČA et al. (2011a) sowie von HAUSMANN et al. (2011) postuliert und trifft auch für österreichische Populationen zu.

### *Erebia ligea/Erebia euryale* (Abb. 13)

Im Gegensatz zum oben genannten *Pyrgus*-Artenpaar kann hier die von HAUSMANN et al. (2011) für Deutschland festgestellte geringe Distanz nach unseren Daten bestätigt werden. Beide Arten divergieren in Österreich mit minimal 0,66 %, allerdings bei einer erheblichen intraspezifischen Divergenz von maximal 0,5 % (*E. ligea*) bzw. 0,62 % (*E. euryale*). Die sichere Bestimmung mittels DNA-Barcode ist allerdings auf europäischer Ebene nicht mehr gegeben, hier clustern beide Arten gemeinsam und überlappen sich im Barcode!

### *Erebia styx/Erebia stiri*

Die lange umstrittenen Taxa *Erebia styx* und *E. stiri* wurden von JUTZELER et al. (2001a, 2001b) als morphologisch konstant, wenn auch unauffällig getrennte Arten, anerkannt, die teils in Sympatrie auftreten. Eine umfassende weitere Studie widmete sich der Verbreitung, wobei Material aus beinahe allen bisher bekannten Fundorten untersucht werden konnte (JUTZELER et al. 2002a, 2002b). Nach diesen Arbeiten sowie neueren Untersuchungen (DEUTSCH 2017) sind die von uns genetisch erfassten Belege von *E. stiri* aus Osttirol zweifelsfrei. Sie zeigen gemeinsam mit *E. styx* einen weiteren bisher unbekannten Fall von Barcode-Sharing in der europäischen Schmetterlingsfauna und deuten auch diesbezüglich auf eine phylogenetisch junge Aufspaltung hin.

### *Erebia calcaria/Erebia cassioides/*

#### *Erebia tyndarus/Erebia nivalis*

Arten der *Erebia tyndarus*-Gruppe gelten trotz kryptischer morphologischer Merkmale als unumstritten, sie lassen sich allerdings nach bisherigen Erkenntnissen im Barcode nicht differenzieren (HUEMER & HEBERT 2016). Unsere Studie belegt die Übereinstimmung im Barcode, auch für die bislang noch nicht berücksichtigte *E. calcaria*.



Abb. 13: Der abgebildete Weißbindige Mohrenfalter (*Erebia ligea*) und der Weißbindige Bergwald-Mohrenfalter (*Erebia euryale*) unterscheiden sich im DNA-Barcode geringfügig, aber konstant. Foto: Peter Buchner.

### *Coenonympha arcania/Coenonympha gardetta/*

#### *Coenonympha darwiniana*

Der Artstatus von *Coenonympha darwiniana* ist umstritten und das Taxon gilt bei manchen Autoren als Hybrid von *C. gardetta* und *C. arcania*. Die einzige bekannte Population aus Österreich aus Kärnten (St. Jakob im Lesachtal, Mussen) stimmt morphologisch weitgehend mit *C. darwiniana* aus den Südwestalpen überein und wird daher diesem Taxon zugeordnet. Barcode-Sharing aller drei Taxa, also auch der unumstrittenen *C. arcania* und *C. gardetta*, deutet auf mögliche Ingression in dieser Artengruppe hin.

### Barcode-Analyse

#### taxonomisch umstrittener Artenkomplexe

#### *Melitaea athalia*-Komplex

Aufgrund der Anpassungsfähigkeit des Wachtelweizenschneckenfalters (*M. athalia*) wird diese Art in verschiedensten Habitaten aufgefunden. Sie besiedelt sowohl trockene als auch feuchte, magere Lebensräume bis auf eine Höhe von 2000 m (PRO NATURA 2000). Die Artengruppe um *M. athalia* gilt als schwer zu determinieren. Für eine sichere Unterscheidung von *M. britomartis* und *M. aurelia* ist in vielen Fällen eine Genitalpräparation empfehlenswert. Wie in ACHTELIK (2006) diskutiert, ist die Taxonomie des Taxons *M. athalia* noch nicht vollständig geklärt. Im männlichen

Genital lassen sich zwei Formen unterscheiden: *M. athalia* mit Uncusspitzen, deren Verbreitungsgebiet sich von Nordfrankreich nördlich der Alpen in den Osten bis nach Japan zieht und die uncusspitzenlose *M. athalia celadussa*, welche sowohl in der Schweiz, Südfrankreich und wieder in der Spanischen Sierra Nevada vorkommt. In den Überlappungsgebieten gibt es alle Übergänge zwischen den beiden Genitalformen. Dies lässt auf Hybridisierung schließen, welche ACHTELIK (2006) anhand genetischer Untersuchung verschiedener Loci bestätigt. Er vermutet, dass sich während der Eiszeit und des damit ausgeprägten Eisschildes Populationen nördlich und südlich der Alpen differenzieren konnten. Allerdings fand nach diesem Autor keine abgeschlossene Speziation statt. Nach Rückzug der Gletscher bildete sich eine funktionelle Fortpflanzungsgemeinschaft, obwohl sich in den genetischen Daten drei Gruppen erkennen lassen: eine Nordgruppe, eine Südgruppe und die polnische Population. Die Barcodeergebnisse spiegeln diese Untersuchungen nicht wider. Im Ähnlichkeitsbaum sind 2 Cluster von *M. athalia* zu erkennen, welche mit durchschnittlich 4,11 % voneinander

getrennt sind. *M. athalia athalia* ist im Barcode von *M. aurelia*, *M. parthenoides*, *M. varia*, *M. asteria* und *M. britomartis* geringer unterschieden als von *M. athalia celadussa*. Tiere aus beiden Clustern konnten in Österreich festgestellt werden. Belege aus dem oberen Inntal Nordtirols sowie teilweise auch aus Vorarlberg gehören dem Cluster *M. a. celadussa* an. Die untersuchten Belege weisen jedoch Uncusspitzen auf und sind hiermit ein Hinweis auf Hybridisierung. Auch AISTLEITNER (1999) postuliert für Vorarlberg und Liechtenstein eine Hybridisierungszone. Bemerkenswert erscheinen in diesem Zusammenhang letztlich die Ergebnisse einer umfassenden genetischen Studie von LENEVEU et al. (2009). Demnach ist *M. celadussa*, in der genannten Arbeit auf Artstatus erhoben, nicht das Schwestertaxon von *M. athalia* und mit dieser nicht direkt verwandt.

#### *Euphydryas aurinia*-Komplex (Abb. 15)

Der Goldene Scheckenfalter (*Euphydryas aurinia*) tritt in Österreich einerseits in Niedermooren und extensiven Wiesen der Tallagen bis in die montane Region auf, anderer-

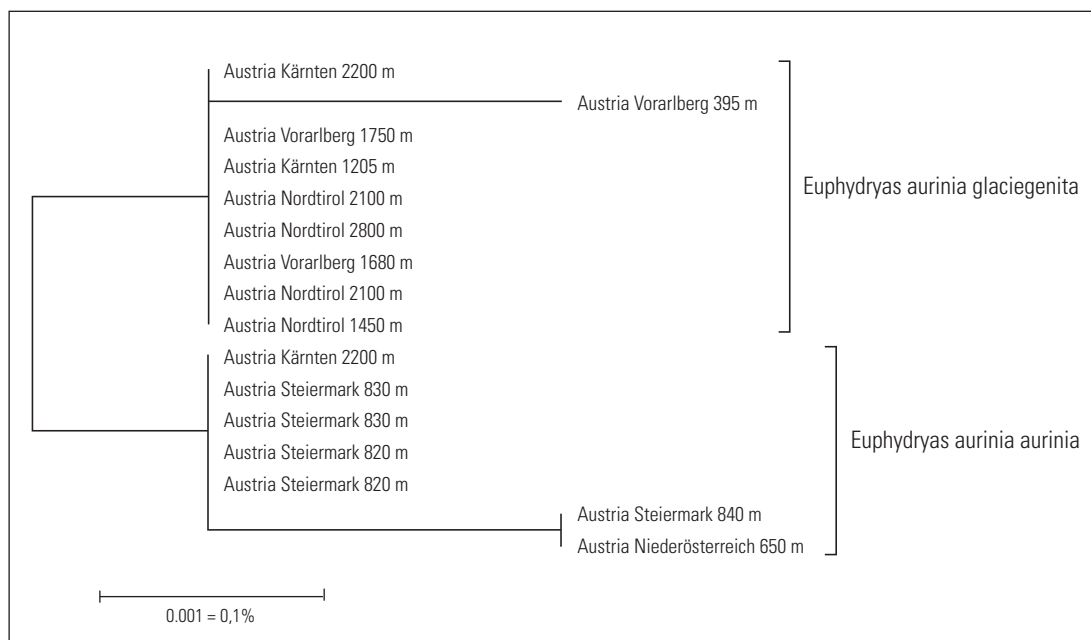


Abb. 14: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der österreichischen sequenzierten Proben von *Euphydryas aurinia* (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Datenquelle: BOLD.



Abb. 15: Der in Europa streng geschützte Goldene Scheckenfalter (*Euphydryas aurinia*) kommt in Österreich in gefährdeten Talpopulationen sowie einer ungefährdeten Gebirgsunterart vor. Foto: Peter Huemer.

seits oberhalb der Waldgrenze. Diese Populationen lassen sich auch phänotypisch trennen, der taxonomische Status ist jedoch äußerst umstritten und schwankt je nach Autor zwischen Unterarten bis hin zu Semispezies (BALLETO et al. 2014). Da es sich um eine in den Anhängen II und IV der Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie gelistete und somit streng geschützte Art handelt, für die Schutzgebiete auszuweisen sind, ist diese Diskrepanz von erheblicher naturschutzrechtlicher Relevanz. DNA-Barcode Sequenzen aus Österreich divergieren zwar konstant, jedoch minimal und unterstützen somit eher zwei Unterarten, *E. aurinia aurinia* und *E. aurinia glaciegenita*, als zwei separate Arten (Abb. 14). Unter Berücksichtigung aller in BOLD frei verfügbaren Sequenzen von *E. aurinia* ergibt sich jedoch ein differenziertes Bild. Sequenzen von rumänischen Tieren aus dem Flachland clustern hier gemeinsam mit alpinen *E. aurinia glaciegenita*.

#### ***Lycaena tityrus*-Komplex**

Der taxonomische Status von *Lycaena tityrus* und *Lycaena subalpinus* ist in Fachkreisen umstritten. Letztere gilt meist als Unterart, wurde jedoch bei HUEMER (2013) überhaupt nicht mehr separat aufgelistet. BALLETO et al. (2014) vertreten jedoch neuerdings wieder die Ansicht, dass es sich bei beiden Taxa um parapatrisch verbreitete Arten handelt, die in wenigen räumlich begrenzten Gebieten wie beispielsweise den südlichen Dolomiten Hybridpopulationen bilden. Geringfügige konstante Barcode-Divergenzen in unserem Datensatz

unterstützen die These von zwei separat zu behandelnden Taxa (Abb. 16). Auch bei Berücksichtigung weiterer Sequenzen aus Spanien oder Rumänien clustert das Taxon *subalpinus* separat, jedoch zunehmend geringfügiger.

#### ***Phengaris alcon*-Komplex**

Der taxonomische Status des Lungenenzian-Bläulings (*Phengaris alcon*) und des Kreuzenzian-Bläulings (*Phengaris rebeli*) ist trotz einer Vielzahl von Untersuchungen umstritten (siehe KUDRNA & FRIC 2013). Unsere Proben umfassen jedenfalls Exemplare beider Taxa, die jedoch durch völlig übereinstimmende DNA-Barcodes keine Unterstützung finden.

#### **Deep splits – intraspezifische Variation versus interspezifische kryptische Diversität**

##### **Sympatrische Divergenzen**

Eine Reihe von Arten weisen selbst innerhalb von Populationen eine auffallend divergente genetische Struktur im DNA-Barcode auf, mit teils mehreren deep splits (siehe Tabelle 1). Die Ursachen für diese genetischen Aufspaltungen können vielfältige Ursachen haben, die von Introgression bis hin zu Wolbachia-Infektionen reichen können. Stellvertretend werden hier zwei Beispiele angeführt.

##### ***Thymelicus sylvestris***

DNA-Barcodes von *Thymelicus sylvestris* aus Österreich gruppieren in 3 deutlich getrennte genetische Linien, in Europa sind es sogar 5. Daraus ergibt sich eine maximale innerartliche Divergenz von 4,26 %. Trotz dieser ungewöhnlichen Distanzen gibt es aktuell keine Hinweise auf kryptische Diversität.

##### ***Colias palaeno* (Abb. 17)**

Die Art tritt in Österreich in drei nach aktuellem Datenstand geografisch nicht scharf getrennten Clustern auf. Eine Linie clustert gemeinsam mit *Colias phicomone*. KRAMP et al. (2016) vermuten hier eine Hybridisierung mit *C. phicomone* während einer der letzten Eiszeiten. Mit 10,25 % maximaler intraspezifischer Divergenz ist *Colias palaeno* ein extremes Beispiel genetischer Variabilität. Nach den verfügbaren Daten in BOLD weisen viele morphologisch differenzierte

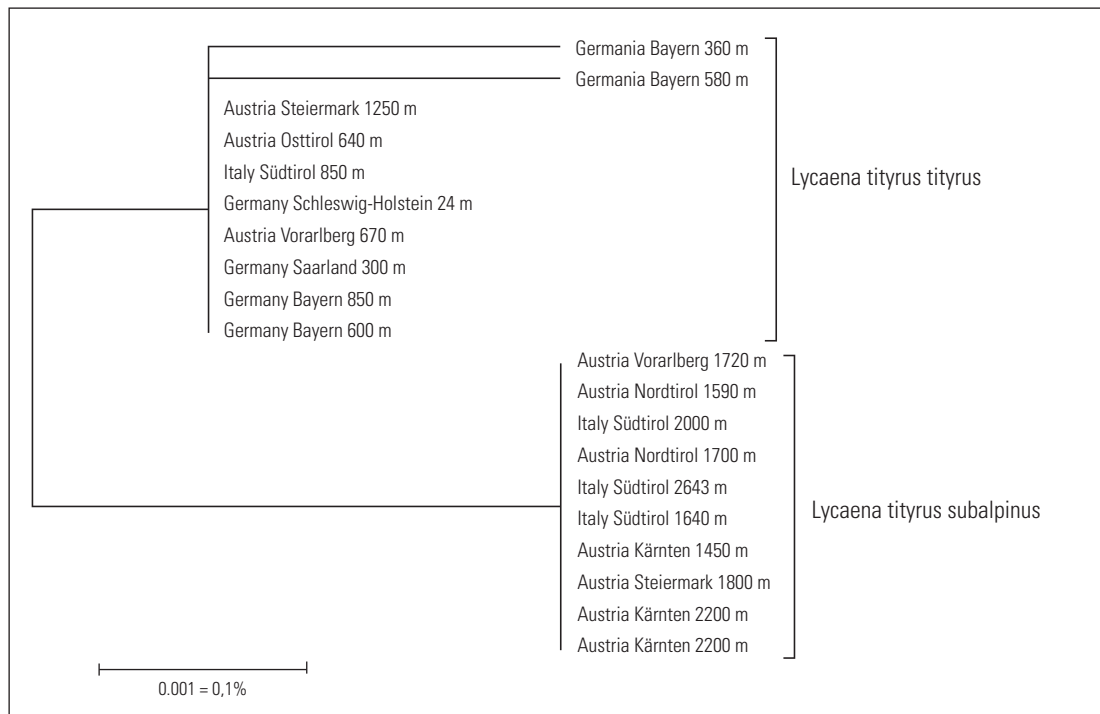


Abb. 16: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der mitteleuropäischen sequenzierten Proben von *Lycaena tityrus* (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Datenquelle: BOLD.

*Colias*-Arten keine oder nur geringe intraspezifische Divergenzen auf. So finden sich beispielsweise innerhalb des BIN BOLD:AAA3447 etwa 50 gemeinsam clusternde Taxa! WHEAT & WATT (2008) vermuten, dass viele Arten der Gattung *Colias* phylogenetisch jung und daher im Barcode noch nicht getrennt sind. Weiteres sind auch Fälle von Hybridisierung bekannt (WANG & PORTER 2004).

#### Geografisch korrelierte Divergenzen

Eine beachtliche Anzahl der Tagfalterarten Österreichs weist unterschiedliche, geografisch korrelierte Divergenzen auf, die phylogeografische Muster und somit glaziale Refugial- und postglaziale Besiedlungsprozesse abbilden. Vor allem tiefe Splits sind zukünftig in integrativ-taxonomischen Studien auf mögliche kryptische Diversität zu prüfen. Allerdings finden sich bei einer Reihe von Arten eher geringfügige, geografisch korrelierte Divergenzen im DNA-Barcode, die ebenfalls besondere Beachtung verdienen, sind sie

doch ein Spiegelbild der genetischen Vielfalt dieser Arten in Österreich. Zu diesen Taxa zählen beispielsweise *Hipparchia semele*, *Oeneis glacialis*, *Polyommatus amandus*, *Polyommatus thersites* und *Plebejus argus*.



Abb. 17: Der Hochmoorgelbling (*Colias palaeno*) zeigt das höchste Ausmaß genetischer Variabilität innerhalb der Tagfalter Österreichs. Foto: Peter Buchner.



Mehrere auffallende Beispiele mit deutlich getrennten Clustern werden hier kurz beschrieben.

#### *Parnassius mnemosyne* (Abb. 18)

Verschiedene Autoren, u. a. DINCĂ et al. (2015), weisen zwei signifikant um 2,6 % getrennte allopatrische genetische Linien des Schwarzen Apollo (*Parnassius mnemosyne*) in Europa nach. Die westliche Linie kommt in Vorarlberg und dem westlichsten Nordtirol vor, die östliche vom östlichen Nordtirol bis nach Ost- und Südösterreich. Die westlichen Populationen gehören nach HASLBERGER & SEGERER (2016) zur ssp. *korbi*, allerdings ist die finale taxonomische Bewertung offen, und es besteht die Möglichkeit, dass in Österreich zwei vikariierende Arten vorkommen.



Abb. 18: Der taxonomische Status der beiden nachgewiesenen genetischen Linien des Schwarzen Apollos (*Parnassius mnemosyne*) ist noch ungeklärt. Foto: Peter Huemer.

#### *Limnitis camilla*

DINCĂ et al. (2015) belegen in Europa zwei allopatrische genetische Linien, die nach unseren Untersuchungen beide in Österreich vertreten sind. Nach erweiterten aktuellen Daten scheint eine der beiden Linien überwiegend südwest-europäisch verbreitet zu sein, das Areal reicht jedoch bis

nach Südkorea. Die zweite Linie wurde von Frankreich bis nach Rumänien nachgewiesen. Erstere wurde in Österreich aus dem Westen nachgewiesen, letztere aus dem Osten des Bundesgebietes. Demnach lässt sich aus dem europäischen Datensatz keine zweifelsfreie geografische Trennung ableiten, und weitere Untersuchungen in den Grenzregionen sind erforderlich, um dieses Problem abzuklären.

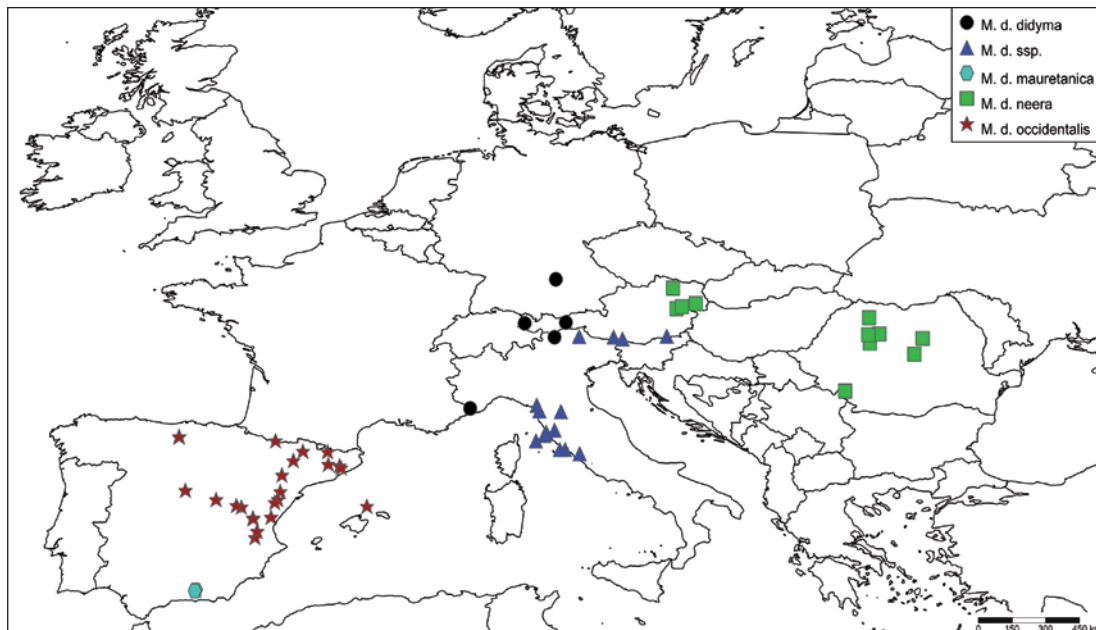


Abb. 19: Verbreitungskarte der sequenzierten Proben der Unterarten von *Melitaea didyma*. Erstellt mit SimpleMappr. Datenquelle: BOLD.



Abb. 20: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der sequenzierten Proben von *Melitaea didyma* (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Datenquelle: BOLD.

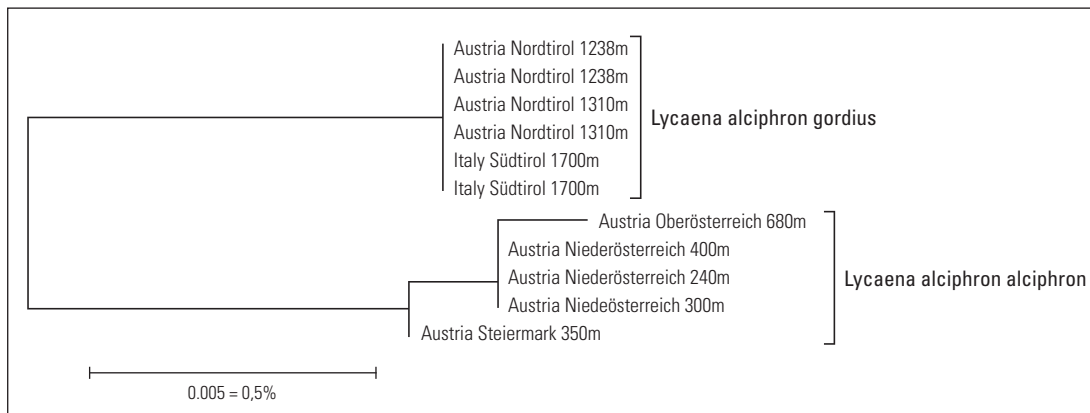


Abb. 21: Neighbor-Joining Tree zur Abbildung genetischer Distanzen der sequenzierten Proben von *Lycaena alciphron* (Kimura 2-Parameter, konstruiert mit MEGA 6; cf. TAMURA et al. 2013). Datenquelle: BOLD.

### *Melitaea didyma* (Abb. 1)

Der *Melitaea didyma*-Komplex ist aufgrund seines großen Verbreitungsgebiets, der umstrittenen Taxonomie und der schwer zu differenzierenden Arten in den letzten 20 Jahren sowohl morphologisch (KOLESNICHENKO 1999, KOLESNICHENKO et al. 2011) als auch genetisch (PAZHENKOVA et al. 2015, PAZHENKOVA & LUKHTANOV 2016) eingehend erforscht worden. PAZHENKOVA et al. (2015) diskutieren den Status genetisch separater Linien in Europa als mögliche separate Arten. In einer weiteren Studie werden die insgesamt sieben Haplogruppen des *M. didyma*-Komplexes jedoch tentativ als weitgehend allopatrisch verbreitete Unterarten bewertet, mit Nachweisen von vier Unterarten in Europa (Abb. 19–20). In Österreich konnten nunmehr erstmals *M. d. neera* für Niederösterreich nachgewiesen und *M. d. didyma* für Vorarlberg und Nordtirol bestätigt werden. Eine weitere von PAZHENKOVA et al. (2015) sowie PAZHENKOVA & LUKHTANOV (2016) nicht bearbeitete Unterart mit Vorkommen südlich der Alpen auf der Italienischen Halbinsel, in Südfrankreich und Slowenien sowie nach unseren Untersuchungen auch in Kärnten und der Steiermark, ist namentlich noch nicht sicher fixiert.

### *Melitaea cinxia*

Die genetische Auswertung von *Melitaea cinxia*-Barcodes aus dem gesamten Verbreitungsgebiet hat gezeigt, dass diese Art eine deutliche phylogeografische Struktur auf-

weist (WAHLBERG & SACCHERI 2007). Die genannten Autoren separieren die Haplotypen in eine stark divergente nordafrikanische Linie (Marokko) sowie einen westlichen (Iberische Halbinsel, Frankreich, Italien und die Isle of Wight), östlichen (Zentralschweden, Finnland bis nach Nordwestchina und Nordiran) und zentralen (Mitteleuropa, von Südschweden über Norditalien bis in Türkei und den Libanon) Cluster. Die Sequenzen aus dem nördlichen und südwestlichen Niederösterreich sowie aus dem Burgenland und Südkärnten gehören zum östlichen, jene aus dem östlichen Niederösterreich zum zentralen, und jene aus Nordtirol und dem mittleren Kärnten zum westlichen Cluster.



Abb. 22: Eine oder gar zwei Arten – das ist eine der ungelösten Fragen beim Violetter Feuerfalter (*Lycaena alciphron*). Foto: Peter Buchner.

### *Lycaena alciphron* (Abb. 22)

Der Violette Feuerfalter (*Lycaena alciphron*) wird in Mitteleuropa in zwei phänotypisch gut differenzierte Unterarten untergliedert. Die Nominatunterart sowie die ssp. *gordius*. DNA-Barcode Daten aus Österreich clustern signifikant unterschiedlich (Abb. 21). Dies unterstützt das Vorliegen von zwei Taxa, deren taxonomischer Status überprüfungsbedürftig erscheint. Der NJ-Tree wurde ausschließlich mit mitteleuropäischen Sequenzen erstellt, im gesamt-europäischen Vergleich findet man in Spanien noch einen dritten Cluster.

## 4. DISKUSSION

DNA-Barcoding gewinnt in Mitteleuropa durch mehrere nationale Forschungsvorhaben wie ABOL (Austrian Barcode of Life) oder GBOL (German Barcode of Life) zunehmend an Bedeutung für eine genetisch gesicherte Artbestimmung. Diese basiert wesentlich auf der weitgehenden Kongruenz molekularer Ergebnisse und diagnostisch-morphologischer Merkmale. Die Übereinstimmung wurde bei Schmetterlingen für große Artenzahlen mehrfach belegt (HAUSMANN et al. 2011, HUEMER & HEBERT 2015, 2016) und scheint in der Ordnung überdies weitgehend unabhängig von geografischen Distanzen der Proben zu sein (LUKHTANOV et al. 2009, HUEMER et al. 2014, MUTANEN et al. 2012). Eine ähnlich große Erfolgsrate in der zweifelsfreien Determination gilt aber auch für viele andere Insekten wie z. B. Hautflügler (SCHMIDT et al. 2015), Käfer (HENDRICH et al. 2015), Netzflügler (MORINIÈRE 2014) sowie weitere Tiergruppen wie z. B. Wirbeltiere (KNEBELSBERGER et al. 2014). In allen genannten Studien wurden aber auch ungeklärte Inkongruenzen gefunden, vielfach kryptische Diversität (RAUPACH et al. 2015). Die Tagfalter Österreichs machen sowohl bezüglich genetisch basierter Bestimmungs-Erfolgsrate als auch in Hinblick auf mögliche versteckte kryptische Diversität grundsätzlich keine Ausnahme. Insgesamt lassen sich 180 von 212 Arten (84,9 %) zweifelsfrei mit DNA-Barcodes determinieren. Das scheint auf den ersten Blick ein ausgezeichneter Wert, er ist allerdings deutlich niedriger als in taxonomisch umfassenden

Studien der mitteleuropäischen Schmetterlingsfauna wie bei Großschmetterlingen Bayerns mit diagnostischen Barcodes für etwa 99 % des Artenbestandes (HAUSMANN et al. 2011). Auch HUEMER & HEBERT (2016) fanden für 2563 Schmetterlingsarten des zentralen Alpenraumes ebenfalls nur bei 43 Arten Barcode-Sharing bzw. bei weiteren 41 Arten geringe Divergenzen. Insgesamt liegt der Anteil an sicher durch Barcodes bestimmbaren Arten in dieser Studie bei etwa 97 % und somit ebenfalls signifikant höher als die Barcode Performance bei österreichischen Tagfaltern. Ähnlich deutlich weichen die Erfolgsaussichten bei Bestimmung mittels BIN ab. Während HUEMER & HEBERT (2016) bei 2442 Arten aus Tirol und Südtirol für 95,2 % eine sichere Determination über BINs vermerken, sind es in unserer Studie lediglich 77,4 % des Artenbestandes, die sich über BINs zweifelsfrei einer Art zuordnen lassen.

Die Ursachen für diese Diskrepanzen könnten einerseits in einer teilweise übersplitteten Taxonomie bei Tagfaltern liegen, wie beispielsweise die umstrittenen Artenpaare *Phengaris alcon/Phengaris rebeli* und *Coenonympha gartetta/Coenonympha darwiniana*. Die weit fortgeschrittene integrativ-taxonomische Bearbeitung vieler Tagfalter mit gut begründeter Abgrenzung phylogenetisch junger und genetisch mittels DNA-Barcodes nicht differenzierter Arten, beispielsweise im *Erebia tyndarus*-Artenkomplex, deutet aber eher darauf hin, dass in anderen weniger bekannten Schmetterlingsgruppen mit erheblicher versteckter Diversität zu rechnen ist.

Allerdings finden sich auch trotz der weit fortgeschrittenen Taxonomie selbst bei den Tagfaltern Österreichs noch erstaunliche Fälle ungeklärter genetischer Vielfalt. Sie spiegelt bei mehreren Arten mit großer Wahrscheinlichkeit phylogeografische Muster wider, wenn nicht sogar kryptische Diversität. Eindrucksvolle Beispiele finden sich unter anderem innerhalb der höchst umstrittenen Arten *Melitaea didyma*, *Melitaea cinxia* und *Melitaea varia* oder auch *Parnassius mnemosyne*. Weitere umfassende integrative Studien werden nötig sein, um einen Konsens zur taxonomischen Bewertung dieser Vielfalt zu erreichen.

Abgesehen von möglicher kryptischer Diversität können auch andere Szenarien ursächlich für die nachgewiesenen

genetischen Muster verantwortlich sein. So wurden die möglichen Auswirkungen von endosymbiotischen Parasiten nicht berücksichtigt. Hier ist vor allem auf das Bakterium *Wolbachia* hinzuweisen, welches verschiedenste Auswirkungen auf das Sexualverhalten und auf die genetische Struktur der jeweiligen Wirtsart haben kann. Ein Beispiel hierfür ist der selektive sweep, welcher zu geringer genetischer Diversität führen kann (GRAHAM & WILSON 2012, RAYCHOUDHURY et al. 2010). *Wolbachia* kann aber auch mittels cytoplasmatischer Inkompatibilität zu deep splits führen, auch Hybridisation kann durch *Wolbachia*-Befall ermöglicht werden (WERREN et al. 2008).

## 5. DANK

Besonders herzlicher Dank für die materielle und immaterielle Unterstützung des Forschungsprojektes geht an Blühendes Österreich – REWE International gemeinnützige Privatstiftung, insbesondere an den Vorstand sowie an den Geschäftsführer Mag. Ronald Würflinger. Darüber hinaus wurden etliche Proben im Rahmen unterschiedlicher Forschungsprogramme sequenziert. Dank für Förderungen ergeht hier vor allem an die Autonome Provinz Bozen – Südtirol, Abteilung Bildungsförderung, Universität und Wissenschaft (Projekte „Erstellung einer DNA-Barcode-Bibliothek der Schmetterlinge des zentralen Alpenraumes – Autonome Provinz Bozen – Südtirol; Land Tirol“ bzw. „Genetische Artabgrenzung ausgewählter arktalpiner und boreomontaner Tiere Südtirols“), das Bundesministerium für Wissenschaft, Forschung und Wirtschaft (Projekt ABOL – Austrian Barcode of Life) und die inatura – Erlebnis Naturschau Dornbirn. Besonderen Dank schulden wir dem großartigen Team des Canadian Centre of DNA-Barcoding (Guelph, Ontario, Kanada) sowie dem BOLD Management & Analysis System und Genome Canada (Ontario Genomic Institute) für Sequenzierungen und deren Co-Finanzierung im Rahmen des iBOL-Projektes sowie Datenbankanalysen. Sequenzanalysen wurden durch Finanzmittel von Genome Canada über das Ontario Genomics Institute als Unterstützung des International Barcode of Life Projektes ermöglicht. Schließlich gebührt

dem Ontario Ministry of Research and Innovation für die Unterstützung von BOLD herzlicher Dank.

Zahlreiche Kollegen unterstützten die Arbeiten mit wertvollem Material, unser Dank gebührt insbesondere

Mag. Peter Buchner, Prof. Gernot Embacher, Dr. Rupert Fauster, Dr. Patrick Gros, Gerhard Krautberger, Mag. Kurt Lechner, Dr. Markus Rachinger, Dr. Wolfgang Stark, Mag. Manuel Vielgut und Dr. Christian Wieser.

Dr. Vlad Dincă stellte großzügig im Rahmen des Projektes EUGENMAP ermittelte Sequenzen aus Österreich zur Verfügung.

Stefan Heim war mit fotografischer Dokumentation der BOLD-Daten eine große Hilfe, Mag. Hannes Kühtreiber bei der Datenbearbeitung für BOLD, Barbara Breit-Schwaninger beim Korrektur lesen.

Für fachliche Hinweise bzw. Korrekturen danken wir Dr. Axel Hausmann sowie Prof. Dr. Thomas Schmitt.

Dem Direktor der Tiroler Landesmuseen, Dr. Wolfgang Meighörner, wird für seine zukunftsweisende Unterstützung des genetischen Forschungszweiges herzlichst gedankt.

## 6. LITERATUR

- Achtelik, G. (2006): Molekularbiologische Analyse der genetischen Diversität des *Melitaea athalia/cedalussa*-Komplexes (Lepidoptera: Nymphalidae) unter Anwendung der ISSR-PCR auf Art-, Unterart- und Populationsebene. <http://www-brs.ub.ruhr-uni-bochum.de/netahtml/HSS/Diss/AchtelikGerdo/diss.pdf>.
- Aistleitner, E. (1999): Schmetterlinge Vorarlbergs 1. Vorarlberger Naturschau, Dornbirn, 377 S.
- Balletto, E., Cassulo, L. A. & Bonelli, S. (2014): An annotated Checklist of the Italian Butterflies and Skippers (Papilionoidea, Hesperioidea). Zootaxa 3853 (1), S. 1114. DOI: <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3853.1.1>
- de Waard, J. R., Ivanova, N. V., Hajibabaei, M. & Hebert, P. D. N. (2008): Assembling DNA Barcodes: Analytical Protocols. S. 275–293. In: Cristofre, M. (Hg.): Methods in Molecular Biology: Environmental Genetics. Humana Press Inc., Totowa, USA, 364 S.

- Deutsch, H. (2017): Die Schmetterlinge Osttirols. Eine bebilderte Checkliste mit Verbreitungskarten. <http://helmut-deutsch-schmetterlingsforschung.at/>
- Dincă, V., Zakharov, E. V., Hebert, P. D. N. & Vila, R. (2011a): Complete DNA barcode reference library for a country's butterfly fauna reveals high performance for temperate Europe. *Proceedings of the Royal Society B* 278, S. 347–355. doi:10.1098/rspb.2010.1089
- Dincă, V., Lukhtanov, V. A., Talavera, G. & Vila, R. (2011b): Unexpected layers of cryptic diversity in wood white *Leptidea* butterflies. *Nature Communications* 2: 324. doi: 10.1038/ncomms1329
- Dincă, V., Montagud, S., Talavera, G., Hernández-Roldán, J., Munguira, M. L., García-Barros, E., Hebert, P. D. N. & Vila, R. (2015): DNA barcode reference library for Iberian butterflies enables a continental-scale preview of potential cryptic diversity. *Scientific Reports* 5 (12395). doi: 10.1038/srep12395
- Ebert, G. & Rennwald, E. (1991): Die Schmetterlinge Baden-Württembergs. Band 2: Tagfalter II. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 535 S.
- Graham, R. I. & Wilson, K. (2012): Male-killing *Wolbachia* and mitochondrial selective sweep in a migratory African insect. *BMC evolutionary biology* 12 (204).
- Haslberger, A. & Segerer, A. H. (2016): Systematische, revidierte und kommentierte Checkliste der Schmetterlinge Bayerns (Insecta: Lepidoptera). *Mitteilungen der Münchner Entomologischen Gesellschaft* 106 (Suppl.), 336 S.
- Hausmann, A., Haszprunar, G., Segerer, A. H., Speidel, W., Behounek, G. & Hebert, P. D. N. (2011): Now DNA-barcoded: the butterflies and larger moths of Germany (Lepidoptera: Rhopalocera, Macroheterocera). *Spixiana* 34, S. 47–58.
- Hendrich, L., Morinière, J., Haszprunar, G., Hebert, P. D. N., Hausmann, A., Köhler, F. & Balke, M. (2014): A comprehensive DNA barcode database for Central European beetles with a focus on Germany: adding more than 3500 identified species to BOLD. *Molecular Ecology Resources*. doi: 10.1111/1755-0998.12354.
- Hernandez-Roldan, J. L., Dapporto, L., Dincă, V., Vicente, J. C., Hornett, E. A., Sichova, J., Lukhtanov, V. A., Talavera, G., & Vila, R. (2016): Integrative analyses unveil speciation linked to hostplant shift in *Spialia* butterflies. *Molecular Ecology*. doi: 10.1111/mec.13756
- Höttinger, H., Pendl, M., Wiemers, M. & Pospisil, A. (2013): Insekten in Wien – Tagfalter. In: Zettel, H., Gaal-Haszler, S., Rabitsch, W. & Christian, E. (Hrsg.): Insekten in Wien. Österreichische Gesellschaft für Entomofaunistik, Wien, 349 S.
- Höttinger, H. & Pennerstorfer, J. (2005): Rote Liste der Tagschmetterlinge Österreichs (Lepidoptera: Papilionoidea & Hesperioidea). In: Zulka, P. (Hg.): Rote Listen der gefährdeten Tiere Österreichs. Checklisten, Gefährdungsanalysen, Handlungsbedarf. Teil 1: Säugetiere, Vögel, Heuschrecken, Wasserkäfer, Netzflügler, Schnabelfliegen, Tagfalter. Grüne Reihe des Lebensministeriums Band 14/1. Böhlau Verlag, Wien, Köln, Weimar, S. 313–354.
- Huemer, P. (2013): Die Schmetterlinge Österreichs (Lepidoptera). Systematische und faunistische Checkliste. *Studiohefte* 12, 304 S.
- 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* 16, S. 141–164.
- Huemer, P., Mutanen, M., Sefc, K. M. & Hebert, P. D. N. (2014): Testing DNA barcode performance in 1000 species of European Lepidoptera: Large geographic distances have small genetic impacts. *PLOS ONE* 9 (12): e115774. doi:10.1371/journal.pone.0115774.
- Jutzeler, D., Rebeušek, F., Sala, G. & Verovnik, R. (2001a): The confirmation of the specificity of *Erebia stiri* (Godart, 1824) and *Erebia styx* (Freyer, 1834), diagnosed by Lorkovic (1952) with a nomenclatural abstract concerning the specific names of the "styx/stirius"-complex (Lepidoptera: Nymphalidae, Satyrinae) (1<sup>st</sup> part). *Linneana Belgica* 18 (3), S. 113–124.



- Jutzeler, D., Rebeušek, F., Sala, G. & Verovnik, R. (2001b). The confirmation of the specificity of *Erebia stiri* (Godart, 1824) and *Erebia styx* (Freyer, 1834), diagnosed by Lorkovic (1952) with a nomenclatural abstract concerning the specific names of the *styx/stiri*-complex (Lepidoptera: Nymphalidae, Satyrinae) (2<sup>nd</sup> part). Linneana Belgica 18 (4), S. 175–186.
- Jutzeler, D., Sala, G., Morandini, C., Verovnik, R. & Volpe, G. (2002a): The identification, variation, races and distribution of *Erebia styx* (Freyer, 1834) and *E. stiri* (Godart, 1824) (Lepidoptera: Nymphalidae, Satyrinae) (4<sup>th</sup> part of the *styx/stiri*-series devoted to *Erebia stiri*). Linneana Belgica 18 (7), S. 335–350.
- Jutzeler, D., Sala, G., Morandini, C., Verovnik, R. & Volpe, G. (2002b): The identification, variation, subspecies and distribution of *E. styx* (Freyer, 1834) and *E. stiri* (Godart, 1824) (Lepidoptera: Nymphalidae, Satyrinae) (3<sup>rd</sup> part of the *styx/stiri*-series devoted to *Erebia styx*). Linneana Belgica 18 (5), S. 205–220.
- Kneibelsberger, T., Dunz, A. R., Neumann, D. & Geiger, M. F. (2014): Molecular Diversity of Germany's Freshwater Fishes and Lampreys assessed by DNA barcoding. Molecular Ecology Resources. doi: 10.1111/1755-0998.12322.
- Kolesnichenko, K. A. (1999): A review of the East Palaearctic taxa of the *Melitaea didyma* (Esper, [1779])-group. 1. The *M. ala* Staudinger, 1881 – *M. chitralensis* Moore, 1901 – complex. Atalanta 30, S. 87–117.
- Kolesnichenko, K. A., Churkin, S. V., Berdiev, R. K. (2011): A review of the East Palaearctic taxa of the *Melitaea didyma* (Esper, [1779]) – group. Part II. Neue Entomologische Nachrichten 67, S. 257–278.
- Kudrna, O. & Fric, Z. F. (2013): On the identity and taxonomic status of *Lycaena alcon rebeli* Hirschke, 1905 – a long story of confusion and ignorance resulting in the fabrication of a “ghost species” (Lepidoptera: Lycaenidae). Nachrichten des entomologischen Vereins Apollo, N. F. 34 (3), S. 117–124.
- Kramp, K., Cizek, O., Madeira, P. M., Ramos, A. A., Konvicka, M., Castilho, R. & Schmitt, T. (2016): Genetic implications of phylogeographical patterns in the conservation of the boreal wetland butterfly *Colias palaeno* (Pieridae). Biological Journal of the Linnean Society 119 (4), S. 1068–1081.
- Leneveu, J., Chichvarkhin, A. & Wahlberg, N. (2009): Varying rates of diversification in the genus *Melitaea* (Lepidoptera: Nymphalidae) during the past 20 million years. Biological Journal of the Linnean Society 97, S. 346–361.
- Lukhtanov, V. A., Sourakov, A., Zakharov, E. V. & Hebert, P. D. N. (2009): DNA barcoding Central Asian butterflies: increasing geographical dimension does not significantly reduce the success of species identification. Molecular Ecology Resources 9, S. 1302–1310.
- Morinière, J., Hendrich, L., Hausmann, A., Hebert, P. D. N., Haszprunar, G. & Gruppe, A. (2014): Barcoding Fauna Bavarica: 78 % of the Neuropterida Fauna Barcoded!. PLoS ONE 9 (10): e109719. doi:10.1371/journal.pone.0109719.
- Mutanen, M., Hausmann, A., Hebert, P. D. N., Landry, J.-F., de Waard, J. R. & Huemer, P. (2012): Allopatry as a Gordian knot for taxonomists: Patterns of DNA barcode divergence in arctic-alpine Lepidoptera. PLoS ONE 7 (10), e47214. doi:10.1371/journal.pone.0047214.
- Paar, M. (2004): Biodiversität in Österreich. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien, 28 S.
- Pazhenkova, E. A., Zakharov, E. V. & Lukhtanov, V. A. (2015): DNA barcoding reveals twelve lineages with properties of phylogenetic and biological species within *Melitaea didyma* sensu lato (Lepidoptera, Nymphalidae). Zookeys 538, S. 35–46. doi:10.3897/zookeys.538.6605
- Pazhenkova, E. A. & Lukhtanov, V. A. (2016): Chromosomal and mitochondrial diversity in *Melitaea didyma* complex (Lepidoptera, Nymphalidae): eleven deeply diverged DNA barcode groups in one non-monophyletic species? Comparative Cytogenetics 10 (4), S. 697–717. doi.org/10.3897/CompCytogen.v10i4.11069
- Pro Natura – Schweizer Bund für Naturschutz (Hg.) (1994): Tagfalter und ihre Lebensräume. Schweiz und angrenzende Gebiete Arten – Gefährdung – Schutz. Foto-rotar AG, Druck-Verlag, 516 S.

- Raychoudhury, R., Grillenberger, B. K., Gadau, J., Bijlsma, R., van de Zande, L., Werren, J. H. & Beukeboom, L. W. (2010): Phylogeography of *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera) indicates a mitochondrial-*Wolbachia* sweep in North America. *Heredity* 104 (3), S. 318–326.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P. D. N. (2013): A DNA-based registry for all animal species: The Barcode Index Number (BIN) System. *PLoS ONE* 8 (8), e66213. doi:10.1371/journal.pone.0066213.
- Raupach, M. J., Hendrich, L., Kückler, S. M., Deister, F., Morinière, J. & Gossner, M. M. (2014): Building-Up of a DNA Barcode Library for True Bugs (Insecta: Hemiptera: Heteroptera) of Germany Reveals Taxonomic Uncertainties and Surprises. *PLoS ONE* 9 (9), e106940. doi:10.1371/journal.pone.0106940.
- Schmidt, S., Schmid-Egger, C., Morinière, J., Haszprunar, G. & Hebert, P. D. N. (2015): DNA barcoding largely supports 250 years of classical taxonomy: identifications for Central European bees (Hymenoptera, Apoidea partim). *Molecular Ecology Resources*, DOI: 10.1111/1755-0998.12363.
- Settele, J., Feldmann, R. & Reinhardt, R. (1999): Die Tagfalter Deutschlands. – Ein Handbuch für Freilandökologen, Umweltplaner und Naturschützer. Ulmer Verlag, Stuttgart, 452 S.
- Shorthouse, D. P. (2010): SimpleMappr, an online tool to produce publication-quality point maps. [<http://www.simplemappr.net>. Abgerufen am 5.6.2017].
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiński, A. & Kumar, S. (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30 (12), S. 2725–2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.
- Todisco, V., Fiedler, K., Puliga, E., Dincă, V. E., Voda, R. & Grill, A. (2015): The origin of the Sardinian Blue, *Pseudophilotes barbagiae* (Lepidoptera: Lycaenidae): Out-of-Europe or Out-of-Africa? In: Scientific abstracts from the 6th International Barcode of Life Conference / Résumés scientifiques du 6e congrès international Barcode of Life. *Genome* 58 (5), S. 163–303, 10.1139/gen-2015-0087.
- Wang, B. & Porter, A. H. (2004): An AFLP-based interspecific linkage map of sympatric, hybridizing *Colias* butterflies. *Genetics* 168, S. 215–225.
- Wahlberg, N. & Saccheri, I. (2007): The effects of Pleistocene glaciations on the phylogeography of *Melitaea cinxia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *European Journal of Entomology* 104, S. 675–684.
- Werren, J. H., Baldo, L. & Clark, M. E. (2008): *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews Microbiology* 6, S. 741–751.
- Wheat, C. W. & Watt, W. B. (2008): A mitochondrial-DNA-based phylogeny for some evolutionary-genetic model species of *Colias* butterflies (Lepidoptera, Pieridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47 (3), S. 893–902.

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

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Wissenschaftliches Jahrbuch der Tiroler Landesmuseen](#)

Jahr/Year: 2017

Band/Volume: [10](#)

Autor(en)/Author(s): Huemer Peter, Schattaneck-Wiesmair Benjamin

Artikel/Article: [DNA-Barcoding der Tagfalter \(Lepidoptera, Papilionoidea\) Österreichs 8-33](#)