

Abstract

DNA barcoding of terrestrial isopods in Austria integrating museum specimens

Anna-Chiara Barta, Luise Kruckenhauser, Martin Schwentner

Terrestrial isopods, a diverse group of land-dwelling crustaceans that have successfully colonized ecosystems worldwide, are key players in terrestrial ecological processes. They contribute significantly to ecosystem health by facilitating the decomposition of plant material through mechanical and chemical processes while enhancing microbial activity. In Austria, 64 terrestrial isopod species are recognized, although the precise count is challenging due to the unresolved taxonomy, marked by numerous synonyms and proposed subspecies over time. Difficulties in morphological identifications, primarily relying on male characteristics, underscore the need for supplementary molecular species identification methods such as DNA barcoding.

This study utilized molecular techniques to generate DNA barcodes from 29 terrestrial isopod species, revealing intraspecific distances below 6% for most, with slight exceptions such as *Armadillidium vulgare* (6.5%) and *Cylisticus convexus* (6.3%). Notably, certain species exhibited unexpectedly high intraspecific distances, such as *Porcellium collicola* (13.9%), *Trachelipus ratzeburgii* (10.4%), and *Trichoniscus pusillus* (11.7%), suggesting potential cryptic diversity. Species delimitation analyses further supported this, dividing the dataset into at least 34 putative species.

Additionally, this research explored the utility of historical isopod specimens dating from 1880 to 1968, all identified by the former taxonomic expert Hans Strouhal. Despite challenges related to limited DNA content and fragmentation, 17 COI barcode sequences were successfully obtained from the historical collection of the NHM Vienna through two different approaches: mini-barcode amplification, involving short COI fragments via Sanger sequencing, and Next-Generation Sequencing (NGS). These DNA-barcode sequences, derived from historical museum specimens, are pivotal in filling taxonomic gaps in the representation of rare species, enriching our understanding of their genetic diversity. Additionally, they enable the incorporation of historic taxonomic knowledge. These sequences hold immense value for initiatives like ABOL (Austrian Barcode of Life) and biodiversity studies.

Barta A, Kruckenhauser L, Schwentner M (2024) DNA-Barcoding von terrestrischen Isopoden in Österreich unter Einbeziehung von Museumsproben.

Terrestrische Isopoden, eine diverse Gruppe landlebender Krebstiere, die weltweit erfolgreich Ökosysteme kolonisiert haben, sind wichtige Akteure in terrestrischen ökologischen Prozessen. Sie tragen wesentlich zur Gesundheit von Ökosystemen bei, indem sie die Zersetzung von Pflanzenmaterial durch mechanische und chemische Prozesse begünstigen und die mikrobielle Aktivität fördern. In Österreich sind 64 terrestrische Isopodenarten bekannt, wobei die exakte Zählung aufgrund der ungeklärten Taxonomie, die durch zahlreiche Synonyme und Unterarten gekennzeichnet ist, eine Herausforderung darstellt. Die Schwierigkeiten bei der morphologischen Identifizierung, die sich hauptsächlich auf männliche Merkmale stützt, verdeutlichen die Notwendigkeit zusätzlicher molekularer Methoden zur Identifizierung der Arten, wie z. B. DNA-Barcoding.

In dieser Studie wurden mit Hilfe molekularer Techniken DNA-Barcodes von 29 terrestrischen Isopodenarten generiert, die bei den meisten Arten intraspezifische Distanzen von weniger als 6% ergaben, mit leichten Abweichungen wie *Armadillidium vulgare* (6,5%) und *Cylisticus convexus* (6,3%). Einige Arten wiesen unerwartet hohe intraspezifische Distanzen auf, wie *Porcellium collicola* (13,9%), *Trachelipus ratzeburgii* (10,4%) und *Trichoniscus pusillus* (11,7%), die auf eine mögliche kryptische Vielfalt

hindeuten. Analysen zur Abgrenzung der Arten bestätigten diese Annahme zusätzlich und unterteilten den Datensatz in mindestens 34 mutmaßliche Arten.

Darüber hinaus wurde der Nutzen historischer Isopodenproben aus den Jahren 1880 bis 1968 untersucht, die alle von dem ehemaligen taxonomischen Experten Hans Strouhal identifiziert wurden. Trotz der Herausforderungen durch begrenztem Gehalt und hoher Fragmentierung der DNA, wurden 17 COI-Barcode-Sequenzen erfolgreich aus der historischen Sammlung des NHM Wien durch zwei verschiedene Ansätze gewonnen: Mini-Barcode-Amplifikation, die kurze COI-Fragmente mittels Sanger-Sequenzierung umfasst, und Next-Generation Sequencing (NGS). Diese DNA-Barcode-Sequenzen, die von historischen Museumsexemplaren stammen, sind von zentraler Bedeutung, um taxonomische Lücken in der Repräsentation seltener Arten zu schließen und unser Verständnis ihrer genetischen Vielfalt zu erweitern. Außerdem ermöglichen sie die Einbeziehung von historischem taxonomischem Wissen. Diese Sequenzen sind für Initiativen wie ABOL (Austrian Barcode of Life) und der Erforschung biologischer Diversität von großem Wert.

Keywords: terrestrial Isopoda, crustacea, DNA barcoding, intraspecific genetic distances, museum specimen, mini-barcodes, NGS.

Received: 2023 11 14

Addresses:

Anna Chiara Barta, E-Mail: anna-chiara.barta@nhm-wien.ac.at (corresponding author)
Department of Evolutionary Biology, University of Vienna, Austria; Third Zoological Department, Natural History Museum Vienna, Burgring 7, A-1010 Vienna, Austria.

Luise Kruckenhauser, E-Mail: luise.kruckenhauser@nhm-wien.ac.at
Central Research Laboratories, Natural History Museum Vienna, Austria; Department of Evolutionary Biology, University of Vienna, A-1010 Vienna, Austria.

Martin Schwentner, E-Mail: martin.schwentner@nhm-wien.ac.at
Third Zoological Department, Natural History Museum Vienna, Burgring 7, A-1010 Vienna, Austria.