Peter Huemer

DNA-Barcoding und Faunistik: Erstnachweise von Schmetterlingen (Lepidoptera) für Italien

Abstract

Nemapogon peslieri Varenne & Nel, 2017 (Tineidae), *Gracillaria loriolella* (Frey, 1881) (Gracillariidae), *Kessleria fasciapennella* (Stainton, 1849) (Yponomeutidae), *Gelechia obscuripennis* (Frey, 1880) **stat. rev.** (Gelechiidae), *Scythris palustris* (Zeller, 1855) (Scythrididae), and *Eucosma suomiana* (Hoffmann, 1893) (Tortricidae) are for the first time published from Italy. The identification of the new country records is based on DNA barcodes and analysis of morphological characters.

Keywords: New records, faunistics, Italy, DNA barcoding, Lepidoptera

Zusammenfassung

Nemapogon peslieri Varenne & Nel, 2017 (Tineidae), *Gracillaria loriolella* (Frey, 1881) (Gracillariidae), *Kessleria fasciapennella* (Stainton, 1849) (Yponomeutidae), *Gelechia obscuripennis* (Frey, 1880) **stat. rev.** (Gelechiidae), *Scythris palustris* (Zeller, 1855) (Scythrididae), und *Eucosma suomiana* (Hoffmann, 1893) (Tortricidae) werden erstmals aus Italien veröffentlicht. Die Bestimmung der Landesneufunde basiert auf DNA-Barcodes und der Analyse morphologischer Merkmale.

Adresse des Autors:

Peter Huemer
Tiroler Landesmuseen Betriebsges.m.b.H.
Sammlungs- und Forschungszentrum Naturwissenschaftliche Sammlungen
Krajnc-Straße 1
A-6060 Hall in Tirol, Österreich

Eingereicht: 19.02.2019
Angenommen: 25.04.2019

DOI: 10.5281/zenodo.3565303

Einleitung

Die faunistische Erfassung von Schmetterlingen in Italien hat eine lange Tradition und die Inventarisierung des Artenbestandes spiegelt sich dementsprechend bereits in umfassenden Katalogprojekten wie der „Checklist delle specie della fauna italiana“ oder einer von Parenzan & Porcelli (2005-2006) verfassten Monographie zu den Großschmetterlingen. Neufunde von Lepidopteren auf nationaler Ebene wurden und werden aber auch seither, vor allem durch den Einsatz neuer molekularer Methoden, wie insbesondere dem zur Artabgrenzung relevanten DNA-Barcoding (Hebert et al. 2003), regelmäßig getätigt. So konnten alleine in der ersten umfassenderen genetischen Studie zu Schmetterlingen Italiens durch Huemer & Hebert (2016) gleich 19 Arten als Neufunde für das Staatsgebiet nachgewiesen werden. In der vorliegenden Arbeit werden weitere Erstmeldungen aus laufenden Forschungsprojekten vorgestellt.

Material und Methoden

Belegexemplare
Aufsammlungen erfolgten bei fünf Arten in den Nachtstunden mit Leuchtpyramiden (Lichtquelle 2x15W UV), eine Art (*Scythris palustris*) wurde am Tag mittels Streifnetz gesammelt. Belegtiere wurden unmittelbar nach der Beprobung gebreitet und getrocknet, um die Qualitätsansprüche für die nachfolgenden DNA-Untersuchungen zu gewährleisten.
Sämtliches Material befindet sich in der Sammlung des Tiroler Landesmuseums Ferdinandeum, Innsbruck (TLMF).

DNA-Analysen
Gewebeproben (Bein oder Teil eines Beines) der vorselektierten Exemplare wurden an das Canadian Center for DNA Barcoding (CCDB, University of Guelph, Ontario, Kanada) versendet. Die DANN-Isolation, PCR-Amplifikation sowie die anschließenden Sequenzierung erfolgten am CCDB nach den bei deWaard et al. (2008) beschriebenen Standardprotokollen. Mit Hilfe dieser Methoden wurde eine 658 Basenpaare umfassende Region der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase I (COI, Barcodefragment 5) ermittelt. Objektspezifische Informationen einschließlich der vollständigen geographischen Daten der Belege samt Fotos und zugehöriger Sequenzen finden sich öffentlich zugänglich in der Datenbank BOLD (Barcode of Life Data Systems www.boldsystems.org; Ratnasingham & Hebert 2007).
Intra- und interspezifische Distanzen wurden mit dem Kimura2-Parameter-Modell (K2P) mit Hilfe der Analyse Tools von BOLD v.4 berechnet. Die abgebildeten Neighbor-Joining Trees basieren ebenfalls auf dem K2P-Berechnungsmodell und wurden mit dem Programm MEGA 6 (Tamura et al. 2013) graphisch umgesetzt. Zusätzlich zu den eigenen Proben wurden sämtliche öffentlich zugängliche Sequenzen der Zielarten aus BOLD analysiert sowie Sequenzen des jeweils Nächsten Nachbarn aus Europa zu Vergleichszwecken abgebildet.

Ergebnisse

Nemapogon peslieri Varenne & Nel, 2017 (Tineidae)

Material: Italien, Prov. Pescara, PN Majella, San Spirito-Schlucht, Roccamorice, 850 m, 23.7.2011, leg. Huemer (DNA Barcode ID TLMF Lep 06458).
Molekulare Daten/DNA Barcodes (Abb. 1): BIN BOLD:ABW0513 (n=2). Nach den bisherigen Sequenzen weist die Art keine intraspezifische Divergenz auf. Die p-Distanz zum Nächsten Nachbarn in BOLD *Nemapogon* sp. beträgt 6,58%.
Verbreitung: Die Art war bisher erst aus drei südfranzösischen Departements bekannt geworden (Varenne & Nel 2017), dürfte aber im Mediterraneum viel weiter verbreitet sein.

Bemerkungen: Die Bestimmung des italienischen Fundes erfolgte nach Beschreibung der neuen Art anhand eines DNA-Abgleiches mit dem Holotypus.

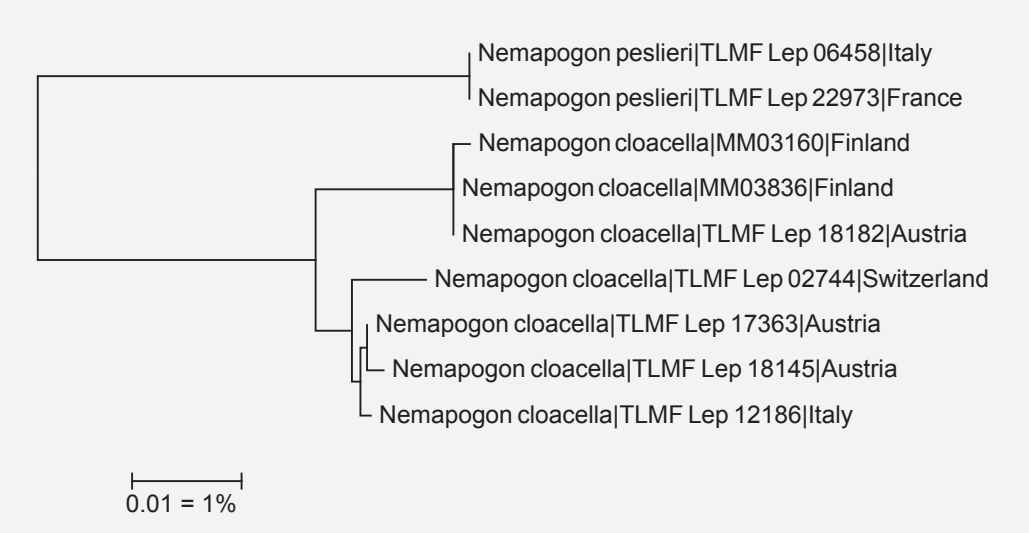

Abb. 1: Neighbor-Joining Tree (Kimura 2 Parameter) zur Abbildung genetischer Distanzen von *Nemapogon peslieri* und *Nemapogon cloacella*. Datenquelle: BOLD.

Gracillaria loriolella (Frey, 1881) (Gracillariidae)

Material: Italien, Südtirol, Pfitschertal, SW Afens, 1160 m, 16.7.2018, leg. Huemer (DNA Barcode ID TLMF Lep 26798).
Molekulare Daten/DNA Barcodes (Abb. 2): BIN BOLD:AAI6855 (n=11). Die Art weist eine mittlere intraspezifische Divergenz von 0,08% sowie eine maximale p-Distanz von 0,46% auf. Die p-Distanz zum Nächsten Nachbarn in BOLD, einem überprüfungsbedürftigem weiteren Cluster von *Gracillaria loriolella* beträgt 3,21%, während die nächst verwandte *Gracillaria syringella* 7,68% Distanz aufweist.
Verbreitung: Die Art ist im mittleren und nördlichen Europa disjunkt und sehr lokal verbreitet.
Bemerkungen: Das Raupenstadium ist an *Fraxinus excelsior* gebunden.

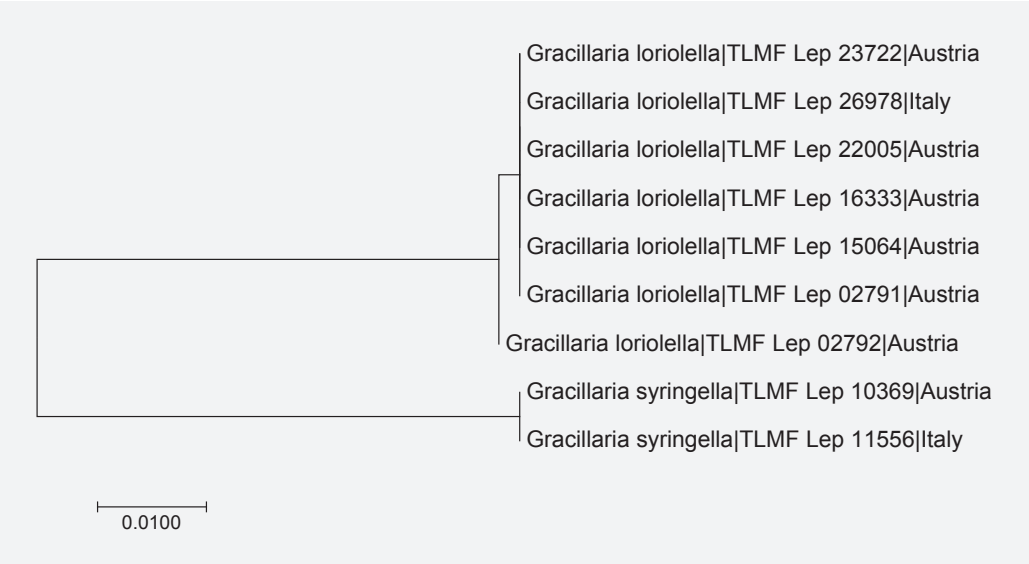

Abb. 2: Neighbor-Joining Tree (Kimura 2 Parameter) zur Abbildung genetischer Distanzen von *Gracillaria loriolella* und *Gracillaria syringella*. Datenquelle: BOLD.

Kessleria fasciapennella (Stainton, 1849) (Yponomeutidae)

Material: Italien, Südtirol, St. Vigil in Enneberg, Rautal, 1400 m, 9.6.2017, leg. Huemer (DNA Barcode ID TLMF Lep 26808, TLMF Lep 26809); Italien, Prov. Pordenone, Cimolais, Bachbett Torr. Cimoliana, 660 m, 23.7.2009, leg. Deutsch (DNA Barcode ID TLMF Lep 24165, TLMF Lep 24166).
Molekulare Daten/DNA Barcodes (Abb. 3): BIN BOLD:AAF3317 (n=11). Die Art weist eine mittlere intraspezifische Divergenz von 0,03% sowie eine maximale p-Distanz von 0,17% auf. Die p-Distanz zum nächsten Nachbarn in BOLD *Kessleria* sp. [wahrscheinlich *Kessleria parnassiae*] aus Kanada beträgt 4,17%, jene zu *Kessleria saxifragae*, der ähnlichsten Art in Europa, hingegen 6,75%.
Verbreitung: In den Alpen nur von ganz wenigen Standorten sicher bekannt und öfters mit *Kessleria saxifragae* verwechselt, ansonsten im nördlichen Europa inkl. Schottland sowie aus Sibirien bekannt (Huemer & Tarmann 1992).
Bemerkungen: Die Art lebt im Raupenstadium ausschließlich an *Parnassia palustris*.

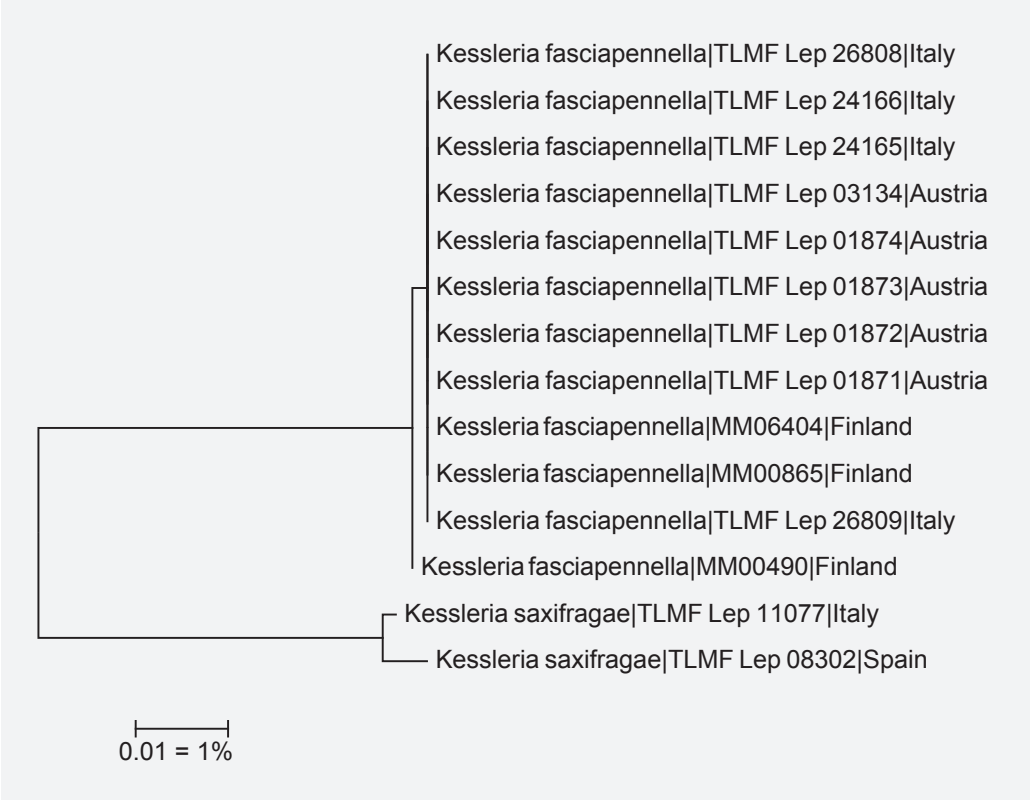

Abb. 3: Neighbor-Joining Tree (Kimura 2 Parameter) zur Abbildung genetischer Distanzen von *Kessleria fasciapennella* und *Kessleria saxifragae*. Datenquelle: BOLD.

Gelechia obscuripennis (Frey, 1880) **stat. rev.** (Gelechiidae)

Material: Italien, Südtirol, Pfitschertal, SW Afens, 1160 m, 17.6.2018, leg. Huemer (DNA Barcode ID TLMF Lep 26923).
Molekulare Daten/DNA Barcodes (Abb. 4): BIN BOLD:ABY8998 (n=9). Die Art weist eine mittlere intraspezifische Divergenz von 0,43% sowie eine relativ große maximale p-Distanz von 0,89% auf. Die p-Distanz zum Nächsten Nachbarn in BOLD, *Gelechia* sp. aus Griechenland, beträgt hingegen 1,44%.
Verbreitung: *Gelechia obscuripennis* ist bisher vor allem aus den Ostalpen bekannt, kommt jedoch nach genetischen Befunden auch in den Gebirgen des Balkans (Mazedonien, Bulgarien) bis in die Ukraine vor.
Bemerkungen: Das seit Sattler (1992) als Synonym von *Gelechia senticetella* geltende

Taxon *Gelechia obscuripennis* **stat. rev.** wird hier wieder in den Artrang erhoben. Diese Entscheidung basiert auf diagnostisch relevanten Merkmalen der Imagines, insbesondere der gegenüber der nächstverwandten *Gelechia senticetella* sowie einem weiteren, noch nicht sicher geklärten Taxon aus Griechenland (Kreta), braun und nicht grau gefärbten Vorderflügel, sowie unterschiedlichen Raupenfutterpflanzen (ausschließlich *Juniperus sabina vs.* andere *Juniperus* spp.) (Huemer & Karsholt 1999), und auf einer zwar geringfügigen, jedoch signifikanten Divergenz im DNA-Barcode. Genetisch clustern alle 3 Arten separat und gruppieren sich in eigenen BINs (Ratnasingham & Hebert 2013). Die Genitalmorphologie in der Gruppe ist demgegenüber durch eine erhebliche Variationsbreite geprägt die eine Differenzierung nach heutigem Kenntnisstand nicht ermöglicht (Huemer & Karsholt 1999).

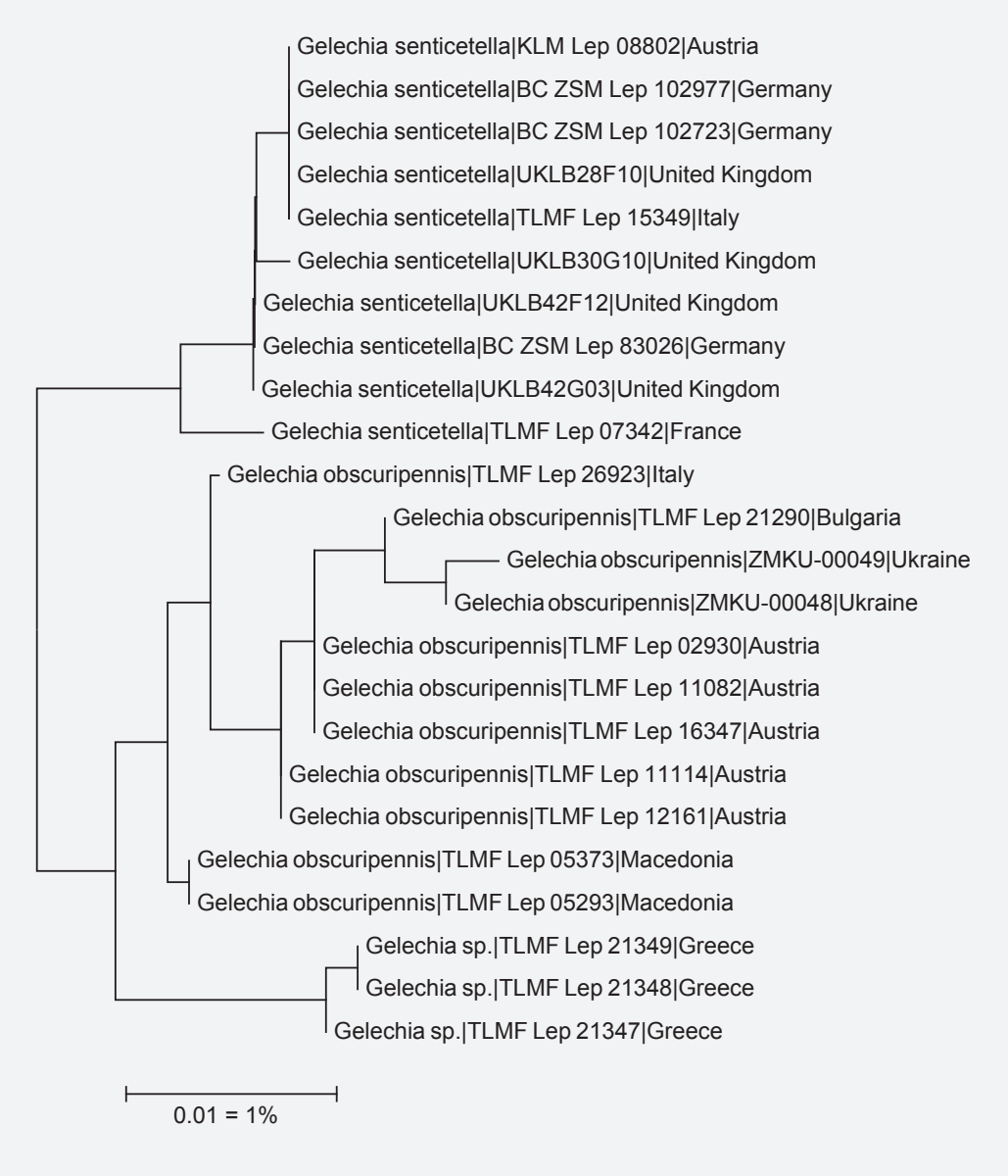

Abb. 4: Neighbor-Joining Tree (Kimura 2 Parameter) zur Abbildung genetischer Distanzen von *Gelechia obscuripennis*, *Gelechia senticetella* und *Gelechia* sp.. Datenquelle: BOLD.

Scythris palustris (Zeller, 1855) (Scythrididae)

Material: Italien, Südtirol, Wolkenstein, 1,1 km NW Sellajoch, 2080 m, 13.7.2017, leg. Huemer (DNA Barcode ID TLMF Lep 22700).
Molekulare Daten/DNA Barcodes (Abb. 5): BIN BOLD:AAE9860 (n=11). Die Art weist eine mittlere intraspezifische Divergenz von 0,25% sowie eine maximale p-Distanz von 0,64% auf. Die p-Distanz zum Nächsten Nachbarn in BOLD *Scythris kailai* beträgt 4,98%.
Verbreitung: Die Art war bisher nur aus Mitteleuropa sowie den südlichen Teilen Nordeuropas bekannt (Bengtsson 1997).

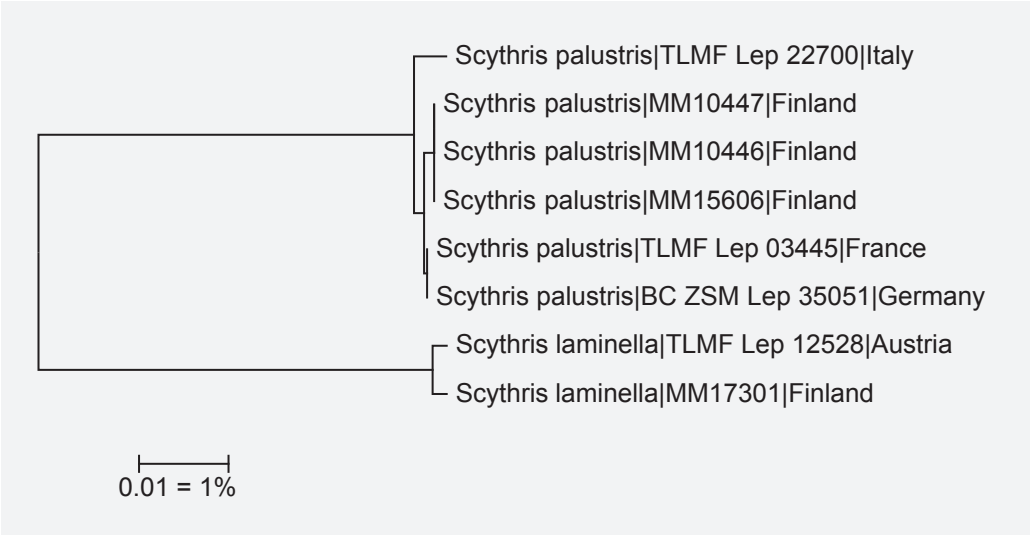

Abb. 5: Neighbor-Joining Tree (Kimura 2 Parameter) zur Abbildung genetischer Distanzen von *Scythris palustris* und *Scythris laminella*. Datenquelle: BOLD.

Eucosma suomiana (Hoffmann, 1893) (Tortricidae)

Material: Italien, Prov. Cuneo, Vinadio, NW Colle della Lombarda, 1750 m, 17.7.2012, leg. Huemer (DNA Barcode ID TLMF Lep 08355, TLMF Lep 08356).
Molekulare Daten/DNA Barcodes (Abb. 6): BIN BOLD:AAF2288 (n=9). Die Art weist eine mittlere intraspezifische Divergenz von 0,22% sowie eine maximale p-Distanz von 0,69% auf. Die p-Distanz zum Nächsten Nachbarn in BOLD *Phaneta* sp. beträgt 2,89%.
Verbreitung: *Eucosma suomiana* galt bis vor kurzem als Endemit des nördlichen Europas (Razowski 2003). Eine erste Meldung aus den Alpen (Wallis, Schweiz) durch einen dänischen Lepidopterologen (www.lepiforum.de) wurde daher zuerst stark bezweifelt, jedoch durch die erste Meldung aus den französischen Alpen (Dep. Isère) untermauert (Varenne & Nel 2017).

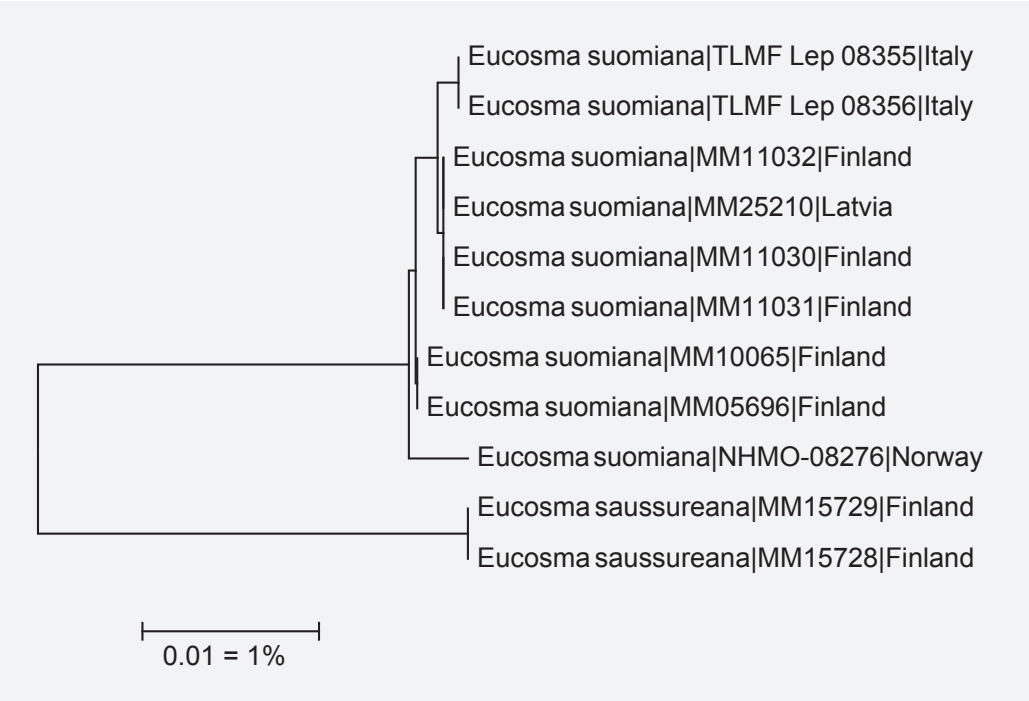

Abb. 6: Neighbor-Joining Tree (Kimura 2 Parameter) zur Abbildung genetischer Distanzen von *Eucosma suomiana* und *Eucosma saussureana*. Datenquelle: BOLD.

Dank

Die Forschungsarbeiten wurden dankenswerterweise durch Förderungen der Autonomen Provinz Bozen – Südtirol, Abteilung Bildungsförderung, Universität und Wissenschaft für die Projekte „Erstellung einer DNA-Barcode-Bibliothek der Schmetterlinge des zentralen Alpenraumes – Autonome Provinz Bozen – Südtirol, Land Tirol“ und „Genetische Artabgrenzung ausgewählter arkto-alpiner und boreo-montaner Tiere Südtirols“ unterstützt. Weiteres gebührt dem Team des Canadian Centre of DNA-Barcoding (Guelph, Ontario, Kanada) unter der Leitung von Paul Hebert sowie dem BOLD Management & Analysis System für Sequenzierungen und Datenbankanalysen. Sequenzanalysen wurden durch Finanzmittel von Genome Canada über das Ontario Genomics Institute als Unterstützung des International Barcode of Life Projektes ermöglicht. Schließlich wird dem Ontario Ministry of Research and Innovation für die Unterstützung von BOLD gedankt.
Den Kollegen Aleksei Bizily (Kiew, Ukraine), Andreas Segerer (München, Deutschland) und Christian Wieser (Klagenfurt, Österreich) gebührt für die verfügbar gemachten Sequenzen Dank.

Literatur

Bengtsson B.A., 1997: Scythrididae. In: Huemer P., Karsholt O. & Lyneborg L. (eds), Microlepidoptera of Europe 2. Apollo Books, Stenstrup, 301 pp.

deWaard J.R., Ivanova N.V., Hajibabaei M. & Hebert P.D.N., 2008: Assembling DNA Barcodes: Analytical Protocols. Pp. 275-293. In: Martin Cristofre C. (ed.), Methods in Molecular Biology: Environmental Genomics. Humana Press Inc., Totowa, USA, 364 pp.

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: 141-164.

Huemer P. & Karsholt O., 1999: Gelechiidae I. In: Huemer P., Karsholt O. & Lyneborg L. (eds.), Microlepidoptera of Europe 3. Apollo Books, Stenstrup, 356 pp.

Huemer P. & Tarmann G., 1992: Westpaläarktische Gespinstmotten der Gattung Kessleria Nowicki: Taxonomie, Ökologie, Verbreitung. Mitteilungen der Münchner Entomologischen Gesellschaft, 81: 5-110.

Parenzan P. & Porcelli F., 2005-2006: I Macrolepidotteri Italiani. Fauna Lepidopterorum Italiae (Macrolepidoptera). Phytophaga, 15: 5-391.

Ratnasingham S. & Hebert P.D.N., 2007: BOLD: The Barcode of Life Data System (http://www.barcodinglife.org). Molecular Ecology Notes, 7: 355-364.

Ratnasingham S. & Hebert P.D.N., 2013: A DNA-based registry for all animal species: the Barcode Index Number (BIN) system. PLoS ONE 8: e66213.

Razowski J., 2003: Tortricidae (Lepidoptera) of Europe. Volume 2 Olethreutinae. Verlag F. Slamka, Bratislava, 301 pp.

Sattler K., 1992: New synonyms of European Gelechiidae (Lepidoptera). Entomologica gallica, 3: 107-112.

Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A. & Kumar S., 2013: MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30 (12): 2725-2729.

Varenne T. & Nel J., 2017: Six microlépidoptères nouveaux pour la faune de France (Lepidoptera, Gracillariidae, Coleophoridae, Momphidae, Tortricidae). Revue de l'Association Roussillonnaise d'Entomologie, 26(4): 203-208.