

Was ein Schmetterling über die Dynamik der Steppen des westlichen Eurasiens erzählt: Die Phylogeographie von *Proterebia afra* (FABRICIUS, 1787) (Nymphalidae, Satyrinae)

Thomas Schmitt^{1,2,*}, Alena Bartonova^{3,4}, Martin Konvicka^{3,4}, Stanislav Korb⁵,
Katja Kramp¹ & Zdeněk Faltýnek Fric⁴

¹ Senckenberg Deutsches Entomologisches Institut, Müncheberg, Deutschland

² Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftliche Fakultät 1, Institut für Biologie, Bereich Zoologie, Halle (Saale), Deutschland

³ University of South Bohemia, Faculty of Science, Ceske Budejovice, Tschechische Republik

⁴ Biology Centre CAS, Institute of Entomology, Ceske Budejovice, Tschechische Republik

⁵ Ural Division of the Russian Academy of Sciences, Institute of Biology, Syktyvkar, Russische Federation

Summary: Steppes are the grasslands of the temperate zone and cover a large part of the Palearctic. Here they can be either zonal (as in Central Asia), occur in the dry high mountains (as in Iran) or represent relicts (as in southeastern Europe). Understanding the dynamics of this biome and the interaction between its zonal and non-zonal components requires biogeographic analysis of its elements, i.e. typical steppe species. Therefore, we investigated the biogeography of *Proterebia afra*, a typical butterfly species of Eurasian steppe habitats. Samples over the entire range of the species were analysed for different genetic marker systems (mtDNA, nuDNA, AFLPs). Additionally, we performed niche models. These analyses were used to investigate the origin of the species, how the distribution range evolved and general implications for the dynamics of the Eurasian steppes. The oldest split was uniformly found in northeastern Iran in all marker systems, which is presumably where the origin of the species was located about five My bp. We assume that this split is at the level of two different species. Subsequently, a gradual expansion to the west up to the steppe relicts in southeastern Europe took place, which however also have their own genetic lines and were probably colonized in the course of the Pleistocene, possibly by two independent colonization waves. The current zonal distribution (Crimea to eastern Kazakhstan) has a young lineage, which indicates a recent colonization of this area in the middle to late Pleistocene. Niche models support a similar distribution as currently also under glacial climate conditions. In general, the results of our study show that typical steppe species can also be derived from the xeromontane high mountain areas and only secondarily became species of the zonal steppes.

Key words: extra-zonal steppe, forest steppe, niche modeling, phylogeography, *Proterebia*, range dynamics, speciation, zonal steppe

* Senckenberg Deutsches Entomologisches Institut, Eberswalder Straße 90, 15374 Müncheberg, Germany; E-Mail: Thomas.Schmitt@senckenberg.de

Einleitung

Steppen erstrecken sich über einen nicht unerheblichen Teil der Landmasse der Erde und sind definiert als die Grasländer außerhalb der Tropen, welche durch Mangel an Niederschlag oder durch die Bodenverhältnisse bedingt sind (MÜLLER, 1980). Der Mangel an Niederschlägen kann unterschiedliche Gründe haben. So befinden sich viele Steppen im polwärtigen Anschluss an die Wendekreiswüsten, weshalb sie ausgeprägte Trockenzeiten vor allem im jeweiligen Sommer aufweisen. Im Lee von Gebirgen gibt es auch an zahlreichen Orten der Erde Steppen, welche sich oftmals in geographischer Nähe zu sehr feuchten Bereichen im Luv finden, wo sich die feuchten Luftmassen weitgehend ausregnen, so dass auf der anderen Seite der Gebirgsketten fast keine Feuchtigkeit mehr ankommt. Große Steppenbereiche existieren auch

im Inneren der großen Kontinentalmassen, da diese so weit von den Feuchtigkeit spendenden Ozeanen entfernt sind, dass Niederschläge diese Regionen kaum erreichen; die größten Niederschläge fallen hier jedoch im Sommer, da dann die Energiemengen in der Atmosphäre am größten sind und Feuchtigkeit in der Luft über größere Distanzen transportiert wird. Außerdem finden wir Steppenlebensräume auch in den ariden Hochgebirgen von Wüstengebieten, wo ab einer gewissen Höhenlage die zunehmenden Niederschläge und die abnehmenden Temperaturen die Ausbildung einer Steppenvegetation erlauben. Vor allem in den an das Steppenbiom angrenzenden Biomen *Sylvaea* und *Sklerea* gibt es durch die Bodenverhältnisse bedingte Steppeninsolate, sogenannte extrazonale Steppen, denn durch ungünstige Bodenverhältnisse (Verkarstung, extreme Sandböden, flachgründige Südhänge mit hangparallelen Gesteinsschichten) kann das Aufwachsen von Wäldern dauerhaft verhindert werden. Dies ist besonders häufig in den sogenannten Waldsteppen zu beobachten, die u.a. im südöstlichen Europa weit verbreitet sind (MÜLLER, 1980; BEIERKUHNLEIN, 2007).

Im westlichen und zentralen Eurasien sind vor allem die ozeanfernen Steppen im Inneren des Kontinents weit verbreitet und auf großen Flächen anzutreffen. Einige von diesen sind zusätzlich durch Lee-Effekte der hohen zentralasiatischen Gebirge beeinflusst. Gebirgssteppen sind in diesem Bereich am häufigsten am Rand der Passatwüsten der südwestlichen Paläarktis zu finden, so von Ostiran bis in die Türkei und auch in den Gebirgen Nordafrikas. Vor allem in Anatolien wird die Ausbildung von Steppen zusätzlich durch die hohen Gebirgsketten verstärkt, die diese Bereiche gegen das Meer hin abschirmen. Extrazonale Steppen finden sich im westlichen Eurasien vor allem im südöstlichen Europa, das klimatisch eigentlich sommergrüne Laubwälder aufweist, aber aus Gründen lokaler Besonderheiten (meist von bestimmten Bodenverhältnissen) kleine Steppeninseln aufweist und auf großen Flächen Waldsteppen, die ebenfalls zahlreiche Steppenelemente besitzen (MÜLLER, 1980; BEIERKUHNLEIN, 2007). Unter aktuellen klimatischen Bedingungen sind diese unterschiedlichen Steppentypen im westlichen und zentralen Eurasien weitgehend geographisch voneinander getrennt. Dies stellt sich aber unter kaltzeitlichen Bedingungen ganz anders dar, da nicht nur die Temperaturen sondern auch die Niederschlagsraten sinken, was zu deutlichen Ausdehnungen der Steppen, vor allem der eiszeitlichen Periglazialsteppen, führt und die geographische Isolation der warmzeitlichen Steppengebiete zu großen Teilen auflöst (SCHMITT & VARGA, 2012). Hierdurch lassen sich die zum Teil weiten Verbreitungen von Steppenarten in der Westpaläarktis teilweise erklären. Deren Arealodynamik ist jedoch noch sehr wenig verstanden und bedarf deshalb unbedingt weiterer Forschungsanstrengungen.

Eine typische Steppenart, die in den west- und zentralpaläarktischen Steppen eine weite Verbreitung besitzt und auch in den unterschiedlichen Steppentypen des Bereichs auftritt, ist der Augenfalter *Proterebia afra* (FABRICIUS, 1787). Auf Grund seiner engen ökologischen Bindung an Steppenlebensräume, aber seiner dennoch weiten Verbreitung in diesen, eignet sich dieses Taxon hervorragend, um seine Arealodynamik zu untersuchen. Deshalb wurde die Art über weite Bereiche ihres Areals gesammelt und genetisch untersucht. Durch diese Untersuchungen wollen wir folgende Fragen beantworten: Wo befindet sich der geographische Ursprung der Art? Wie hat sich ihr Areal über die Zeit hinweg entwickelt und in welchen Zeitfenstern fand dies statt? Welche generellen Rückschlüsse können aus diesen Befunden für die Evolution und Dynamik des westpaläarktischen Steppenbioms gezogen werden?

Material und Methoden

Untersuchungsart

Proterebia afra (FABRICIUS, 1787) ist ein Vertreter der Unterfamilie der Satyrinae (Augenfalter), die in die Familie der Edelfalter (Nymphalidae) gestellt ist. Ökologisch ist die Art ein typischer Vertreter von unterschiedlichen Steppenlebensräumen, in denen sich die Raupen von Gräsern, vor allem der Gattung *Festuca*, ernähren (TSHIKOLOVETS, 2011). Verbreitet ist die Art zum einen in den zonalen Steppen von Osteuropa (Krim) bis nach Zentralasien, wobei das Areal nach Osten hin kontinuierlicher wird. Sie kommt aber auch in den Gebirgssteppen von der Türkei bis nach Nordostiran vor, wobei hier kein geschlossenes Areal angetroffen wird. Außerdem finden sich sowohl in wenigen Gebieten Griechenlands wie auch an der dalmatinischen Küste kleine Isolate von *P. afra* (TSHIKOLOVETS, 2011).

Probenahmen und Analysen

Proben wurden über weite Bereiche des Areals der Art gesammelt oder über Kooperationen erhalten. Details siehe BARTONOVA & al. (2018). Aus dem vorhandenen Probenmaterial wurde DNA isoliert, welche für die Sequenzierung mitochondrialer (COI) und nukleärer (Argininkinase) Gene und die Analyse von AFLPs eingesetzt wurde. Details zu den verwendeten Protokollen und genauere Daten zu den Analysen sind ebenfalls BARTONOVA & al. (2018) zu entnehmen. Außerdem wurden unter Nutzung der MaxEnt 3.4.1-Software (PHILLIPS & al., 2018) und unter Verwendung rezenter und eiszeitlicher Klimadaten aus Wordclim 1.4 (HIJMANS & al., 2005) Nischenmodelle berechnet (Details in BARTONOVA & al., 2018).

Ergebnisse

Die mitochondrialen Sequenzanalysen von COI ergaben eine deutliche Differenzierung zwischen den untersuchten Populationen von *P. afra* (Abb. 1). Über Einsatz einer molekularen Uhr wurde der älteste Split auf 5,3 Mio. Jahre geschätzt und trennt die Populationen des östlichen Elburs (Nordost-Iran) von allen anderen. Ein zweiter Split im mittleren Pliozän trennte die Populationen südlich des Kaukasus und aus dem Nordwestiran von den restlichen. In ersterer Gruppe kam es im frühen Pleistozän zu einer Trennung zwischen dem Bereich südlich des Kaukasus und dem Nordwest-Iran. In der zweiten Gruppe trennten sich zu Beginn des Pleistozäns vor etwa 2,6 Mio. Jahren die Populationen aus Anatolien und Dalmatien von denjenigen der zonalen Steppen (von der Krim bis nach Kasachstan) und Griechenlands. Die dalmatischen Populationen trennten sich zu Beginn der zweiten Hälfte des Pleistozäns von den anatolischen; die Trennung zwischen den zonalen Steppenpopulationen von den griechischen erfolgte schon in der ersten Hälfte des Pleistozäns.

Die phylogeographische Information der nukleären DNA-Sequenzen war deutlich weniger ausgeprägt als die auf der mitochondrialen Ebene. Jedoch ergaben die Analysen eine klare Trennung zwischen den Populationen des nordöstlichen Irans und allen anderen Vorkommen. In beiden Gruppen ergaben sich keine weiteren phylogeographischen Muster. Das phylogeographische Signal der AFLP-Analysen war ebenfalls nicht so deutlich ausgeprägt wie auf der mitochondrialen Ebene. Auch dieses Markersystem zeigte wie die nukleären Sequenzen eine deutliche Differenzierung der ostiranischen Populationen. Eine weitere Gruppe mit deutlicher Differenzierung zwischen den Regionen wurde im nordwestlichen Iran und in Georgien festgestellt. Auch die Populationen aus Thrazien (Nordost-Griechenland) waren deutlich von allen anderen verschieden. Die anderen Populationen von Armenien und Anatolien im Osten, Dalmatien und Zentralgriechenland im Westen und von der Krim bis nach Ost-Kasachstan im Norden zeigten sich genetisch sehr einheitlich. Vor allem der geographisch sehr ausgedehnte Bereich von der Krim bis nach Ost-Kasachstan erwies sich über tausende von Kilometern als genetisch äußerst homogen. Eine STRUCTURE-Analyse dieser Daten unterstützte vor allem die Einteilung in zwei und in sechs unterschiedliche genetische Gruppen. Für $K=2$ wurde der Nordost-Iran von allen anderen Gruppen getrennt. Für $K=6$ ergaben sich folgende Gruppen: (i) Nordost-Iran; (ii) westlicher Iran bis Georgien; (iii) Zentral-Griechenland; (iv) Thrazien; (v) Kroatien; (vi) Armenien, Anatolien, Krim, Russland, Dagestan und Kasachstan; auch Populationen aus dem nordwestlichsten Iran gruppierte partiell mit dieser letzten Gruppe.

Die Nischenmodelle, welche auf den aktuellen Klimabedingungen basieren, ergaben eine Klimanische, welche im südöstlichen Europa, westlichen und zentralen Asien weitgehend mit der rezenten Verbreitung der Art übereinstimmt. Klimatisch für die Art geeignete Bereiche größerer Ausdehnung gibt es aktuell auch im westlichen Mittelmeergebiet; diese sind aber geographisch deutlich von den rezenten Vorkommen von *P. afra* getrennt. Unter eiszeitlichen Klimabedingungen verändert sich die geographische Ausdehnung der Klimanische nach diesem Modellansatz nicht stark. In Westasien verlagert sie sich sogar etwas nach Norden und zeigt gewisse Fragmentierungstendenzen auf der Balkanhalbinsel und in Anatolien. Eine ausführlichere Darstellung aller Resultate ist BARTONOVA & al. (2018) zu entnehmen.

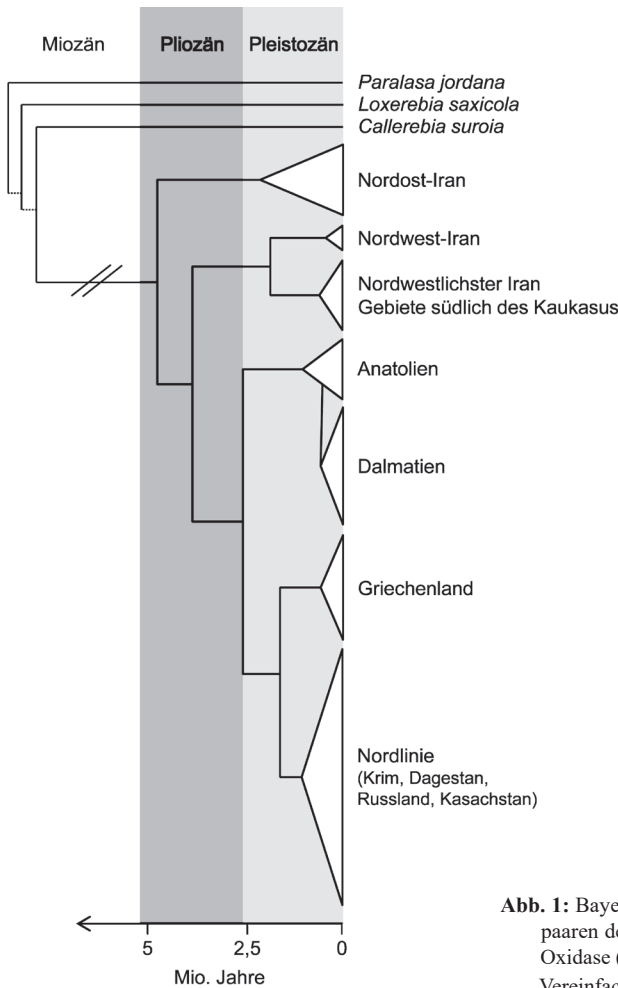


Abb. 1: Bayes'scher Baum basierend auf 912 Basenpaaren des mitochondrialen Gens Cytochrom-C-Oxidase (COI) von *Proterebia afro*. Vereinfacht nach Bartonova & al. (2018)

Diskussion

Die genetischen Analysen und Nischenmodelle erlauben eine recht zuverlässige Rekonstruktion der Arealgeschichte von *P. afro*. Alle herangezogenen genetischen Markersysteme sprechen eindeutig für eine Herkunft der Art aus den nordiranischen Gebirgssteppen. Sie ist also als xeromontan zu bezeichnen. So sind für diese Art nicht die geographisch ausgedehnten zonalen Steppen Zentral- und Westasiens die Herkunft, auch wenn aktuell der größte Teil des Verbreitungsgebietes in diese Region fällt, sondern die im Vergleich geographisch sehr begrenzten Hochgebirgssteppen des Iran. Somit finden wir bei dieser Art den Ursprung in extrazonalen Steppen mit einem erst deutlich späteren Übergang in die Zonalität.

Auch das Alter dieses ersten Splits ist mit 5,6 Mio. Jahren, also im Übergang vom Miozän zum Pliozän, sehr hoch für eine innerartliche Differenzierung. Es muss deshalb überlegt werden, ob es sich bei dieser Art wirklich um eine einzige oder doch eher um mindestens zweie handelt. Gerade auch der Tatbestand, dass die nukleären Sequenzen ausschließlich die nordostiranischen Populationen von allen anderen differenzieren, letztere aber für dieses Markersystem keine weitere phylogeographische Struktur aufweisen, gibt gute Evidenz für die Existenz zweier Arten, einer in den nordostiranischen Gebirgen und einer weiteren im restlichen Areal. Da die Typenlokalität von FABRICIUS (1787) mit den südrussischen

Steppen angegeben wird, sollte die große Mehrzahl der aktuell als *P. afra* bezeichneten Vorkommen weiterhin diesem Artnamen zugeordnet werden. Lediglich die Vorkommen in den nordostiranischen Gebirgen sollten zu einer anderen Art gestellt werden. Weil mit der Beschreibung der Unterart *P. afra fidena* (FRUHSTORFER, 1918) aus dem Kopet-Dagh bereits ein Taxon aus dieser Region beschrieben wurde, schlagen die Autoren vor, dieses auf Artniveau anzuheben und die betroffenen Populationen zukünftig unter *Proterebia fidena* (FRUHSTORFER, 1918) zu führen. In diesem Zusammenhang wäre es auch sinnvoll, weitere morphologische Untersuchungen sowohl der Flügelzeichnungsmuster wie auch der Genitalstrukturen vorzunehmen, um hiermit die geäußerte Hypothese artlicher Trennung zu überprüfen.

Die weitere Arealgeschichte von *P. afra* ist komplex und unsere genetischen Daten erlauben keine völlig eindeutige Interpretation. Unstrittig ist jedoch auf dieser Datenbasis, dass es im Verlauf des Pliozäns zu einer westwärts gerichteten Arealausdehnung aus dem Bereich zwischen Nordwestiran und südlich des Kaukasus kam, aus der sich die Vorkommen in Anatolien ableiten. Ab diesem Punkt divergieren die Ergebnisse der unterschiedlichen genetischen Markersysteme voneinander und lassen zwei Möglichkeiten für die Entwicklung des heutigen Areals zu, die beide möglich erscheinen, sich aber in Teilaspekten widersprechen.

Die Daten der mtDNA-Sequenzen sprechen im Zeitfenster des frühen bis mittleren Pleistozäns für eine Expansion aus Anatolien in westlicher Richtung, aus der sich die rezenten griechischen Populationen ableiten. Diese wären der Ursprung für alle rezenten Populationen der zonalen Steppen von der Krim bis nach Ostkasachstan, mit einem Beginn der Arealexansion in diesen Bereich hinein im mittleren bis späteren Pleistozän. Dieses Szenario würde eine Expansion nördlich des Schwarzen Meeres implizieren, wie es auch für mehrere mediterrane Elemente postuliert wird (z.B. SEDDON & al., 2002; AKIN & al., 2010). Die Besiedlung Dalmatiens würde, anders als die Geographie vermuten lässt, nicht aus Griechenland erfolgen, sondern direkt aus dem weiter entfernten Anatolien ab dem mittleren Pleistozän.

Die AFLP-Daten sprechen hingegen für ein anderes Szenario. Hier ließe sich eine Besiedlungskette recht gut nachvollziehen. Ausgangspunkt für die gesamt Besiedlung außerhalb des Irans wären die Vorkommen in den Gebirgen des äußersten Nordwesten des Landes. Von hier könnte es einen ersten Vorstoß nach Westen im Pliozän gegeben haben, von dem die thrakischen Vorkommen das letzte Relikt wären. Auch die georgischen Vorkommen wären hiernach Relikt eines frühen und eigenen Vorstoßes. Etwa zeitgleich mit dieser Region wäre auch Anatolien besiedelt worden, das später zum Ausgangspunkt der weiteren Besiedlungen würde. Wohl im Pleistozän würde eine Besiedlung auf die Balkanhalbinsel erfolgen. Anders als beim mitochondrialen Datensatz lassen die AFLP-Analysen die Möglichkeit einer direkten Besiedlung Dalmatiens aus Zentral-Griechenland zu, widersprechen aber auch nicht zwei unabhängigen Besiedlungsereignissen. Im Widerspruch zur Information aus den mtDNA-Sequenzen müsste jedoch die rezente Ausdehnung des Areals auf die zonalen Steppen von der Krim bis nach Ost-Kasachstan aus Anatolien erfolgt sein, und zwar vermutlich östlich des Kaukasus, da die Route westlich des Gebirges nach diesen Analysen durch die ältere georgische Linie blockiert wurde.

Somit zeigt der *P. afra*-Komplex, dass der Ursprung von Steppenarten ganz anders sein kann, als man intuitiv erwarten würde und dass auch in diesem Fall, wie in so vielen anderen (vgl. SCHMITT, 2009), Gebirgssysteme eine ganz wesentliche Triebfeder für die Evolution und Speziation waren. Trotz der vergleichsweise umfangreichen Daten, die nun über den *P. afra*-Komplex vorliegen, zeigt sich, dass diese vor allem für *P. afra* sensu stricto noch nicht ausreichend sind, um ihre Arealhistorie eindeutig zu klären. Weitere Untersuchungen an zusätzlichen Populationen, vor allem im Bereich Anatoliens und des Kaukasus, sowie die Erweiterung des Umfangs der untersuchten Gene wären vor diesem Hintergrund äußerst wünschenswert.

Referenzen

- AKIN, C., BILGIN, C.C., BEERLI, P., WESTAWAY, R., OHST, T., LITVINCHUK, S.N., UZZELL, T., BILGIN, M., HOTZ, H., GUEx, G.-D. & PLÖTNER, J. (2010): Phylogeographic patterns of genetic diversity in eastern Mediterranean water frogs were determined by geological processes and climate change in the Late Cenozoic. – *Journal of Biogeography* **37**: 2111-2124.

- BARTONOVA, A., KONVICKA, M., KORB, S., KRAMP, K., SCHMITT, T. & FALTYNEK FRIC, Z. (2018): Range dynamics of Palaearctic steppe species under glacial cycles: the phylogeography of *Proterebia afra* (Lepidoptera: Nymphalidae: Satyrinae). – Biological Journal of the Linnean Society **125**: 867-884.
- BEIERKUHNLIN, C. (2007) Biogeographie. – UTB, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- FABRICIUS, J.C. (1787): Mantissa insectorum sistens eorum species nuper detectas adiectis synonymis, observationibus, descriptionibus, emendationibus. – Tom. II. Hafniae.
- HIJMANS, R.J., CAMERON, S.E., PARRA, J.L., JONES, P.G. & JARVIS, A. (2005): Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. – International Journal of Climatology **25**: 1965-1978.
- MÜLLER, P. (1980): Biogeographie. – UTB, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- PHILLIPS, S.J., DUDÍK, M. & SCHAPIRE, R.E. (2018): Maxent software for modeling species niches and distributions (version 3.4.1). – http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/
- SCHMITT, T. (2009): Biogeographical and evolutionary importance of the European high mountain systems. – Frontiers in Zoology **6**: 9.
- SCHMITT, T. & VARGA, Z. (2012): Extra-Mediterranean refugia: The rule and not the exception? – Frontiers in Zoology **9**: 22.
- SEDDON, J.M., SANTUCCI, F., REEVE, N. & HEWITT, G.M. (2002): Caucasus Mountains divide postulated postglacial colonization routes in the white-breasted hedgehog, *Erinaceus concolor*. – Journal of Evolutionary Biology **15**: 463-467.
- TSHIKOLOVETS, V. (2011): Butterflies of Europe and the Mediterranean area. – Verlag Vadim Tshikolovets, Pardubice.