

Åkerjordfly, *Agrotis exclamationis*, identifierad som värdart för svävflugan *Villa hottentotta* med hjälp av DNA streckkodning (Diptera: Bombyliidae)

JOHANNES BERGSTEN, LARS G R NILSSON & RASA BUKONTAITE

Bergsten, J., Nilsson, L.G.R. & Bukontaite, R.: Åkerjordfly, *Agrotis exclamationis*, identifierad som värdart för svävflugan *Villa hottentotta* med hjälp av DNA streckkodning (Diptera: Bombyliidae). [The noctuid moth *Agrotis exclamationis* identified as a host for the bee fly *Villa hottentotta* using DNA barcoding (Diptera: Bombyliidae).] – Entomologisk Tidskrift 136 (4): 121-130. Uppsala, Sweden 2015. ISSN 0013-886x.

In this study we identify *Agrotis exclamationis* (Linnaeus, 1758) as a host species for the bee fly *Villa hottentotta* (Linnaeus, 1758) in Sweden. Host use and specificity for bee fly species are generally very poorly known, why the hatching of a bee fly of the genus *Villa* from an unknown Noctuid pupa caught our attention. The parasitized Noctuid pupa was found in a garden in Staffanstorp, Skåne (Sweden), in May 2015 and kept in a jar to hatch. The bee fly hatched in June leaving two empty exuviae in the jar. DNA was extracted separately from both exuviae to identify the fly and the host using DNA Barcoding. A 600+ bp long sequence of the gene Cytochrome oxidase subunit 1 was sequenced for both samples and queried against the reference library BOLD (www.boldsystems.org). The Noctuid host pupa was unambiguously identified as the common Noctuid species *Agrotis exclamationis*. The sequence was identical to the most common haplotype over much of Europe. The bee fly pupa was identified as *Villa hottentotta*, the most common *Villa* species in Sweden. This added a new Noctuid species to the list of known hosts for *V. hottentotta* which also includes several other Noctuid genera as well as a Geometrid moth. Belonging to the sand chamber group of bee flies where the female scatter the eggs on the ground while hovering, the active host-seeking first instar planidium larvae benefits from having a wide host range to potentially encounter in the substrate zone.

Johannes Bergsten & Rasa Bukontaite, Naturhistoriska Riksmuseet, Box 50007, 10405 Stockholm. E-post: johannes.bergsten@nrm.se, rasa.bukontaite@nrm.se
Lars G.R. Nilsson, Kämpagränden 21 B, 224 76 Lund. E-post: lgrn@bredband.net

”The only common thread linking almost all host records in the Bombyliidae is serendipity” (Yeates & Greathead 1997, s155)

Svävflugor kallas på svenska flugor som hör till familjen Bombyliidae, en av de atrikaste familjerna av tvåvingar i världen med över 4500 arter (Evenhuis & Greathead 1999, 2003). Svävflugor hör till Orthorrhapha som kallas de ”lägre flugorna”, generellt sett ganska stora blombesökande flugor med predatoriska larver. Välbekanta andra familjer som hör dit är brom-

sar (Tabanidae), rovflugor (Asilidae), vapenflugor (Stratiomyidae), vedflugor (Xylophagidae), snäppflugor (Rhagionidae), stiletflugor (Therevidae) m.fl. De lägre flugorna har länge ansetts vara en onaturlig grupp likt Nematocera (myggor), men de senaste analyserna pekar på att de faktiskt är en monofyletisk grupp och bildar tillsammans den närmaste systergruppen till Eremoneura, dvs de resterna flugorna (Wiegmann m.fl. 2011). Inom de lägre flugorna har svävflugorna placerats i överfamiljen Asiloidea tillsammans med bland annat rovflugor, stiletflugor och



Figur 1. Blomsterrabatten invid husvägg i syd-läge där nattflypuppan hittades i Staffanstorps, Skåne.

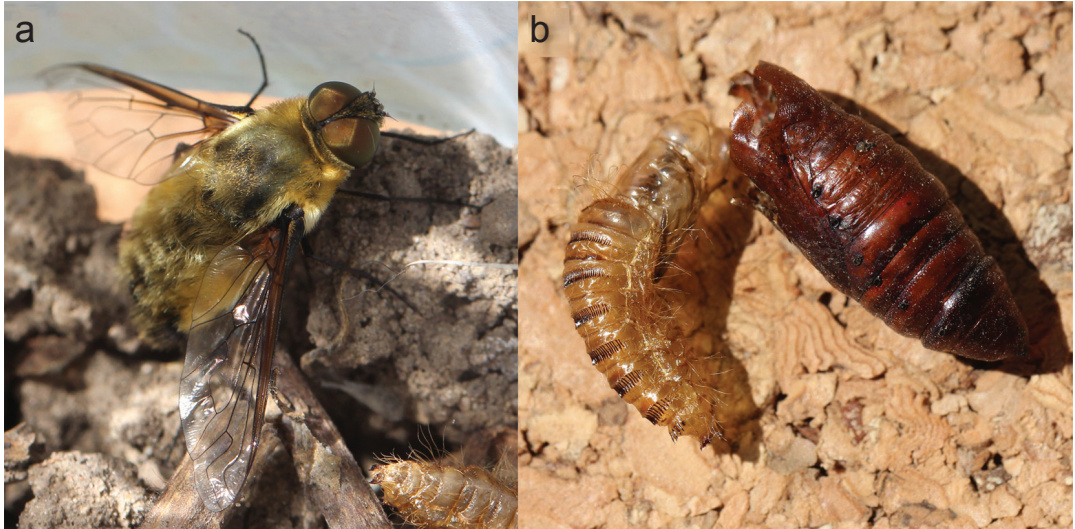
Flowerbed by southfacing wall of house in Staffanstorps, Skåne (Sweden), where the Noctuid pupa was found.

fönsterflugor (Scenopinidae). Att de hör dit har dock inte varit självklart (Trautwein m.fl. 2010), men de senaste släktskapsanalyserna både med morfologiska dataset (Yeates 2002) och med stora molekylära dataset (Wiegmann m.fl. 2011) placerar dem nu med Asiloidea men där som den första förgreningen och systergrupp till resterande Asiloida familjer.

Svävflugornas biologi skiljer sig från huvuddelen av de lägre flugorna med predatoriska larver i att larverna är parasitoider. Detta stämmer för nästan alla svävflugor, förutom de två underfamiljerna med mycket små flugor Heterotropinae och Mythicomysiinae, varav den senare "micro-bombyliids" ibland behandlas som en egen familj, Mythicomysiidae (Evenhuis 2002). Trautwein m.fl. (2011) fann att dessa två grupper med predatoriska larver var de tidigaste förgreningarna i svävflugornas släkträd vilket stämmer överens med larvernas livstil som det mest ursprungliga i likhet med andra Asiloider och lägre flugor. Microbombyliiderna är också de första som uppträder i de fossila lagren, redan i mitten av Juratiden (Greathead & Evenhuis 1997, Grimaldi & Engel 2005). När svävflugornas larver övergick till att bli parasitoida så var det som ektoparasitoider, dvs de sitter utanpå sin värd, och detta är den överväldigande vanligast livstilen (Yeates & Greathead 1997). Men i minst

två grupper av svävflugor, Anthracinae (Villini) och Toxophorinae (Gerontini, Systropodini) har endoparasitoidism utvecklats, dvs larverna utvecklas inuti sin värd. Detta verkar ha skett oberoende av varandra i respektive grupp vilket avspeglas i att utvecklingen ser delvis olika ut. Hos endoparasitoiderna inom Villini tar sig larven in i värden i puppstadiet, samt förpuppar sig inuti denna. I den andra gruppen, Toxophorinae, verkar fluglarven ta sig in i värden redan i dess larvstadium samt tar sig ut innan värdlarvens förpuppling men efter att den spunnit en kokong (Yeates & Greathead 1997).

Information om vilka värdar som svävflugor använder kommer nästan uteslutande från oväntade slumpmässiga observationer som gjorts när observatören sökt kläcka värden. Men när alla sådana observationer sammanställs som gjorts av du Merle (1975) och Yeates & Greathead (1997) kan en någorlunda bild av värdval och värdspecificitet göras. Svävflugor använder som värdar andra insekter men även parasitoidism på spindlar (äggskäck) finns noterat. Framförallt rör det sig om insekter med fullständig förvandling; skalbaggar, fjärilar, steklar, tvåvingar och nätvingar, varav över hälften av alla observationer är på steklar. Även gräshopps äggsamlingar finns med på listan över värdar bland annat för släktet *Systoechus* varav en art finns i Sverige



Figur 2. – a) Nykläckt hane av *Villa hottentotta* (Linnaeus, 1758). – b) De återstående puppskalen av nattflyet till höger och svävflugan till vänster.

– a) The newly hatched male of the beefly *Villa hottentotta* (Linnaeus, 1758), – b) The pupal exuvia of the noctuid host to the right and the bee fly to the left.

S. ctenopterus (Mikan 1796). En notering finns även för parasitoidism på äggpaket av kackerlacka och egentligen bör äggkonsumenterna kallas predatorer snarare än parasitoider (Yeates & Gratehead 1997). Då värdregistret även innefattar parasitsteklar (Ichneumonidae, Braconidae), dolksteklar (Scoliidae), myrsteklar (Tiphidae) och parasitflugor (Tachinidae) betyder det att svävflugor även kan vara så kallade hyperparasitoider (Yeates & Gratehead 1997). Detta beteende verkar dock inte utvecklats i nära association med den primära parasitoida värden utan mer ske fakultativt och Yeates & Gratehead (1997) kallar det "pseudohyperparasitism".

Det har rått en del förvirring kring ägglägningsbeteendet hos olika svävflugor tills man förstod att observationer av vad som tolkats som äggläggning på marken i själva verket rörde sig om att fylla en speciell kammare på undersidan av abdomen med sandkorn (Stubbs & Drake 2001). Sandkornen används sedan för att täcka äggen som sedan spräts ut ett och ett medan honan hovrar ovanför marken i lämpligt habitat för värden. Man har antagit att beteendet med att täcka äggen med sand är till för att äg-

gen inte ska klibba samman så de kan slungas ut ett och ett (Falck 2009), men det gör dem även mycket svårhittade så ett visst skydd innebär det förmodligen också. Det är bara en del underfamiljer av svävflugor där honan har en sandkammare och deponerar äggen från luften, men det är de artrikaste underfamiljerna, bla Anthracinae och Bombyliinae (Trautwein m.fl. 2011, Yeates 1994). I Sverige är det bara släktet *Phthiria* med två arter där honan saknar sandkammaren.

Första larvstadiet för svävflugor är en planidium-larv som är mycket annorlunda från de senare larvstadierna, s.k. hypermetamorfos. Planidielarven är mycket rörlig och dess uppgift är att aktivt leta sig fram till en värd. Hur artspecifika svävflugor är i sitt värdval är dåligt känt eftersom observationer från många arter är enstaka och sporadiska. Men från de arter som har kläckts ett flertal gånger verkar värdvalet vara relativt brett (Yeates & Gratehead 1997).

I denna studie identifierar vi en ny värdart för svävflugan *Villa hottentotta* (Linnaeus, 1758) med hjälp av DNA från resterna av värdpuppan. DNA streckkodning som lanserades som ett be-



Figur 3. Efter att DNA extraherats monterades och etiketterades puppskalen och införlivades med de entomologiska samlingarna vid Naturhistoriska riksmuseet, Stockholm.

Post-extraction DNA voucher specimens as they were mounted for the NHRS collections in Stockholm, Sweden.

grepp 2003 handlar om att identifiera prover till art med hjälp av ett kort DNA fragment och ett referensbibliotek (Hebert m.fl. 2003). Tillförlitligheten av metoden och olika analysmodeller för att identifiera ett okänt prov mot ett referensbibliotek har testats utförligt och man är nu väl medveten om förutsättningarna och begränsningarna (Bergsten m.fl. 2012, Ross m.fl. 2008). Ett av de allra mest användbara områdena för DNA streckkodning är just att identifiera livsstadier som ägg, larver eller puppor där morfologiska nycklar och karaktärer inte är tillgängliga för artidentifiering.

Material och metoder

I Staffanstorp i Skåne (55.6486N, 13.2112Ö) hittade sexårige Casper Höst en puppa i trädgården

den 4 maj 2014. Puppen hittades i en rabatt med lerjord invid en sydvänd husvägg (Fig. 1). Caspers mamma Katarina Viebke Höst lämnade den vidare till LGRN. Puppen fotograferades och bilden lades upp i Facebook-gruppen "Intressanta fynd av insekter i Sverige" där svaret snabbt blev att det var en puppa av ett nattfly (Noctuidae). Men vilken art rörde det sig om?

För att kläcka nattflyet lades puppan i en burk och den 15 juni hade puppan kläckt, men i burken fanns till LGRNs förvåning en svävfluga som misstänktes vara *Villa hottentotta* eller *Villa modesta* (Meigen, 1820) (Fig. 2a). Svävflugan som var en hane fotograferades och läts sedan flyga iväg (Fig. 2). Identifiering av *Villa* arter kan vara klurigt från fotografier men avsaknaden av gulvita fjäll på tegulan indikerar att det är en *Villa hottentotta* och inte *V. modesta* (Falck 2009, Stubbs och Drake 2001). En närmare titt i burken visade att där låg två puppskal (Fig. 2b). Svävflugan hade parasiterat på nattflyet och ätit upp den senare inifrån och sedan förpuppat sig inuti nattflypuppen. Detta var en spännande upplevelse som återrapporterades till Facebookgruppen varvid JB föreslog att identifiera både svävflugan och värdarten genom DNA extraktion av puppskalen.

Allt molekylärt labarbete gjordes av RB vid molekylärsystematiska laboratoriet, Naturhistoriska riksmuseet, Stockholm.

DNA extraherades med hjälp av Qiagen DNEasy kit (Valencia, Kalifornien, USA) enligt protokollet för djurvävnad. Pupskalen placerades i varsitt eppendorfrör (1,5 ml) tillsammans med 100 µl lyseringsbuffertlösning och 10 µl av 20mg/ml Proteinase K lösning som sedan inkuberades vid en temperatur på 56°C över natten. Dagen efter pipetterades vätskan över till speciella DNA extraktions rör som placerades i en GeneMole robot med MoleStrips™ DNA Tissue (Mole Genetics) lösning för isolering av DNA. Det renade DNAt från vardera prov eluerades i 100ul eluerings buffertlösning och sparades i en -20°C frys. Pupskalen sköljdes i 80% etanol, monterades och införlivades i samlingen vid NRM (Fig. 3).

Det för djur standardiserade streckodsfragmentet av genen Cytochrome Oxidase 1 (CO1) amplifierades med PCR analys. För PCR amplifieringen användes "Ready-to-go" PCR Beads



Figur 4. DNA streckoderna som sekvenserades från – a) nattflypuppan (658 baspar) och – b) från *Villa*-puppan (618 baspar).

The DNA barcodes that were extracted from –a) the noctuid pupa and – b) the *Villa* bee fly pupa.

tillsammans med 2 μ l av det extraherade DNAt, 1 μ l av vardera primer och 21 μ l av dH₂O för en total PCR reaktionsvolym på 25 μ l. Vi använde standard CO1 primrarna LCO/HCO från Folmer mfl (1994): LCO - TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA, HCO –GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G. Temperaturschemat för PCR analysen var som följande: 95°C i 5min, följt av 40 cykler av 95°C i 30 s, 50°C i 30 s, 72°C i 1 min och slutligen 72°C i 8 min.

Resultatet av PCR amplifieringen utvärderades med agarose gel elektrofores. PCR produkter renades med ExoFAP Cleanup mix. ABI BigDye Terminator kit ver. 3.1 användes för sekvenseringsreaktionen med samma primrar som vid amplifieringen. Sekvenseringsprodukter renades med DyeEx 96 kit och analyserades sedan på en ABI377xl analyser från Applied Biosystems. CO1 fragmentet sekvenserades i båda riktningarna

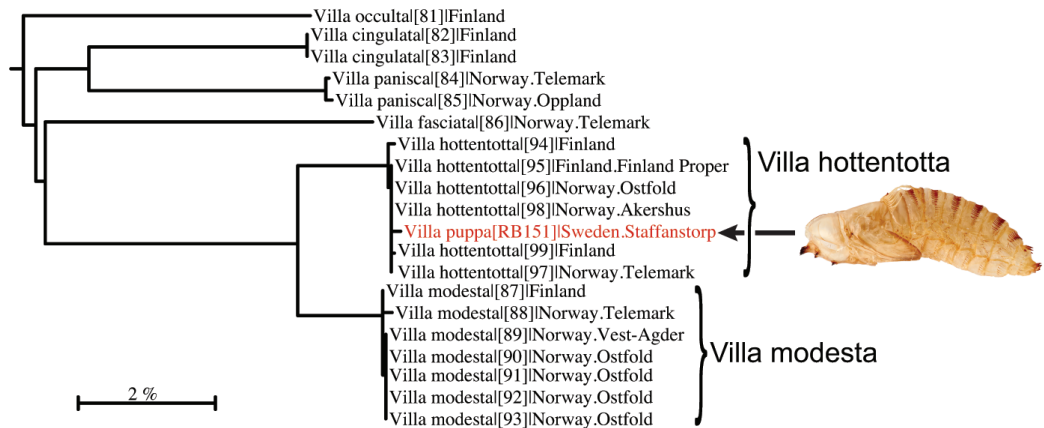
DNA kromatogrammen editades med programvaran Sequencher 5.0 där primer-regionerna klipptes bort och de separat sekvenserade "forward" och "reverse" riktningarna sattes ihop till en sekvens. Sekvenserna exporterades i fasta format. Identifiering av sekvenserna gjordes i den globala referens databasen BOLD (www.boldsystems.org) med en manuell filtrering av tänkbara kandidater utifrån det geografiska läget och tänkbara kandidater (Bartsch 2008, Elmqvist m.fl. 2011, Skou 1991, Fibiger 1990, Gustafsson 2014, Fauna Europaea: faunaeur.org). BOLD använder en likhets-matchning (BLAST) av den okända sekvensen mot ett referensbibliotek. Av de fyra olika referensbiblioteken med varierande stringens valde vi att matcha mot biblioteket

med bara artbestämda referenssekvenser som är längre än 500bp. BOLD ger en artidentifiering om referensbiblioteket innehåller en eller flera sekvenser som skiljer sig med mindre än 1% i streckkodsregionen från den okända sekvensen (Ratnasingham & Hebert 2007). Om flera arter har referenssekvenser som skiljer sig med mindre än 1% från den okända sekvensen blir identifieringen bara till en grupp av arter. Tröskelvärdet 1% är en praktisk tillämpning och ingen naturlag för hur man kan skilja arter åt i naturen varför resultatet från en BOLD sökning bör ske med sunt förnuft, med den regionala art-poolen i åtanke, utvärderas i "neighbour-joining" trädformat som också ges av BOLD, och hänsyn tas till hur komplett referensbiblioteket är för den aktuella gruppen och hur många referenssekvenser som insamlats för respektive art och hur de är geografiskt spridda mm (Bergsten m.fl. 2012).

Resultat

Sekvenseringen av streckkodsregionen av CO1 lyckades i båda riktningarna för nattflypuppan och resulterade i en full streckkod på 658 baspar (Fig. 4a). För *Villa*-puppan var DNA sekvensen av något sämre kvalitet och endast sekvenseringen i ena riktningen lyckades vilket resulterade i en nästan komplett streckkod på 618 baspar (Fig. 4b). Detta är dock en fullt tillräcklig längd för artidentifiering i många fall som ibland kan göras med så korta sekvenser som ett par hundra baspar.

Villa-puppan identifierades i BOLD som arten *Villa hottentotta* med 99,8% sannolikhet. Sekvensen var 99,67-99,84% identisk med



Figur 5. Streckkodssekvensen från *Villa*-puppan matchad mot BOLDs referensbibliotek i ett "Neighbour-joining" träd. Bestämningen av puppan som *Villa hottentotta* är i detta fall mycket säker.

The sequenced barcode from the *Villa* pupa matched against BOLDs reference library. The species-level identification as *Villa hottentotta* has a very high probability.

sekvenserade vuxna individer av *Villa hottentotta* från Finland och Norge (Fig. 5). Den närliggande arten *Villa modesta*, även den representerad i BOLD från Finland och Norge skiljde sig från puppans sekvens med över 2% (96,91-97,9% likhet). I ett så kallat Neighbour-joining träd bildar de två närliggande arterna två skilda monofyletiska grupper och puppan från Sverige hamnar utan tvivel i *V. hottentotta* gruppen (Fig. 5). Visserligen saknas två i Sverige förekommande *Villa*-arter från referensbiblioteket, *Villa halteralis* (Kowarz, 1883) och *Villa longicornis* Lyneborg, 1965, men dessa kan uteslutas baserat på fotot av den adulta hanen (Fig. 2a). *Villa longicornis* anses dessutom mycket nära släkt med *Villa fasciata* (Meigen, 1804) som finns representerad (Fig. 5).

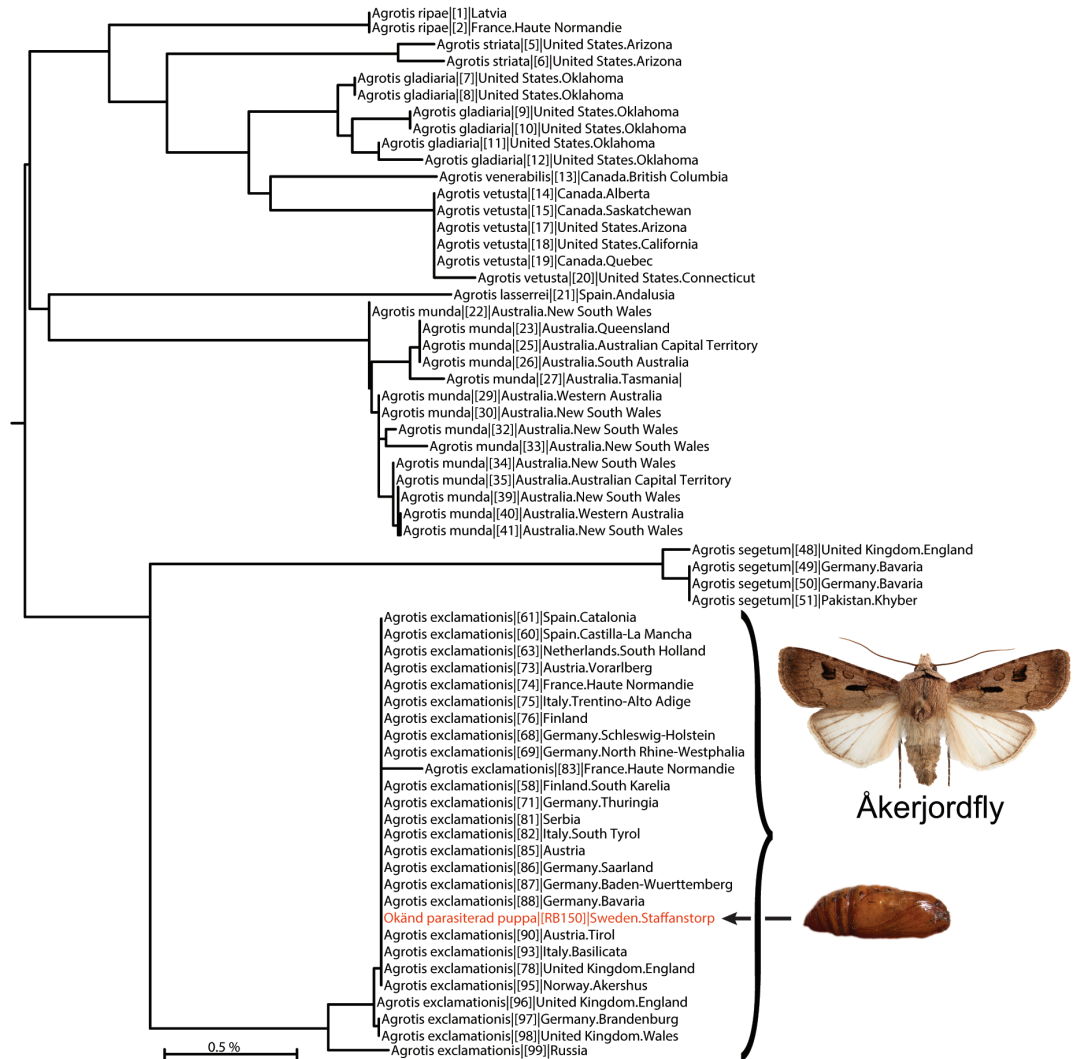
Nattfly puppan identifierades i BOLD till arten *Agrotis exclamationis* (Linnaeus, 1758), åkerjordfly, med 100% sannolikhet (Fig. 6). Puppans sekvens var helt identisk (100%) med den vanligast förekommande haplotypen (version av genen) i Europa (variation till andra haplotyper 99,54-99,85%). De närmaste andra europeiska arterna var *Agrotis ripae* (Hübner, 1823), havstrandjordfly (97,4%) och *Agrotis segetum* (Denis & Schifferrmüller, 1775), sädes-

broddfly (97,24-97,09%) men puppans sekvens skiljde sig från båda dessa med >2%.

Diskussion

Villa är ett artrikt kosmopolitiskt släkte med över 260 arter spridda på alla kontinenter utom Antarktis (Evenhuis & Greathead 1999). På släktesbasis är juvelvingar (Lycaenidae), mätare (Geometridae), nattflyn (Noctuidae) såväl som svartbaggar (Tenebrionidae), bromsar (Tabanidae) och myrlejonsländor (Myrmeleontidae) kända som värdar (Hull 1973, du Merle 1975, Yeates & Greathead 1997). Hur brett värdregistret är för de nordeuropeiska *Villa*-arterna är dåligt känt, men nattflyn har antagits vara bland de vanligaste värdarna (Lyneborg 1965, Falck 2009, Stubbs & Drake 2001). Lyneborg (1965) anger följande släkten som värdar för de danska *Villa*-arterna: *Mamestra*, *Panolis*, *Agrotis*, *Dichromia* (= *Hypena*) och *Taeniocampa* (= *Orthosia*).

I du Merles (1975) sammanställning av värduppgifter för svävflugor anges sädesbroddfly, *Agrotis segetum*, och sandängsfly, *Apamea anceps* (Denis & Schifferrmüller, 1775) för *Villa hottentotta*. Falck (2009) redovisar en uppgift där *Villa hottentotta* kläckts från ett större



Figur 6. Streckkodssekvensen från nattflypuppan matchad mot BOLDs referensbibliotek i ett "Neighbour-joining" träd. Identifieringen av nattflypuppan som åkerjordfly, *Agrotis exclamationis*, är mycket säker.

The sequenced barcode from the noctuid pupa matched against BOLDs reference library. The species-level identification as *Agrotis exclamationis* has a very high probability.

bandfly, *Noctua pronuba* (Linnaeus, 1758). I litteratursammanställningen av Yeates and Greathead (1997) finns en uppgift om ringad eklavmätare, *Hypomecis punctinalis* (Scopoli, 1763), som värd för *V. hottentotta*. Lyneborg (1965) hänvisar till uppgifter för *Villa hotten-*

totta av Gäbler som anger en *Agrotis* art och tallfly, *Panolis flammea* (Denis & Schiffermüller, 1775), som värdar. Lyneborg kommenterar dock att identifieringen av *Villa*-arten som just *V. hottentotta* är osäker vilket kan vara fallet för flera äldre uppgifter då arterna i släktet är svär-

bestämda och har ofta blandats ihop. Hull (1973) anger från äldre litteratur även kålfly, *Mamestra brassicae* (Linnaeus, 1758), grönt ekfly, *Gripoptera aprilina* (Linnaeus, 1758), ljunghjortfly, *Lycophotia porphyrea* (Denis & Schiffermüller, 1775) och nattflyet *Dichagyris forcipula* (Denis & Schiffermüller, 1775) rapporterade som värdar huvudsakligen för namnet *Anthrax flava* Meigen, 1820. Du Merle (1975) har även en lång lista av värduppgifter för ”*Villa ? hottentotta*” dvs där artbestämningen anses osäker. Dit har du Merle fört rapporterade värduppgifter under just namnet *Anthrax flava* Meigen, 1820 som är en synonym till *Villa hottentotta* idag men när namnet använts i äldre litteratur kan det även ha hänvisat till närstående *Villa* arter. Den listan innefattar förutom ett antal nattfly släkten även en uppgift för bastardsvärmare (*Zygaenidae*), parasitstekel (*Ichneumonoidea*) och en *Bembix* art (*Sphecidae*).

Då de allra flesta tidigare värduppgifterna för *V. hottentotta* kommer från äldre litteratur under namnet *Anthrax flava* där artbestämningen måste anses osäker bör dess tas med en nypa salt. Nyare väl dokumenterade värduppgifter är därför också mycket värdefulla. Nu är arten åkerjordfly, *Agrotis exalantionis*, säkerställd som en värdart för *V. hottentotta* och vi har inte kunnat hitta några tidigare publicerade uppgifter över åkerjordflyet som dokumenterad värdart. Just släktet *Agrotis* återkommer dock väldigt ofta som rapporterad värd för arten så man kan anta att släktet är en av de huvudsakliga värdarna även om registret är brett (Hull 1973, du Merle 1975).

Åkerjordfly är en allmän art i hela landet utom i fjällkedjan (Elmqvist m.fl. 2011, Gustafsson 2014). Artens utbredning sträcker sig över hela palearktis, hela Europa och österut till Japan (Fibiger 1990, Skou 1991). Åkerjordflyet kan ha en eller två generationer per år (Skou 1991, Fibiger 1990, Elmqvist m.fl. 2011). Larven lever på rötter av olika örter och kan även angripa odlade växter (varför den räknas som skadegörare, Elmqvist m.fl. 2011), vilket stämmer väl överens med fyndplatsen. Arten kan söka föda på ett brett register av växter från olika växtfamiljer inklusive majs, sallad, jordgubb, betor, indisk rapsfrö, potatis, spenat, fältmalört, ängssyra, trampört och arter från släktena *Quercus* (ekar),

Stellaria (stjärnblommor), *Plantago* (groblad), *Anemone* (sippor) och *Rubus* (hallonsläktet) (Robinson m.fl. 2010). Huruvida populationsstorleken kan påverkas signifikant av *Villa hottentotta* parasitism är inte känt men en studie på sandbiet *Andrena scotica* Perkins, 1916 på Öland visade på en parasiteringsgrad från en annan svävfluga, *Bombylius major* Linnaeus, 1758, på 6.1% (Paxton m.fl. 1996).

Baserat på de nu kända värdarterna för *Villa hottentotta* står det klart att arten inte är art- eller släktspecifik i sitt värdval och kanske inte ens begränsad till familjen nattflyn med tanke på uppgiften om en mätare som värd i Yeates & Greathead (1997). Möjligen ska denna tredjehands uppgift tas med en nypa salt men oavsett kan sägas att nattflyn av olika arter är helt klart den dominerande värden för *Villa hottentotta*. Men vilken nattflyart det är spelar mindre roll och istället är det troligt att det är den tillfälliga tillgängligheten på värdar i substrat-zonen på marken dit honan slungar sina sandkornstäckta ägg som avgör (Yeates & Greathead 1997). Den aktiva värdsökande planidium-larven stöter förmodligen på ett brett spektrum av värdar i substrat-zonen och det förefaller finnas en selektiv fördel med att kunna utvecklas i ett bredare spektrum av värdar än ett smalt spektrum som påträffas med en reducerad sannolikhet (Yeates & Greathead 1997). Att värdvalet är knutet till miljön snarare än en smal taxonomisk grupp verkar vara ett utbrett mönster bland svävflugor. I Sverige förekommer *Villa hottentotta* relativt allmänt i Syd och mellan Sverige, och upp till Västerbotten längs norrlandskusten. Man påträffar arten särskilt i torra, varma miljöer som sand- och grustag, badstränder både vid sjöar och vid havet, vägkanter, kraftledningsgator, torrängar, torrbackar, men även på ruderatmark, i trädgårdar, parker, skogsbryn mm. Man ser dem ofta på solexponerade platser med öppna sand-, grus- eller lerytor eller blombesökande särskilt på flockblommiga växter. Med tanke på denna rika variation av miljöer arten förekommer på är det inte konstigt att värdvalet inte är arts specifikt utan anpassas till vilka värdar som finns att tillgå i de respektive miljöerna.

Artidentifiering med hjälp av DNA är ett mycket lovande verktyg för att identifiera olika livstadietformer och uttröna trofiska interaktioner

mellan arter, inte minst parasitism. Det har till och med visat sig att man från vuxna parasitsteklar kan identifiera värdarten för larvstadiet genom att sekvensera DNA från mag-tarmkanalen på adulten (Rougerie m.fl. 2011). Rester av vad larven livnärde sig på kan fortfarande finnas kvar i den vuxna insektens mag-tarmkanal även efter metamorfosen. Artidentifieringen med hjälp av DNA är dock helt beroende av referensbiblioteket av DNA sekvenser som byggs upp baserat på välidentifierade vuxna djur (Ross mfl 2008, Bergsten mfl 2012). I det här fallet var referensbiblioteket för nattflyn och *Villa* arter, det senare tack vare det norska (NORBOL) och finska (FINBOL) streckkodsinitiativet, tillräckligt för att få till säkra identifieringar. Alla svenska arter av *Agrotis* finns tex nu representerade i BOLD. Vårre är det med referensbibliotek för tex parasitsteklar som utgör en mycket stor andel av den svenska insektsfaunan. Här hade det bestämda referensmaterialet upparbetat av hundratals experter över hela världen genom svenska malaisefälprojektet (Karlsson m.fl. 2005) kunnat användas som en ovärderlig resurs men tyvärr har svenska forskningsfinansiärer hittills visat sig ointresserade av att finansiera ett sådant initiativ.

Tack

Tack till sexårige Casper Höst i Staffanstorp för upptäckten av den vid tillfället okända puppan, och hans mamma Katarina Viebke Höst som gav den vidare till LGRN.

Referenser

- Bartsch, H. 2008. Landskapskatalog Bombyliidae. – <http://www.artportalen.se/Occurrence/TaxonOccurrence/16/2001313>.
- Bergsten, J., Bilton, D.T., Fujisawa, T., Elliott, M., Monaghan, M., Balke, M., Hendrich, L., Geijer, J., Herrmann, J., Foster, G., Ribera, I., Nilsson, A.N., Barraclough, T.G. & Vogler, A.P. 2012. The Effect of Geographical Scale of Sampling on DNA Barcoding. – *Syst. Biol.* 61: 851-869.
- du Merle, P. 1975. Les hôtes et les stades pré-imaginaux des Diptères Bombyliidae: revue bibliographique annotée. – *Bulletin de la Section Regionale Ouest Paléarctique (Organisation Internationale de Lutte Biologique)* 4: 1-289.
- Elmqvist, H., Liljeberg, G., Top-Jensen, M. & Fibiger, M. 2011. Sveriges fjärilar. en fälthandbok över Sveriges samtliga dag- och nattfjärilar. – Østermarie.
- Evenhuis, N.L. 2002. Catalog of the Mythicomyiidae of the world. – *Bishop Mus. Bull. Entomol.* 10: 1-85.
- Evenhuis, N.L. & Greathead, D.J. 1999. World catalog of bee flies (Diptera: Bombyliidae). – Backhuys Publishers, Leiden.
- Evenhuis, N.L. & Greathead, D.J. 2003. World catalog of bee flies (Diptera: Bombyliidae) web site. – [<http://hbs.bishopmuseum.org/bombcat/>].
- Falck, M. 2009. The Norwegian species of *Villa* Lioy, 1864 (Diptera, Bombyliidae). – *Norw. J. Entomol.* 56: 120-130.
- Fibiger, M. 1990-2009. Noctuidae Europaeae. – *Entomological Press Vol 1, 2 el 3*
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. – *Mol. Mar. Biol. & Biotech.* 3: 294-299.
- Greathead, D.J. & Evenhuis, N.L. 1997. Family Bombyliidae. – In: Papp, L. & Darvas, B. (eds.) *Contributions to a Manual of Palearctic Diptera Volume 2*: 487-512.
- Grimaldi, D. & Engel, M.S. 2005. *Evolution of the insects*. – Cambridge University Press, Cambridge.
- Gustafsson, B. 2014. Svenska Fjärilar. – http://www2.nrm.se/en/svenska_fjarilar/svenska_fjarilar.html.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & deWaard, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. – *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]* 270: 313-321.
- Hull, F. 1973. Bee flies of the world. The genera of the family Bombyliidae. – Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press.
- Karlsson, D., Pape, T., Johanson, K.A., Liljeblad, J. & Ronquist, F. 2005. Svenska Malaisefälprojektet, eller hur många arter steklar, myggor och flugor finns i Sverige? – *Ent. Tidskr.* 126: 43-53.
- Lyneborg, L. 1965. *Tovinger IV Humlefluer, Stiletfluer, Rovfluer m. fl.* – Danmarks Fauna 70, G.E.C. Gads Forlag, Köpenhamn.
- Paxton, R.J., Tengö, J. & Hedström, L. 1996. Dipteran parasites and other associates of a communal bee, *Andrena scotica* (Hymenoptera: Apoidea), on Öland, Sweden. – *Ent. Tidskr.* 117: 165-178.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P.D.N. 2007. BOLD: The Barcode of Life Datasystem (<http://www.barcodinglife.org>). – *Mol. Ecol. Notes.* 7: 355-364.
- Robinson, G.S., Ackery, P.R., Kitching, I.J., Beccaloni, G.W. & Hernández, L.M. 2010. HOSTS - A Database of the World's Lepidopteran Hostplants. – Natural History Museum, London. <http://www.nhm.ac.uk/hosts>.

- Ross, H.A., Murugan, S. & Li, W.L.S. 2008. Testing the reliability of genetic methods of species identification via simulation. – *Syst. Biol.* 57: 216-230.
- Rougerie, R., Smith, M.A., Fernandez-Triana, J., Lopez-Vaamonde, C., Ratnasingham, S., & Hebert, P.D.N. 2011. Molecular analysis of parasitoid linkages (MAPL): gut contents of adult parasitoid wasps reveal larval host. – *Mol. Ecol.* 20: 179-186.
- Skou, P. 1991. Nordens ugler. Handbog over de i Danmark, Norge, Sverige, Finland og Island forekommende arter af Herminiidae og Noctuidae (Lepidoptera) Danmarks dyreliv band 5. – Apollo books, Stenstrup.
- Stubbs, A. & Drake, M. 2001. British Soldierflies and their Allies. – British Entomological and Natural History Society, London.
- Trautwein, M.D., Wiegmann, B.M. & Yeates, D.K. 2010. A multigene phylogeny of the fly superfamily Asiloidea (Insecta): Taxon sampling and additional genes reveal the sister-group to all higher flies (Cyclorrhapha). – *Mol. Phyl. Evol.* 56: 918-930
- Trautwein, M.D., Wiegmann, B.M. & Yeates, D.K. 2011. Overcoming the effects of rogue taxa: Evolutionary relationships of the bee flies. – *PLOS Currents: Tree of Life* 2011. May 5 doi: 10.1371/currents.RRN1233
- Wiegmann, B.M., m.fl. 2011. Episodic radiations in the fly tree of life. – *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*. 108: 5690–5695.
- Yeates, D.K. 1994. Cladistics and classification of the Bombyliidae (Diptera: Asiloidea). – *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 219: 1-19.
- Yeates, D.K., 2002. Relationships of extant lower Brachycera (Diptera): a quantitative synthesis of morphological characters. – *Zool. Scripta* 31: 105–121.
- Yeates, D.K. & Greathead, D.J. 1997. The evolutionary pattern of host use in the Bombyliidae (Diptera): a diverse family of parasitoid flies. – *Biol. J. Linn. Soc.* 60: 149-185.