

DNA-bevestigde waarnemingen van de gele luzernevlinder, *Colias hyale* (Lepidoptera: Pieridae), voor Vlaanderen

Jurgen Couckuyt, Philippe Van de Velde & Tom Vermeulen

Samenvatting. Het jaar 2018 werd gekenmerkt door een opvallende trekbeweging van het genus *Colias* in het noorden van Vlaanderen (Steeman *et al.* 2019, Maes *et al.* 2021). Er werden niet enkel exemplaren van *Colias croceus* (Geoffroy, 1785), de Oranje luzernevlinder waargenomen maar ook bleekgele *Colias*. Heden komen in België slechts 2 soorten daarvoor in aanmerking, namelijk *Colias hyale* (Linnaeus, 1758), de gele luzernevlinder en *Colias alfacariensis* Ribbe, 1905, de zuidelijke luzernevlinder. Meerdere exemplaren werden tijdens de maanden juli en augustus 2018 met een vliedernet gevangen en bevestigd door mtDNA-barcodingonderzoek. Het is de enige methode om 100% zekerheid te verkrijgen in het adulte stadium tussen deze 2 bleke *Colias*-soorten. Onder voorbehoud zijn dit de eerste exemplaren van *Colias hyale* die op deze manier zijn bevestigd voor Vlaanderen.

Abstract. A feature of the year 2018 was a striking migratory movement of species of *Colias* in the north of Flanders (Steeman *et al.*, 2019, Maes *et al.*, 2021). This involved not only *Colias croceus* (Geoffroy, 1785), the Clouded Yellow, but also pale yellow *Colias* specimens, of which, only two species are currently known in Belgium, *Colias hyale* (Linnaeus, 1758), the Pale Clouded Yellow and *Colias alfacariensis* Ribbe, 1905, the Berger's Clouded Yellow. Several specimens were netted during July and August 2018 and subjected to mtDNA barcoding-based identification. This is the only way to differentiate with 100% certainty the adult stage of these extremely similar *Colias* species. With reservations, these are the first specimens of *Colias hyale* confirmed in this way for Flanders.

Résumé. L'année 2018 a été caractérisée par un mouvement migratoire marquant du genre *Colias* dans le nord de la Flandre (Steeman *et al.* 2019, Maes *et al.* 2021). Non seulement des spécimens de *Colias croceus* (Geoffroy, 1785), le Souci, mais aussi des *Colias* jaune pâle ont été observés. Quand il s'agit de *Colias* jaune pâle, il y a seulement deux espèces possibles: à savoir *Colias hyale* (Linnaeus, 1758), le Soufré et *Colias alfacariensis* Ribbe, 1905, le Fluoré. Plusieurs spécimens ont été capturés avec un filet à papillons en juillet et août 2018 et confirmés par la recherche de codes-barres ADNmt. C'est la seule méthode pour obtenir 100% de certitude au stade adulte entre ces 2 espèces de *Colias* pâles. Sous toutes réserves de modifications, il s'agit des premiers exemplaires de *Colias hyale* ainsi confirmés pour la Flandre.

Key words: Belgium — *Colias* — DNA barcoding — Faunistics — First record.

Couckuyt J.: Singeldreef 42, 9160 Lokeren, België. couckuyt.jurgen@telenet.be

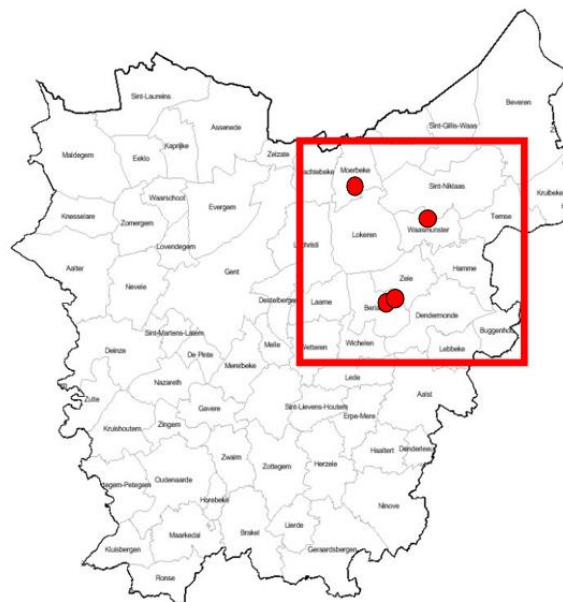
Van de Velde P.: Zwaluwstraat 39, 9160 Lokeren, België. filip.vandevelde@skynet.be

Vermeulen T.: Daknam-dorp 6, 9610 Lokeren, België. tomvermeulen@proximus.be

doi: 10.6084/m9.figshare.16838002

De eerste Luzernevlinders voor 2018 in het PDDS-gebied

17 juli 2018 staat te boek als een warme dag met een matige zuidenwind en af en toe felle windstoten. Tijdens een monitoringroute van *Coenonympha pamphilus* (Linnaeus, 1758), het Hooibeestje, in het Projectgebied Dagvlinders Durme en Schelde (PDDS) (Fig. 1, rood vierkant), werd gedurende een uur een opvallende trekbeweging waargenomen van meerdere exemplaren van de Oranje luzernevlinder, *Colias croceus* (Geoffroy, 1785). Deze vlogen met grote snelheid van zuid naar noord over het natuurreservaat De Paardenweide (Berlare, Oost-Vlaanderen) dat beheerd wordt door de lokale natuurvereniging vzw Durme. Door de felle wind was het moeilijk om een goede foto te nemen en als er al een exemplaar ging zitten op een bloem om te drinken, werd dit onmiddellijk verjaagd door mannetjes van andere soorten dagvlinders. Enige tijd later werd ook een bleekgele Luzernevlinder in dezelfde trekbeweging waargenomen. Om de wittere vorm *helice* van de Oranje luzernevlinder uit te sluiten, was het noodzakelijk om de vlinder te vangen. Het bleek echter geen Oranje luzernevlinder te zijn, maar een *Colias*-soort die in onze contreien zelden wordt waargenomen. Het betreft 2 mogelijke soorten, namelijk de Gele of de zuidelijke



Bron: IDEA Consult (2014)

Fig. 1. Situering van de door DNA bevestigde exemplaren van *Colias hyale* in het PDDS-gebied (Oost-Vlaanderen) in 2018.

luzernevlinder. De zuidelijke luzernevlinder, *Colias alfacariensis* Ribbe, 1905 wordt als een honkvaste soort (Fichfet *et al.* 2008, Maes *et al.* 2013) beschouwd omwille van de relatie tot kalkgraslanden. Deze gebieden

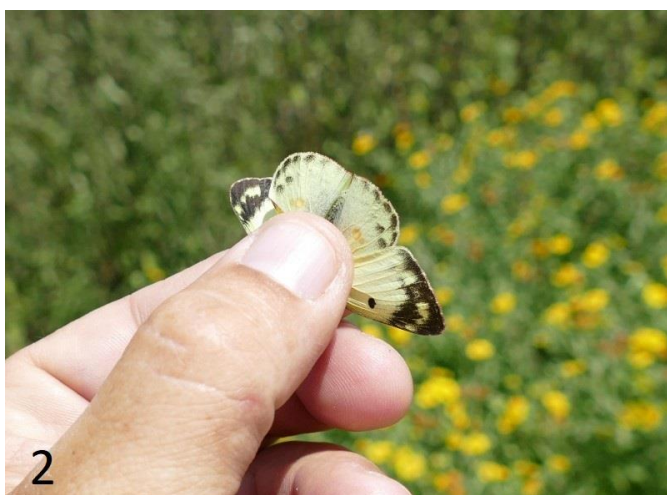
bevinden zich in de Fagne-Famenne en de Gaume in het zuiden van België. In Belgisch en Nederlands Limburg situeren zich de kalkheuvels van de Sint-Pietersberg rond Maastricht. De gele luzernevlinder, *Colias hyale* (Linnaeus, 1758) daarentegen wordt als een trekvlinder (Maes et al. 2013) beschouwd en kan dus in principe overal aangetroffen worden.

Fichefet et al. (2008) schrijven (vertaald): "De gele luzernevlinder is een trekvlinder die zeldzamer is dan de Oranje luzernevlinder maar kan aangetroffen worden in alle geschikte biotopen. De zuidelijke luzernevlinder is een soort die vooral gezien wordt op plaatsen in een warme en droge omgeving en verklaart de aanwezigheid in de kalkgraslanden van de Viroin, Haute-Meuse en Lesse-et-Lomme. Gegevens (< 1950) uit de Ardennen en ten noorden van Samber en Maas zouden kunnen verwijzen naar de gele luzernevlinder waarmee hij kan verward worden."

In Maes et al. (2013) wordt het volgende vermeld: "De zuidelijke luzernevlinder is een vrij honkvaste soort en tevens een dwaalgast waarvan in Vlaanderen slechts vier

meldingen zijn: in 1944 in St-Lambrechts-Woluwe en in 1945 in Genk (beide gegevens zijn afkomstig van Gembloux en werden gecontroleerd door Verstraeten (1970)). Enkele recente waarnemingen uit Vorst (2000 - Troukens 2004) en Heusden (2006) zijn moeilijk te controleren en zouden gele luzernevlinders geweest kunnen zijn. De gele luzernevlinder is een vrij zeldzame trekvlinder. Door een mogelijke verwarring met lichte vormen van de Oranje luzernevlinder is de verspreiding en de trend van de gele luzernevlinder moeilijk in te schatten."

In Maes et al. (2021) wordt de gele luzernevlinder als kwetsbaar (VU) beschouwd en staat het volgende geschreven: "De gele luzernevlinder heeft sinds het begin van de jaren 2010 populaties in de Demervallei, aan de Grensmaas en in de Voerstreek, die jaarlijks aangevuld worden met immigranten uit Centraal-Europa. Op basis van een beperkte areaalgrootte en oppervlakte, een beperkt aantal vindplaatsen, een voortdurende afname in de kwaliteit van de habitat en sterke schommelingen in het aantal individuen is de gele luzernevlinder bedreigd."



Figs 2 en 3. De eerste bleekgele Luzernevlinders in 2018 die in het PDDS gebied werden gevangen. Berlare, Oost-Vlaanderen, 17.vii.2018. © Jurgen Couckuyt.



Fig. 4. Rups van de zuidelijke luzernevlinder, *Colias alfacariensis*, op *Hippocrepis comosa*, Viroin, NA, 19.vi.2020. © Jurgen Couckuyt.

Fig. 5. Uitgekweekte rups van de gele luzernevlinder, *Colias hyale*, op *Medicago sativa*, Lokeren, OV, 30.ix.2015. © Jurgen Couckuyt.

Door de invasie in 2018 en de mogelijke verwarring met lichte vormen van de Oranje luzernevlinder is dat vermoedelijk een overschatting van de populatiegrootte in Vlaanderen. De gele luzernevlinder heeft in Vlaanderen de rand van haar areaal bereikt en wordt als bijzonder mobiel beschouwd.”

Een gevangen exemplaar (Fig. 2) uit Berlare werd meegenomen voor een mtDNA-barcodingonderzoek dat toelaat om tot een sluitende determinatie te komen. Niet veel later kon er een tweede exemplaar (Fig. 3) genet worden dat weer werd vrijgelaten in de veronderstelling dat er nog snel meerdere zouden volgen. Helaas bleef het die dag bij deze 2 exemplaren op de Paardenweide te Berlare.

Determinatie op uiterlijke kenmerken

Alhoewel een sluitende determinatie niet mogelijk is op uiterlijke kenmerken werden de waargenomen luzernevlinders uit Berlare initieel toch bestempeld als exemplaren van de gele luzernevlinder. Deze soortbepaling gebeurde op basis van veldervaringen en nadien ook a.d.h.v. meerdere artikels (Dutreix 1980, Vacha 1983, Bale 1987 en Mérit 2000) die over dit onderwerp zijn gepubliceerd. In al deze publicaties probeert men op basis van uiterlijke kenmerken deze 2 soorten te onderscheiden van elkaar. Hierin wordt ook

duidelijk aangegeven dat 100% determinatie enkel kan gebeuren in het derde rupsstadium (L3). Bij een kweekexperiment zien we echter dat dit al mogelijk is vanaf het stadium L2 (Fig. 4 en 5).

Afhankelijk van de meerdere generaties per jaar bestaat er ook nog variatie in de uiterlijke kenmerken, wat het nog complexer maakt om tot een sluitende determinatie te komen voor deze soorten (Dutreix 1980). Het enige doeltreffende bewijs kan enkel geleverd worden op basis van een DNA-onderzoek bij de adulte vlinders.

Determinatie op basis van UV licht

Er bestaat ook een techniek om dagvlinders met UV licht te onderzoeken (Kudrna 2020; Hutsebaut *et al.* 2021). Op sommige plaatsen in Europa komen meerdere *Colias*-soorten voor in dezelfde biotoop en is deze manier van onderzoeken een alternatieve manier om bepaalde soorten te onderscheiden van elkaar. Zowel de boven- als de onderzijde van de vleugels geven een UV-patroon weer waardoor bepaalde soorten herkenbaar worden. Voor de soorten *Colias hyale* en *C. alfacariensis* is er echter geen verschil in de patronen te merken met deze techniek (Fig. 6).

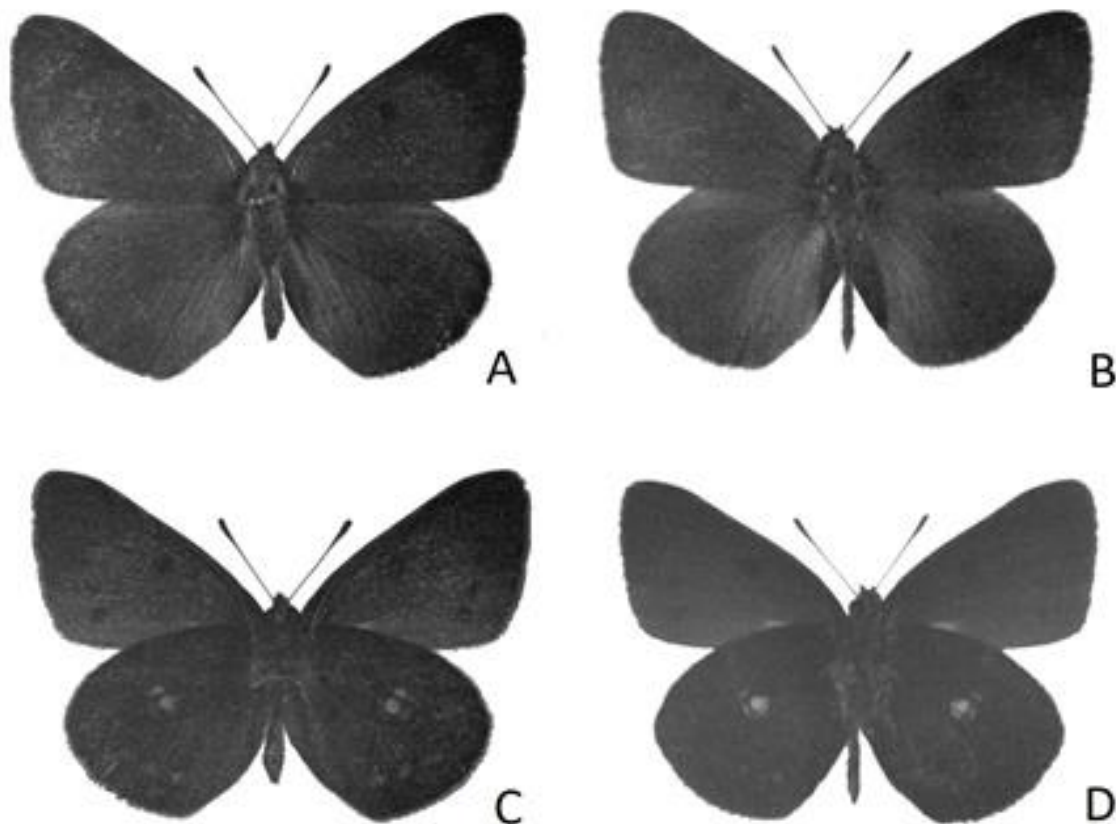


Fig 6. UV foto's van *Colias hyale*; A, bovenzijde en C, onderzijde. *Colias alfacariensis*; B, bovenzijde en D, onderzijde. © Jacques Hutsebaut.

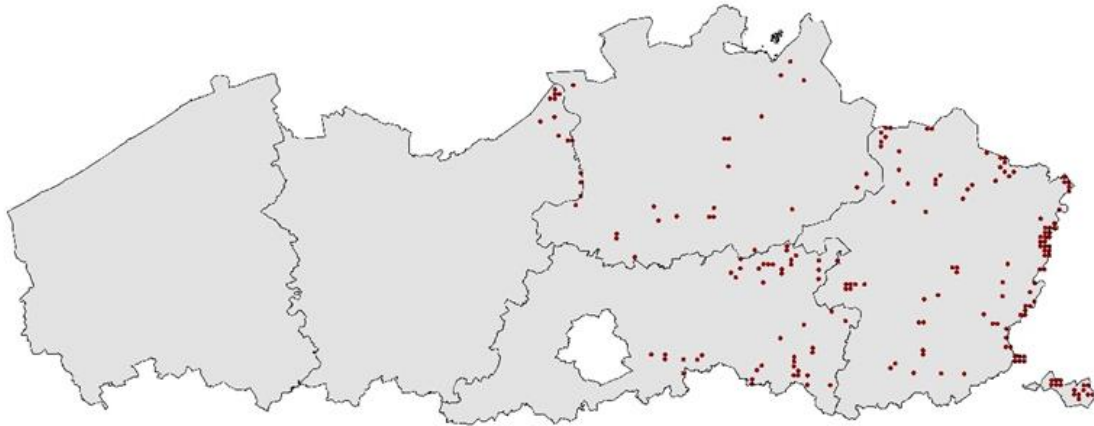


Fig. 7. De verspreiding (2011–2020) van de gele luzernevlinder, *Colias hyale*, in Vlaanderen volgens Maes *et al.* 2021.

Waarnemingen uit het veld

Ondanks het feit dat vele publicaties melden dat 100% determinatie niet mogelijk is a.d.h.v. uiterlijke kenmerken, is het niet onlogisch dat entomologen dit toch proberen te doen. Op het populaire forum waarnemingen.be merk je dat alle bleekgele *Colias* soorten die in Vlaanderen buiten de gekende vliegplaatsen van de zuidelijke luzernevlinder (Fig. 8) worden waargenomen, als exemplaren van de gele luzernevlinder (Fig. 7) worden gedetermineerd. De criteria die hier gehanteerd worden, zijn deze zoals hierboven al werden beschreven (Fichet *et al.* 2008; Maes *et al.* 2013, 2021).

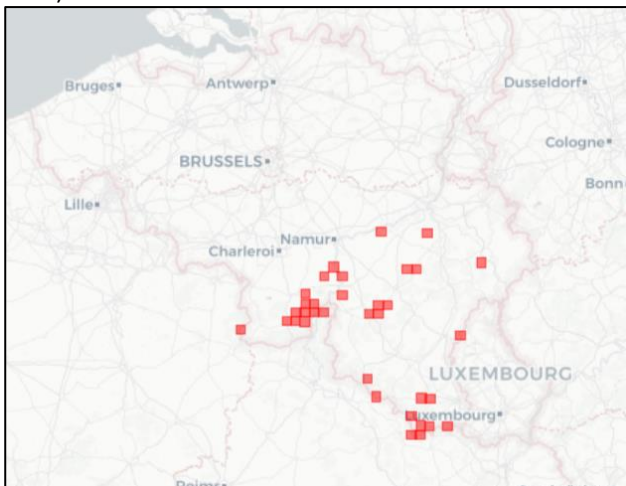


Fig. 8. De verspreiding (5 × 5 km hokken) van de zuidelijke luzernevlinder, *Colias alfaciensis*, in België volgens waarnemingen.be (consultatie 28.v.2021).

In Leclercq & Verstraeten (1970–1979) zijn 2 verspreidingskaartjes (Fig. 9) te vinden over beide soorten. Met het jaar 1950 als referentie kan je hier ook al vaststellen dat de zuidelijke luzernevlinder (toen vermeld met zijn synoniem *Colias australis*) zich vooral rond de kalkrijke gebieden Famenne-Calestienne ophield. De gele luzernevlinder werd vóór 1950 ook veel in Vlaanderen

gemeld. Er bestonden toen nog echter nog geen DNA-onderzoeken en dus zijn al deze gegevens niet echt sluitend te noemen.

Historische collecties en verzamelingen voor Vlaanderen

In 1911 werd in de haven van Gent een bleekgele *Colias*-soort gevangen en opgezet. Dit exemplaar uit de collectie van wijlen Mr. Malfliet (KINA Gent - Collectienummer Malfliet – LE.III.4 – 27094) werd destijds gedetermineerd als een gele luzernevlinder (Fig. 10). Vanwege de ouderdom van dit exemplaar is de kans op determinatie via mtDNA-barcoding zo goed als onbestaande. Er werd dan ook geen poging ondernomen om materiaal af te nemen

In de dagvlindercollectie van de VVE (geconsulteerd op 20.vi.2020) werden enkel exemplaren uit de provincie Antwerpen gevonden. Die dateren alle uit de 20^{ste} eeuw en werden gedetermineerd als gele luzernevlinder op uiterlijke kenmerken. Op deze exemplaren is nadien nooit een DNA-onderzoek gebeurd. In het KBIN te Brussel bevinden zich 91 exemplaren van bleke *Colias*-exemplaren uit Vlaanderen. Deze werden alle waargenomen tussen 1892 en 1948. Opvallend daarbij is dat 57 exemplaren uit Vlaams-Brabant komen. West-Vlaanderen wordt vertegenwoordigd met 5 exemplaren, Oost-Vlaanderen 11 exemplaren, Antwerpen 14 exemplaren en de provincie Limburg slechts 4 exemplaren. Alle exemplaren in deze collectie zijn gedetermineerd a.d.h.v. uiterlijke kenmerken als *Colias hyale*.

Voortplanting in het noorden van Oost-Vlaanderen

Na de eerste vondsten op 17 juli 2018, werden nog waarnemingen van een bleekgele *Colias*-soort gemeld te Moerbeke op 21 en 31 juli 2018. In de 2^{de} helft van

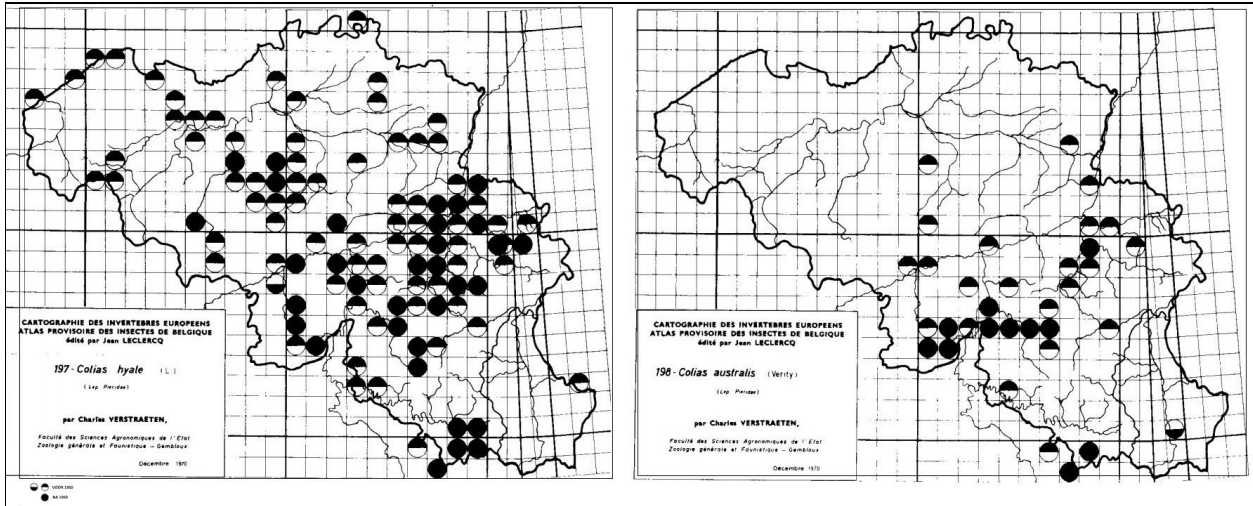


Fig. 9: Verspreiding van *Colias hyale* (links) en *Colias australis* (= *alfacariensis*) (rechts) in de 20^{ste} eeuw volgens Leclercq & Verstraeten.

augustus werd een nieuwe lichter bleke Luzernevlinders gemeld. Deze werden op diverse plaatsen waargenomen maar vertoonden deze keer geen trekgedrag en waren opvallend fris. Zo werden er meldingen gedaan op 17 en 18 augustus 2018 te Moerbeke (Vermeulen 2018), op 22 augustus 2018 te Zele, en opnieuw meerdere exemplaren in de Paardenweide en het Aubroek te Berlare van 24 tot 28 augustus 2018. Het is mogelijk dat deze nieuwe waarnemingen nakomelingen zijn van de eerste vondsten op 17 juli 2018 uit hetzelfde gebied maar er werden geen andere stadia gevonden tijdens de vele zoektochten. Later werden ook nog enkele exemplaren gevonden op 31 augustus 2018 te Waasmunster en Wetteren en ten slotte op 2 september 2018 in de Kalkense meersen. Uit al deze meldingen werden 6 exemplaren ingezameld en opgestuurd naar het Butterfly Diversity and Evolution Lab in Barcelona waar ze werden bevestigd als *Colias hyale* a.d.h.v. mtDNA-barcoding.

Volgens Bink (1992) geschiedt de volledige levenscyclus (van ei tot vlinder) van een zomergeneratie van 30 tot 47 dagen voor de gele luzernevlinder en van 31

tot 49 dagen voor de zuidelijke luzernevlinder. Tussen 17 juli en 28 augustus 2018 zijn er respectievelijk 42 dagen verlopen waardoor een volledige cyclus perfect mogelijk is. Als er kans op voortplanting is geweest in de maand juli 2018, kunnen we de vraag stellen op welke waardplanten deze luzernevlinders zich hebben voortgeplant?

In de kalkrijke gebieden worden de eitjes van de zuidelijke luzernevlinder afgezet op *Hippocrepis comosa*, Paardenhoeftklaver (Fig. 4). Buiten één vindplaats komt deze plant niet voor in Vlaanderen (Fig. 11). Bink (1992) schrijft dat eiafzet ook voorkomt op *Securigera varia*, Bont kroonkruid of Kroonwikke. Deze plant komt wel veelvuldig voor in Vlaanderen (Fig. 12). Hier dient wel bij vermeld te worden dat het over kweekexperimenten gaat.

De waardplanten voor de gele luzernevlinder (Bink 1992) zijn *Hippocrepis comosa*, Paardenhoeftklaver (Fig. 11); *Medicago sativa*, Luzerne (Fig. 13); *Securigera varia*, Bont kroonkruid (Fig. 12) en *Trifolium pratense*, Rode klaver (Fig. 14). Buiten Paardenhoeftklaver komen alle waardplanten verspreid voor in Vlaanderen.



Fig. 10. Exemplaar uit collectie Malfliet (KINA) gedetermineerd als *Colias hyale* ♂, Gent. 10.ix.1911. A, bovenkant © Tara Roelens. B, onderkant © Hugo Van Doorslaer.

Hippocrepis comosa
paardenhoeftklaver

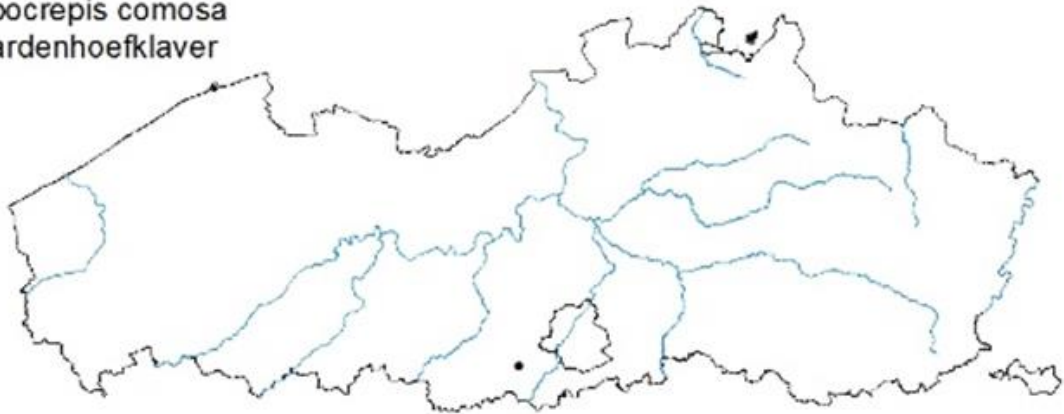


Fig. 11. Verspreiding van paardenhoeftklaver, *Hippocrepis comosa*, in Vlaanderen. ©Wouter Van Landuyt.

Securigera varia
bont kroonkruid

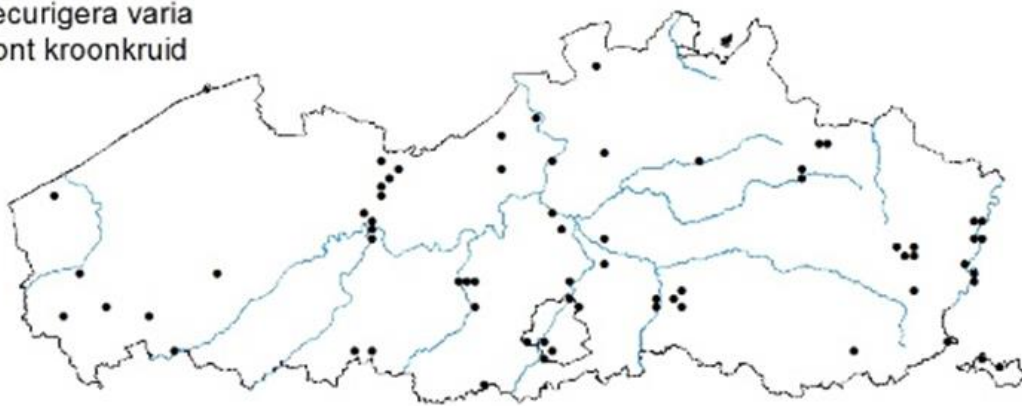


Fig. 12. Verspreiding van bont kroonkruid, *Securigera varia*, in Vlaanderen. © Wouter Van Landuyt.

Medicago sativa
luzerne

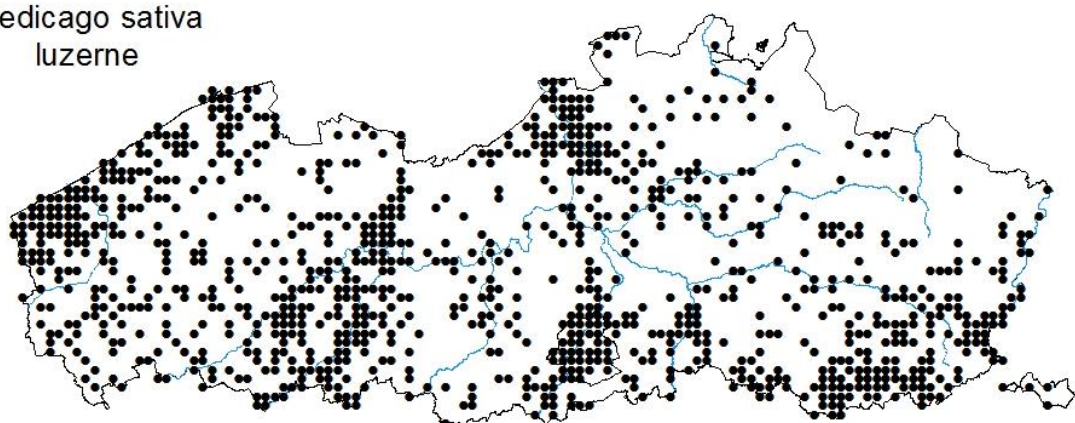


Fig. 13. Verspreiding van luzerne, *Medicago sativa*, in Vlaanderen. © Wouter Van Landuyt.

Trifolium pratense
rode klaver



Fig. 14. Verspreiding van rode klaver, *Trifolium pratense*, in Vlaanderen. © Wouter Van Landuyt.

Resultaten op basis van mtDNA- barcodingonderzoek

De ingezamelde *Colias* exemplaren (Fig. 15) uit het projectgebied PDDS werden onderzocht in het Butterfly Diversity and Evolution Lab van Barcelona. Deze werden alle bevestigd als gele luzernevlinder. Alle andere waargenomen exemplaren van bleke Luzernevlinders in dezelfde periode die niet werden opgenomen in het mtDNA-barcodingonderzoek, werden onder de groep

gele/zuidelijke luzernevlinder ingedeeld wegens geen 100% zekerheid. Een lijst met de DNA sequenties van deze bevestigde exemplaren (rode omkaderingen) vind je achteraan als bijlage. Er is ook een stamboom-schema bijgeleverd van alle samples die aan deze barcoding test werden onderworpen. Daar zitten ook 23 exemplaren bij vanuit Wallonië en Noord-Frankrijk, die zowel op kalkrijke als niet kalkrijke biotopen i.f.v. een grote testcase (niet gepubliceerd) met de VVE WG Dagvlinders werden gevangen.



Fig. 15. Alle 6 ♂♂ exemplaren (leg. T. Vermeulen, P. Van de Velde & J. Couckuyt) werden bevestigd als *Colias hyale* op basis van een mtDNA-barcodingonderzoek. © Tara Roelens.

Besluit

Tijdens een test op uiterlijke kenmerken met enkele leden van de VVE WG Dagvlinders, waren we er initieel van overtuigd dat er zich minstens één exemplaar van de zuidelijke luzernevlinder tussen de 6 verzamelde exemplaren bevond. Maar uit DNA onderzoek blijkt nog maar eens dat het niet mogelijk is om op uiterlijke kenmerken een sluitend onderscheid te maken. Vooral op plaatsen waar beide soorten door elkaar vliegen is de kans tot determinatie zo goed als uitgesloten. Tot het tegendeel is bewezen, lijkt enkel de gele luzernevlinder zich als een onregelmatige trekvlinder te gedragen en kan tijdens gunstige jaren in Vlaanderen waargenomen worden. De zuidelijke luzernevlinder daarentegen kan nog steeds als honkvast worden beschouwd.

Dankwoord

Dit artikel werd grondig nagelezen door Dirk Maes. Wij willen ook volgende mensen hartelijk bedanken voor hun bijdrage: Cecilia Corbella & Roger Vila van het Institut de Biologia Evolutiva (CSIC-UPF) uit Barcelona die het mogelijk maakten om een mtDNA-barcodingonderzoek te

laten gebeuren op de 6 ingezamelde *Colias* samples uit Oost-Vlaanderen; Willy De Prins (VVE, Vlaamse Vereniging voor Entomologie) voor het beschikbaar stellen van de *Colias* collectie (Vrieselhof, Ranst); Wouter Dekoninck (Conservator van de entomologische collecties) & Stefan Kerkhof (Collection manager Lepidoptera KBIN) voor het beschikbaar stellen van de *Colias*-collectie uit het Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen (KBIN) in Brussel; Jacques Hutsebaut (Belgische Lepidopterologische Kring) voor het aanleveren van de UV-foto's van beide *Colias* soorten; Wouter Van Landuyt (INBO) voor het aanleveren van de actuele verspreidingskaartjes van de waardplanten van de Gele en zuidelijke luzernevlinders in Vlaanderen; Marleen Coppens (conservator KINA Gent) voor de mogelijkheid tot het fotograferen van het *Colias* exemplaar uit 1911 (leg. Malfliet); Hugo Van Doorslaer voor het aanleveren van informatie betreffende deze vondst; Marc Herremans & Dirk Maes voor de toelating voor het gebruik van het verspreidingskaartje van de gele luzernevlinder uit Maes *et al.* 2021; Tara Roelens voor het fotograferen van diverse *Colias*-exemplaren die in dit artikel zijn gebruikt; Vanessa Van Acker & Sandra Casier (VVE WG Dagvlinders) voor de Engelse en Franse vertalingen.

Referenties

- Groupe de travail des Lépidoptéristes. 1987. *Les papillons de jour et leurs biotopes. Espèces, Dangers qui les menacent, Protection.* — Ligue Suisse pour la Protection de la Nature, Bâle, 512 pp.
- Bink F. A. 1992. *Ecologische Atlas van de Dagvlinders van Noordwest-Europa.* — Schuyt & Co Uitgevers en Importeurs, Haarlem, 512 pp.
- Dutreix C. 1980. Etude des deux espèces *Colias hyale* Linné et *Colias australis* Verity. — *Alexanor* **11**(7): 297–316.
- Fichetef V., Barbier Y., Baugnée J.-Y., Dufrene M., Goffart Ph., Maes D. & Van Dyck H. 2008. *Papillons de jour de Wallonie (1985–2007).* — Service Public de Wallonie, Direction Générale de l'Agriculture, des Ressources Naturelles et de l'Environnement, Série "Faune-Flore-Habitat", n°4, 320 pp.
- Hutsebaut J. & Couckuyt J. 2021. UV images greatly facilitate the taxonomy of *Colias croceus* (Geoffrey in Fourcroy, 1785) and *Colias erate* (Esper, [1805]) forms (Lepidoptera, Papilionoidea, Pieridae) — *Lambillionea* **121**(1): 68–83.
- Kudrna O. 2020. The hidden wing pattern in European species of the genus *Colias* (Lepidoptera: Pieridae). — *Phegea* **48**(4): 122–137.
- Leclercq J. & Verstraeten Ch. 1970–1979. *Atlas provisoire des insectes de Belgique.* — Faculté des Sciences agronomiques de l'Etat, Gembloux.
- Maes D., Vanreusel W. & Van Dyck H. 2013. *Dagvlinders in Vlaanderen: nieuwe kennis voor betere actie.* — Lannoo nv., Tielt, 542 pp.
- Maes D., Herremans M., Vantieghem P., Veraghtert W., Jacobs I., Fajgenblat M. & Van Dyck H. 2021. IUCN Rode Lijst van de dagvlinders in Vlaanderen 2021. — *Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2021 (10).* Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel. <https://doi.org/doi.org/10.21436/inbor.34052968>.
- Merit X. & Merit V. 2002. *Colias hyale* Linne ou *Colias alfacariensis* Ribbe ? Clés pour la détermination de deux espèces difficiles (Lepidoptera, Pieridae). — *Bulletin des Lepidopteristes Parisiens* **9**(16): 33–36.
- Steehan C. & Sierens T. 2019. Interessante waarnemingen van Lepidoptera in België in 2018. — *Phegea* **47**(2): 53–63.
- Vacha J. & Povolný D. 1983. Phenotypical discrimination of Central European populations of adults in sibling species *Colias hyale* and *C. australis* (Lepidoptera, Pieridae). — *Acta entomologica bohemoslovaca* **80**: 96–113.
- Van Landuyt W., Vanhecke L. & Brosens D. 2012. *Florabank1: a grid-based database on vascular plant distribution in the northern part of Belgium (Flanders and the Brussels Capital region).* — *PhytoKeys* **12**: 59–67. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.12.2849>
- Vermeulen T. 2018. Een nieuwe dagvlinder voor onze streek? — *Durme en Scheldeland* **20**(4): 4–5.

Geconsulteerde websites

- <https://nl.wikipedia.org/wiki/DNA-barcoding> [geconsulteerd op 16.v.2020].
- <https://www.nature.com/articles/srep12395> [geconsulteerd op 16.v.2020].
- http://www.phegea.org/Dagvlinders/BINK_MonographsMainPage.htm [geconsulteerd op 16.v.2020].
- <https://www.biologiaevolutiva.org/rvila/Lab/Home.html> [geconsulteerd op 16.v.2020].
- <http://www.waarnemingen.be> [geconsulteerd op 28.v.2021].
- <https://scheldedurme.waarnemingen.be> (PDDS) [geconsulteerd op 28.v.2021]

Annex: DNA sequenties

➤ RVcoll. 14U574_Colias_hyale (leg. Vermeulen T.)

AACTTTATATTTTATTTTTGGTGTATGGGCAGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGTTTATTAATTCGTACAGAATTAGGTAACCCT
GGGTCATTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAATACTATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAATTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATAGCTTTCCCACGTATAAATAATATAAGATTTTG
ACTACTACCCCTCATTAATTTTATTAATTTCCAGAAGTATTGTTGAAAACGGAGCAGGAACAGGATGAACAGTTTACCCCTCT
TTCCTCTAATATTGCCCATAGAGGATCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTCTCTTCATCTTGCAGGAATTCATCTATTCTGGAGCTAT
TAATTTTATTACAACAATTATTAATATACGAATTAATAATATATCATTGATCAAATACCTTTATTTGTGTGAGCAGTGGGAATTACT
GCCTTATTATTACTATCATTACCAGTTTTAGCTGGTCAATTACCATATTATTGACTGATCGAAATTTAAATACATCTTTTTTGA
TCCTGCTGGAGGAGGAGACCAATTCTCTATCAACATTTATTT

➤ RVcoll. 14U576_Colias_hyale (leg. Van de Velde P.)

AACTTTATATTTTATTTTTGGTGTATGGGCAGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGTTTATTAATTCGTACAGAATTAGGTAACCCT
GGGTCATTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAATACTATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAATTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATAGCTTTCCCACGTATAAATAATATAAGATTTTG
ACTACTACCCCTCATTAATTTTATTAATTTCCAGAAGTATTGTTGAAAACGGAGCAGGAACAGGATGAACAGTTTACCCCTCT
TTCCTCTAATATTGCCCATAGAGGATCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTCTCTTCATCTTGCAGGAATTCATCTATTCTGGAGCTAT
TAATTTTATTACAACAATTATTAATATACGAATTAATAATATATCATTGATCAAATACCTTTATTTGTGTGAGCAGTGGGAATTACT
GCCTTATTATTACTATCATTACCAGTTTTAGCTGGTCAATTACCATATTATTGACTGATCGAAATTTAAATACATCTTTTTTGA
TCCTGCTGGAGGAGGAGACCAATTCTCTATCAACATTTATTT

➤ RVcoll. 14U584_Colias_hyale (leg. Van de Velde P.)

AACTTTATATTTTATTTTTGGTGTATGGGCAGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGTTTATTAATTCGTACAGAATTAGGTAACCCT
GGGTCATTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAATACTATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAATTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATAGCTTTCCCACGTATAAATAATATAAGATTTTG
ACTACTACCCCTCATTAATTTTATTAATTTCCAGAAGTATTGTTGAAAACGGAGCAGGAACAGGATGAACAGTTTACCCCTCT
TTCCTCTAATATTGCCCATAGAGGATCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTCTCTTCATCTTGCAGGAATTCATCTATTCTGGAGCTAT
TAATTTTATTACAACAATTATTAATATACGAATTAATAATATATCATTGATCAAATACCTTTATTTGTGTGAGCAGTGGGAATTACT
GCCTTATTATTACTATCATTACCAGTTTTAGCTGGTCAATTACCATATTATTGACTGATCGAAATTTAAATACATCTTTTTTGA
TCCTGCTGGAGGAGGAGACCAATTCTCTATCAACATTTATTT

➤ RVcoll. 14U585_Colias_hyale (leg. Couckuyt J.)

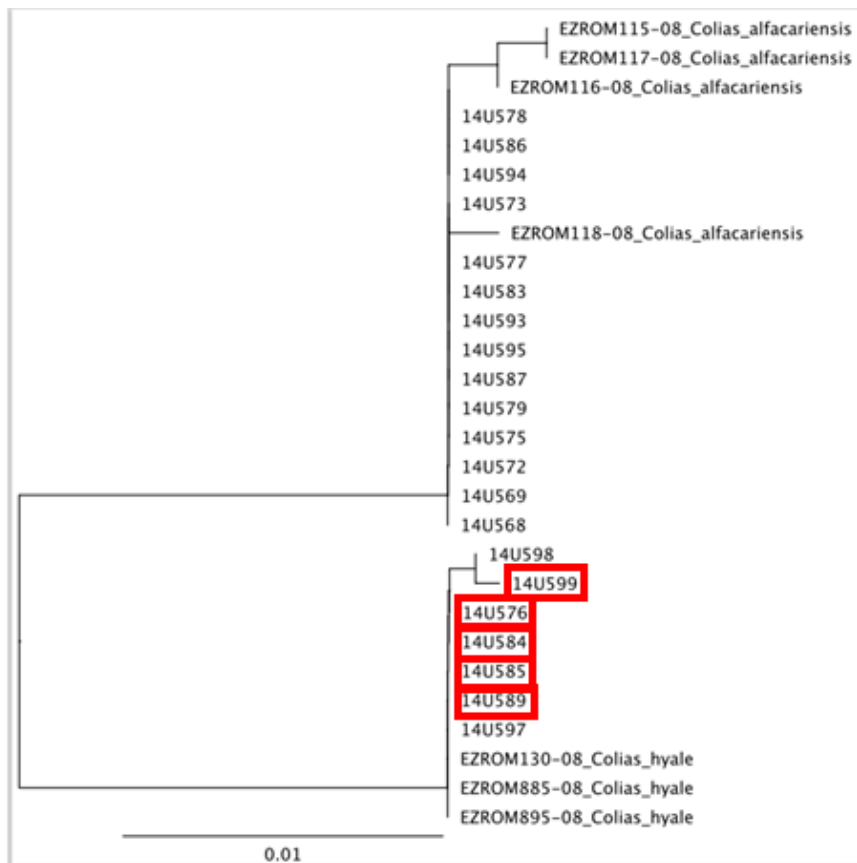
AACTTTATATTTTATTTTTGGTGTATGGGCAGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGTTTATTAATTCGTACAGAATTAGGTAACCCT
GGGTCATTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAATACTATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAATTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATAGCTTTCCCACGTATAAATAATATAAGATTTTG
ACTACTACCCCTCATTAATTTTATTAATTTCCAGAAGTATTGTTGAAAACGGAGCAGGAACAGGATGAACAGTTTACCCCTCT
TTCCTCTAATATTGCCCATAGAGGATCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTCTCTTCATCTTGCAGGAATTCATCTATTCTGGAGCTAT
TAATTTTATTACAACAATTATTAATATACGAATTAATAATATATCATTGATCAAATACCTTTATTTGTGTGAGCAGTGGGAATTACT
GCCTTATTATTACTATCATTACCAGTTTTAGCTGGTCAATTACCATATTATTGACTGATCGAAATTTAAATACATCTTTTTTGA
TCCTGCTGGAGGAGGAGACCAATTCTCTATCAACATTTATTT

➤ RVcoll. 14U589_Colias_hyale (leg. Van de Velde P.)

AACTTTATATTTTATTTTTGGTGTATGGGCAGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGTTTATTAATTCGTACAGAATTAGGTAACCCT
GGGTCATTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAATACTATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAATTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATAGCTTTCCCACGTATAAATAATATAAGATTTTG
ACTACTACCCCTCATTAATTTTATTAATTTCCAGAAGTATTGTTGAAAACGGAGCAGGAACAGGATGAACAGTTTACCCCTCT
TTCCTCTAATATTGCCCATAGAGGATCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTCTCTTCATCTTGCAGGAATTCATCTATTCTGGAGCTAT
TAATTTTATTACAACAATTATTAATATACGAATTAATAATATATCATTGATCAAATACCTTTATTTGTGTGAGCAGTGGGAATTACT
GCCTTATTATTACTATCATTACCAGTTTTAGCTGGTCAATTACCATATTATTGACTGATCGAAATTTAAATACATCTTTTTTGA
TCCTGCTGGAGGAGGAGACCAATTCTCTATCAACATTTATTT

➤ RVcoll. 14U599_Colias_hyale (leg. Couckuyt J.)

GACTTTATATTTTATTTTTGGTGTATGGGCAGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGTTTATTAATTCGTACAGAATTAGGTAACCCT
GGGTCATTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAATACTATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAATTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATAGCTTTCCCACGTATAAATAATATAAGATTTTG
ACTACTACCCCTCATTAATTTTATTAATTTCCAGAAGTATTGTTGAAAACGGAGCAGGAACAGGATGAACAGTTTACCCCTCT
TTCCTCTAATATTGCCCATAGAGGATCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTCTCTTCATCTTGCAGGAATTCATCTATTCTGGAGCTAT
TAATTTTATTACAACAATTATTAATATACGAATTAATAATATATCATTGATCAAATACCTTTATTTGTGTGAGCAGTGGGAATTACT
GCCTTATTATTACTATCATTACCAGTTTTAGCTGGTCAATTACCATATTATTGACTGATCGAAATTTAAATACATCTTTTTTGA
TCCTGCTGGAGGAGGAGACCAATTCTCTATCAACATTTATTT



14U574_*Colias_hyale* (leg. T. Vermeulen) werd niet mee opgenomen in deze dendrogram.