



Examensarbete

Naturvård och artmångfald, 180 hp



En beskrivning av ny art inom
minerarflugsteklarna (Opiinae
Blanchard; 1845) baserat på
svenskt material.

Halmstad, 24 maj
Agnes Örn

Sammanfattning

Denna studie utfördes för att identifiera en hittills okänd art för Sverige inom minerarflugsteklarna med hjälp av en genomgående artbeskrivning och gensekvensering av det svenska materialet som samlats in via Station Linnés malaisefälleprojekt.

Studien utfördes på 3 individer som hittats i två malaisefällor, i Pajala respektive Övertorneå, och bestod av två honor och en hane. Resultatet visade att studiens individer var den synonymiserade arten *Opius saevus*/*Apodesmia saeva*, som tidigare hittats i Iran, Skottland, Nederländerna, Sydkorea, Österrike och Finland. Att den är synonymiserad betyder, i detta fall, att det finns två namn för arten, då forskare inte riktigt håller med om vilket släkte den tillhör. De svenska individerna är svarta med gula ben, har en occipital carina som möter och går ihop i den hypoclypeal carinan samt obefintlig notauli. Andra karaktärer innefattar en elliptisk eller kilformad pterostigma, ett tydligt äggläggningsrör och 30 antennsegment.

Fortsatt forskning krävs för att med säkerhet kunna placera arten inom *Apodesmia* eller *Opius*, men genom att utföra studier som denna utökas kunskapen om den svenska insektsfaunan hos både forskare och allmänheten. En fullständig revidering är nödvändig inom minerarflugsteklarna för att förenkla framtida forskning och artbestämning, samt minska antalet synonymiseringar.

Abstract

This study was carried out to identify a hitherto unknown species for Sweden within the Opiinae with the help of a thorough species description and gene sequencing of the Swedish material gathered in Station Linnés' malaise trap project.

The study was carried out on 3 individuals, which were found in two malaise traps in Pajala and Övertorneå respectively and consisted of two females and one male. The results showed that the individuals of the study were the synonymized species *Opius saevus*/*Apodesmia saeva*, previously found in Iran, Scotland, South Korea, the Netherlands, Austria and Finland. That it is synonymized means, in this case, that there are two names for the species, as scientists do not quite agree on which genus it belongs to. The Swedish individuals are black with yellow legs, have an occipital carina that meets and merges into the hypoclypeal carina and a non-existent notauli. Other characters include an elliptical or wedge-shaped pterostigma, a distinct ovipositor tube, and 30 antennal segments.

Placing the species within *Apodesmia* or *Opius* cannot be done without further research. But by carrying out studies like this, the knowledge of the Swedish insect fauna is expanded among both researchers and the public. A complete revision is necessary within the Opiinae taxa to simplify future research and species determination, and thereafter reduce the number of synonymizations.

Förord

Tack till min handledare Göran Sahlen, externa handledare Dave Karlsson samt labbtekniker Mårten Klinth för stöd och hjälp, samt till alla medlemmar i det svenska malaisefälleprojektet, specifikt Jörgen Naalisvaara, för insamlandet av projektets individer.

Inledning

Introduktion till Minerarflugstekeln

Nya arter upptäcks kontinuerligt och behöver därför beskrivas för att öka förståelsen och kunskapen om djur och natur. Denna kunskap är viktigare idag än någonsin då djur kontinuerligt dör ut och försvinner (Knight. 2022). Beskrivna arter delas upp med hjälp av systematik, vilket handlar om att identifiera, beskriva, namnge och slutligen klassificera eller dela upp organismer i olika grupper beroende på släktskap. Detta system utvecklades år 1735 av Carl von Linné, och innefattar klassificeringar av både växt- och djurvärlden (Naturhistoriska riksmuseet. 2021). Sättet att ordna individerna följer biologins hierarkiska system, med art högst upp och efterföljande släkte, familj, ordning, klass, stam, rike, domän och liv (Naturhistoriska riksmuseet. 2021). Inom dessa klassificeringar finns även lägre nivåer, exempelvis ordning som kan delas in i nivåerna magnordning, överordning, ordning, underordning, infraordning och parvordning (Sakamoto et al. 2021). Klassificeringen rike innefattar bland annat leddjur, vilket insekterna hör till. Det är den artrikaste gruppen bland marklevande djur och kan vara allätare, parasiter, växtätare eller rovdjur. De är väldigt framgångsrika och kan leva i nästan alla miljöer (Naturhistoriska riksmuseet. 2017). Enligt SLU Artdatabanken (2022) finns det 28400 upptäckta insektsarter i Sverige och mellan 900 000 till en miljon beskrivna arter i världen (SLU artdatabanken. 2022; Britannica. uå). Det som kännetecknar insekterna är dess yttre skelett (exoskelett), tre par ben, antennerna samt den tredelade kroppen (Sveriges Entomologiska Förening. 2023; Britannica. uå).

En ordning inom insekterna är steklarna, eller *Hymenoptera*, Linnaeus; 1758, vilket är Sveriges rikaste insektsordning med ungefär 8000 arter. Man delar in dem i växtsteklar, parasitsteklar och gaddsteklar, vilka innefattar familjer såsom barrsteklar, pysslingsteklar respektive myror (Sveriges Entomologiska Förening. 2023). Enligt Ayasse et al. (2001) är det stor diversitet på ordningen och bland annat beteende varierar stort, allt från solitära individer till sociala kolonier. Lägre systematiska indelningar efter ordning är familj, och arten som studien ska fokusera på är inom familjen Bracksteklar (*Braconidae*, Latreille; 1829), vilket är den näst största familjen inom ordningen och väldigt vanliga (Achterberg et al. 2013). De räknas som parasitoider, eller parasitsteklar, vilket betyder att de parasiterar en annan individ (Brady et al. 2022). Parasiteringen är en del av brackstekelns utveckling, då de utvecklas till larver i värden, och varje art har specialiserat sig efter just sin värds egenskaper eller beteende (Naturhistoriska riksmuseet. 2017). Förhållandet med värden avslutas alltid med dennes död. Det finns 40 000 arter inom Bracksteklarna i världen, varav ungefär 1000 finns i Sverige (Nationalencyklopedin. 2023). Ett exempel på en underfamilj inom brackstekeln är Minerarflugsteklarna,

vilken är en av de största underfamiljerna inom bracksteklarna och innehåller över 1300 arter (Karlsson. 2010). Många släkten inom minerarflugstekeln innefattar synonymiseringar, vilket är ett begrepp för ord med samma innebörd som ett annat och ofta uppkommit på grund av forskare som inte hållit med varandra om exempelvis vilket släkte en art passar in i. Exempelvis *Coleopiodes* är en synonymisering av *Coleopius* Fischer; 1964 (The Wharton Lab. uå), vilket är en synonymisering av *Bitomus* Szepligeti; 1910 (The Wharton Lab. uå) vilket då betyder att dessa är samma art. Till sist kommer art, och stora delar av ordningen är dåligt kända med många arter som återstår att upptäcka även på nationell nivå. Detta har bidragit till ett flertal synonymiseringar även här - exempelvis *Opius saevus* Davis; 1838 och *Apodesmia saeva* Achterberg; 1997.

Minerarflugstekelns levandssätt

Biologin är okänd hos många av arterna inom minerarflugsteklarna med liten andel kunskap kopplad till dem. Endast en tredjedel av alla arter är väl kända, varav alla är solitära endoparasiter och koinobionta (Karlsson et al. 2012). De är alltså ensamlevande parasiter som lever i en värdorganism respektive låter värden fortgå sin utveckling under tiden som parasiteringen fortgår. Minerarflugstekeln kan därigenom parasitera alla värdens utvecklingsstadier (Harvey. et al. 2016) genom att påbörja utvecklingen i värdens ägg eller larv och avsluta den genom att ta sig ut ur puppan som fullvuxen. De tillbringar alltså största delen av sin utvecklingsperiod inuti värden, vilket påverkar värdens immunsystem negativt på grund av ämnen som injicerats av honan och dess ägglägningsrör (Wharton et al. 1997). En annan livsstil, som inte innefattar minerarflugstekeln, är ektoparasitism och idiobionter, vilket är parasiter som lever utanpå sin värd respektive parasiter som på grund av sin aktivitet omedelbart tar död på sin värd (Wharton et al. 1997).

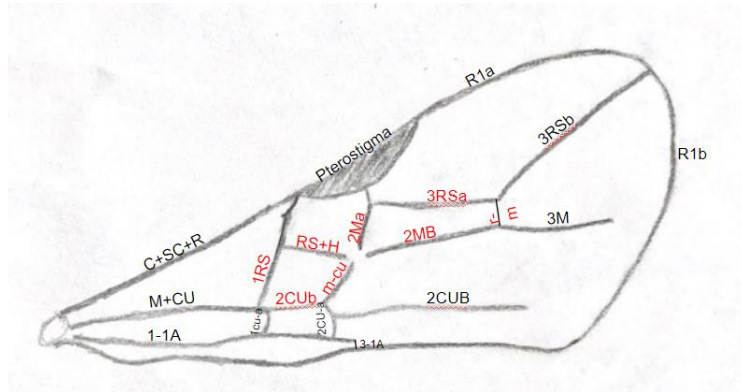
Minerarflugstekelns värd är fluggruppen högre flugor (Cyclorrhapha), vilket är ett taxon inom infraordningen Muscomorpha. Det finns 60 000 beskrivna arter inom gruppen som är karakteriserade av den diversa larven och hur denna präglas av sin livshistoria (Marchiori. 2020).

Morfologi

Morfologin är lika viktig som DNA-sekvensering för artbestämning, men terminologin för de olika kroppsdelarna är dock inte alltid detsamma för alla insekter, steklar, bracksteklar eller ens minerarflugsteklar (Karlsson et al 2012). De typiska karaktärerna hos steklar innefattar fyra vingar, en tydlig midja och antingen bitande eller sugande mundelar. Ovipositor, eller ägglägningsröret, är oftast långt och kan användas till att sticka, penetrera eller såga, exempelvis löv eller liknande (Lindauer. uå). Skillnader inom

gruppen finns, exempelvis växtsteklar som saknar en midja, vilket är varför steklarna oftast delas in i två grupper - midjesteklar och växtsteklar.

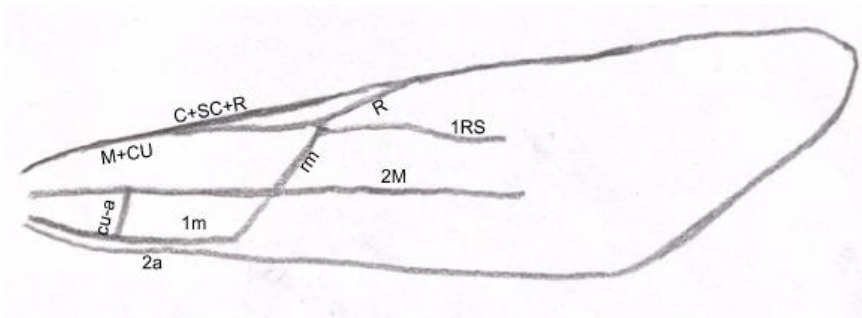
Nedan är fram - och bakvinge, kropp, ben samt antennsegment skissade från en av individerna projektet utgår ifrån, med utmarkerade kroppsdelar och namnen på dessa.



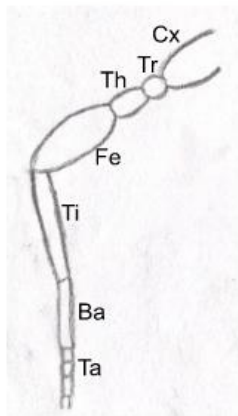
Figur. 1. Tecknad framvinge med utmarkerade ribbor.

Vingarna är uppdelade med längs- och tvärgående vener som ser liknande ut beroende på art, och namnen på de längsgående venerna är costalven, radialven, medialven, cubitalven och analven. Beroende på tjockleken på första venen så klumpas ibland costalvenen, radialvenen och medialvenen ihop (Karlsson. 2010). Hos minerarflugsteklarna är framvingen uppdelad just så, och ett par av dessa vener bildar något som liknar ett uppdelat hästhuvud. Det är typiskt för alla bracksteklar och utgörs av venerna 2CUB, 1RS, RS+H, m-cu, 2Ma, 2MB, r-m och 3RSa, vilka visas röda på fig. 1. Ett exempel på en annan vingvenation är den hos Ichneumonoidea, *Latreille*; 1802, vilket är en annan familj inom steklarna och som är känd för att ha ett hästhuvud men utan att det är uppdelat (Karlsson et al. 2012). Venerna RS+H och 2Ma finns inte, och ett par andra skillnader kan också uppkomma beroende på art. Stekelvingar är antingen transparenta eller någorlunda färgade och innefattar oftast både pterostigma och en viss hårlighet (Achterberg. et al. 2013).

Bakvingen är uppdelad på ett liknande sätt, med längsgående och tvärgående vener. Vissa arter, exempelvis Scelionida, har väldigt lite venation på bakvingen (Masner. 2002), men minerarflugstekelns innefattar både costalven, radialven och medialven, även om resterande vener inte går hela vägen till vingslutet (fig. 2).

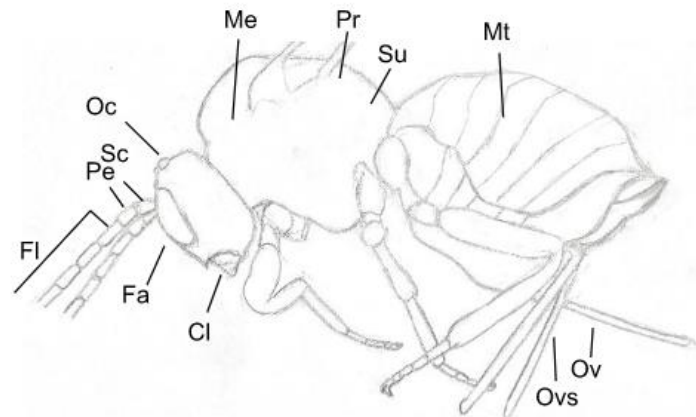


Figur. 2. Bakvinge



Cx = Coxa, Tr = Trochanter
Th = Trochantellus, Fe =
Femur, Ti = Tibia, Ba =
Basitarsus, Ta = Tarsus

Figur. 3. Benet i fokus.



Oc = Ocellus, Me = mesosoma, Mt = metasoma, Fa = fasettögon,
Ov = ovipositor, Sc = scapus, Pe = pedicellus, Fl = flagellum, Cl =
Clypeus, Ovs = äggklämningsrörets slida, Pr = prododeum, Su =
scutellum

Figur. 4. Illustrerad av Alma Mathlin

Kroppen består av tre segment - huvudet, mesosoma och metasoma. Mesosoma och metasoma är mestadels orelevanta i denna studie och kommer därigenom inte diskuteras vidare, då endast mindre delar av dem blir undersökta, såsom notauli och postpectal carina. Dessa är lokaliserade vid vingmuskeln respektive under frambenen. Även delar av mesosoma, såsom propodeum och scutellum, undersöks för att veta om dessa är släta eller skrovliga och liknande, men är inte vad fokuset ligger på.

Huvudet består av tre ocelli, fasettögon, mundelarna (Karlsson et al. 2012) samt antennerna vilka är uppdelade i tre delar; scapus, pedicellus och flagellum (fig. 4). Scapus är det första segmentet, följt av pedicellus och de resterande antennsegmenten är flagellum, vilka är uppdelat i segment eller så kallade flagellomerer (Karlsson et al. 2012). För arten i projektets fall innefattar antennerna 30 antennsegment, där även kemoreceptorerna, insekternas luktorgan, finns (Fig. 8) (Naturhistoriska riksmuseet. 2013). Ocellus, eller punktögonen, är placerade högst upp på huvudet och är formade som cirkulära upphöjningar. De kallas ibland för enkla ögon och påverkas endast av ljusets intensitet (Parry. 1947) och skapar därigenom inte

en bild av omgivningen. De typiska ögonen kallas fasettögon, och är vad insekter använder för att se.

Benen hos steklar är unika tack vare trochantellus och trochanter, vilka är en del av femur även om de ser ut som två separerade segment. De är lokaliserade strax efter Coxa (Deans. 2009) och före tibia och tarsus (fig. 3).

Det finns ett antal olika typer av mundelar, såsom exodonta, vilket endast uppvisas hos alysiinae, *Leach*; 1815, där mandiblarna är riktade ifrån varandra (Karlsson et al. 2012). Endodonta är en annan mundel där clypeus överlappas när munnen är stängd (Delclos et al. 2011) följt av cyclostom, vilket är när en individs mundel inte helt stängs och ser konkav ut (Karlsson et al. 2012). Den sista mundelen är icke-cyclostom, eller subcyclostomic, vilket är vad Karlsson et al. (2012) kallar det för när en individ har ett mellanting av mundelarna - den är alltså någorlunda konkav, munnen ser öppen ut, och labrum är blankt.

Syfte

Syftet med projektet är att identifiera en okänd art inom minerarflugsteklarna utifrån det svenska materialet (3 individer) genom att undersöka dess morfologi. Detta för att utöka kunskapen om denna art och nya arter i Sverige.

Material och Metoder

Bakgrund

Malaisefällor är tärtlignande fällor med myggnät i mitten som gör att flygande insekter som krokar med nätet rör sig uppåt och hamnar i en uppsamlingsflaska med sprit (SLU artdatabanken 2023). De tre individerna hittades i ett sådant prov från 2021, och bestod av två honor och en hane med ett helkroppsmått på 2,7–3,1 mm. Hanen och en av honorna hittades i prov från Övertorneå, men under olika tidsperioder - 20 juli till 3 augusti respektive 5 juli till 20 juli. Den andra honan kom från ett prov från Pajala mellan den 27 augusti till 9 september och alla individer hittades i prover från malaisefällor utplacerade på hävdad slätteräng. Station Linné insåg att denna art var ny för Sverige med hjälp av DNA-streckkodning, (Havnås et al. 2023) vilket är en metod där man sekvenserar en del av en individs genom och således kan se vilken art den tillhör (Bergsten. 2014).

Genetik

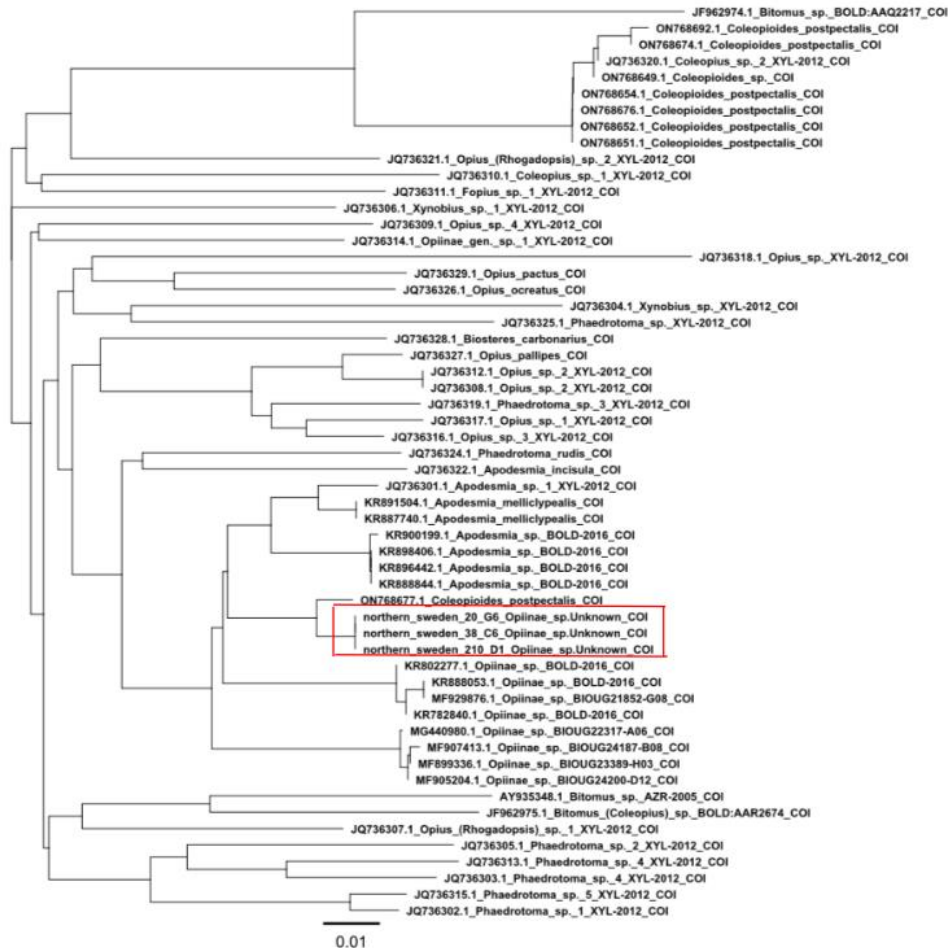
De tre individerna hade redan DNA-sekvenserats, och det var då det upptäcktes att de var nya för Sverige och en jämförelse av gensekvensen med andra sekvenser utfördes. Själva sekvenseringen gjordes genom att

följa protokoll som var utarbetade för att passa Station Linnés utrustning men som ursprungligen var framtaget av andra forskare. Protokollen som användes var utformade för fyra olika steg, såsom preparering av själva DNA-extraktionen (Truett et al. 2000) och sekvensering samt förberedning av de olika vätskeblandningar som behövs för just sekvensering (Srivathsan et al. 2019). Tredje steget fokuserade på MinION vilken pluggades in i datorn för att bland annat utföra en hårdvarukontroll (Oxford nanopore. 2022) och fjärde steget följdes när det var dags att städa PCR-maskinen och det som använts, och var utformat av Srivathsan et al. (2019b).

För att se om *Opiinae* sp. hade ett tydligt släktskap till en annan art eller släkte användes hemsidan NCBI för att ladda ner gensekvenser. Trädet nedan (fig. 5) innehåller gensekvenser från de tre individerna i denna studie, en individ från Sydkorea, sekvenser från Achterberg et al. (2013) samt några extra *Apodesmia*, *Foerster*; 1962 baserat på den morfologiska likheten, och innefattar 56 olika individer. Något att nämna är att Station Linnés individer, hädanefter kallad *Opiinae* sp., står som *northern_sweden*, och gensekvensen ovanför *Opiinae* sp. som står som *Coleopioides Postpectalis* inte är den arten, utan den har fått fel namn och är samma art som *Opiinae* sp. Om linjen som går mellan individer på bilden är längre än 1 centimeter så är individerna inte samma art, och som synes är de tre *Opiinae* sp och *C. postpectalis* separerade från resterande gensekvenserade individer. Det närmaste släktet är *Apodesmia*, följt av ett par obeskrivna eller bestämda individer inom minerarflugsteklarna. I bilaga 1 finns en tabell över det första trädet och var gensekvenserna kommer ifrån, vem som tömt fällan, individnummer och vilken art som sekvenserats. Det andra trädet finns i bilagor (Bilaga 2) och består av alla nedladdningsbara gensekvenser på genen CO1 som vid insamlingstillfället (20 mars 2023) var publicerade på Genbank och innefattar 1021 olika individer. Även här är *Apodesmia* det närmaste släktet, med den felbestämda individen "*Coleopioides postpectalis*" närmast *Opiinae* sp.

Vid ett senare skede upptäcktes att en nyare gensekvens från Finland (BOLD. 2023) passade ihop med arten till 99.5%, men denna gensekvens var inte tillgänglig för allmänheten i skrivande stund och ett nytt träd med samma individer som i bilaga 2 och fig. 5 kunde därför inte skapas. Ett nytt träd skapades dock med hjälp av BOLD med sekvensen och de individer som BOLD ansåg vara liknande genetiskt. Detta träd går att finna i bilaga 3, och innefattar 96 sekvenser. Det visar att *Opiinae* sp. (här "Unknown specimen") är inom samma art som *Opius saevus* från Finland och *Coleopioides postpectalis* från Sydkorea.

För att vidare undersöka arter och släktens likheter och skillnader gentemot Opiinae sp. skapades ett Exceldokument, se bilaga 4. Ett annat exceldokument sammanställdes av datan från fig. 5. Arket delades upp i individnummer, lokal, art, gen, genbank accession numbers, insamlare och finns i bilaga 1. Datat från *O. saevus* och *A. saeva* finns inte med i och med att den inte publicerats officiellt i skrivande stund.



Figur. 5. Fylogenetiskt träd över individer som visades vara närmast genetiskt enligt bilaga 2, eller som ansågs vara lika Opiinae sp. morfologiskt. Individen *Coleopioidea Postpectalis* ovanför Opiinae sp. är felbestämd och inte inom släktet *Coleopioidea*. Om linjen i bilden är över 1 centimeter mellan individerna räknas de inte som samma art.

Morfologi

En av individerna dissekerades med hjälp av skalpell och sax för att göra den morfologiska beskrivningen, och huvud, mesosoma, metasoma och ben plockades isär. För att mäta och avbilda vingarna användes en annan individ tillsammans med stereolupp med kamera och mikrometerskala. Materialet förvaras i Station Linnés samlingar. Relevant terminologi baserades på Karlsson (2010), Karlsson et al. (2012) och Achterberg et al. (2013).

För att bestämma kön och mäta kroppslängd och kroppsdelar i förhållande till varandra behövdes också stereolupp och mikrometerskala. En Leica MZ16 stereolupp användes för att förstora till 75 gånger, och med hjälp av en flyttbar mikrometerskala på objektivet var det då möjligt att placera individen på så sätt att det möjliggjorde mätning. En fysisk mikrometerskala användes för vingarna, då de var större än resterande kroppsdelar och hela vingen inte fick plats på en gång med objektivet mikrometerskala. Vingarna mättes från roten till den yttersta toppen, efter att de avlägsnats från kroppen. Femur mättes genom att placera benet längs mätskalan och mäta från trochantellus slut till precis innan tibias början. Detsamma gjordes för att mäta tibia, basitarsus (det fjärde och första segmentdelen av insektens fot) och antennsegmenten i förhållande till varandra. Kroppslängden, antennerna, huvudet, mesosoma och metasoma mättes också hos både hane och hane, medan äggläggingsrör endast mättes hos honorna. De olika delarna av frambenen, bakbenen och mittenbenen mättes bara hos hanen på grund av honans komplicerade benställning.

För att undersöka likheterna mellan *Opiinae* sp. och den förväntade arten användes de tidigare beskrivningarna, med reservation för att Google Translate översatte fel. Det finns såklart en viss osäkerhet om detta är samma art i och med att det finns få bilder och endast en tidigare gensekvens från arten, men detta kommer att diskuteras senare.

Resultat

Habitus

Opiinae sp. är 2,7–3,6 mm och är svart med gula ben, transparenta vingar med en elliptisk pterostigma och en subcyclostomic eller icke-cyclostomic mundel (fig. 13-14). Den har 30 antennsegment men saknar postpectal carina (fig. 6), vilket är en skåra som löper bakom frambenen, och notauli (två längsgående ryggfårar som annars löper längs mesoscutum). En tydlig karaktär är hypoclypeal carina som möter och går ihop med occipital carina - vilka båda är tydliga skårar som börjar ovanför fasettögonen och går ihop bredvid clypeus.

Huvud

30 antennsegment; längd - 3,30-3,60 mm (fig. 8); Längd på tredje segmentet 1,07 - 1,2 gånger längre än fjärde segmentet och 1,57 - 2,14 gånger sin egen bredd; längd på fjärde segmentet 1,57 - 2,42 gånger sin egen bredd; näst sista segment 1,8 gånger sin egen bredd; längden på maxillärpalpen 0,41 - 0,67 gånger höjden på huvudet, tredje förtjockad; lång och smal labial palp; occipital carina går ihop och möter hypoclypeal carina tydligt; clypeus bredd 2,22 - 2,75 gånger sin maximala höjd, 0,2 - 0,34 gånger ansiktets bredd, något konvex; mundel subcyclostom, eller icke-cyclostom (munnen

ser alltså öppen ut, och labrum, lokaliserat strax ovanför munnen, är blankt); mandiblarna inåtvända, smala och långa; längd på huvudet (från framsida till baksida sedd från sidan) 0,36-0,41 mm (fig. 9).

Mesosoma

1,01–1,16 mm; längden - 1,3 gånger höjden; dorsal pronope obefintlig; postpectal carina obefintlig; notauli obefintlig; scutellar sulcus bred; medio-posterior depression befintlig; mesoscutum blank och skinande, aningen hårig (fig. 10); propodeum slät; scutellum slät och något konvex; metanotal pit, grop i bakkant; medioposterior depression finns.

Vingar

Framvinge 3,6 mm (fig. 11); pterostigma elliptiskt; R1a nära vingens spets; 1-M finns; 3RSB lätt böjd; M-CU distinkt postfurcal; 2CUB något böjd; första cellen i vingen stängd; CU1b kort; bakvinge 2,5 mm (fig. 12); CU-A rak; M-CU finns; 1-1A något böjd. M-CU distinkt postfurcal (alltså att förgreningen är uppdelad och 1cu-a ligger bakom den första förgreningen av 1RS).

Benen

Femur 3 - 5,4 gånger så lång som bred; tibia 10,25 - 10,3 gånger så lång som bred; basitarsus 5,4 gånger så brett; bakbenets femur och tibia med stor och lång setae (borst); frambenen (endast hane) - 3,10 mm; mellersta benparet (endast hane) - 2,4 mm; bakbenen (endast hane) - 2,2 mm.

Metasoma

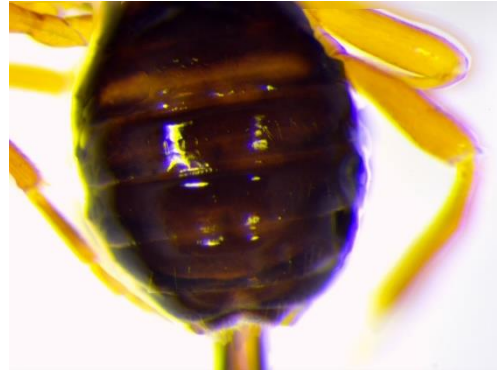
Längd 1,25 - 1,57 mm; första tergite 1,5 - 1,6 gånger så lång som sin apikala bredd, konvex yta; Andra suturen obefintlig (fig. 7); äggläggningsröret långt - 1,3 mm (fig. 13).

Färg

Antennerna, sista segmentet av tarsus (alltså insektens "fot" eller det fjärde segmentet på benet), mandiblarna, tegula, meosopleuron är mörkbruna, med en blekt gulaktig clypeus. Pterostigma och vener är bruna, benen och palperna är gulblekta, och mesosoma, huvud, metasoma samt malarområdet är svarta.



Figur 6. Ventral vinkel på *Opiinae* sp.
Lägga märke till att postpectal carina inte finns.



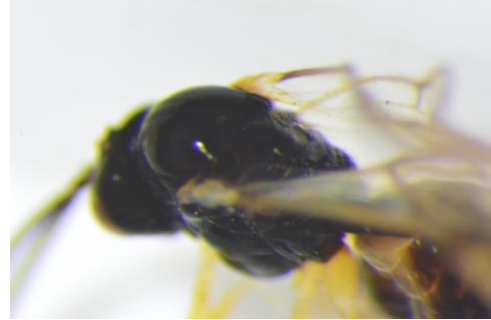
Figur 7. Dorsal bild på bakkroppen
som illustrerar en obefintlig sutur
(bakkroppen är rörlig)



Figur 8. Antennerna



Figur 9. Närbild på huvudet



Figur 10. Blank mesoscutum



Figur 11. Framvingen



Figur 12. Bakvingen



Figur 13. Helkroppsbild



Figur 14. Dorsal helkroppsbild

Enligt de träd och gensekvenseringar som utförts är *Opiinae* sp inom *O. saevus* eller *A. saeva*, men inte inom *Coleopioides*.

Diskussion

Opiinae sp. är placerad inom underfamiljen minerarflugsteklar bland annat på grund av maxillärpalperna som består av 6 segment och labialpalperna som har 4 segment, vilket är typiskt för dessa (Achterberg et al. 2013). Men det är en svår grupp att artbestämma inom, vilket delvis beror på den mänskliga faktorn. Detta då de utförda beskrivningarna innehåller motsägelser, såsom “hypoclypeal depression present or absent” (en inbuktning mellan labrum och clypeus) i beskrivningen av minerarflugsteklarna (Achterberg et al. 2013). Detta gör det svårare att vara säker på resultatet och om individen som undersöks ingår i ett specifikt släkte eller art, exempelvis med *O. saevus*/*A. saeva*, alternativt är ny för vetenskapen.

Ett annat problem är att forskare inom ämnet använder olika terminologi, exempelvis för vingvenation (Achterberg et al. 2013; Karlsson et al. 2012). Det gör det svårare att bearbeta informationen och har gjort det svårt i detta arbete att veta vilka namn som ska användas. Denna studie är dock en del av problematiken, i och med att ordet “subcyllostom” använts för att beskriva munpartiet vilket endast Karlsson et al. (2012) tidigare brukat. Beroende på vilket språk och när beskrivningarna publiceras så används även olika ord för att beskriva kroppsdelarna, vilket också gör det svårt då terminologin kan vara blandad engelska och latin, till exempel (Achterberg et al. 2013). En av artbeskrivningarna av *O. saevus* var utförd på latin, vilket idag ses som ett dött språk och kan vara svårt att få en trovärdig översättning på (Haliday. 1836). Uppbyggnaden och vilka delar en artbeskrivning består av ser dock ut på ungefär samma sätt även om terminologin varierar och denna studie följer det också, med fokus på vissa kroppsdelar och liknande (Achterberg et al. 2013 Karlsson et al. 2012). Mätningen av kroppsdelarna gjordes utefter andra artbeskrivningar för att veta vad som skulle utföras (Achterberg. et al. 2013). För de som inte är taxonomer, eller inte sett individerna så är de ytterligare måtten såsom millimetermått på ben, huvud och äggläggingsrör viktiga för förståelsen, även om dessa mått oftast undviks av taxonomer. Detta då alla individer är olika stora, och därför kan orsaka förvirring hos läsaren som inte sett individen i verkligheten. Ett problem är dock att endast hanens ben mättes i millimeter, då en av honorna hade plockats isär när vingen skulle mätas och den andras ben var svårämätta på grund av att denne dött ihoprullad. Detta anses vara problematiskt då hanar oftast ser annorlunda ut jämfört med honorna i arten vilket gör att de flesta artbeskrivningarna utförs på honor och gör att måtten därför ska brukas med viss reservation.

De individerna av Opiinae sp. som projektet utgår ifrån kom alla från hävdade slätterängar, mellan 5:e juli och 9:e september. Vissa arter inom

Opiinae sp.s värd Högre flugor påvisas i liknande habitat, såsom *Elachiptera cornuta* Fallèn; 1820 och *Aphanotrigonum nigripes* Zetterstedt; 1848 (Nartshuk et al. 2004). I och med att tidigare exemplar hittats i Iran, Sydkorea, Skottland, Nederländerna, Österrike och Finland, och dessa länder varierar stort i temperaturskillnader så är det svårt att utläsa något av detta. Den individen som hittades senast var mellan 27 augusti och 9:e september 2021, och i september 2021 låg medeltemperaturen på 5 grader i Pajala (SMHI. 2023). Antingen är individen anomal eller så kan arten hantera kallare väder, vilket hade varit intressant att forska vidare på.

Underfamiljen minerarflygsteklar är stor och innehåller många arter, vilket gör att adderingar såsom Opiinae sp. inte är konstigt och kontinuerliga utökningar sker fortfarande (Achterberg et al. 2013; Achterberg et al. 2017; Dolati et al. 2021). Anledningen till att den upptäckts först nu i Sverige skulle kunna bero på faktorer såsom att den är väldigt liten, och att material för gensekvensering endast finns på vissa platser i Sverige. Station Linnés verksamhet är inte fokuserad på att enbart hitta nya arter heller (Havnås et al. 2023; Station Linné. 2023), och därför skulle det kunna finnas fler individer i prover från andra delar av Sverige. En genomgång av deras material hade varit positivt för att få mer kunskap i utbredning, habitat och tid på året de lever.

Morfologi och gensekvenser

Opiinae sp. är inte inom *Coleopioides* på grund av både morfologiska skillnader och skillnader i genomet, vilket går att tyda tack vare DNA sekvensering. På fig. 5 syns detta, då släktet *Coleopioides* är placerat långt ifrån Opiinae sp. i trädet, även om gensekvensen strax ovanför Opiinae sp. också är en *Coleopioides* Postpectalis. Den har dock blivit felbestämd, vilket syns då den är långt ifrån resterande gensekvenserade individer inom släktet, och är förmodligen inom Opiinae sp. i och med närheten till den. Detta stärks av de morfologiska skillnaderna mellan *Coleopioides* och Opiinae sp., såsom att *Coleopioides* hade 22–23 antennsegment (Achterberg et al. 2013), medan Opiinae sp. har 30. Andra morfologiska skillnader är notauli, som finns hos *Coleopioides* men som inte gör det hos Opiinae sp och m-cu i vingen som finns hos Opiinae sp. men inte hos *Coleopioides*.

Vilket släkte passar Opiinae sp in i? Innan *O. saevus* och *A. saeva* synonymiserades av Achterberg (1997) var den inom släktet *Opius*. De flesta beskrivningar är korta, ofullständiga och på annat språk än engelska, och en full förståelse för vilket släkte dessa individer passar in i är svårt. *Apodesmia* är närmast Opiinae sp. i två av träden (Fig. 5 och Bilaga 2), och passar även in i släktet morfologiskt sett. Ett problem är dock att *Apodesmia* ibland synonymiserats med *Opius wesmael*. Det räknas nu som ett giltigt undersläkte till *Opius* (Restuccia. et al. 2013) enligt Fischer år 1972 även

om Achterberg år 1997 motsatte sig detta (The Wharton Lab. uå). Om *Apodesmia* är ett giltigt undersläkte till *Opius* skulle det alltså kunna betyda att *O. saevus*/*A. saeva* kan vara inom *Opius* och *Apodesmia* samtidigt, och en synonymisering av arten är därför onödig.

Det finns vissa skillnader mellan de typiska karaktärerna hos *Apodesmia*, *Opius* samt *Opiinae* sp, såsom *Apodesmia*'s vingvenation, den breda pterostigman i jämförelse med *Opiinae* sps avlånga, den långa andra submarginala cellen, samt att venen m-cu går in i den första submarginala cellen. Typiska karaktärer som inte stämmer överens hos *Opius* är delvis att en stor del av släktet *Opius* innefattar arter med basaltand, men även att occipital carina inte möter hypostomal carina. Dessutom är mandiblarna asymmetriska jämfört med de normalt placerade mandiblarna hos *Opiinae* sp. Dessa skillnader borde skilja släktena från varandra, då de är relativt stora sådana, och *Opiinae* sp. verkar passa in bättre med *Apodesmia* än *Opius*, men det är svårt att bedöma och veta. Något annat som pekar mot *Apodesmia* är att de två första träden (Fig. 5 & bilaga 2) visade att *Apodesmia* var närmast *Opiinae* sp. genetiskt, medan trädet som skapades av BOLD nästan bara hade ospecificerade bracksteklar i närheten. I trädet som innefattar Finlands gensekvens (bilaga 3) kan man även se att samma forskare som artbestämde den individ av *O. saevus* som hamnar bredvid *Opiinae* sp. samtidigt angav en annan *O. saevus* som hamnar långt från resterande *O. saevus* och är en helt annan art. Detta visar svårigheterna att artbestämma inom bracksteklarna.

Om *O. saevus* och *A. saeva* är samma art trots flertalet beskrivningar som tycks validera det är också oklart, men Achterberg (1997) validerade Haliday (1837) och Fischer (1972) samtidigt som synonymiseringen skedde, vilket gör de beskrivningarna korrekta. Beskrivningarna av Haliday (1837) och Dolati et al. (2019) har färre karaktärer vilket delvis beror på ålder, men i Dolatis fall skulle det kunna vara menat som en utökning av tidigare beskrivningar. Dolatis beskrivning är dock svår att validera då inga bilder finns på den undersökta individen. För att lösa detta och utöka kunskapen om *Opiinae* sp. hade en undersökning på plats av individerna från alla beskrivningar varit till fördel. Detta för att undersöka likheter och skillnader närmare, stärka vetskapen att *O. saevus* och *A. saeva* är samma art, och att de individer med endast beskrivning är samma art och inte en annan. De flesta karaktärer stämmer överens mellan Fischer (1958) eller (Haliday. 1836) samt *Opiinae* sp. Exempelvis antalet antennsegment, antennernas placering ovanför clypeus och att ansiktet är slätt, men aningen hårigt med en rundad panna bakom ögonen. Dessutom är huvudet dubbelt så brett som långt, munnen öppen, meusopleuron slätt, och notaulin är obefintlig (se bilaga 4).

Enligt de tidigare beskrivningarna varierar Opiinae sps. antennsegment mellan 29–34, (Fischer. 1958; Haliday. 1837; Davis. et al. 1838) vilket är intressant då de två som hade intakta antennsegment hade 30. En av honorna hade dock avbrutna antennsegment, endast 22, och de hade kunnat vara fler eller färre än just 30, men det är omöjligt att veta. Andra skillnader mellan individerna är femurs längd gånger bredd, vilket varierar mellan 3 och 5.4. En annan variabilitet är längden på antennens tredje segmentet gånger längden på fjärde segmentet - vilket varierar mellan 1.07 och 1.2. I publicerade artbeskrivningar varierar andelen antecknad variabilitet hos de undersökta individerna, kanske på grund av att antalet individer att jämföra mellan är låg. Fischer (2005) skrev att skillnaden mellan arten i studien var antennsegmenten - vilka varierade mellan 22–24, medan Mitrovic et al. (2014) skrev en hel studie om den morfologiska variabiliteten hos den studerade arten, *Aphidius colemani*, Viereck; 1912. Dennes vingvenation och vingformation varierar stort och gör att den lätt kan tas för olika arter om den inte gensekvenseras (Mitrovic et al. 2014). Just variabiliteten hos arter kan alltså variera, vilket kan göra det svårt att artbestämma närbesläktade arter och släkten (Eriksson. 2013; Derocles et al. 2012). Exempelvis kan två individer se morfologiskt olika ut, men genetiskt vara samma art, eller vara morfologiskt identisk men en helt annan art genetiskt (Bombosch et al. 2011). Detta kan bidra med att det är svårt att veta när en art slutar och en annan börjar, samt hur stor skillnad det kan vara mellan arter för att de fortfarande ska räknas som samma släkte. Träd skapade utifrån CO1-genen kan inte heller svara på detta i och med att det endast är just en gen, och det därför kan visa fel (Baurain et al. 2011).

Ett sätt att få en tydligare gensekvensering skulle kunna vara att utföra den med andra gener än specifikt CO1, då denna är en sådan som passar de flesta djur och därmed kan ge en felaktig bild av verkligheten (Maddison. 2018; Buhay. 2009). Att endast använda en gen, och då CO1, är mindre tillförlitligt men utförs ändå i och med att den är universal, mindre kostsam och anses som en standard inom forskarvärlden, även om sämre kvalitet och homolog DNA-sekvensering har påvisats (Buhay. 2009). Detta i och med vissa sekvenser inom DNA -sekvenseringen kan upprepas, då de flesta eukaryoter har CO1 genen (Genomes. 2002). Ändå används den då CO1 förändras så snabbt att individer inom samma art har samma gensekvens, men det är en stor skillnad mellan andra arter (SCI. 2009). I och med att gensekvenser avläses med hjälp av en dator så kan även problem med denna uppkomma, såsom att den läser av sekvensen fel (genomes. 2002). Om *Apodesmia* eller *Opius* är släktet Opiinae sp. hör hemma inom är alltså svårt att säga säkert med enbart genen CO1 till hjälp.

Slutsats

Opiinae sp. är arten *O. saevus/A. saeva*, men om den är inom *Apodesmia* eller *Opius* är svårt att säga säkert utan ytterligare forskning. En revidering av minerarflugsteklarna är nödvändig för att nya beskrivningar eller placeringar i underfamiljen ska vara lättare att utföra, och minska de problem som finns inom underfamiljen.

Referenser

Achterberg. C, Guo. Z, Zhou. T (2017) *The genus Nipponopius Fischer (Hymenoptera, Braconidae, Opiinae) new for China, with description of a new species* <https://jhr.pensoft.net>

Achterberg. C (1997) *Revision of the Haliday collection of Braconidae (Hymenoptera)* <https://www.researchgate.net>

Achterberg. C, Li. X, Tan. J (2013) *Revision of the subfamily Opiinae (Hymenoptera, Braconidae) from Hunan (China), including thirty-six new species and two new genera* <https://www.ncbi.nlm>

Ayasse. M. et al. (2001) *Mating behavior and chemical communication in the order hymenoptera* <https://www-webofscience-com>

Baurain. D, Brinkmann. H, Littlewood. T, et al. (2011) *Resolving Difficult Phylogenetic Questions: Why More Sequences Are Not Enough* <https://www.ncbi.nlm>

Bergsten. J (2014) *DNA - streckkodning - så går det till* <https://bioresurs.uu.se> (Hämtad; 19-05-2023)

BOLD (2023) *Barcode Index Number Registry For BOLD:AEY6138* <https://www.boldsystems.org> (Hämtad; 19-05-2023)

Bombosch. A, Feldberg. K, Heinrichs. J, et al. (2011) *Morphologically similar but genetically distinct: on the differentiation of Syzygiella concreta and S. perfoliata (Adelanthaceae subfam. Jamesonielloideae)* <https://www.jstor.org>

Brady. S et al. (2022) *Phylogenomics of braconid wasps (Hymenoptera, Braconidae) sheds light on classification and the evolution of parasitoid life history traits* <https://www.sciencedirect.com>

Britannica (uå) *braconid* <https://www.britannica.com> (Hämtad; 19-05-2023)

Buhay. J (2009) *“COI-like” Sequences Are Becoming Problematic in Molecular Systematic and DNA Barcoding Studies* <https://academic.oup.com>

Davis. H, Westley. 1833-1838 s.34 *The Entomological magazine* <https://www.biodiversitylibrary.org>

- Delclos. X, Engel. M, Ortega-Blanco. J, et al. (2011) *False fairy wasps in Early Cretaceous amber from Spain (Hymenoptera: Mymarommatoidea)* <https://onlinelibrary.wiley.com>
- Derocles. S, Ralec. A, Plantegenest. M, et al. (2012) *Identification of molecular markers for DNA barcoding in the Aphidiinae (Hym. Braconidae)* <https://www.researchgate.net>
- Dolati. S, Farahani. S, Khayrandish. M, et al. (2019) *New data of the genus Opius Wesmael (Hymenoptera: Braconidae, Opiinae) from northern Iran* <https://www.researchgate.net>
- Dolati. S, Farahani. S, Khayrandish. M, et al. (2021) *New data on the subfamily Opiinae (Hymenoptera: Braconidae) from Iran*
10.11646/ZOOTAXA.4903.3.2 (Hämtad; 21-05-2023)
- Eriksson. M (2011) *The Hymenopteran subfamily Adeliinae (Braconidae) A morphological and ecological study of specimens collected in Sweden* <https://www.stationlinne.se> (Hämtad; 21-05-2023)
- Fei. M, Gols. R, Heinen. R. et al. (2016) *Development of a solitary koinobiont hyperparasitoid in different instars of its primary and secondary hosts* <https://www.sciencedirect>
- Fischer. M (1958) *Die europäischen Arten der Gattung Opius Wesm. (Hym., Braconidae)* <https://www.zobodat.at> (Hämtad; 19-05-2023)
- Fischer. M (2005) *New species of Opiinae (Insecta: Hymenoptera: Braconidae) in the Collection of the National Museums of Scotland, Edinburgh* <https://www.jstor.org>
- Gärdenfors. U. (2022) *Hur många insektsarter finns det i Sverige egentligen?* [SLU Artdatabanken](https://www.slu.se/artdatabanken) (Hämtad; 19-05-2023)
- Han. J et al. (2021) *A New Record of Parasitic Wasp, Coleopioides postpectalis (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae), from South Korea* <https://koreascience.kr>
- Havnås. H, Johansson. H, Karlsson. D, et al. (2023). *Miljöövervakning av insekter i Norrbotten, Västerbotten, Västernorrland, Jämtland och Dalarna. Station Linné.*

- Ivanovic. A, Kavallieratos. N, Mitrovic. M, et al. (2014) *Molecular and morphological variability within the Aphidius colemani group with redescription of Aphidius platensis Brethes* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) <https://pubmed.ncbi>
- Karlsson. D, Ronquist. F (2012) *Skeletal Morphology of Opius dissitus and Biosteres carbonarius* (Hymenoptera: Braconidae), with a Discussion of Terminology <https://journals.plos.org>
- Karlsson. D (2010) *EXOSKELETAL MORPHOLOGY AND ASSOCIATED TERMINOLOGY IN OPIINAE (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)*
- Knight. T (2022) *The importance of new species in an age of biodiversity loss* <https://phys.org/news> (Hämtad; 19-05-2023)
- Lindauer. M (uå) *hymenopteran* <https://www.britannica.com> (Hämtad; 19-05-2023)
- Maddison. W (2018) *Please, don't use COI barcodes alone for spider phylogeny* <https://waynemaddison> (Hämtad; 21-05-2023)
- Marchiori. C (2020) *Definition of Diptera Cyclorrhapha or Muscomorpha* peertechzpublications.com
- Masner. L (2002) *THE GENERA OF DIAPRIINAE (HYMENOPTERA: DIAPRIIDAE) IN THE NEW WORLD* <https://digitallibrary.amnh.org>
- Nartshuk. E, Pakalniskis. S (2004) *Contribution to the Knowledge of the Family Chloropidae (Diptera, Muscomorpha) of Lithuania* <https://www.researchgate.net>
- Nationalencycopedin (2023) *bracksteklar* bracksteklar (Hämtad; 19-05-2023)
- Naturhistoriska riksmuseet (2017) *Allmänt om insekter* <https://www.nrm.se> (Hämtad; 19-05-2023)
- Naturhistoriska riksmuseet (2013) *Insekternas sinnen* <https://www.nrm.se> (Hämtad; 19-05-2023)
- Naturhistoriska riksmuseet (2021) *Systematik* <https://www.nrm.se> (Hämtad; 19-05-2023)

Naturhistoriska riksmuseet (2017) *Taxonomy and systematics of Northwestern Palaearctic Alysiinae (Hymenoptera: Braconidae)* <https://www.nrm.se> (Hämtad; 28-02-2023)

NIH, Genomes 2nd edition (2002) *Understanding a genome sequence* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Oxford nanopore (2022) *AMPLICON SEQUENCING* [ampliseq_seq.pdf](#) (Hämtad; 21-05-2023)

Parry. D (1947) *The function of the insect Ocellus* <https://journals.biologists.com>

Restuccia. D, Wharton. R (2019) *New data of the genus Opius Wesmael (Hymenoptera: Braconidae, Opiinae) from northern Iran (PDF)* (Hämtad; 19-05-2023)

Sakamoto. T, Ortega. M (2021) *Taxallnomy: an extension of NCBI Taxonomy that produces a hierarchically complete taxonomic tree* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Science Learning Hub (2009) *The ideal barcoding gene* <https://www.sciencelearn.org> (Hämtad; 19-05-2023)

Sharkey. M, Marsh. P, Wharton. R (1997) *MANUAL OF THE NEW WORLD GENERA OF THE FAMILY BRACONIDAE (HYMENOPTERA)* <https://www.sharkeylab.org> (Hämtad; 19-05-2023)

SLU artdatabanken (2023) *Svenska artprojektet* <https://www.artdatabanken.se> (Hämtad; 28-02-2023)

SMHI (2023) *Hur var vädret?* <https://www.smhi.se/klimat> (Hämtad; 19-05-2023)

Station Linné (2023) *Föreningen Station Linné* <https://www.stationlinne.se> (Hämtad; 19-05-2023)

SLU artdatabanken (2023) *Svenska malaisefällprojekten* <https://www.artdatabanken.se> (Hämtad; 19-05-2023)

Srivathsan et al. (2019a) *AMPLICON SEQUENCING PCR* [ampliseq_pcr](#) (Hämtad; 21-05-2023)

Sriavathan et al. (2019b) *AMPLICON PCR CLEAN-UP*
[ampliseq_pcr_clean.pdf](#) (Hämtad; 21-05-2023)

Sveriges Entomologiska Förening (2023) *Steklar (Hymenoptera)*
<https://www.sef.nu> (Hämtad; 28-02-2023)

Sveriges Entomologiska Förening (uå) *Vad är en insekt?* [Vad är en insekt?](#)
(Hämtad; 19-05-2023)

Truett et al. (2000) *HOT SODIUM HYDROXIDE AND TRIS (HOTSHOT)*
DNA EXTRACTION [hotshot.pdf](#) (Hämtad; 21-05-2023)

The Wharton Lab (uå) *Apodesmia Foerster, 1862* <http://mx.speciesfile.org>
(Hämtad; 19-05-2023)

The Wharton Lab (uå) *Bitomus Szepliget, 1910* <http://mx.speciesfile.org>
(Hämtad; 19-05-2023)

The Wharton Lab (uå) *Coleopius Fischer, 1964* <http://mx.speciesfile.org>
(Hämtad; 19-05-2023)

Wharton. R, Restuccia. D (2013) *A new species group of Opius Wesmael, with comments on Apodesmia Foerster (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae)*
(Hämtad; 19-05-2023)

Bilagor

Bilaga 1

[Examensarbete DNA.xlsx](#)

Bilaga 2

[AgnesTree3\(1000x15000\).pdfAgnesTree3](#)

Bilaga 3

[AgnesTree4\(1000x2000\).pdfAgnesTree4](#)

Bilaga 4

[Exjobb.xlsx](#)