

FRÅN INSEKTER TILL SPINDELÄGG: KOKONGPARASITSTEKLARNA SOM BYTTE DIET

En molekylärsystematisk studie av släktet *Gelis* Thunberg



IKA ÖSTERBLAD

PRO GRADU-AVHANDLING
EKOLOGI OCH EVOLUTIONS BIOLOGI

HELSINGFORS UNIVERSITET
BIO- OCH MILJÖVETENSKAPLIGA FAKULTETEN
UTBILDNINGSPROGRAMMET FÖR BIOLOGI
ENHETEN FÖR SVENSKSPRÅKIG UNDERVISNING

MAJ 2016



Tiedekunta – Fakultet – Faculty Bio- och miljövetenskapliga fakulteten		Laitos – Institution – Department Biovetenskapliga institutionen	
Tekijä – Författare – Author Ika Österblad			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Från insekter till spindelägg: kokongparasitsteklarna som bytte diet. En molekylärsystematisk studie av släktet <i>Gelis</i> Thunberg			
Oppiaine – Läroämne – Subject Ekologi och evolutionsbiologi			
Työn laji – Arbetets art – Level Pro gradu-avhandling		Aika – Datum – Month and year Maj 2016	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 49
Tiivistelmä – Referat – Abstract <p>Parasitoiders interaktioner med sina värdar är intimt förbundna med såväl näringsvävares dynamik som långsiktiga evolutionära förändringar. Parasiteringsstrategin påverkar parasitoidens möjlighet att utöka sin värdbredd eller byta värddjur. En starkt specialiserad anpassning till ett smalt urval av värdarter kan uppstå genom att larven befinner sig inuti värden under en längre tid. En snabb, ektoparasitisk larvtillväxt ger ofta ett mer flexibelt värdval, som dock begränsas av andra faktorer, exempelvis honans äggproduktion.</p> <p>Den enorma artrikedomen av parasitoider är fördelad på flera insektordningar, allra mest märkbart hos steklarna (Hymenoptera). Teoribildningen kring värdinteraktioner grundar sig på studier av en blott liten andel av denna mångfald.</p> <p>I denna undersökning klarlades hur många radikala byten av värddjursgrupper som har skett i släktet <i>Gelis</i> (Ichneumonidae: Cryptinae) evolutionshistoria. Släktets värdspektrum inbegriper två påtagligt olika värdgrupper: insektprepuppor och spindelägg. Likheterna består i att de är inneslutna i skyddande kokonger och relativt försvarslösa. Men skillnaderna i värdegenskaper är tillräckligt stora för att representanterna för varje <i>Gelis</i>-art ska begränsa sig till parasitera bara den ena av grupperna.</p> <p>För ändamålet konstruerades, med bayesiansk analysmetod, en partiell molekylär fylogeni baserad på två genregioner, en mitokondriell (COI) och en nukleär (ITS2). Övergångar från nyttjande av insektprepuppor till spindelägg kunde härledas ur placeringen av olika värdpreferenser i släkträdets. Sådana övergångar befanns ha inträffat fyra gånger inom de delar av släktet <i>Gelis</i> som omfattas av rekonstruktionen, och dessa har skett i olika skeden av gruppens evolutionshistoria.</p> <p>Därtill granskades förekomsten av arter med reducerade vingar, en egenskap som finns hos både insekts- och spindelparasiterande arter och enligt den aktuella fylogenin har evoluerat i minst två olika släktlinjer inom <i>G. bicolor</i>-artkomplexet. Det molekylära resultatet understöddes av morfologiska kännetecken. Förekomst av ytterligare kryptiska arter indikerades av genetiskt avstånd, sekvenskluster, i något fall även morfologi. Här krävs dock fortsatta studier för att bekräfta eller förkasta deras identitet som goda arter. Släktet <i>Thaumatogetelis</i> Schwarz konstaterades vara en del av <i>Gelis</i>.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords parasitoid, Ichneumonidae, värdbredd, värdinteraktion, vingreduktion, fylogeni, COI, ITS2, kryptiska arter			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors Docent Nina Laurene, Aalto-universitetet / institutionen för skogsvetenskaper vid Helsingfors universitet och professor Fredrik Ronquist, Naturhistoriska riksmuseet, Stockholm			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Biblioteket, avdelningen för ekologi och evolutionsbiologi			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

1. Inledning	4
1.1 Att leva länge med sin värd, eller dräpa den direkt	5
1.2 Släkterna <i>Gelis</i> och <i>Thaumatozelis</i>	6
1.2.1 Värdjur	8
1.2.2 Vingpolymorfism och annan variation	10
1.2.3 Tidigare uppsatser om släktets taxonomi och biologi	12
1.3 Systematik, biologins referenssystem	13
1.3.1 Val av sekvenser	14
1.3.2 Linjering – förr eller senare?	15
1.3.3 Olika sätt att rekonstruera släktträd	16
1.4 Målsättning	18
2. Material och metoder.....	19
2.1 Studiens parasitstekelmaterial.....	19
2.2 Extrahering, amplifiering och sekvensering	20
2.3 Linjering	21
2.3.1 Linjering med MAFFT	21
2.3.2 Linjering med PAGAN	21
2.3.3 Förberedelse för analys	21
2.4 Fylogenetisk analys	22
2.4.1 Bayesiansk analys	22
2.4.2 Dynamisk homologi	23
3. Resultat	24
4. Diskussion	31
4.1 Stabil bayesiansk analys, instabil dynamisk homologi	31
4.2 <i>Gelis</i> bildar klad tillsammans med <i>Thaumatozelis</i>	32
4.3 Från insektätare till spindelätare	33
4.3.1 Värdbyten inom släktet	33
4.3.2 Varför äta spindlar?	34
4.3.3 Varför inte äta bådadera?	35
4.4 Vingpolymorfism: nytta och nackdelar med att kunna flyga	36
4.5 Indikation på kryptiska arter.....	38
4.6 Möjliga felkällor.....	40
4.7 Slutsatser.....	41
4.8 Vidare undersökningar.....	42
5. Tack	43
6. Litteratur.....	44

Bilagor:

S1 Laboratorieprotokoll, primers, programkommandon

S2 Studiens stekelmateriel: etikettuppgifter och accessionskoder

S3 Tilläggssträd

På omslaget: klotspindelbo tecknat av Nielsen (1928),
växtstekelkokong av Nägeli 1936. *Gelis spurius*: originalteckning.

1. INLEDNING

Parasitoiden är ett mellanting mellan parasit och predator. En parasit kan byta värd flera gånger under sitt liv, men lever under största delen av sin livscykel – i allmänhet också det reproduktiva skedet – inuti något värddjur. Oftast överlever värden förhållandet. En parasitoid däremot dödar sin värd, och är i det reproduktiva stadiet nästan alltid frilevande. Men till skillnad från rovdjur dödar den bara ett enda djur för att fullborda sin utveckling; faktiskt kan ett värddjur ofta ge upphov till ett stort antal parasitoidindivider.

Parasitoider finns i flera insektordningar, men det är hos steklarna de fått sin mest framträdande position. Vårdarna är andra insekter eller i undantagsfall spindeldjur. I egenskap av dråpare har parasitoider potential att kraftigt påverka sina värdars populationsdynamik, och används också i biologisk bekämpning av s.k. skadedjur (Jervis & Ferns 2011). Vårdarnas försvarsmekanismer sammanfaller med sådana som skyddar mot predation, till exempel nattaktivitet, migration till mindre hemsökta platser, skyddande kokongstrukturer eller vakthållning vid äggsamlingen (Gauld & Bolton 1988: 27 f).

Flera centrala ekologiska och evolutionsbiologiska frågor med anknytning till parasitoider berör deras värdbredd (Shaw 1994). Vilka värdarter står genom honans försorg på larvernans meny i teorin och i praktiken? Hur skiftar interaktionerna över tid, och vilka faktorer påverkar dem? Svaren inverkar på vår förståelse av såväl dynamiken hos näringsvävar som långsiktiga evolutionära förändringar. I mitt pro gradu-arbete undersöker jag med vilken frekvens ett radikalt byte av värdjursgrupp har inträffat inom parasitstekel-släktet *Gelis*. För detta ändamål används molekylärsystematiska metoder.

1.1 Att leva länge med sin värd, eller dräpa den direkt

Parasitoiden är starkt knuten till sin värd. I det asymmetriska beroendeförhållandet måste parasitoiden anpassa sig till värdens fenologi, födosöksbeteende, fysiologi och försvarsmekanismer. Det minimala utrymmet för missanpassning begränsar antalet möjliga värdarter. Denna specialisering antas vara en orsak till parasitoidernas stora artrikedom, då deras artbildning eskalerar i anknytning till artbildning hos värdjuren och deras värdväxter (Vilhelmsen & Turrisi 2011).

Parasitoider har traditionellt delats in i endo- och ektoparasitoider, beroende på om larven finns innanför eller utanför värdens hud. En evolutionärt och ekologiskt mer avgörande parameter har emellertid visat sig vara värdjurets tillstånd efter parasitering. *Koinobionta* parasitoider tillåter sin värd att vara aktiv och fortsätta utvecklas, medan *idiobionter* antingen attackerar sessila utvecklingskedan – ägg eller (pre)puppa – eller paralyserar sitt offer permanent (Askew & Shaw 1986: 232 ff), se tabell 1.

Vad gäller steklarna (Hymenoptera) omfattar begreppet koinobiont de flesta endoparasitiska arter, vissa specialiserade ektoparasitoider på aktiva värdar, och nästan alla obligata hyperparasitoider, d.v.s. arter som med nödvändighet måste tillbringa larvstadiet i en annan parasitoid(larv) (Askew & Shaw 1986). Allmänt taget ger koinobios en snävare värdbredd, eftersom koinobionten är tvungen att finjustera sig till en värd med ett aktivt immunförsvar och fysiologiska funktioner som inte får rubbas för tidigt (Askew & Shaw 1986, Shaw 1994, Althoff 2003). Vissa medlemmar av familjerna Braconidae och Ichneumonidae utkämpar, med hjälp av internaliserade virus, fascinerande evolutiva kamper med värdens immunförsvar (Pichon m.fl. 2015, Quicke 2015: 144 ff). Koinobionter är 'goda taxonomer': om de parasiterar mer än en värdart är dessa i allmänhet närbesläktade.

Idiobiontens måltid gör betydligt mindre motstånd, och den behöver heller inte hållas vid liv genom försiktig hantering. Idiobionters värdval har ofta att göra med ekologiska nischer snarare än med taxonomiska grupperingar (Fitton m.fl. 1988: 6, Shaw 1994); och deras värdbredd kan vara vidare än hos relativt specialiserade rovdjur.

Tabell 1. Typiska drag hos parasitoidstrategierna idio- och koinobios (generaliserat).

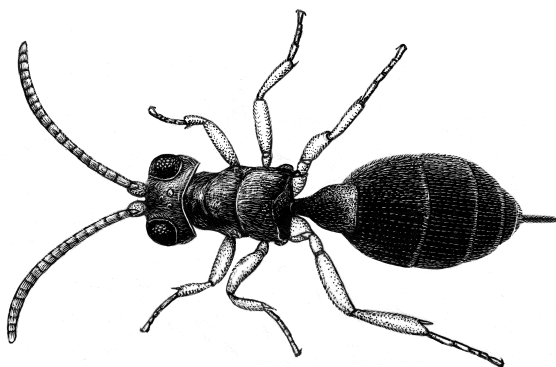
Källor: Askew & Shaw 1986, Jervis & Ferns 2011, Quicke 2015.

	Idiobios	Koinobios
Värdens tillstånd	Sessil / permanent paralyserad	Aktiv, utvecklas
Parasitoidens värdbredd	Bred	Smal
Larvplacering	Ektoparasitoid	Endoparasitoid
Ägg	Få, näringsrika	Många, små
Larvens utveckling	Snabb	Långsam
Den vuxna honans livslängd	Lång	Kort

Värdbredden speglar såväl evolutionära som ekologiska processer och blir därför högt intressant oberoende av ur vilket perspektiv man granskar parasitoider (Shaw 1994). Sällan är ens specialisten begränsad till en enda värdart. Å andra sidan finns heller ingen fullständig generalist som kan parasitera alla potentiella värdarter i sin omgivning. De som ingår i värdbredden har vissa avgörande egenskaper gemensamt (Godfray 1994: 335).

Shaw (1994) menar att vi bör tala om ett kontinuum snarare än om två klart definierade kategorier, och försöka förstå varför en given art befinner sig på en viss plats på den skalan. Klarläggandet kompliceras av att faktorerna till en del har bred fylogenetisk bakgrund, medan det i andra fall handlar om taxonspecifik evolution under inverkan av möjligheter och begränsningar i omgivningar som kanske inte längre finns.

Värdbredden bestäms av fysiologiska och biokemiska aspekter av värdinteraktionen, egenskaper hos omgivningen samt parasitoidens gensvar på tillgängligheten på olika värdar och deras 'kvalitet'. Värdbredden inbegriper då de potentiella värdarter som parasitoiden regelbundet kan påträffa genom sina sökbeteenden och som den vanligen framgångsrikt kan attackera. Shaw (1994) konstaterade vidare att parasitoidens geografiska utbredning sällan överlappar exakt med alla de potentiella värdarnas, och att den *realiserade* värdbredden därför kommer att variera över parasitoidens utbredningsområde. Den realiserade värdbredden på en plats förändras därtill över tid. De potentiella värdarnas fenologi, värdväxtpreferenser och relativa abundans ger variation över långa tidsspann. Snabbare fluktuationer i värdarnas populationsstorlek inverkar på kort sikt.



Figur 1. *Gelis spurius*, hona. Originalteckning.

1.2 Släkterna *Gelis* och *Thaumatogelis*

Ordningen steklar (Hymenoptera) är med sina mer än 146 000 beskrivna arter en av de verkligt stora insektordningarna (Klopfstein m.fl. 2013). För omkring 250 miljoner år sedan (Ronquist m.fl. 2012 a) uppkom hos dem, i en vedlevande grupp av växtsteklar, ett parasitiskt levnadssätt. Denna enda övergång gav under mesozoikum upphov till en spektakulär radiation av midjesteklar (Apocrita). I gruppen av parasitoider har en del släktlinjer blivit sekundärt växtätande – särskilt gallbildare och pollinatörer – eller rovdjur, och vissa gaddsteklar (Aculeata) har evolverat eusocialitet (Gauld & Bolton 1988: 97).

Men den stora artmångfalden består av parasitoider. Största delen av dem vet vi väldigt lite om. Tidigare obeskrivna arter hittas i stadig takt, till och med i den väldokumenterade holarktiska faunan. Och det är bara för en bråkdel av de beskrivna arterna som vi har tillfredsställande kunskap om biologi och geografisk utbredning (Jones m.fl. 2009, Bacher 2012).

Steklarnas största överfamilj Ichneumonoidea indelas i familjerna bracksteklar (Braconidae) och brokparasitsteklar (Ichneumonidae). Den finländska stekelarbetsgruppen uppskattade 2010 att det i landet finns fler än 3 800 arter som hör till överfamiljen. Bland bracksteklarnas värdar finns både unga och vuxna hemi- och holometabola insekter, medan de flesta brokparasitsteklar attackerar unga stadier av holometabola insekter (Gauld & Bolton 1988: 194).

Med mer än 4 600 beskrivna arter globalt är kokongparasitsteklarna (Cryptinae) brokparasitsteklarnas största underfamilj (Yu m.fl. 2005). De är inget undantag vad gäller kunskapsbristen, men man kan åtminstone konstatera att största delen av arterna med känd biologi är idiobionta ektoparasitoider på insekt(pre)pupp or i kokonger (Townes 1969: 2; Goulet & Huber 1993: 439). Cryptinae delas in i tre tribus, varav Phygadeuontini är det artrikaste, mest småvuxna och taxonomiskt mest utmanande. Hit hör det stora släktet *Gelis*. Thunberg (1827) samlade tolv vinglösa arter under namnet. Honan hos typarten *Gelis acarorum* (Linnaeus 1758, som *Mutilla acarorum*) är vinglös, och till släktet fördes under lång tid bara arter vars honor saknar vingar eller har reducerade sådana (se avsnitt 1.2.2), men avgränsningen har varierat genom tiderna. Nära tvåhundra år efter Thunbergs taxonomiska uppsats omfattade släktet 294 beskrivna arter med geografisk tyngdpunkt på norra halvklotet (Yu m.fl. 2005).

I släktet förekommer förutom vingreduktion ytterligare ett avvikande drag, nämligen nyttjande av spindelägg som näring i larvstadiet (Schwarz 1995, 1998). Dessa två egen-

Figur 2. *Gelis discedens*-hona proberar spindeläggkokong (*Tetragnatha* sp).
Foto: N. R. Fritzén.



heter kan uppträda i kombination eller åtskilt både inom *Gelis* och några andra släkten i underfamiljen kokongparasitsteklar.

Många *Gelis*-arter har en ettårig livscykel. Andra hinner med flera generationer per år, med övervintrande vuxna honor (Schwarz & Shaw 1999, 2000). Övervintringen sker ofta i värdens kokong. Honan kan leva mer än ett år efter fullbordad metamorfos. Jervis & Ferns (2011) menar att parasitoider på sena utvecklingsstadier brukar vara långlivade som en anpassning till att värdindivider av dessa utvecklingsstadier påträffas med lägre frekvens än unga larver av en given värdart, på grund av hög mortalitet i larvstadiet. Dessutom är puppor ofta dolda, vilket ger stor tidsåtgång för varje äggläggning. Under sitt vuxenliv producerar *Gelis*-honan relativt få ägg som mognar vartefter (Harvey m.fl. 2011), en strategi som benämns synovigeni. I *trade-off* mellan å ena sidan ett stort antal ägg och å andra sidan livslängd och äggstorlek (Godfray 1994: 85, Jervis & Ferns 2011), ligger här satsningen på de senare. *Gelis*-honans reproduktionsframgång begränsas mera av kapaciteten till äggproduktion än av den tid hon kan använda till att söka och hantera värdar. De stora, näringsrika äggen gör att avkomman får en god start och kan växa raskt. Snabbhet är av betydelse för den som utvecklas ikapp med sin värd.

Det *Gelis* närstående spindelparasiterande släktet *Thaumatogelis* Schwarz taxonomiska position har varierat genom tiderna. Ibland har *Thaumatogelis*, först upprättat av Schmiedeknecht 1933, betraktats som en del av släktet *Gelis* (Schwarz & Shaw 2000). Schwarz (1995) skilde dem åt på basen av några morfologiska karaktärer, bland annat första gastersegmentets form samt den grövre ytskulpturen och reduktion av laterotergiten på andra gastersegmentet hos *Thaumatogelis*. Honornas vinglöshet och den för båda släktena typiska subbasala ansvällningen på mandiblerna förmodades vara egenskaper uppkomna genom konvergens. I resonemanget användes fylogenetiska begrepp som plesio- och apomorfier, men regelrätt kladistisk analys som stöd för antagandena saknades. För närvarande utgör *Thaumatogelis* ett eget släkte med totalt 30 arter i Palearktis och Afrika (Yu m.fl. 2005).

1.2.1 Värddjur

En parasitoidhona som söker efter värdar är uppmärksam på flera slags tecken som kan leda henne till målet. I ett antal studier har man undersökt honors reaktioner på doftsignaler från värden eller dess habitat, till exempel en värdväxt (Godfray 1994: 42f). Även synsinnet används för att känna igen potentiellt givande mikrohabitat. Godfray konstaterar vidare att inlärning ofta är av betydelse för att parasitoiden ska hitta och acceptera värdar. van Nouhuys & Kaartinen (2008) kunde visa hur *Hyposoter horticola*, koinobiont specialist på ängsnätfjäril *Melitaea cinxia*, lade för stekelns vidkommande 'omogna' äggsamlingar på minnet för att senare återvända till platsen.

Gelis-honans sök beteende skiljer sig från målmedvetna specialisters. Hon tycks vandra omkring i vegetationen på måfå tills hon går rakt på en potentiell värd. Alla *Gelis*-arter är idiobionter på värdar i kokonger eller kokongliknande strukturer – ofta småfjärilar i

skyddande hylsor. Funktionellt är de alla ektoparasitoider men vissa småfjärilsparasiterande arter lägger sina ägg innanför puppans kutikula (Schwarz & Shaw 1999).

Honan undersöker kokongen med livliga antennrörelser – nu kommer luktsinnet till användning – och proberar den sedan upprepade gånger med äggläggningröret (egna observationer, jfr Salt 1952, Horn 1976, Rollard 1990) (fig. 2). Äggläggningrörets sinnesceller förmedlar information om innehållets beskaffenhet (Quicke 2015: 126). Äggläggning förutsätter alltså att kokongen igenkänns som potentiell larvföda och befinner sig i användbart tillstånd, d.v.s. levande men inte för långt gången eller rentav tom. Horns (1976) observationer tyder på att honor undviker kokonger som redan tagit emot ett långvarigt besök av andra honor.

De insektgrupper som nyttjas som värdar är holometabola och parasiteras i det stadium då värden genomgår sin omvandling till vuxen. Insektparasiterande *Gelis*-arters larver är solitära, d.v.s. på varje värd utvecklas bara en larv. Värddjur är steklar (framför allt Braconidae och Ichneumonidae, men även fall av Symphyta, Cynipidae), fjärilar (Lepidoptera; övervägande Psychidae, Coleophoridae) samt mindre allmänt tvåvingar (Diptera; troligtvis enbart Cyclorrhapha), skalbaggar (Coleoptera) och nätvingar (Neuroptera) (Schwarz 1998, Schwarz & Shaw 1999).

Genom att de ofta attackerar kokonger av brokparasit- och bracksteklar, kan samma *Gelis*-art fungera både som primär och sekundär parasitoid (= parasitoid på en primärparasitoid) på en given värd, vilket är värt att notera ur populationsdynamisk synvinkel (Schwarz & Shaw 1999). Om sekundärparasitiska *Gelis* används termen pseudohyperparasitoid snarare än hyperparasitoid, för att tydliggöra att värddjuret vid parasiteringen redan har lämnat *sitt* värddjur (Schwarz & Shaw 1999).

Av de europeiska arter som med någorlunda säkerhet knutits till någon värd är omkring en tredjedel spindelparasitoider (sammanställt ur Schwarz 1994, 1995, 1998, 2002). Spindelägg liknar vissa insektpuppor på så vis att de är paketerade i silke. Troligen är det likheter mellan larv- och spindelsilke som bäddat för övergången (Austin 1985). Liksom de metamorfoserande insekterna befinner sig äggen i ett relativt försvarslöst skede av sin utveckling, men till skillnad från pupporna kan de vara bevakade. Vargspindlarnas (Lycosidae) äggkokonger sitter alltid fästa vid honans spinnvärtor. Paddspindlarna (Thomisidae: *Ozyptila*) sitter vakt ovanpå. Kaparspindlar (Mimetidae: *Ero*) och lyktspindlar (Liocranidae: *Agroeca*) litar i stället till äggkokongens byggnad med skaft eller kamouflage (Nielsen 1928). Men trots säkerhetsåtgärderna får nämnda grupper, och fler därtill, ändå hysa parasitoidlarver.

Ofta kan samma *Gelis*-art attackera flera olika familjer, men vissa arter är förhållandevis specialiserade. Till exempel kommer nästan alla uppfödda *G. micrurus* från vargspindlar av släktet *Pardosa* (Schwarz 2002, Schwarz & Shaw 1999; egna observationer). Även värdens habitat spelar roll. Exempelvis har *G. discedens* veterligen uteslutande fötts upp från käkspindlar (Tetragnathidae) som lever i fuktiga biotoper (Schwarz & Shaw 1999, Mark Shaw per korrespondens, september 2015; egna observationer), och uppvisar därmed både taxonomisk och ekologisk specialisering.

En spindeläggkokong kan, beroende på äggmassan, ge upphov till en eller flera *Gelis*-individer. De storvuxna *Thaumatogetis* är enligt Schwarz (1998) i regel solitära. Ur varg-, käk- och lyktspindelkokonger kommer ofta flera individer, medan varje kaparspindelkokong ger näring för bara en (Finch 2005, Schwarz & Shaw 1999; egna observationer). Kaparspindeln lägger 5–6 ägg i varje kokong, jämfört med t.ex. lyktspindelns ofta 20–40 (Nielsen 1928). Eftersom *Gelis*-larver i spindeläggkokonger äter fler än ett ägg, kan de i princip betraktas som rovdjur. Men oavsett hur många spindlar kokongen kunde ha gett upphov till, utgjorde den vid parasiteringstillfället i allt väsentligt en enhet. Shaw (1994) anmärkte att det vore hårklyveri att vägra kalla äggätaren parasitoid.

Varje *Gelis*-art begränsar sig till att attackera antingen insekter eller spindlar, inte bådadera (Schwarz 1998, Schwarz & Shaw 1999). Hänvisningar i litteraturen till sådan gränsöverskridande verksamhet torde grunda sig på felbestämda exemplar eller på att man inte noterat att det varit fråga om pseudohyperparasitism. Det händer nämligen att insektparasiterande *Gelis* attackerar spindelparasiterande *Gelis* och andra ichneumonider i spindeläggkokonger (Schwarz & Shaw 1999; egna observationer).

1.2.2 Vingpolymorfism och annan variation

Inomartsvariation i flygutrustningen förekommer hos arter i ett flertal insektordningar. Det rör sig dels om fenotypisk plasticitet, dels om fixerade varianter, som gensvar på ett behov av resursfördelning, till exempel mellan reproduktion och dispersal (spridning). Skillnaderna kan komma till uttryck mellan generationer, kön eller kaster.

För närvarande omfattar avgränsningen av släktet *Gelis* förutom vinglösa arter ett stort antal arter med fullt utvecklade eller kortvuxna vingar (fig. 3). Hos många arter förekommer vingpolymorfism mellan könen, i flera arter också inom ett kön. Tumregeln är att hanarna är minst lika välutrustade som honorna. Medan honorna är benägna att söka värdar till fots, ägnar sig nämligen hanarna i stor utsträckning åt partnersökande i flykten (Townes 1969). Fullt utvecklade vingar, reducerade vingar, och vinglöshet förekommer hos såväl spindel- som insektparasiterande *Gelis*-arter. Enligt Schwarz & Shaw (1999) antas följande vingkombinationer finnas:

- 1) både hona och hane alltid fullt vingade
- 2) hona antingen fullt vingad eller kortvingad (brachypter), hane alltid fullt vingad
- 3) både hona och hane antingen fullt vingad eller kortvingad
- 4) hona alltid kortvingad, hanar okända men förmodas alltid vara fullt vingade
- 5) hona alltid vinglös, hane alltid fullt vingad
- 6) hona alltid vinglös, hane antingen fullt vingad eller kortvingad
- 7) honan alltid vinglös, hane antingen fullt vingad, kortvingad eller vinglös

Kortvingade honors vingar räcker ofta åtminstone till propodeums bakkant. Kortvingade



Figur 3. Vingpolymorfism hos *Gelis*. **a–b** fullt vingade, **c** kortvingad (brachypter) hona, **d** kortvingad (micropter) hane, **e–f** vinglösa. Skalstreck 1 mm.

hanar är i allmänhet microptera: deras vingar är reducerade till minimala fjäll som påminner om epåletter.

Också utöver vingpolymorfismen kan den morfologiska variationen inom arten vara betydande, särskilt hos de vinglösa arterna som Schwarz (1995) beskriver som de kanske mest variabla inom hela familjen Ichneumonidae. Kroppsstorleken inverkar på kroppsdelars proportioner, antalet antennsegment, behåringens täthet och djurets färg. Hos vissa arter finns dessutom stora utseendeskilnader mellan geografiska regioner. Å andra

sidan är skillnaderna *mellan* beskrivna arter ofta hårfina. Till exempel måste *G. pilosulus* skiljas från *G. forticornis* med en subjektiv bedömning av hur jämbred bakkroppen är. I den av Schwarz (1995) benämnda *bicolor*-gruppen (se fig. 8) ingår några av hela underfamiljens mest svårbestämda arter. Småvuxna individer i synnerhet är hart när omöjliga att med säkerhet tilldela ett artepitet, och *bicolor*-gruppens inre taxonomi framstår som mycket osäker. Eftersom artbeskrivningarna av tradition främst görs på honor, försvårar könsdimorfism identifiering av släktets hanar – bestämningsnycklarna behandlar dem över huvud taget inte. Sammantaget har identifieringssvårigheterna gjort det svårt att råda bot på kunskapsbristen kring släktets biologi och dess arters utbredning, trots att det finns gott om insamlat material.

När två eller flera arter klassificerats som en enda på grund av de för ett mänskligt öga saknar särskiljande morfologiska kännetecken, talar man om kryptiska arter. Tack vare molekylära metoder uppdagas sådana nu i stigande takt, ofta som en oväntad bieffekt, då genetisk divergens upptäcks hos morfologiskt snarlika organismer. Bland parasitsteklar är antalet kryptiska arter särdeles stort (Smith m.fl. 2008, Kaartinen m.fl. 2010, Stigenberg & Ronquist 2011). Med tanke på den vanskliga identifieringen av *Gelis*-arter kunde man misstänka att släktet skulle innehålla åtminstone någon kryptisk art.

1.2.3 Tidigare uppsatser om släktets taxonomi och biologi

Europeiska hymenopterologer har under de senaste hundra åren ägnat släktet viss, om än inte översvallande, uppmärksamhet. Aubert (1957) publicerade en partiell revision, som Rollard (1988) använde sig av för en uppräknings av vilka *Gelis*-arter som antas parasitera spindlar respektive insekter. Trots en inledande observation om felaktiga hopkopplingar i litteraturen går Rollard i samma fälla. Några publikationer av Horstmann berör *Gelis*-arter, bland annat en revision av de vingade och kortvingade europeiska arterna (Horstmann 1986). Flera revisionsarbeten av de vinglösa arterna påbörjades under 1900-talet men Schwarz (1995, 1998, 2001, 2002) var den enda som gick i land med att färdigställa sitt. Han kompletterade (1994) också Horstmanns arbete med de vingade. Revisionen innehöll ny kunskap om biologi och utbredning samt ett stort antal nya artbeskrivningar. Tillförlitligheten hos tidigare uppgifter om värddata bedömdes kritiskt på basen av uppfödningar och resonemang om värdbredd. Vad gäller systematiken har Schwarz använt och modifierat Horstmanns artgrupperingar som, utan egentlig analys, baserar sig på morfologisk likhet och i viss mån värddata (M. Schwarz muntl., Linz 2012).

Bara ett försök till fylogenetisk analys av de inbördes förhållandena inom släktet *Gelis* har gjorts, en analys baserad på sjuttio morfologiska karaktärer hos 24 europeiska *Gelis*-arter (Zimmermann 2009). Den innehåller dessvärre starkt tvivelaktiga slutsatser, delvis på grund av det begränsade antalet informativa karaktärer.

Något färskare taxonomiskt arbete om de nearktiska arterna än Stricklands (1912) om nordamerikanska *Pezomachini* (= *Phygadeuontini*) finns inte.

I ekologiska studier dyker enskilda *Gelis*-arter ofta upp som parasitoider på ett brett spektrum andra insekter, från småfjärilar till nätvingar och parasitsteklar (t.ex. Elzinga m.fl. 2011), och på spindlar (t.ex. Cobb & Cobb 2004, Finch 2005); och den partenogenetiska *Gelis agilis* hålls som laboratoriestam för studier av frågor kring livshistorier, bl.a. resursallokering (t.ex. Harvey m.fl. 2011).

1.3 Systematik, biologins referenssystem

Den biologiska systematiken omfattar två fält: å ena sidan den uppenbart evolutionsanknutna släktskapsutredningen, fylogenetiken; och å andra sidan taxonomin, som sysslar med beskrivning och namngivning av arter, och tillhandahåller klassificeringar (Forshage 2009).

I begynnelsen antogs organismerna vara oföränderliga. De grupperades *fenetiskt*, enligt likheter i sina fysiska uppenbarelsen och enligt huruvida de besatt eller saknade en viss egenskap. Den infallsvinkeln ger visserligen ofta resultat som liknar den evolutionsbaserade systematikens, men genom att metoden inte försöker rekonstruera en evolutionär process, leds man lätt vilse av likheter uppkomna genom konvergent evolution.

Numera strävar man efter att klassificera de levande organismerna på ett sätt som förser oss med en hypotes om deras släktskap. Entomologen Willi Hennig (1966) formulerade det som kallas kladistik eller fylogenetisk systematik, där man hoppas hitta en trovärdig hypotes genom att analysera tillstånden för en uppsättning homologa karaktärstillstånd. Vare sig karaktärsmatrisen bygger på morfologiskt eller molekylärt data är det en stor utmaning att avgöra om det verkligen är fråga om homologi eller om en likhet som uppstått oberoende. För sekvensdata visas antagandet om homologi mellan två nukleotider eller aminosyror genom att de tilldelas samma ordningstal i sekvensen, samma position. Den processen kallas linjering.

I fylogenetisk analys inkluderas i allmänhet ett eller flera s.k. utgruppstaxon. Med hjälp av utgruppen kan man rekonstruera karaktärstillstånd hos en gemensam anmoder. Den hypotetiska rekonstruktionen anger förändringens riktning och därigenom vilka tillstånd som är plesiomorfier respektive apomorfier (ancestrala respektive senare uppkomna homologa egenskaper) (Nixon & Carpenter 1993). På så sätt visar utgruppen också placeringen för trädets rot. Valet av utgrupp kan kraftigt påverka chansen att hitta det mest sanningsenliga trädet, till exempel om sökalgoritmen är känslig för olikheter i evolutionshastighet (San Mauro & Agorreta 2010). Som utgrupp bör man välja så närbesläktade taxa som möjligt; ofta används en enda systerklad (San Mauro & Agorreta 2010, Rosenfeld m.fl. 2012). Men det gäller förstås att vara säker på att ens utgruppstaxa inte egentligen ingår i ingruppen.

1.3.1 Val av sekvenser

Den enskilda genregionens släkträd motsvarar inte nödvändigtvis artens. Pamilo & Nei (1988) påpekade att skillnader kan uppstå när ursprungspopulationen härbärgerar polymorfism och flera förgreningar inträffar tätt inpå varandra. Sannolikheten för att gen-trädets topologi ska skilja sig från artträdets stiger med ökande populationsstorlek samt när genregionens förändringstakt är låg i förhållande till det aktuella tidsintervallet.

För *Gelis*-fylogenin behövdes därför sekvenser från minst två regioner. Projektets resursramar satte den övre gränsen vid högst tre regioner för vilka primers redan fanns tillgängliga (en primer är en kort startsekvens för amplifiering av ett längre stycke DNA). Bäst chans till lyckad PCR (*polymerase chain reaction*, amplifiering genom polymeras-kedjereaktion) gavs om dessa redan hade använts inom samma stekelfamilj. Av de regioner som sekvenserats från brokparasitsteklar dominerade 28S D2/D3 rDNA och COI (Klopfstein m.fl. 2010). Detsamma gällde underfamiljen kokongparasitsteklar (Laurenne m.fl. 2006). Av *Gelis*-sekvenserna i GenBank var den 21.1.2016 majoriteten COI (n=131) och resten 28S (n=14).

Ett kriterium för sekvensval var att genregionerna kunde antas vara informativa på släktesnivå, d.v.s. ha en lämplig substitutionsrat. Molekylärt data har bara fyra karaktärs-tillstånd, och substitutioner som följer på varandra lämnar inga spår. Vid alltför snabb förändring har spåren av äldre artbildningshändelser redan täckts över. Om förändringen å andra sidan är för långsam ger det enhetliga materialet ingen information om förgreningar inom släktet.

- *Cytokromoxidas I* (COI). Ett avsnitt av den mitokondriella gen som kodar för cytokromoxidas I har använts som streckodsregion i ett stort antal projekt, även för steklar, och ger ett omfattande jämförelsematerial (Quicke m.fl. 2012, Ratnasingham & Hebert 2013). DNA-streckkodning är ett sätt att effektivisera identifiering genom sekvensering av en ensam markörregion. Amplifieringen av COI underlättas av det stora antalet identiska kopior i varje individ. Förändringshastigheten gör att den kan belysa relativt färsk händelser.

Men det finns nackdelar. Mitokondriellt DNA nedärvs på modernet och kan uppvisa genealogiska mönster som avviker starkt från nukleära regioners. Snabb introgression av mtDNA har dokumenterats i ett flertal fall (Chan & Levin 2005). Direkt urvalstryck på mtDNA och indirekt urvalstryck som anknyter till andra maternellt nedärvda gener är tillräckligt vanligt förekommande för att kunna inverka på de fylogenetiska slutsatser som dras (Hurst & Jiggins 2005).

Intracellulära symbionter, t.ex. *Wolbachia*, som befinner sig i allelassociation med mtDNA har konstaterats inverka på mtDNA-diversiteten i populationer och ge en fylogenetisk signal som står i konflikt med signalen från nukleära gener (Hurst & Jiggins 2005). Särskilt förvillande mönster kan uppstå som följd av enstaka hybridiseringar där infektion orsakat effektiv spridning av en viss mitokondriell haplotyp. Effekt av *Wolbachia*-infektion har observerats också bland brokparasitsteklar (Seraina Klopfstein 2011, opu-

blicerat manuskript). Asymmetrisk replikation med strängspecifikt skev nukleotidfördelning är ett annat utmanande drag hos mtDNA (Cameron 2014). Som komplettering behövdes alltså minst en sekvens från cellkärnan.

- *Internal transcribed spacer II (ITS2)*. ITS2 är en nukleär ribosomal icke proteinkodande region som används allmänt i molekylärsystematik (Schultz & Wolf 2009). För några organismgrupper fungerar den som streckkodsregion (Schoh m.fl. 2012). Bland andra Wagener m.fl. (2006) och Smith m.fl. (2011) hade använt ITS2 inom Ichneumonidae. På basis av tidigare studier antogs att evolutionstakten vore lämplig, till skillnad från 28S som närmast är att rekommendera för högre taxonomisk nivå (Barbara Sharanowski per korrespondens, februari 2012). Kombinationen COI och ITS2 har visat sig fruktbar i tidigare leddjursstudier (Vahtera & Muona 2006) och användes också av Wagener m.fl. (2006) för att studera inbördes släktskapsförhållanden i brokparasitstekelsläktet *Diadegma*. Där stämde COI väl överens med artavgränsningarna, men gav knappt någon information om mer avlägsna genealogiska händelser, medan ITS2 var informativ på alla relevanta nivåer.

En nackdel med ITS2 är den stora mängden indels, som innebär en formidabel utmaning för linjeringsalgoritmen (se nästa avsnitt). ITS2 Database (Koetschan m.fl. 2010) samlar strukturell information som kan underlätta linjering, men *Gelis*-sekvenserna skiljde sig alltför mycket från modellerna i databasen för att den skulle vara behjälplig.

- *Conserved ATPase Domain (CAD)*. Möjligheten att stärka tillförlitligheten hos fylogeni genom att sekvensera en nukleär proteinkodande gen undersöktes. Förutom en del starkt konserverade avsnitt innehåller CAD avsnitt som förändras snabbare och därmed kunde vara informativa inom ett släkte (Moulton & Wiegmann 2004). CAD har använts för studier av bland annat Diptera (Moulton & Wiegmann 2004), Scarabaeidae (Mlambo m.fl. 2015) och Braconidae (Stigenberg m.fl. 2015). För provomgångarna användes primers för dess karbamoylfosfatsyntas-domän, nyligen framtagna för en fylogeni där brokparasitsteklar ingick (Klopfstein m.fl. 2013), men amplifieringen gav så klen resultat att vidare försök avskrevs p.g.a. projektets resursramar.

1.3.2 Linjering – förr eller senare?

Linjeringen är alltså en hypotes om homologi mellan nukleotidpositioner, som gör det möjligt att jämföra sekvenser från olika individer. Sekvenser av olika längd linjeras med hjälp av luckor (*gaps*), d.v.s. hypoteser om var nukleotider tillkommit eller fallit bort ur de berörda sekvenserna. Sådana tillskott och bortfall, *indels*, uppstår vid biologiska processer och kan, precis som nukleotidsubstitutioner, vara informativa (Lloyd & Calder 1991, Giribet & Wheeler 1999). Men medan nukleotider är direkt observerbara, härleds indels i linjeringsprocessen. På populationsnivå sprids indels i icke-kodande sekvenser oftare än indels i proteinkodande. Detta eftersom de i proteinkodande avsnitt orsakar stora

– ofta negativa – förändringar i aminosyrasekvensen, försåvitt tillskottet eller bortfallet inte råkar bestå av (en multipel av) tre baser. Ett stort antal indels i genregionen gör att antagandena om homologi mellan nukleotider i sekvenserna från de olika proven blir betydligt osäkrare än om sekvenserna vore av ungefär samma längd.

Att använda en exakt algoritm för multipla linjeringar skulle kräva enorm processor-kapacitet. En rad alternativa algoritmer har utvecklats och utvecklas fortfarande. I många av dem genereras först ett ungefärligt träd, varpå linjeringen görs med stöd av förgreningsinformationen, en metod som först föreslogs av Hogeweg & Hesper (1984). Detta kan göras tillräckligt snabbt för att multipel linjering av hundratals sekvenser ska vara praktiskt möjlig. För progressiv linjering används ofta ClustalW eller ClustalX (Thompson m.fl. 1994, 1997). Mycket snart utvecklades också mera ackurata metoder som lånar in funktioner från de exakta algoritmerna, som T-Coffee (Notredame m.fl. 2000), MAFFT (Kato m.fl. 2002, Kato & Standley 2013) och MUSCLE (Edgar 2004). I PAPAN har Löytynoja m.fl. (2012) infört grafer för representation av osäkerheten i positionernas karaktärstillstånd (AGCT-). De hypotetiska ancestrala referenssekvenserna representeras också med hjälp av grafer.

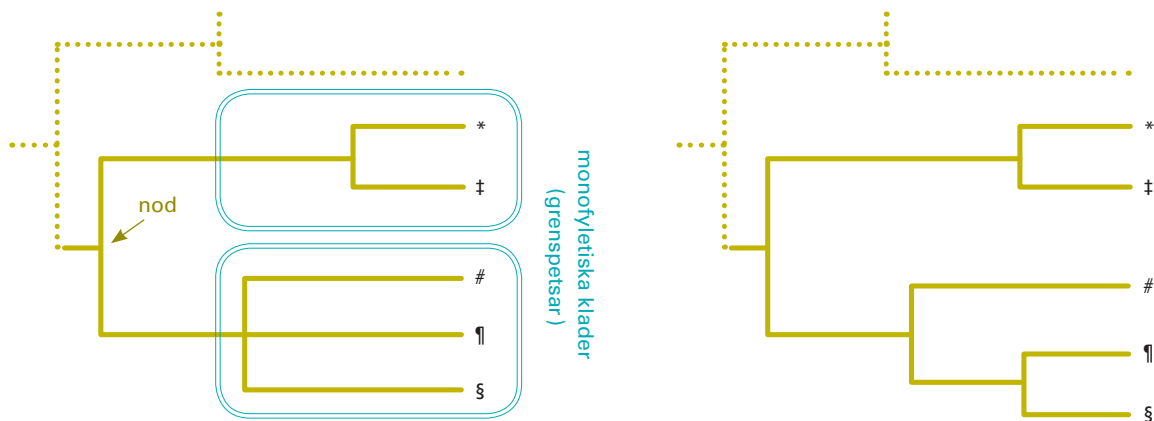
Morrison (2009) har påpekat att manuell linjering eller manuell justering av linjeringar ofta tillämpas utan att kriterier anges. Det innebär ett avbräck på vetenskapligheten eftersom adekvat granskning och upprepning utesluts. Detta framstår som allvarligt med tanke på att linjeringsalgoritmen, enligt Sanchis m.fl. (2001), kan påverka den slutliga fylogenin mer än valet av metod för trädkonstruktion. Medvetenhet om linjeringens betydelse har å sin sida fått mer än en forskare att utesluta genregioner med stor längdvariation, av rädsla för störningar i signalen. Men när förändringstakten hos dessa regioner varierar kan de vara högeligen informativa, i synnerhet för närbesläktade taxa (Lindgren & Daly 2007).

Vanligtvis görs molekylär analys i två steg: först linjeringen, därefter härledning av träd. Linjeringen kallas då statisk. Dynamisk homologi (Wheeler 1996) är ett annorlunda angreppssätt där trädkonstruktion och linjering utförs samtidigt. Indels behandlas som transformationsprocesser, som i varje nod binder samman hypotetiska ancestrala sekvenser med avkomlingarnas (Wheeler m.fl. 2006).

1.3.3 Olika sätt att rekonstruera släktträd

Sedan antagandena om nukleotidernas homologi är fastslagna, blir nästa steg att välja metod för trädrekonstruktion. Steel & Penney (2000) beskriver det som ett steg med tre delar: optimalitetskriterium, sökstrategi och antaganden om evolutionsmodell.

Vare sig man använder tvåstegsmetoder (linjering följd av analys) eller dynamisk homologi, måste en evolutionsmodell anges, alltså den respektive s.k. kostnaden för luckor och substitutioner (Posada 2009: 345). På grund av nukleotidernas molekylstrukturer antas transitioner ($A \leftrightarrow G$, $C \leftrightarrow T$) uppkomma med större sannolikhet än transversioner



Figur 4. Två trädtopologier. I den vänstra versionen samlas tre taxa (#, ¶ och §) i en polytomi (tritomi). I den högra är resolutionen bättre: polytomin har strukturerats upp i två dikotomier.

(från purin till pyrimidin och vice versa), något man kan låta evolutionsmodellen avspegla. Med ledning av tillgänglig information kan man välja en evolutionsmodell som tillåter olika kostnad mellan alla nukleotidpar. Kostnadernas inbördes proportioner, den s.k. viktningen, är ett antagande om sannolikheterna för de olika händelserna. Händelserna kan inte observeras direkt, bara härledas. Lipscomb (1998) konstaterar att vissa fylogenetiker därför argumenterar mot viktning, eftersom det 'godtyckliga' valet påverkar resultatet i och med att olika kostnader kan ge olika fylogenetiska hypoteser. Att vikta alla händelser lika är å andra sidan också en viktning.

Resultatet av en fylogenetisk analys är en hypotes om de evolutionshistoriska släktskapsförhållandena mellan taxa. Den visualiseras som ett trädliknande mönster, där artbildning representeras av dikotoma förgreningar på utvecklingslinjerna (fig. 4). Att undersöka alla tänkbara topologier för ett material med mer än 20 taxa skulle kräva enorm datorkapacitet, därför används heuristiska algoritmer (gr. *heuriskein*, finna).

Optimalitetskriteriet är ett sätt att utse vilka av de av analysen producerade hypoteserna som är de rimligaste. Oftast används parsimoni eller sannolikhetskalkyler (Wheeler 2010). Om analysens optimalitetskriterium är parsimoni, jämför algoritmen längden hos ett stort antal topologier och tar fasta på de kortaste som hittas. Helst ska algoritmen ha funktioner som motverkar att sökningen fastnar i falska optima, d.v.s. topologier som visserligen är de kortaste i sitt grannskap men som inte är de kortaste tänkbara.

Om man i stället tillämpar mått på sannolikhet som kriterium för valet bland rekonstruktionerna, används statistiska metoder enligt endera av två principer. I *maximum likelihood* (Felsenstein 1973) söker algoritmen maximera sannolikheten för datat vid givna, fixerade parametervärden för evolutionsmodellen, trädtopologin och grenlängderna. I bayesiansk analys angrips problemet från andra hållet: man betraktar parametrarna som slumpmässiga och samplar en aposterioritäthet, givet det faktiska datat (Rannala & Yang 1996, Ronquist & Deans 2010). Det sker med hjälp av stokastisk *Markov chain Monte*

Carlo-process (MCMC), som från en slumpmässigt vald utgångspunkt konvergerar mot ett rättvisande sampel från aposteriorifördelningen. Man får då en bild av parameter-rymden, d.v.s. av de relativa förtjänsterna hos alla träd som dykt upp i sökningen. Analysen ger alltså sannolikheten för olika förgreningshypoteser i ljuset av de linjerade sekvenserna. I bayesiansk inferens kan dessutom relevant förhandsinformation inkorporeras i den fylogenetiska analysen. Genom partitionering kan olika delar av datat förses med skilda antaganden om substitutionsmodeller och -rater. Ofta ger *maximum likelihood* och bayesiansk analys liknande resultat, men den sistnämnda anses ge smidigare uträkningar och bredare tillämplighet (Nylander m.fl. 2004). Effektiviteten hos den bayesianska metoden gör det möjligt att analysera större data med mer komplexa evolutionsmodeller och uttömmande undersökningar av parameterrymden än vad som är möjligt med metoder baserade på maximum likelihood.

I analyser av molekylärt data bör man för övrigt vara observant på benägenheten hos flera algoritmer att klumpa ihop snabbt evolverande linjer så att de verkar närmre besläktade än de egentligen är, ett fenomen som kallas *long-branch attraction* (Felsenstein 1978). Skeva nukleotidproportioner kan leda till liknande felslut (Cameron 2014).

1.4 Målsättning

I min pro gradu konstruerar jag en partiell molekylär fylogeni för släktet *Gelis*. Släktet ger en fin möjlighet att studera värdbyten genom sitt breda värdspektrum som inbegriper två påtagligt olika leddjursgrupper. Även en partiell fylogeni förmår belysa de evolutiva begränsningarna för att byta värd eller utöka sitt värdspektrum. Molekylärsystematisk analys tillför helt ny information om ett släkte som tidigare varit föremål för enbart morfologiskt grundad taxonomi.

Mina hypoteser är följande:

- 1) Den nuvarande avgränsningen av *Gelis* gör släktet parafyletiskt. Det spindelparasiterande släktet *Thaumatozelis* ingår i *Gelis*.
- 2) Arterna i släktet *Gelis* använde sig ursprungligen av insekter som värddjur. Anpassningen till att nyttja spindlar har evolverat senare. Sådana byten av värdgrupp har inträffat vid flera olika tillfällen.
- 3) Vingreduktion har evolverat upprepade gånger inom släktet.
- 4) I släktet *Gelis* förekommer snarlika (kryptiska) arter som klumpats ihop i klassificeringen. Med hjälp av molekylära metoder kan dolda arter uppdagas.



Figur 5. Provoxemplarens geografiska utbredning. Kartbotten från Wikimedia commons.

2. MATERIAL OCH METODER

2.1 Studiens parasitstekelmateriel

För studien användes 298 stekelindivider, valda för att representera så stor taxonomisk och geografisk bredd som möjligt. Genom resor och kontakter med andra entomologer uppnåddes den geografiska spridning som visas i figur 5. Det bäst representerade området var västra Palearktisk, med nordisk tyngdpunkt. Materialet innehöll 62 taxa. Som den största enskilda externa materialkällan bidrog Svenska Malaisefällprojektet med 49 exemplar. Svenska Malaisefällprojektet är en del av Svenska artprojektet, som syftar till att öka kunskapen om bristfälligt kända organismgrupper. Under åren 2003–2006 samlade Malaisefällprojektet in uppskattningsvis 80 miljoner djur med 75 malaisefällor utplacerade runt om i Sverige (Sundin & Gärdenfors 2012). Steklarna identifierades i samarbete med M. Schwarz (Biologiezentrum Linz).

I studien användes bara sådant material för vilket det var känt att de samlats in och förvarats på ett sätt som bibehållit vävnadernas lämplighet för DNA-studier. Det innebär att största delen hade insamlats under perioden 2003–2012 direkt i etanol och därefter förvarats i etanol eller undantagsvis torra.

DNA extraherades från minst en individ av varje tillgänglig art. I mån av möjlighet användes flera individer, för bättre täckning i fråga om geografisk spridning, habitat, olika värddjursanvändning och morfologisk variation inom arten. Särskilt välrepresenterade bland de sekvenserade djuren var arten *G. fuscicornis* (n=34) och den s.k. *bicolor*-gruppen (n=81). Detta för att å ena sidan genom *G. fuscicornis*-exemplaren, insamlade från ett område med hörnpunkterna Skottland–Norge–Murmansk–Rumänien, få en indikation på vilken inomartsvariation som kunde väntas inom sekvenserna. Materialet från det ofullständigt utredda *bicolor*-artkomplexet å sin sida inbegrep flera exemplar vilkas arttillhörighet var mycket osäker. Förhoppningen var att molekylärt baserad klusterbildning skulle göra det möjligt att hitta nya morfologiska kännetecken vid förnyad granskning.

2.2 Extrahering, amplifiering och sekvensering

All DNA-extrahering samt PCR och sekvensering av ITS2 utfördes vid Molecular Ecology and Systematics Laboratory (MES-lab), Helsingfors universitet. För DNA-extrahering lösgjordes, i enlighet med praxis, höger bakben. Av mycket små djur togs dessutom höger mellanben. Extraheringen utfördes enligt ett utsaltningsprotokoll modifierat från Marcus McHale/openwetware.org (se bilaga S1). DNA:t resuspenderades i 30 µl H₂O och förvarades i -20°C. För de ca 25 första extraktionerna mättes DNA-koncentrationen med spektrofotometer (NanoDrop2000). Koncentrationerna var för låga för att ge tillförlitliga mätvärden och mätproceduren övergavs.

För amplifiering av ITS2 användes primers utvecklade av Navajas m.fl. (1998). På grund av svag amplifiering tog jag fram interna primers för nästlad PCR (alla primers och protokoll finns i bilaga S1). För primerdesign användes mjukvaran Primer3 (Untergasser m.fl. 2012) som plugin i Geneious version 5.6.6 (geneious.com, Kearsse m.fl. 2012).

Amplifieringsframgången kontrollerades med gel-elektrofores och lyckade PCR-produkter putsades med AMPure Bead Purification (Agencourt).

Amplikonerna sekvenserades i båda riktningarna med en ABI 3730 Sangersekvenseringsmaskin och Big Dye terminator-paket (Thermo Fisher). Sekvenserna redigerades och fogades samman till konsensussekvenser från *forward/reverse*-sekvenserna med Geneious och sparades i fasta-format. Totalt framställdes 142 ITS2-sekvenser vilkas längd varierade mellan 240 och 905 nukleotider. Orsaken till radikalt kortare sekvenser var en annan än ITS2-regionens ökända indels, nämligen att sekvenseringen lyckats för bara ett mindre avsnitt av regionen.

Framställningen av COI-sekvenser inkorporerades i projektet Finnish Barcode of Life (finbol.org). 285 prov sändes till The Barcode of Life Data Systems (BOLD; barcodinglife.org) i Guelph. 190 av proven sändes i form av ben (höger bakben eller, om detta redan använts av mig, höger mellanben); 95 i form av extraherat DNA (20 µl eluerad suspension som fick indunsta). Sekvenseringen följde BOLDs standardprocedur (Ratnasingham & Hebert 2007) med primerparet LepF1/R1 (Hebert m.fl. 2004, se S1). 199 COI-sekvenser om 658 bp och motsvarande aminosyrasekvenser kunde sedan laddas ned i fasta-format. Av de prov som BOLD-personalen antecknat som misslyckade, kunde godtagbara fragment (348–646 bp) av ytterligare 17 prov framställas med hjälp av abi-filer och Geneious; inalles således 216 sekvenser. Tomas Roslin och Helena Wirta från Spatial Foodweb Ecology Group, institutionen för lantbruksvetenskaper, delade med sig av 21 streckkodssekvenser (framtagna av BOLD) för *G. maesticolor*. Därtill laddades sammanlagt 86 COI-sekvenser ner via GenBank och BOLD.

Mina egna sekvenser representerade ~45 *Gelis*-arter, 3 *Thaumatogelis*-arter och 8 utgruppsarter (Cryptinae: Phygadeuontini). Kompletterande sekvenser från GenBank och BOLD bidrog med ytterligare 8 arter identifierade som *Gelis*, till totalt 64 arter, med visst förbehåll för att antalet goda arter i *bicolor*-gruppen kan justeras uppåt.

2.3 Linjering

De redigerade ITS2-sekvenserna linjerades med två olika program, MAFFT version 7 (mafft.cbrc.jp, Katoh m.fl. 2002, Katoh & Standley 2013) och PAGAN (Löytynoja m.fl. 2012). Sekvenser kortare än 522 nukleotider lades till först när de övriga linjerats för att eventuell vilseledande inverkan skulle undvikas. För COI-sekvenserna användes enbart MAFFT med nätplattformens standardinställningar; linjeringen var okomplicerad, utan introducerade luckor.

2.3.1 Linjering med MAFFT

För ITS2 användes E-INS-i-algoritmen sådan den fanns tillgänglig på nätplattformen. Algoritmen är lämplig för sekvenser med flera konserverade avsnitt omgivna av svårhanterliga sekvenser (Katoh m.fl. 2005, Klopstein m.fl. 2013). För att få reda på hur känslig trädtopologin var för förändringar i dessa antaganden, gjordes fyra olika linjeringar med variationer i kostnaderna för att öppna och förlänga luckor och substitutionsmatriserna PAM20/PAM200 (*Point Accepted Mutation*) (se tabell 2, nästa sida).

2.3.2 Linjering med PAGAN

För linjeringen användes PAGAN v.0.61 på CSC – IT Centre for Science, Finland (csc.fi) taito-shell. Programmet använde externa resurser: MAFFT för preliminär linjering, Bpp-Dist för en trädskiss, Exonerate för förankring av linjeringen och BppAncestor för utvärdering av de ancestrala sekvenserna. Följande kommandon gav en ITS2-linjering vars längd var 1523 bp:

```
./pagan/bin/pagan -s <input.fas> -o first  
./pagan/bin/pagan -a first.fas -q <korta_sekvenser.fas> -r first.tre --one-placement-only  
--fragments --no-terminal-edges --output-discarded-queries --config-log-file arg
```

2.3.3 Förberedelse för analys

Linjeringarna konverterades till nexus-format och granskades i Mesquite 3.02 (Maddison & Maddison 2015, mesquiteproject.org). Som enda manuella redigering avlägsnades enstaka (upp till tre) nukleotider som av algoritmen tvingats ut i sekvensens ändar och skiljts från de övriga av ett stort antal luckor. Luckor i början och slutet av sekvenserna betecknades som saknat data ("?"), medan luckor infogade mellan nukleotider betecknades som just luckor ("-").

Tabell 2. Linjeringar med MAFFT gjordes via nätplattformen mafft.cbrc.jp enligt följande parametervariationer (op=gap opening cost, ep=extention penalty):

- 1) --op 1.53 --ep 0, PAM200 (MAFFT-default)
Längd på linjerade ITS2-sekvenser: 1157 bp
 - 2) --op 1 --ep 0 (minsta kostnad för luckor), PAM200
Längd på linjerade ITS2-sekvenser: 1164 bp
 - 3) --op 3 --ep 1 (maximal kostnad), PAM200
Längd på linjerade ITS2-sekvenser: 1112 bp
 - 4) --op 3 --ep 1 (maximal kostnad), PAM20 (för mer närbesläktade sekvenser)
Längd på linjerade ITS2-sekvenser: 1133 bp
-

2.4 Fylogenetisk analys

2.4.1 Bayesiansk analys

De multipla linjeringarna analyserades med MrBayes v. 3.2.1 (Ronquist m.fl. 2012b). Genregionerna analyserades både var för sig och i kombination som olika partitioneringar. Som utgruppstaxa användes 8 andra representanter för Phygadeuontini – det tribus där *Gelis* ingår – från släktena *Bathythrix*, *Mastrus*, *Phygadeuon*, *Polyaulon*, *Stibeutes*, *Theriscopis* och två obestämda Phygadeuontini. Utgruppssekvensernas placering och ingruppens monofyli etablerades av analysen, utgruppen angavs alltså inte genom kommando.

För att ge en överblick över de olika genernas bidrag till den fylogenetiska härledningen analyserades genregionerna dels skilt för sig, dels i kombination. Den proteinkodande streckkodssekvensen analyserades (i) med alla kodonpositioner likvärdigt hanterade, (ii) med tredje kodonpositionen i skild partition, för att kunna ta i beaktande att redundansen i den genetiska koden ger den positionen ett större utrymme för variation, (iii) som aminosyrasekvens: potentiellt avspeglar denna en äldre del av historien än nukleotidsekvensen gör. I samtliga analyser av nukleotider härleddes evolutionsmodellen av algoritmen (kommandot nst=mixed) och för substitutionsraten angavs gamma-distribution över positionerna med en andel statistiska positioner (rates=invgamma; se Ronquist m.fl. 2012b). Som evolutionsmodell i (iii) användes Mtrev, enligt resultatet från integrering över en uppsättning matriser (prset aamodel=mixed) för att få reda på vilken modell som bäst motsvarade datat. Kommandon för kombinerad analys av nukleotidsekvenser:

```
charset COI_12=1-669\3 2-669\3
charset COI_3=3-669\3
charset ITS2=670-1781
partition genescod = 3: COI_12, COI_3, ITS2
set partition = genescod
```

```
lset nst=mixed rates=invgamma
unlink statefreq=(all) revmat=(all) shape=(all) pinvar=(all)
mcmc ngen=7000000
```

Kombinerade analyser av COI och ITS2 gjordes (a) med alla tillgängliga sekvenser för att använda all information som fanns att få och (b) med enbart de sampel som hade data för båda genregionerna, för att undvika skev representation. Linjeringarna valdes på grundval av vilka som givit bästa resolutionen i separat analys. Av (b) gjordes sedan fyra körningar med samma matris och körfil, för att kontrollera topologins stabilitet. Därtill en körning med enbart ingruppen, för att säkertställa att inte utgruppen hade påverkat ingruppens topologi genom t.ex. *long-branch attraction* (se Bergsten 2005).

Resurskrävande analyser utfördes via Finnish Grid and Cloud Infrastructure (research.csc.fi/fgci). Träden redigerades i FigTree v. 1.4.0 (tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree).

2.4.2 Dynamisk homologi

Ett urval sekvenser analyserades enligt metoden dynamisk homologi med POY v.5.1.1 (Wheeler m.fl. 2015). Taxonurvalet representerade alla tillgängliga *Gelis*-arter, med *Theuroscopus esenbeckii* som utgruppstaxon. Viktningen grundades på en känslighetsanalys med fyra olika kostnadsmatriser för transitioner:transversioner:indels, med proportionerna 1:1:1, 1:2:2, 1:4:4, 1:2:4 och 1:4:2. Kostnadsmatriser med mer extrema värden har använts i andra studier, men de bästa träden har konsekvent hittats med måttlig viktning (Petersen m.fl. 2004). Med anledning av ITS2-sekvensernas varierande längd prövades dessutom kraftig nedviktning av luckor i början och slutet av sekvenser för kostnadsproportionerna 1:2:4 och 1:4:2, enligt parametervärdena 50:100:200:1 och 50:200:100:1, där 1 är kostnaden för ändluckor.

Karaktärsinkongruens för kostnadsmatriserna utvärderades med

$$\text{RILD (Rescaled Incongruence Length Difference)} = \frac{(\text{Length combined} - \sum \text{Length individual data})}{(\text{Max length combined} - \sum \text{Length individual sets})}$$

Maxlängder erhöles med kommandot transform(weightfactor:-1). Analyser gjordes enligt följande:

```
transform(tcm:("s50t100i200.mat"),td:(1,1,1,1,1),ti:(1,1,1,1,1))
build(100)
swap(tbr,sectorial,drifting:(0.5,2.0))
fuse(replace:best)
```

Även i POY analyserades generna både åtskilt och i kombination. Statistiskt nod-

stöd beräknades med *bootstrap*-analys som grundar sig på slumpmässig provtagning med återläggning. Kommandoräcken `transform(all,(static_approx)) / swap() / calculate_support(bootstrap)` användes för att utvärderingen skulle bli jämförbar med en statisk matris (Váron m.fl. 2013). Beräkningen görs då på en implicit linjering, i annat fall skulle den ske på sekvens- eller fragmentnivå. Resurskrävande analyser med POY utfördes med hårdvara på CSC – IT Centre for Science, Finland (`csc.fi`), `taito-shell`.

3. RESULTAT

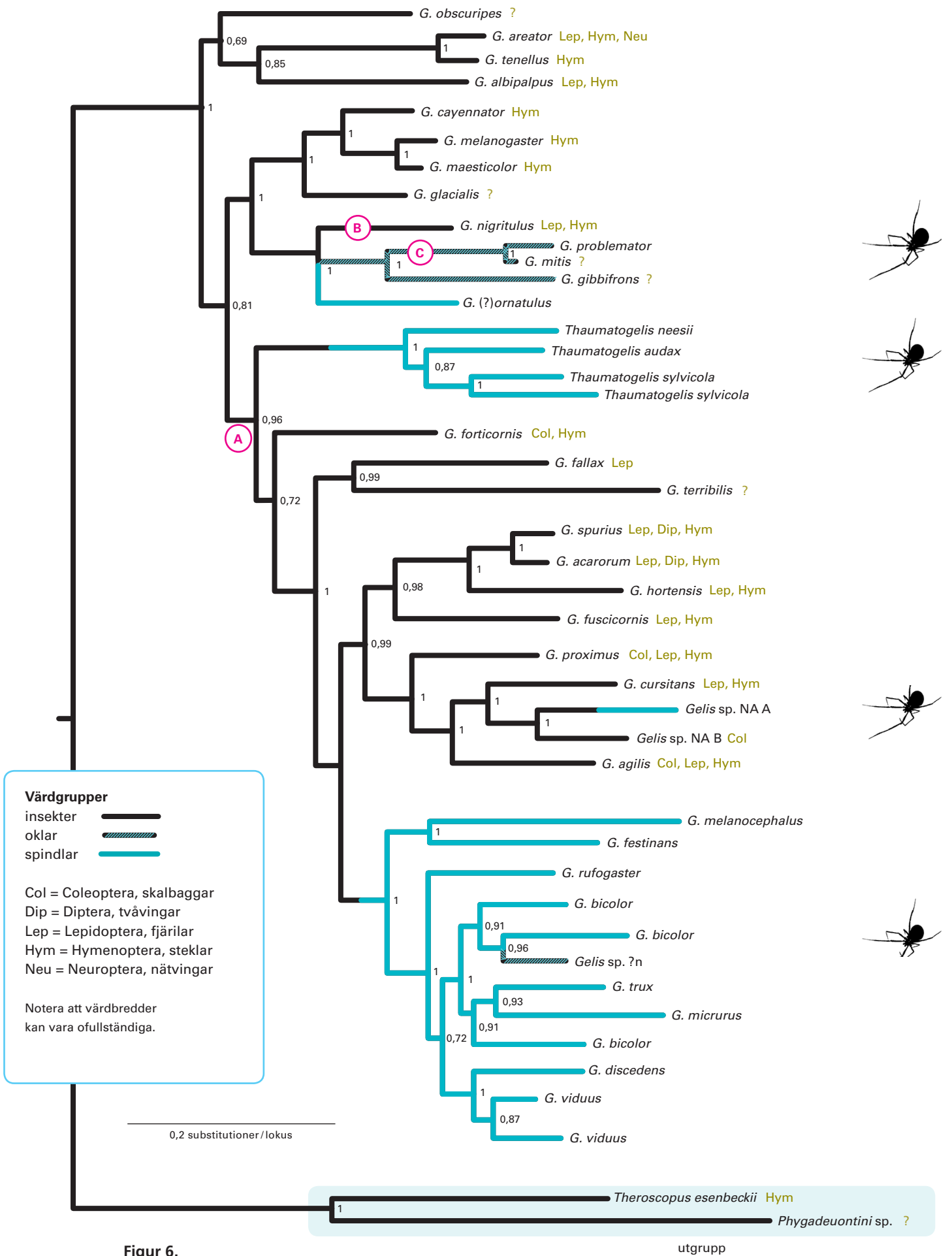
Analyserna visade att de studerade arterna i släktena *Gelis* och *Thaumatogelis* tillsammans bildar en monofyletisk klad. När *Thaumatogelis* exkluderas blir *Gelis* parafyletiskt.

Arterna med vingade honor placerades basalt, medan lejonparten av arterna med vinglösa honor bildade en monofyletisk grupp längre ut på grenen. *Thaumatogelis*-kladen placerades väl innästlad i *Gelis*, basalt i den vinglösa 'kärngruppen' (fig. 6).

Fyra övergångar till spindelparasitism kan härledas från den insektparasiterande grundstammen. Honlig vingreduktion har uppkommit på minst två olika grenar i släktet. I *bicolor*-gruppen bekräftades förekomsten av en kryptisk art. Grupperingar som kan representera ytterligare kryptiska arter framträdde inom *bicolor*-gruppen och inom arten *Thaumatogelis sylvicola*. Med hjälp av den molekylära fylogenin upptäcktes därtill morfologiska kännetecken som är användbara för att identifiera medlemmar av den svårbestämda *bicolor*-gruppen.

I studien framträdde *bicolor*-gruppen som en monofyletisk klad med starkt och stabilt nodunderstöd i alla analysversioner. *G. melanocephalus* och *G. festinans* framstod lika stabilt som systerarter till *bicolor*-gruppen. Tillsammans bildar de en klad som utgör lejonparten av släktets spindelparasitoider. Vad gäller *bicolor*-gruppens interna släktskapsförhållanden gav de båda genregionerna i stort sett samma mönster, men i den separata ITS2-fylogenin hittades enstaka sekvenser på oväntade ställen, exempelvis två *G. rufogaster* i ett *G. viduus*-kluster, vilket klart motsägs av exemplarens morfologi (*G. rufogaster* är en av de lättast identifierade arterna i gruppen). Någon uppenbar anledning att misstänka sammanblandning av prov eller sekvenser framkom inte. Gemensamt för de linjerade sekvenserna i nämnda *G. viduus*-kluster är en 302 nukleotider lång lucka i mitten. COI å sin sida stod inte i uppenbar konflikt med den morfologiska identifieringen, men antydde i stället genom klusterbildningen att det kan finnas kryptiska arter. I ljuset av COI-grupperingarna hittades en karaktär som gör det något lättare att skilja *G. viduus* från *G. bicolor*: hos *viduus* har gränsen mellan pro- och mesonotum utplånats helt, medan hos *bicolor* en svag linje kan anas vid den visserligen sammansmältna övergången.

De tre *Thaumatogelis sylvicola*-individerna bildade en monofyletisk grupp, men det genetiska avståndet mellan två av dem och den tredje var 5%, medan avståndet mellan de två mera närbesläktade var 1% (`blast.ncbi.nlm.nih.gov`, *nucleotide blast*). Morfologiska



(Föregående sida) **Figur 6.** Bayesianskt konsensusträd för ett urval *Gelis*-arter med vingtillstånd och värdgrupp angivna. Kombinerad analys av COI och ITS2. Linjering med PAGAN, partitionering enligt kodonposition (COI) och gen, 7 miljoner generationer. För varje nod anges bayesiansk aposteriori-sannolikhet. Totalt 95 prov, grenspetsarna förenklade till artnamn. Värdgrupps- och vinglängdsövergångar enligt parsimonisk rekonstruktion; varje spindel i högerkanten representerar ett oberoende byte av värdgrupp.

skillnader som stämde överens med den molekylära uppdelningen kunde skönjas.

I alla analyser med bayesiansk metod placerades utgruppssekvenserna på en egen gren. Största delen av de klader som utgjorde släktträdets grenspetsar förblev stabila oavsett linjeringsmetod och parametervärden (se fig. 7). I övrigt skiljde sig trädtopologierna mellan partitioneringar och linjeringsmetod.

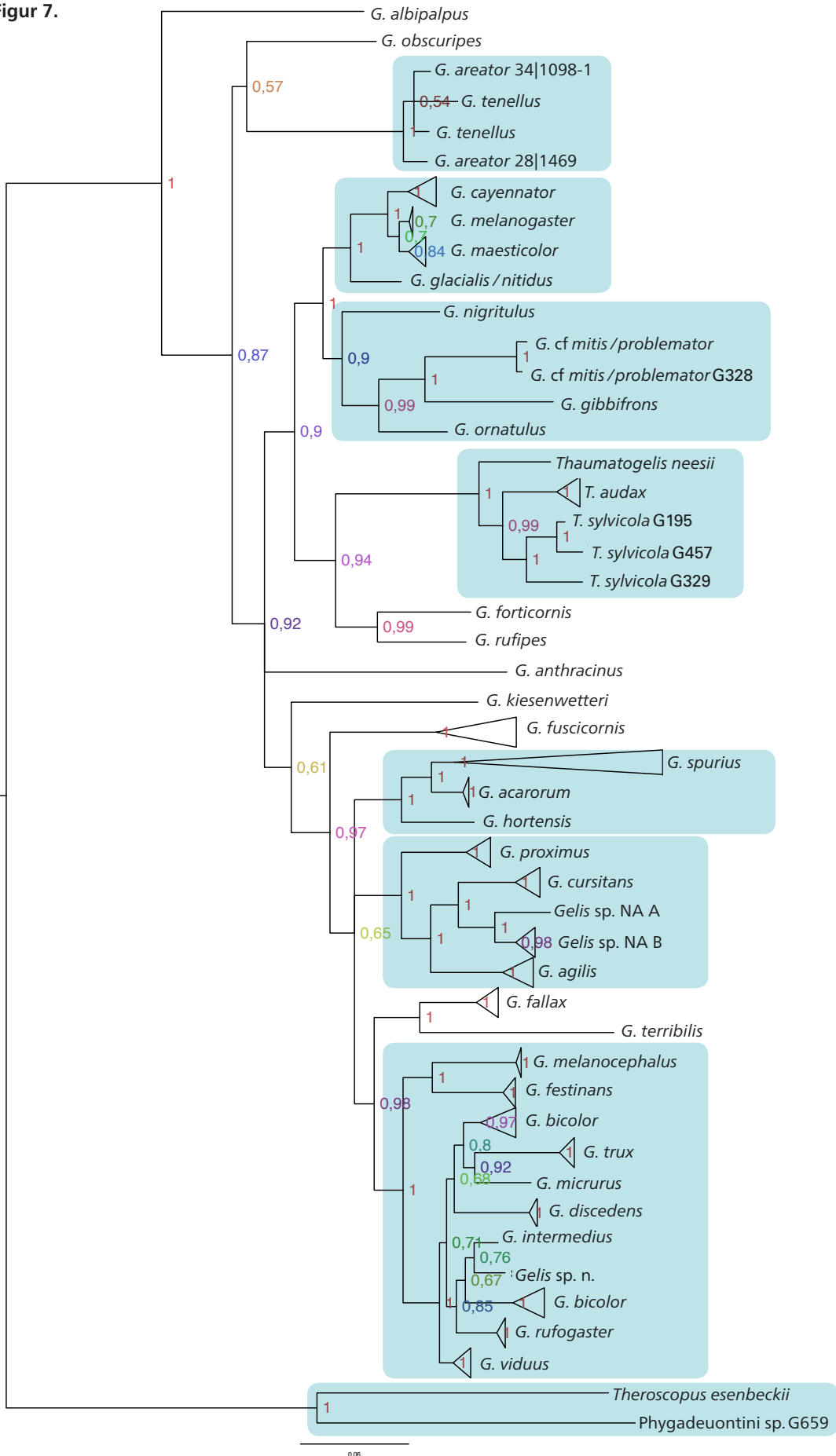
Vid separat analys av ITS2 resulterade mcmc-körningar i fem miljoner generationer av de fem linjeringsvarianterna (tabell 2) i varierande topologier. Alla träd innehöll någon polytomi. PAGAN-linjering och linjering med MAFFTS standardinställning gav bäst resolution. Dessa två användes därför för kombinerad analys av COI och ITS2.

Separat analys av COI utan partitionering gav ett förhållandevis uppstrukturerat träd, visserligen med flera tri- och tetratomier. Nodunderstödet för centrala förgreningar var övervägande lågt ($\leq 0,75$). En viktig detalj som skiljer trädet från alla andra rekonstruktioner var att *G. melanocephalus* placerades i samma klade som *G. melanogaster*. Separat analys av COI partitionerat enligt kodonposition gav låg resolution: förutom utgruppsgrenen och grenspetsarnas struktur dominerades trädet av en stor polytomi. Om den tredje kodonpositionen utelämnades helt, anslöts ytterligare 14 grenar (totalt 22) till den basala polytomin. Med ledning av dessa resultat bedömdes den tredje kodonpositionen vara fylogenetiskt informativ men kräva skild partitionering.

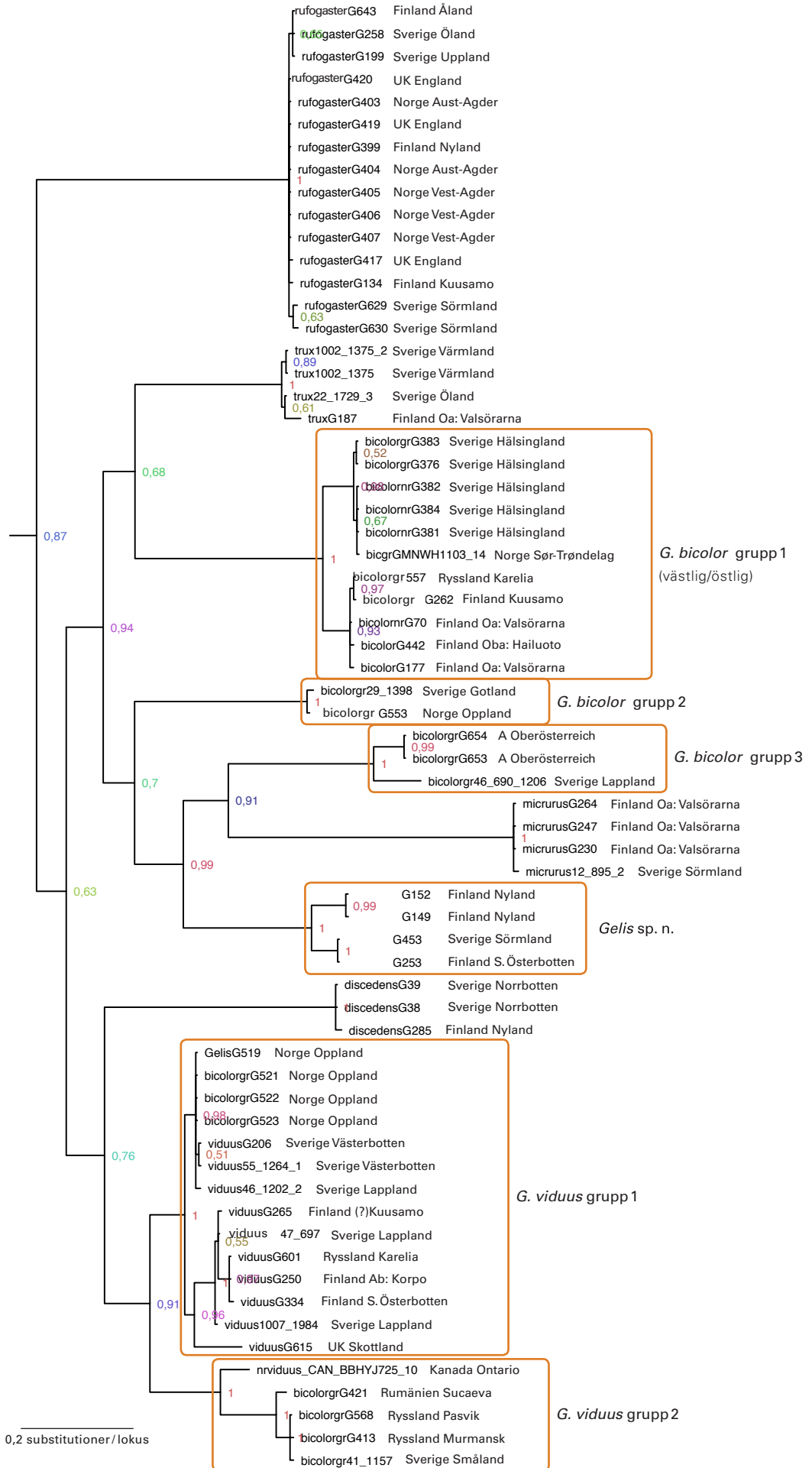
Av de separata analyserna framgick att signalen för äldre förgreningar framför allt härstammade från ITS2. Denna signal blev otydligare under inflytande av COI i kombinerad analys då en rad klader, som i det PAGAN-baserade ITS2-trädet avgrenade dikotomt, i stället anslöts till en central polytomi. COI gav klara signaler om färskare förgreningar i släktets genealogi: streckkoden tycktes i stort stämna överens med nuvarande artavgränsningar, men avvikelser förekom i den svårbestämde *bicolor*-gruppen (se diskussion, avsnitt 4.2.1). Även från ITS2 var de färskaste signalerna tydliga men med viss diskrepans inom *bicolor*-gruppen.

Den kombinerade analysen visade sig vara känslig för om data saknades. Den allra bästa resolutionen (proportion dikotomier/polytomier) och nodstödet gavs av analyser där det för samtliga prov fanns data för båda sekvenserna. Dessa analyser innehöll åtta färre taxa, men taxonrepresentationen var ändå tillräcklig för granskning av mina frågeställningar. Kombinerad analys med MAFFT-linjerat ITS2 uppvisade en central tritomi och en polytomi med fem grenar. Motsvarande analys med PAGAN-linjerat ITS2 (fig. 6) var jämförbar med avseende på sannolikhet, men trädets resolution var bättre: en enda tritomi kvarstod. Alla fyra körningar av denna matris resulterade i samma topologi,

Figur 7.



Figur 8.



(Föregående sidor)

Figur 7. Bayesianskt konsensusträd baserat på separat analys av PAGAN-linjerade ITS2-sekvenser. För noderna anges bayesiansk aposteriori-sannolikhet. Här anges också med blå tonplatta de klader (grenspetsar) som i studien genomgående bibehölls stabila, oavsett linjerings- eller analysparametrar. De grenar som slutar i multipla prov av en art har förenklats till trianglar.

Figur 8. Bayesianskt konsensusträd för bicolorgruppens COI-sekvenser. Linjering med MAFFT, partitionering enligt kodonposition, 2 miljoner generationer. Nodstöd anges som bayesiansk aposteriori-sannolikhet. Insamlingslokal anges invid individkoden. Grupper utmärkta med brandgul ram diskuteras närmare i texten.

och ingruppens topologi förblev densamma även sedan alla utgruppstaxa avlägsnats ur matrisen. Denna rekonstruktion presenteras därför som det huvudsakliga trädet. Träd grundade på kombinerad analys av ITS2 och COI med den senare sekvensen översatt till aminosyrasekvens tillförde ingen information utöver detta.

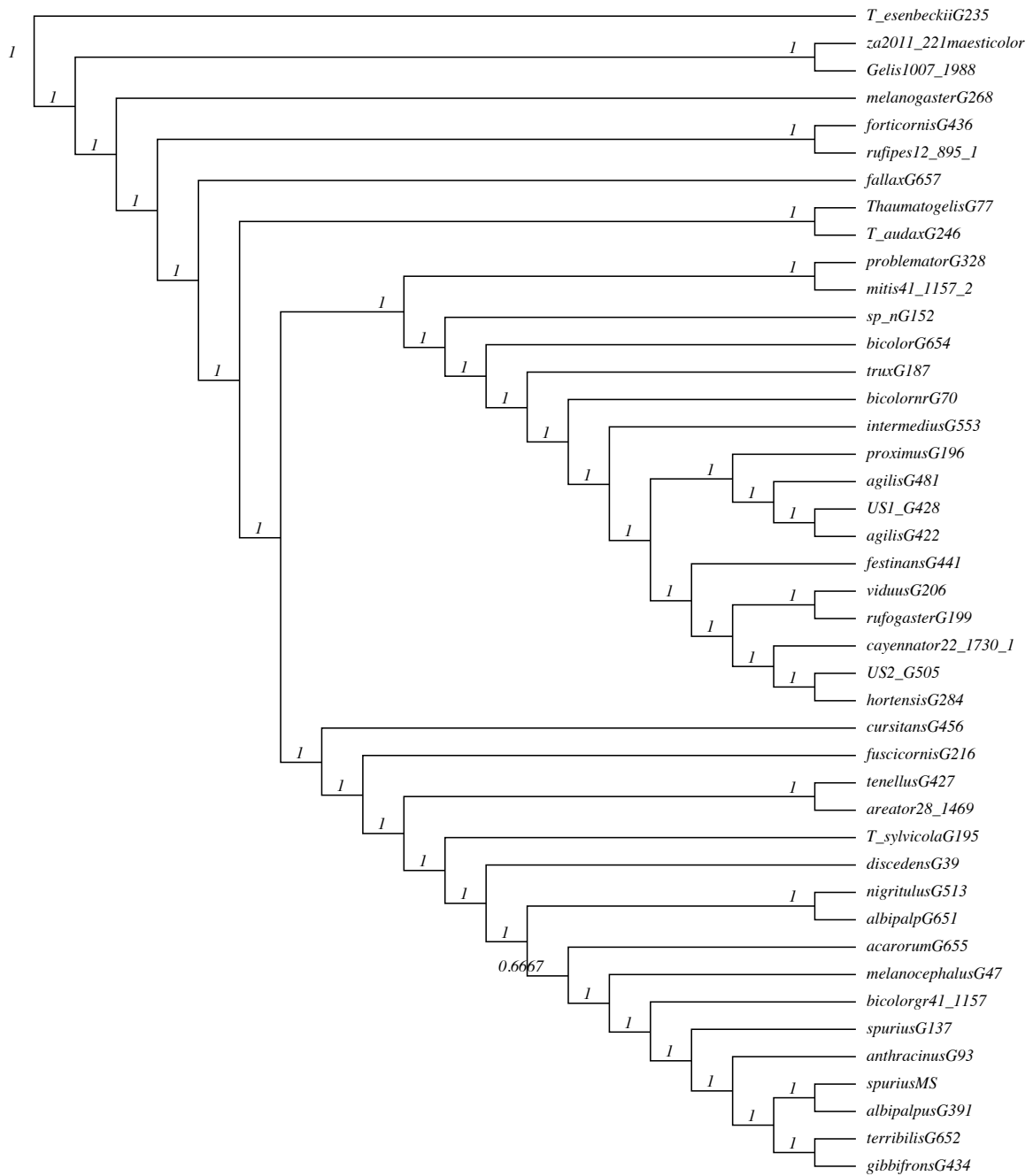
Vissa förgreningsordningar förblev ambivalenta, då de berodde av ITS2-signalen som varierade mellan linjeringar. Det gällde placeringen av *G. albipalpus* och *Thaumatogelis*-kladen samt den vinglösa 'kärngruppens' inbördes förhållanden beträffande placeringen av *G. fuscicornis*, *G. terribilis* och *G. fallax*, och förgreningsordningen mellan *G. melanocephalus* / *G. festinans* / *bicolor*-gruppen.

I den dynamiska homologins (POY) känslighetsanalys erhöles största kongruens med viktningen 50:100:200 för transitioner:transversioner:indels, med nedviktade luckor (värde=1) i sekvensernas början och slut. Topologins djupare förgreningar varierade däremot avsevärt mellan analysomgångarna. I separat analys av ITS2 varierade såväl grenspetsar som djupare förgreningar kraftigt. I figur 9 visas en av dessa trädrekonstruktioner.

Tabell 3. Stabila klader i POY-analyser av COI och COI+ITS2:

cayennator + *melanogaster*
mitis + *problemator*
rufipes + *forticornis*
tenellus + *areator*
proximus + *cursitans* + *agilis* + *avarus* + *Gelis* sp. "NA B"
fuscicornis + *hortensis*
albipalpus + *terribilis*
gibbifrons + *anthracinus* + *spurius* (artefakt, kortare sekvenser)

Bootstrap



Figur 9. Rekonstruktion med dynamisk homologi (POY) baserad på ITS2. Nodstöd beräknades med bootstrap. De erhållna värdena var helt orimliga och tyder på problem i kalkylen (se diskussion i avsnitt 4.1 samt 4.6).

4. DISKUSSION

4.1 Stabil bayesiansk analys, instabil dynamisk homologi

De två genregionernas respektive bidrag överensstämmer med tidigare resultat, till exempel Wagener m.fl. (2006). ITS2 visade sig fylogenetiskt informativ över ett långt tidsintervall, det gällde 'bara' att tyda signalen rätt. Att regionen påverkas starkt av nukleotid-tillskott och -bortfall märktes tydligt i min studie. Variabla sekvenser av det här slaget är en stor utmaning för linjeringsalgoritmen, och linjeringen i sin tur inverkar märkbart på trädtopologin. Observationen stämmer väl överens med metodologiska uppsatser som Sanchis m.fl. (2001) och Morrison (2009). COI gav klara signaler om släktets senaste förgreningshändelser, men kunde inte ensam belysa äldre händelser. Det tyder på att de mera föränderliga delarna av sekvensen har samlat på sig substitutioner i så snabb takt att spåren av den äldre historien fördunklats. Den optimala substitutionsraten sjunker för övrigt när antalet analyserade taxa ökar (Klopfstein m.fl. 2010). Kaltenpoth m.fl. (2012) visade att steklars mitokondriella DNA har t.o.m. exceptionellt hög substitutionsrat, medan deras nukleära DNA inte har någon sådan övergripande tendens. Trots det kan delar av COI vara starkt konserverade, vilket också konstaterats till exempel av Korkmaz m.fl. (2011) i en studie av halmsteklar (Symphyta: Cephidae). 45% av karaktärerna var identiska hos alla de analyserade *Gelis*-sekvenserna. Den oklara signalen för djupare förgreningar inom släktet torde alltså bero på en kombination av snabb förändring hos vissa avsnitt, medan övriga avsnitt i stället förändrats alltför långsamt för att vara informativa.

För såväl linjering som bayesiansk analys var det möjligt att i litteraturen hitta metodiska jämförelser som gav ledning vid valet av modeller och parametrar i hantering av olika slags data (nukleotider / aminosyror, olika indel-frekvenser, proteinkodande eller ej, o.s.v.). Så var inte fallet med metoden dynamisk homologi (POY), där resultatets rimlighet i slutänden hänsköts till subjektiv bedömning.

Olika kommandovarianter som skulle ge POY-algoritmen större tillförlitlighet gav upphov till avsevärda skillnader i de djupare förgreningarnas topologi. Grenspetsarna var förhållandevis stabila, men i de olika analyserna kastades enskilda taxa synbarligen slumpartat runt i trädet. I ett par analyser splittrades t.ex. *Thaumatogelis*-kladen, och ofta separerades två av *bicolor*-gruppens sampel (*G. viduus* 41|1157 och *G. discedens* G39) från resten av *bicolor*-gruppen. Det faktum att ommöbleringarna var obeständiga talar emot att de skulle representera en sanningsenlig bild av historien. Därtill uppstod en missvisande artefakt genom att taxa med kortare sekvenser nästan konsekvent placerades tillsammans i en klad. Vahtera & Muona (2006) noterade samma problem då POY behandlade luckor som ett femte karaktärstillstånd. I teorin borde det lindras av nedviktade av luckor i sekvensernas början och slut, men i praktiken uteblev den korrigerande effekten i analyserna av mitt material. Även Petersen m.fl. (2004) konstaterade att låga kostnader för förlängning av luckor inte alltid löser problemet med varierande sekvenslängd.

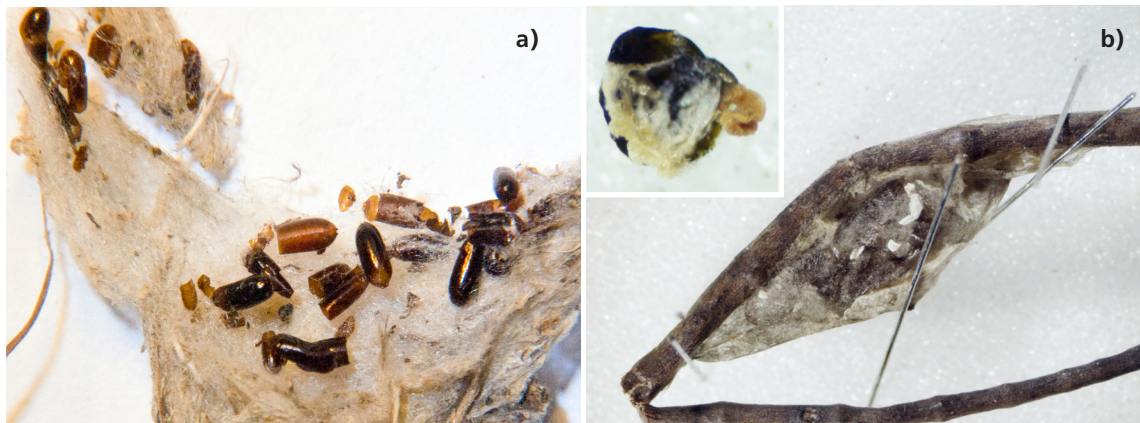
Starka tvivel har uttryckts angående algoritmens förmåga att rekonstruera träd lika ackurat som de bästa tvåstegsmetoderna, bland annat eftersom den använder kongruens som ett optimeringskriterium för linjeringsprocessen och därför gör en skev prövning av fylogenetiska signaler (Simmons 2004, Hagopian m.fl. 2010). Värt att notera är ändå grenspetsarnas överensstämmelse med de bayesianska analysresultaten. Stabilitet över förändrade parametrar är ett mått på rekonstruktionens tillförlitlighet (Schulmeister m.fl. 2002). Signalen för grenspetsarnas klader var med andra ord mycket stark. Vid beräkning av nodstöd splittrades emellertid grenspetsarnas klader. Alla analysomgångar producerade helt orimliga stödvärden: genomgående antingen 0 eller 1 med något enstaka 0.67-värde inskjutet (fig. 9). Med tanke på den djupare topologins instabilitet saknar detta resultat all trovärdighet. Övriga tillgängliga metoder för stödberäkning erbjöd ingen lösning, *jackknife* är nära besläktad med den använda *bootstrap*-kalkylen medan *bremerstöd* ger siffror som inte är jämförbara med andra beräkningar (Simmons m.fl. 2010).

Som följd av ovanstående utfall med dynamisk homologi stöder sig slutsatserna i min studie helt på de analysresultat som producerats med bayesiansk metod. I fortsättningen hänvisas enbart till dessa.

4.2 *Gelis* bildar klad tillsammans med *Thaumatogelis*

Att släktena *Gelis* och *Thaumatogelis* tillsammans bildade en monofyletisk grupp stämmer väl överens med att *Thaumatogelis* placerade sig inom *Gelis*-kladen i Laurences m.fl. (2006) omfattande studie av brokparasitsteklarnas släktskapsförhållanden på högre taxonomisk nivå (baserad på 28S D2/D3 rDNA). Resultatet står heller inte i strid med någon tidigare kladistisk analys, eftersom sådana saknas. Om fortsatta studier bekräftar resultatet, finns anledning att åter synonymisera *Thaumatogelis* med *Gelis*. I diskussionen nedan behandlas *Thaumatogelis* som en del av *Gelis*.

Även en taxonomisk notering kring artparet *G. areator* och *G. tenellus* kan göras här. BOLD-databasen innehåller två COI-sekvenskluster baserade på exemplar identifierade som den västpalearktiska *G. areator* (n=24) respektive den nearktiska *G. tenellus* (n=55). De genomsnittliga parvisa avstånden mellan de två klustren var mer än tio gånger större än avstånden inom klustren. Däremot gav ITS2 ingen signal om differentiering när de jämfördes genom *nucleotide blast*. De två arterna förekommer talrikt på sina utbredningsområden. Geografisk spridning underlättas av att de är fullt vingade. Utseende och värdspektrum är mycket lika. Horstmann (2007) understödde av den anledningen Masons (1978) synonymisering. För *G. areator* är både hanar och honor kända, för *G. tenellus* bara honor men, som Horstmann påpekade, uppträder parasitsteklar ofta i partenogenetisk form inom delar av sitt utbredningsområde. Enligt Schwarz (per korrespondens, 26.1.2016) föreligger osäkerhet kring taxonomin vad gäller de palearktiska *G. areator*, *G. liparæ* och *G. ilicicolator*. Det finns med andra ord anledning att vidare utreda hela denna grupp.



Figur 10. a) Äggkokongen ur vilken, enligt insamlaren, de två honorna av *G. cf mitis/problemator* kom, uppenbarligen tillsammans med ett flertal äggmärkarsteklar (Scelionidae). Äggmärkarsteklarnas ringa storlek gör att en sådan larv omöjligt kan fungera som värd för en *Gelis*. Foto: Reino Pajarre.
b) Öppnad spindeläggkokong ((?)Tetragnathidae) med parasitoidkokonger (mörka) och tomma spindeläggskal (vita). Infällt: innehållet från en av stekelkokongerna. "*Gelis* sp. NA A".

4.3 Från insektätare till spindelätare

4.3.1 Värdbytten inom släktet

Enligt rekonstruktionen av *Gelis*-arternas släktskap är det högst sannolikt att de ursprungliga värdarna var insekter. Därefter har skiften till parasitism av spindeläggkokonger inträffat vid minst fyra tillfällen. Ett på *ornatulus*-grenen, ett som ledde till *Thaumtogelis*-grenen, ett som gav upphov till en stor grupp spindelparasiterande arter [[*G. melanocephalus* + *G. festinans*] + *bicolor*-gruppen], och ytterligare en övergång långt ute på *agilis*-grenen. Det är möjligt att en fylogeni med släktets alla arter representerade skulle ge belägg för ännu flera övergångar. Tillsvidare är det okänt var i trädet till exempel vargspindelparasitoiden *G. alopecosae*, den från äggkokonger av säckspindlar (Clubionidae) uppfödda *G. rugifer* eller den sydafrikanska änkespindelparasiterande *G. latrodectiphagus* hör hemma.

Värdarna för alla arter i *ornatulus*-gruppen sensu Horstmann & Schwarz är inte kända, men de antas leva av spindelägg i likhet med nominatarten (Schwarz 1994). I den kladen placerades tre individer som fötts upp ur spindeläggkokonger: *G. ornatulus*, en oidentifierad hane (se S2 och S3: G211) samt det ena exemplaret av *G. cf mitis/problemator* (S2: G328). De två förstnämnda är uppfödda ur kokonger av *Agroeca* (?) *brunnea*. Den sistnämnda kom ur en oidentifierad spindeläggkokong i en vassvipa (R. Pajarre, korrespondens 2007; se fig. 10 a). Eftersom äggkokongen dessvärre inte finns bevarad och innehållet inte kan granskas, kvarstår möjligheten att det är fråga om en pseudohyperparasitoid. Två andra observationer talar dock för primärparasitism: 1) placeringen i ITS2-fylogenin (fig. 7), som annars skulle kräva ett värdbyte från spindelägg 'tillbaka' till insekter och 2) äggläggningrörets form. Denna bör vara adaptiv och därmed informativ (Belshaw m.fl. 2003). Hos de flesta spindelparasiterande *Gelis*-arter är äggläggningröret slankt och

spetsens ventrala tänder är obetydliga eller saknas helt (Schwarz 1998, Schwarz & Shaw 2000). Selektionstrycket kunde bestå i att grova tänder lätt fastnar i spindelsilket, som är finare än insektsilke, och river upp hål i den skyddande kokongen (Niclas Fritzen, muntl. september 2015). De slanka, helt släta äggläggningrören hos de här studerade exemplaren av *G. cf mitis/problemator* stöder antagandet om spindelparasitism.

Av såväl *Gelis problemator* som *G. mitis* finns färre än tio kända exemplar i samlingarna. Deras värdspektra är okända, men Schwarz (1994) hänför arterna till den förmodat spindelätande *ornatulus*-gruppen. De i studien använda individer som betecknas *G. cf mitis/problemator* utgör morfologiskt ett mellanting mellan arterna, och skiljer sig i alltså i detaljer från bägge. Eftersom stor morfologisk inomartsvariation är allmänt förekommande i släktet, har det tillgängliga materialet inte räckt till för att avgöra huruvida studiens exemplar representerade endera arten eller en tillsvidare obeskriven art, eller om *G. mitis* och *G. problemator* de facto är att betrakta som synonyma.

Representanten för den nearkiska art som i fylogenin benämns ”*Gelis* sp. NA A” är uppfödd ur en äggkokong, troligen en käkspindels (*Tetragnathidae*). P.g.a. brist på litteratur om nearktiska *Gelis* är exemplaret tillsvidare oidentifierat. Ur kokongen kom sex individer av samma art. Det är inte omöjligt – om än inte särskilt sannolikt – att en pseudohyperparasitoid kunde ha parasiterat varje primärparasitoidkokong i äggkokongen, men ingenting i innehållet tyder på det (fig. 10 b). Sex tunna silkespapperartade parasitoidkokonger omgavs av tomma spindelägghinnor och en härva glesa trådar. Två av kokongerna öppnades. De innehöll vardera en enda klump mörk avföring från sista larvstadiet/prepuppan och ett tunt, skrynkligt fragment som kan tolkas som stekelns puppskinn. Någon uppenbar extrakokong fanns inte. Notera också att spindelparasiterande arter till skillnad från de solitära insektparasiterande ofta kommer i syskonkullar på ~2–5 individer (Schwarz & Shaw 1999). Visserligen förekommer det att parasitoider attackerar värdar som normalt inte hör till dess värdspektrum. Sådana isolerade misstag saknar betydelse för såväl parasitoidens som värdens evolution och ekologi och borde inte få otillbörlig uppmärksamhet (Shaw 1994, Schwarz 1998). Eftersom insamlaren C. Eise-man födde upp artfränder även från en annan äggkokong skulle i så fall en upprepning av ett eventuellt misstag ha krävts. Det enda som talar mot spindelparasitismen är äggläggningrörets tydliga ventrala tänder. Om vi antar att det finns ett selektionstryck på slätare äggläggningrör, kunde egenskapens förekomst hos en spindeläggparasitoid förklaras med att arten representerar ett relativt färskt byte av värdgrupp – något som också finner stöd i trädtopologin. Slutsatsen blir att det handlar om en primär äggparasitoid som representerar ytterligare en övergång till spindelparasitism inom släktet.

4.3.2 Varför äta spindlar?

På bara någon generation kan tidig inlärning leda till ekologisk och rumslig separation av individer, genom att honan föredrar den värdart som hon själv fått sin näring från

(König m.fl. 2015). Men först måste någon/några individer attackera ett nytt slags värd. Den synovigena idiobionten förenar två ur det här perspektivet olika drifriktningar: generalistens större öppenhet för värdar av varierande slag, som sänker tröskeln för utvidgad värdrepertoar; och det begränsade antalet ägg, som höjer den.

Den nya interaktionen bör ge fördelar. En inlärd preferens för en ny värd kan svårli- gen ge upphov till något bestående, om inte individens duglighet blir minst lika stor som på de gamla värdarna. Alternativt är den nya värden är mycket talrik och/eller lättare att hitta, eller parasiteringstrycket mindre vilket minskar konkurrensen med andra parasitoider.

Spindlars äggkokonger erbjuder skydd mot opportunistiska rovdjur, ett gynnsamt mikroklimat och en stor portion mat (Austin 1985). Uppenbarligen räcker äggen vanli- gen till mer än en avkomling (se avsnitt 1.2.1). Om fyndfrekvensen för lämpliga värdar är en begränsande faktor för parasitoidens livstida reproduktionsframgång, måste det vara gynnsamt att varje enskilt påträffande av en värd kan ge upphov till flera avkomlingar. Kanske kan äggätandet också öka fyndfrekvensen: i alla habitat där kokongparasitsteklar finns hittas också spindlar, och det i stor mängd.

Brokparasitsteklarnas systergrupp bracksteklarna (Braconidae) saknar de förstnäm- das tendens till ektoparasitisk idiobios på värdar i kokonger, och har följaktligen inte producerat några spindeläggparasitoider (Gauld 1988). Det har däremot flera andra in- sekttaxa: äggmärkarsteklar (Scelionidae), puppglanssteklar (Pteromalidae), puckelfflugor (Phoridae: *Megaselia*), fritflugor (Chloropidae), köttflugor (Sarcophagidae), vattenflugor (Ephydridae) och nätvingar (Neuroptera: Mantispidae) (Finch 2005). Parasiteringsgra- den varierar från en bråkdel upp till en tredjedel eller t.o.m. hälften av vissa arters ägg- kokonger på en lokal (Cobb & Cobb 2004, Finch 2005). *Gelis*-arter är välrepresentera- de. Omvänt kan konstateras att av de fyra talrikaste arterna i min samling – *G. fuscicornis*, *G. rufogaster*, *G. viduus* och *G. melanocephalus* – är alla de tre sistnämnda spindelparasitoider. Spindelägg är alltså en god födoresurs som ett antal extanta *Gelis*-arter har förmåga att utnyttja väl.

4.3.3 Varför inte äta bådadera?

Vad hindrar *Gelis*-honan från att maximera värdtillgången och utnyttja både insekter och spindlar? Om det kan man än så länge bara spekulera. Handlar det om igenkänning av olika typer av silke? Mina egna observationer i experimentella situationer antyder att ho- nan knappast reagerar på kokonger av fel värdkategori. Man kan i fylogenin även skönja en tendens till att närbesläktade taxa attackerar värdar från samma familjer (se fig. 6). En adaptiv orsak till det kunde vara att det vore slöseri med tid och energi att noga un- dersöka fel slags kokong ifall innehållet ändå kommer att uppfattas som olämpligt. Men varför skulle innehållet vara olämpligt? Finns det betydande skillnader i vävnaderna som näringskälla, eller handlar det om andra faktorer?

Före äggläggning i en insektskokong paralyserar *Gelis*-honan prepuppan (Salt 1952), ett beteende som skyddar larven från att avlägsnas eller skadas av värdens rörelser (Quicke 2015). Om de släktlinjer som blivit äggparasitoider har förlorat förmågan att paralysera, är de i fortsättningen begränsade till ägg. Att värden rör på sig är för övrigt ofta en förutsättning för att den insektparasiterande stekelhonan alls ska godta den som lämplig – medan det för äggparasitoiden tvärtom är ett tecken på att värden gått för långt i sin utveckling och kan leda till att hon förkastar den (Godfray 1994: 95). Om en normalt insektparasiterande *Gelis* skulle reagera positivt på spindelsilke, saknar de stillsamma äggen den eventuellt utlösande faktorn. En konträr observation gjordes dock av Visser m.fl. (2014) i en experimentell studie av parasiteringsbeteendet hos *G. acarorum* som konstaterades lägga ägg även på upptinade frysdödade prepuppor av *Cotesia glomerata*.

En aspekt av övergången mellan värdgrupper är transitionen från solitär till gregär (d.v.s. i syskonkullar förekommande), som kräver att larverna ändrar sitt beteende gentemot varandra. Om flera ägg av en solitär parasitoid läggs på samma värd, följer en kamp på liv och död där bara en larv utgår med segern. Ifall värdens kvalitet förändras så att den räcker till flera avkomlingar, kan ett icke-aggressivt beteende spridas som stabil strategi (Godfray 1994: 122). Ett värdbyte kan ge en sådan förändring. Men selektion på föräldern att lägga mer än ett ägg på samma värd kan enligt Godfray förekomma bara om larverna samtidigt gynnas av att de överger det aggressiva beteendet. Ett sådant urvalstryck kunde bestå i att mikrobiell nedbrytning av kvarblivna värdrester äventyrar parasitoidens utveckling i puppstadiet. I det här fallet måste det ändå handla om något annat, eftersom oätna spindelägg efter ett tag förvandlas till torra ägghöljen och små spindelungar som fridsamt lämnar platsen.

En annan intressant observation vad gäller syskongrupper hos *Gelis* är att de alltså oftast är av storleken 2–5 individer, vilket kontrasterar mot antagandet att kullstorleken hos parasitsteklar är dikotomt fördelad (en/många) snarare än ett kontinuum, och att syskonkullar om 2–3 borde vara ovanliga (Godfray 1994: 124). Eventuellt begränsas kullstorleken av den synovigena honans oförmåga att producera flera ägg. Att en spindeläggkokong åtminstone i vissa fall kan räcka till en större kull visas av ett förmodat fall av superparasitism av *G. discedens* på *Tetragnatha* sp., som renderade 13 hanliga individer ur samma äggkokong (egen observation). Eftersom en stor andel av brokparasitsteklarna i likhet med *Gelis* bär en begränsad mängd mogna ägg, kan det vara värt att göra nya prövningar av ovanstående teori om kullstorlek.

4.4 Vingpolymorfism: nytta och nackdelar med att kunna flyga

Flygförmågan är en av få kroppsliga resurser som en parasitstekel till nöds kan avstå från. Individer av vissa annars flygdugliga arter kan i tider av extrem näringsbrist resorbera sina flygmuskler (Godfray 1994: 97). Salt (1952) och Zwart (1979: 50–63) konstaterade bägge i studier av *Gelis*-arter att larvens tillgång på föda kan påverka en rad drag, bland

annat huruvida den vuxna individen är vinglös eller vingad. Storleken på befintliga vingar kunde också variera med näringstillgången.

Vingreduktion förekommer alltså hos *Gelis*-arter på minst två (enligt analysen med MAFFT-linjerat ITS2) eller tre (PAGAN-linjerat ITS2) olika grenar i fylogenin. För den största gruppen med vinglösa honor tycks förlusten av flygförmågan ligga långt tillbaka i historien, hos en anmoder vars parasiteringsstrategi och livsmiljö vi inte vet någonting om (fig. 6: A). Vinglösheten hos *G. nigritulus* och de kortvingade honorna av flera andra arter i *ornatulus*-gruppen (*G. mitis*, *G. problemator*, *G. fasciitinctus* och *G. thomsoni*) representerar troligen nyare fall. Enligt den här framställda fylogenin har vingarna, intressant nog, börjat reduceras i två olika linjer inom *ornatulus*-gruppen (fig. 6: B, C). Vad som har den största inverkan på honornas flygutrustning är något som gärna kunde ägnas vidare studier. Sådana här oberoende och relativt färsk förändringar kan då vara till hjälp.

De långlivade *Gelis*-honorna ägnar sin fåtaliga avkomma stor omsorg genom att använda ett avsevärt mått av tid på att söka upp rätt slags värd. Sökandet sker även hos många vingade arter företrädesvis till fots (Townes 1969). Vinglöshet hos brokparasitsteklar och systerfamiljen bracksteklar verkar hänga samman med liten kroppsstorlek och värdsök till fots, antingen i förna eller på trädstammar (Quicke 2015). Man kan tänka sig att det under vissa förhållanden – exempelvis habitat med relativt många värdar dolda i skrymslen – är gynnsamt om honan förlorar flygförmågan för att i stället maximera sin fekunditet.

En vinglös *Gelis* är för det mänskliga ögat mycket lik en myra. Malcicka m.fl. (2015) visade att den vinglösa *G. agilis* tillämpar myr-mimikry både genom sin uppenbarelse och genom att utsöndra ett feromon som till sin kemiska sammansättning överensstämmer med alarmferomon från vissa myrarter. Det gav under experimentella förhållanden ett avsevärt bättre skydd mot attacker från vargspindlar än den feromonlösa, vingade *G. areator* hade (Malcicka m.fl. 2015), men borde också kunna mildra eventuell aggression från själva myrorna – åtminstone kunde Völkl m.fl. (1994) konstatera den effekten på trädgårdsmyra *Lasius niger* när glattstekeln *Alloxysta brevis* (Figitidae) utsöndrade samma feromon. Under ett parasiteringsförsök med *Gelis micrurus*, parasitoid på vargspindelägg, reagerade vargspindeln starkt på ett frontalmöte med stekelhonan (egen observation). Vid närkontakt tvärstannade båda, varpå spindeln raskt avlägsnade sig.

Vingförlustens fördelar skulle alltså kunna ha med fekunditet eller överlevnad att göra. Urvalstryck som kunde motverka avveckling av flygförmågan vore relativt specialisering på värdar som förekommer glest spridda i livsmiljön, eller återkommande behov av att dispersera. Vinglösa *Gelis* är verkligen hänvisade till fötterna för att sprida sig: honorna transporteras inte av den flygga hanen under parning (jfr t.ex. vissa äggmärkasteklar), inte heller av sin värd (jfr polysphinctinlarver på seglande spindlar), och några fall av foresi är inte kända.

En egenskap som är gynnsam för det ena könet är inte nödvändigtvis bra för det andra, och det här kan skapa motstridiga selektionstryck på ett lokus. Antagonismen kan ge upphov till könsdimorfism genom skillnader i genexpression (Innocenti & Morrow

2010). Likväl förekommer hanar med reducerade vingar i minst ett tjugotal *Gelis*-arter. Vingpolymorfismens inverkan på hanars reproduktionsframgång tar sig annat uttryck än hos honorna. De producerar inte stora, näringsrika äggceller och det borde vara avsevärt effektivare att söka honor flygande. Men det senare gäller bara om hanen verkligen har nytta av att kunna förflytta sig snabbt och därmed avsöka många olika platser. Vi vet inte hur starkt honan doftar – om hanen alltså kan bli uppmärksam på henne på långt håll och snabbt förflytta sig till henne flygande. I tät vegetation kan vingar vara till större besvär än nytta. Om miljön då är stabil och spridning över stora avstånd inte är av avgörande betydelse, kan vinglöshet gynnas (Godfray 1994: 293).

Vinglösa hanar förknippas ofta med syskonparning, ett beteende som är vanligt förekommande hos parasitsteklar (Askew 1968). Men hos *Gelis* finns vinglösa/microptera hanar i lika hög utsträckning bland de solitära insektparasiterande som bland de gregära spindelparasiterande arterna. Den vinglösa solitära hanens chanser till syskonparning är små. Schwarz & Shaw (1999) noterade att hos vargspindelparasitoiden *G. micrurus*, vars hanar dock alltid är vingade, är en stor andel av syskongrupperna enkönade. Deras hypotes var att detta *förhindrar* syskonparning under de vintermånader som de fullt utvecklade syskonen tillbringar i äggkokongen. Det är förstås möjligt att en sådan mekanism saknas hos arter där båda könen är vinglösa.

Den hanliga vinglösheten behöver inte vara en optimal egenskap. I sin studie av vingtrimorfismen hos *G. corruptor* (= *proximus*) konstaterade Salt (1952) att alla honlarver saknar vinganlag medan sådana finns hos alla hanlarver. Huruvida en hane blir fullt vingad eller micropter beror på om den fått tillräckligt mycket näring. Även hos *G. meigenii* har man experimentellt påvisat att vingtillståndet är beroende av näringstillgång (Zwart 1979). Vinglösheten kan då vara ett direkt resultat av undernäring, men den kan också vara ett evolutionärt gensvar: resurserna riktas till de viktigaste funktionerna på bekostnad av spridningsförmåga (Godfray 1994: 294, 297f).

Hos några arter (*G. spinula* och *G. declivis* i den spindelparasiterande *festinans*-gruppen och *G. albicinctus* i den insektparasiterande *anthracinus*-gruppen) har bara fullständigt vinglösa hanar påträffats (Schwarz 1998, 2002). Här tycks den genetiska förändring som betingar honans morfologi numera också reglera hanens.

4.5 Indikation på kryptiska arter

I sin revision (2002: 1359) konstaterade Schwarz att små eller avvikande djur från *bicolor*-gruppen med osäker artidentitet sannolikt oftast bestämts som *G. bicolor*. Flera arter kan därför rymmas i nuvarande avgränsning av denna art. I studiens material från *bicolor*-gruppen fanns fyra exemplar insamlade från två lokaler i Finland och en i Sverige (grupp 4 i fig. 8) som i mina ögon inte passade in på någon art i Schwarz västpalearktiska revision (1998, 2002). De bildade ett eget BIN-kluster (se nedan) och utgjorde i fylogenierna en gren vars längd motsvarade grenlängden för flera goda arter. Även Schwarz har under

senare år noterat exemplar med samma kännetecken och misstänkt att det rör sig om en tillsvidare obeskriven art (M. Schwarz per korrespondens, 20.2.2016). Troligen sträcker sig dess utbredningsområde över stora delar av Europa, med fynd från forna Jugoslavien, Österrike och Tyskland. Min molekylära studie riktade uppmärksamheten mot den kryptiska arten, och beskrivningen av den är nu under arbete.

BOLD använder i sitt Barcode Index Number (BIN)-system kvantitativ skillnad mellan sekvenser för att sammanställa sekvenskluster (Ratnasingham & Hebert 2013). Enligt författarna reflekterar enheterna i stor utsträckning faktiska arter. Varje försök till automatiserad indelning på basen av tröskelvärden måste givetvis bli godtyckligt, även om BIN-systemet värjer sig mot den värsta godtyckligheten genom empiriskt grundad optimering av tröskelvärdet. Det hela utgår från antagandet att skillnaderna alltid är större mellan arter än inom arten. Men avvikelser från det antagandet har noterats i synnerhet för mitokondrie-DNA (se t.ex. Chan & Levin 2005), bland annat när artbildning skett i sådan takt att genvarianterna inte hunnit koalescera. BIN-systemet kan därtill kritiseras metodologiskt. Enligt DeSalle m.fl. (2005) och Taylor & Harris (2012) är metoder som grundar sig på analys av diagnostiska karaktärer att föredra framom sådana här avståndsbaserade metoder som inte ens försöker återspegla händelser i evolutionshistorien (men se Casiraghi m.fl. 2010).

I brist på användarvänlig mjukvara för analys av diagnostiska karaktärer granskades ändå *bicolor*-gruppens BIN-kluster. Dessa visade sig i flera fall (*micrurus*, *trux*, *discedens*, *rufogaster*) motsvara de artbestämningar som en taxonom skulle göra vid mikroskopet med hjälp av morfologiska kännetecken. *Gelis viduus*-klustret innehöll flera underkluster. 'G. *viduus* grupp 2' i fig. 8 bestod, intressant nog, av individer från så spridda platser som Ryssland, Rumänien och Kanada. Om dessa verkligen är närmare släkt med varandra än med andra individer i närgeografin, tyder det på att de är reproduktivt isolerade från *viduus*-grenens andra grupp ('G. *viduus* grupp 1'). Enligt BIN-tröskelvärderna representerade de olika arter. Med ett begränsat antal sekvenserade individer till hands, kunde inga tillförlitliga morfologiska kännetecken för att särskilja de olika *viduus*-grupperna hittas. Ett större antal individer från varje kluster inom *viduus*-grenen skulle kanske göra det möjligt att hitta gränsvärden för avgörande mått – proportionerna på första flagellomeren, behåringens täthet på de bakre tergiterna eller dylikt.

I fylogenin splittrades gruppen av individer som på basen av utseendet identifierats som *G. bicolor* eller *G. (?)bicolor*. Den ena nygrupperingen (fig. 8, grupp 1; n=11) var systerklad till *G. trux*. De två andra grupperna bildade i stället klad tillsammans med *G. micrurus* och den tillsvidare obeskrivna arten (fig. 8, grupp 2 och 3). Vid förnyad granskning av exemplaren kunde konstateras att yttre mandibelhalvan var svart hos grupp 2 och 3, medan hela mandibeln var brun–gulbrun i grupp 1. Några kännetecken för att skilja grupp 2 från grupp 3 stod inte att se. Materialet var litet (n=2+3). Däremot skiljde sig grupp 2 och 3 från de två övriga taxa i sin klad, genom att de senare har distinkta säregna drag. Förhastade slutsatser bör emellertid inte dras då en art verkar icke-monofyletisk

utgående från en enda genregion. Som tidigare diskuterats, kan genträdet skilja sig från artens av flera orsaker. För att avgöra om grupperna 1–3 verkligen är olika arter behövs vidare studier av såväl morfologiska som molekylära, ekologiska och biogeografiska aspekter. Om de visar sig vara goda arter återstår att avgöra vilken som motsvarar Villers (1789) ursprungliga beskrivning av *G. bicolor*.

Vid granskning av *Thaumatogelis sylvicola*-individerna konstaterades den österbottniska individen till utseendet skilja sig från de två mera närbesläktade. Mikroskulpturen på huvud, thorax och gaster var annorlunda, behåringen var kortare och låg närmare an mot kroppen. De varandra mera närstående insamlades i Kymmenedalen respektive Sörmland. Eftersom den österbottniska och därmed nordligaste individen är den som mest liknar *T. sylvicola*, en art som förekommer söderut ner till Frankrike och Ungern, handlar det knappast om en geografisk gradient. Det genetiska avståndet indikerar att de finstilta morfologiska skillnaderna gjort att exemplar från två olika arter tidigare hänförts till *T. sylvicola*, och att en kryptisk art här har framkommit. Men även i detta fall krävs utökad sampling för att bekräfta eller förkasta en hypotes om krypsis.

4.6 Möjliga felkällor

En fylogeni är en hypotes om unika historiska händelser som inte kan observeras direkt. Dess tillförlitlighet påverkas av ett antal faktorer. Den viktigaste svagheten i det här fallet var matrisens omfattning, både taxonomiskt och vad gäller de analyserade karaktärerna. Fler taxa kunde ha fört trädtopologin till optima som bättre skulle ha motsvarat den verkliga historien. I min studie saknades representanter för flera av Horstmanns och Schwarz artgrupperingar, vilka utgör en sammanfattning av variationen inom den palearktiska delen av släktet. Fem vinglösa och tre vingade artgrupper förblev helt orepresenterade: *Gelis formicarius*-, *G. rotundiventris*-, *G. fortifactor*-, *G. separatus*- och *Thaumatogelis pilosus*- respektive *G. rugifer*-, *G. vicinus*- och *G. alopecosae*-grupperna. Därtill var proven få från övriga holarktis och saknades helt från tropiska/subtropiska områden. Morfologiska karaktärer, gärna också från larvstadiet, hade tillfört oberoende information. Ett större molekylärt data skulle ha gett en mera fullständig signal och minskat risken för felaktiga slutsatser på grund av genträd som avviker från artfylogenin, eller att en förvanskande signal från den ena sekvensen stör signalen från den andra. Duplikation av genregioner är ett känt problem som kan ge felaktiga resultat, något som här i värsta fall skulle kunna beröra ITS2-sekvenserna.

När man arbetar med ofullständigt utredda organismer finns naturligtvis risk för felaktiga slutsatser vid identifieringen av provexemplaren. Den som vill använda bestämningsnycklarna för *Gelis* måste ovillkorligen komplettera med egna studier av museimaterial och tilläggsinformation från sakkunniga. I laboratoriet finns alltid risk för förväxling av DNA vid pipettering och etikettering samt förväxling av sekvensdata vid

filhanteringen. Risken för felaktigt värddata är därtill svår att helt eliminera trots att studien baseras på direkta uppfödningssdata och på Schwarz publikationer, vilka grundar sig på av honom kontrollerat material. Också vid uppfödning kan man göra felbestämningar av värdgrupper som man själv inte är förtrogen med, eller till och med förbli omedveten om den egentliga värden ifall substratet är svåröverskådligt (t.ex. död ved, svamp) eller när det är fråga om pseudohyperparasitism.

Algoritmer och mjukvara utvecklas ständigt och kan vara behäftade med diverse barnsjukdomar och idiosynkrasier. Det märktes tydligt vid användningen av POY, mest flagrant i nodstödsberäkningen som bekräftade algoritmens oförmåga att hantera detta sekvensmaterial. Även annan mjukvara hyser svagheter. Tillgången till processor-kapacitet begränsar möjligheterna till användning av de mest uttömmande algoritmerna i analys av större datamatriser. Analysen kan också ha producerat artefakter som passerat obemärkta.

4.7 Slutsatser

Den första molekylära fylogenetiska analysen som gjorts för släktena *Gelis* och *Thaumatogelis* visade att det sistnämnda är innäslat i släktet *Gelis*. Genom återsynonymisering av *Thaumatogelis* med *Gelis* skulle släktet motsvara en monofyletisk grupp.

Övergångar från insekt- till spindeläggparasitism har inträffat upprepade gånger inom kokongparasitstekeltribuset Phygadeuontini där *Gelis* ingår. Tribusets övriga spindelparasitoiderna återfinns i släktena *Aclastus*, *Hemiteles*, *Polyaulon*, *Agasthenes*, *Gnyptomorpha* och *Bathythrix*. Den fylogeni som här framställts indikerar att värdgruppsbyten har skett vid minst fyra av varandra oberoende tillfällen bara inom släktet *Gelis*. Bytet underlättas av att de idiobionta kokongparasitsteklarna, jämfört med koinobionta parasitoider, har större flexibilitet att attackera olika slags värdar inom ett habitat. Ändå finns tydliga hinder för övergången från insektsprepuppor till spindelägg, och skillnaden mellan de två värdgrupperna är tillräckligt dramatisk för att en art inte framgångsrikt ska kunna utnyttja både insekter och spindlar.

Vingreduktion visade sig ha uppkommit på minst två olika grenar i fylogenin. Orsaken kan antas vara kopplad till livshistoriestrategin, bland annat den stora tidsåtgången för att hitta och hantera värdar, men för att dra mera bestämda slutsatser behöver man vidga perspektivet till andra grupper av parasitsteklar med förkrympta vingar.

Vid den molekylära analysen framkom grupperingar som tyder på flera kryptiska arter i materialet, och informationen gjorde att särskiljande morfologiska kännetecken kunde uppmärksammas. Beskrivningen av en av dessa arter är under arbete. Konstanterandet av kryptiska arter bäddar för möjlig observation av kryptisk specialisering: ekologisk, taxonomisk, eller båda.

4.8 Vidare undersökningar

Härnäst vidtar ett projekt med syfte att kartlägga de olika *Gelis*-arternas utbredning och förekomst i Fennoskandien och knyta hanar till honor, både på molekylär väg och genom uppfödning. Även om molekylära metoder numera erbjuder en (inte helt problemfri) genväg, kan uppfödning från insamlade kokonger bidra med värdefull komplettering vad gäller värdarter (Wirta m.fl. 2014) – men också med biologisk kunskap om exempelvis fenologi, syskonkullars storlek och könsfördelning, fenotypisk variation mellan syskon. Genom experimentella parasiteringar kan man observera parasiteringsbeteendet, undersöka gränserna för den teoretiska värdbredden samt få fram hanar, som ju kommer ur obefruktade ägg. Prioriterade arter härvidlag är sådana som saknar uppgifter om hanar (t.ex. *G. venatorius*, *G. operosus*), sådana som eventuellt kan vara mera specialiserade än genomsnittet (bl.a. *G. discedens*, *G. melanogaster*), och dåligt kända arter som *G. mitis* och *G. problemator*.

För vidare slutsatser om arternas respektive roller i sina näringsvävar vore kvantitativt data om värdnyttjande mera informativt än listor med värdobservationer (Shaw 1994: 114). Sådana studier kräver något större resurser, liksom den utökade fylogeni som jag gärna skulle se som en uppföljning av den aktuella partiella fylogenin som täcker ca 15 % av släktet. En både taxonomiskt och geografiskt mer omfattande representation vore givetvis önskvärd. Frågeställningen om värdbyten kunde belysas ytterligare genom systematiska studier av hela tribuset med sitt taxonomiskt spridda inslag av spindeläggparasitoider. För att få ytterligare säkerhet vad gäller tillförlitligheten, behöver analysen kompletteras med flera genregioner varav en del bör vara långsamt evolverande. Karaktärsmatrisen borde dessutom utökas med morfologiskt data, gärna också från larvstadiet. Även om det morfologiska skulle stå för <5 % av karaktärerna i en kombinerad bayesiansk analys kan det signifikant påverka trädet (Nylander m.fl. 2004).

Utredningen av *bicolor*-gruppens systematik har fått en god början i och med detta projekt, men är långt ifrån färdig. Även *Thaumatogelis sylvicola*, som eventuellt härbärgerar en kryptisk art, borde ägnas fortsatta taxonomiska studier. Dessutom behöver de nearktiska arterna å det snaraste få betydligt större uppmärksamhet än vad som varit fallet under de senaste hundra åren.

5. TACK

Även om en graduist envisas med att hitta på ett helt eget projekt, är forskning är ingen solitär verksamhet. Jag insisterar därför på att få tacka en rad personer: Nicke Fritzén som förledde mig in i parasitoidernas rike, mina handledare Nina Laurenne och Fredrik Ronquist, sensei Pelle Magnusson som lärt mig nästan allt jag kan om att identifiera steklar, *Gelis*-gurun Martin Schwarz för storartat arbete och otadlig vänlighet, Seraina Klopstein för råd och dåd, Mark Shaw för central frågeställning och uppmuntran i form av döda djur och kloka synpunkter, Hannele Luhtasela-El Showk för lektörskap (och det bästa sällskap). Svenska Malaisefälleprojektet för mängder av döda djur och stor glöd. Utan ytterst välkommet ekonomiskt bistånd från Entomologiska föreningen i Helsingfors, Societas pro Fauna et Flora Fennica och Suomen Biologian Seura Vanamo hade det aldrig blivit några sekvenser, och detsamma ska sägas om Minttu Ahjos och övriga hjälpsamma varelser i MES-lab. Marko Mutanen/FinBOL spelade en likaledes avgörande roll. Ari-Matti Sarén och Kimmo Mattila på CSC gav tålmodigt mjukvarustöd. Tomas Roslin och SPEG adopterade mig när jag irrade runt i Vik utan forskningsgrupp. Spindel- och stekelarbetsgruppernas exkursioner har varit givande även i graduhänseende. Tack också till Rose Lerner som ställer märkvärdigt relevanta frågor, Chris Eberlein som uppmuntrade mig att ta fram primers och dessutom visade hur, till Mikhail Daneliya för labbarbete, Reijo Jussila för referensexemplar, Mattias Forshage för ständiga utmaningar, Pekka Pamilo, Lotta Sundström och Riitta Savolainen i Vik, Julia Stigenberg och ett gäng entomologer s.l. på Naturhistoriska Riksmuseet för generös uppmuntran. Och flera andra, bland dem alla som gett mig djur, och inte minst familjen som aldrig ifrågasatt att jag vill hålla på med sådant här.

6. LITTERATUR

- Althoff, D. M. 2003. Does parasitoid attack strategy influence host specificity? A test with New World braconids. — *Ecological Entomology* 28: 500–502.
- Askew, R. R. 1968. Considerations on speciation in Chalcidoidea (Hymenoptera). — *Evolution* 22: 642–645.
- Askew, R. R. & Shaw, M. R. 1986. Parasitoid communities: their size, structure and development. — I: Waage, J. & Greathead, D. (red.), *Insect parasitoids*. Academic Press, London.
- Aubert, J. F. 1957. Révision partielle des Ichneumonides Gelis Thnbg. (= Pezomachus Grav.) et Perosis Först. de la collection A. Förster et notes concernant les travaux qui s'y rapportent. — *Mitt. Münch. Ent. Ges.* 47: 222–264.
- Austin, A. D. 1985. The function of spider egg sacs in relation to parasitoids and predators, with special reference to the Australian fauna. — *Journal of Natural History* 19: 359–376.
- van Baarlen, P., Topping, C. J. & Sunderland, K. D. 1996. Host location by *Gelis festinans*, an eggsac parasitoid of the linyphiid spider *Erigone atra*. — *Entomologia experimentalis et applicata* 81(2): 155–163.
- Bacher, S. 2012. Still not enough taxonomists: reply to Joppa et al. — *Trends Ecol. Evol.* 27: 65–66.
- Belshaw, R., Grafen, A., Quicke, D. L. J. & Ox, O. 2003. Inferring life history from ovipositor morphology in parasitoid wasps using phylogenetic regression and discriminant analysis. — *Zoological Journal of the Linnean Society* 139: 213–228.
- Bergsten, J. 2005. A review of long-branch attraction. — *Cladistics* 21: 163–193.
- Cameron, S. L. 2014. Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny. — *Annual Review of Entomology* 59: 95–117.
- Casiraghi, M., Labra, M., Ferri, E., Galimberti, A. & De Mattia, F. 2010. DNA barcoding: a six-question tour to improve users' awareness about the method. — *Briefings in bioinformatics* 11(4):440–453.
- Chan, K. M. A. & Levin, S. A. 2005. Leaky prezygotic isolation and porous genomes: rapid introgression of maternally inherited DNA. — *Evolution* 59(4): 720–729.
- Cobb, L. M. & Cobb, V. A. 2004. Occurrence of parasitoid wasps, *Baeus* sp. and *Gelis* sp., in the egg sacs of the wolf spiders, *Pardosa moesta* and *Pardosa sternalis* (Araneae, Lycosidae) in southeastern Idaho. — *Canadian Field-Naturalist* 118(1): 122–123.
- Davis, R. B., Baldauf, S. L. & Mayhew, P. J. 2010. The origins of species richness in the Hymenoptera: insights from a family-level supertree. — *BMC Evolutionary Biology* 10:109.
- DeSalle, R., Egan, M. G. & Siddall, M. 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. — *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 360: 1905–16.
- Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. — *Nucleic Acids Research* 32(5): 1792–1797.
- Elzinga, J. E. A., Zwickhals, K., Mappes, J. O. & Grapputo, A. L. 2011. The parasitoid species complex associated with sexual and parthenogenetic Naryciinae (Lepidoptera: Psychidae): Integrating ecological and molecular analyses. — *Eur. J. Entomology* 5759: 635–650.
- Felsenstein, J. 1973. Maximum likelihood and minimum-steps method for estimating evolutionary trees from data on discrete characters. — *Systematic Zoology* 22: 240–249.
- Felsenstein, J. 1978. Cases in which Parsimony or Compatibility Methods Will be Positively Misleading. — *Systematic Zoology* 27(4): 401–410.
- Finch, O.-D. 2005. The parasitoid complex and parasitoid-induced mortality of spiders (Araneae) in a Central European woodland. — *Journal of Natural History* 39: 2339–2354.
- Fitton, M. G., Shaw, M. R. & Gauld, I. D. 1988. Pimpline Ichneumon-flies. Hymenoptera, Ichneumonidae (Pimplinae). — *Handbook for the identification of British Insects*. Royal Entomological Society, London. 113 s.
- Forshage, M. 2009. *Systematics of Eucoilini. Exploring the diversity of a poorly known group of Cynipoid parasitic wasps*. — Doktorsavhandling. Uppsala Universitet. 55 s.
- Gauld, I. D. 1988. Evolutionary patterns of host utilization by ichneumonoid parasitoids (Hymenoptera: Ichneumonidae and Braconidae). — *Biological Journal of the Linnean Society* 35: 351–377.
- Gauld, I. & Bolton, B. 1988. *The Hymenoptera*. — Oxford University Press, Oxford. 332 s.
- Giribet, G. 2007. Efficient tree searches with available algorithms. — *Evolutionary bioinformatics online*, 3: 341–56.
- Giribet, G. & Wheeler, W. C. 1999. On Gaps. — *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13(1): 132–143.
- Godfray H. C. J. 1994. *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. — Princeton University Press, Princeton. 473 s.

- Goulet, H. & Huber, J. T. (red.) 1993. *Hymenoptera of the World: An Identification Guide to Families*. — Canada Communication Group – Publishing, Ottawa. 668 s.
- Grimaldi, D. & Engel, M. S. 2005. *Evolution of the Insects*. — Cambridge University Press, New York. 577 s.
- Hagopian, R., Davidson, J. R., Datta, R. S., Samad, B., Jarvis, G. R. & Sjölander, K. 2010. SATCHMO-JS: a webserver for simultaneous protein multiple sequence alignment and phylogenetic tree construction. — *Nucleic Acids Research* 38: W29–34.
- Harvey, J. A., Wagenaar, R. & Gols, R. 2011. Differing Host Exploitation Efficiencies in Two Hyperparasitoids: When is a “Match Made in Heaven”? — *Journal of insect behavior* 24: 282–292.
- Hebert, P. D. N., Penton, E. H., Burns, J. M., Janzen, D. H. & Hallwachs W. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. — *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 14812–14817.
- Hennig, W. 1966. *Phylogenetic Systematics*. — University of Illinois Press. 263 s.
- Hogeweg, P. & Hesper, B. 1984. The alignment of sets of sequences and the construction of phylogenetic trees. An integrated method. — *Journal of Molecular Evolution* 20: 175–186.
- Horn, D. J. 1976. Brief Note Behavior of Gelis Species' Parasitizing Bathyplectes, Parasitoids of the Alfalfa Weevil. — *The Ohio Journal of Science* 76(6): 279–280.
- Horstmann, K. 1986. Die westpaläarktischen Arten der Gattung *Gelis* Thunberg, 1827, mit macropteren oder brachypteren Weibchen (Hymenoptera, Ichneumonidae). — *Entomofauna* 7(30): 389–424
- Horstmann, K. 2007. Revisionen von Schlupfwespen-Arten XI. — *Mitt. Münch. Ent. Ges.* 97: 73–80.
- Hurst, G. D. D. & Jiggins, F. M. 2005. Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts. — *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences* 272: 1525–1534.
- Innocenti, P. & Morrow, E. H. 2010. The Sexually Antagonistic Genes of *Drosophila melanogaster*. — *PLoS Biology* 8(3): e1000335.
- Jervis, M. & Ferns, P. 2011. Towards a general perspective on life-history evolution and diversification in parasitoid wasps. — *Biological Journal of the Linnean Society* 104: 443–461.
- Jones, O. R., Purvis, A., Baumgart, E. & Quicke, D. L. J. 2009. Using taxonomic revision data to estimate the geographic and taxonomic distribution of undescribed species richness in the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). — *Insect Conservation and Diversity* 2: 204–212.
- Kaartinen, R., Stone, G. N., Hearn, J., Lohse, K. & Roslin, T. 2010. Revealing secret liaisons: DNA barcoding changes our understanding of food webs. — *Ecological Entomology* 35: 623–638.
- Kaltenpoth, M., Showers Corneli, P., Dunn, D. M., Weiss, R. B., Strohm, E. & Seger, J. 2012. Accelerated evolution of mitochondrial but not nuclear genomes of Hymenoptera: new evidence from crabronid wasps. — *PLoS One* 7: e32826.
- Katoh, K. & Standley, D. M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. — *Molecular Biology and Evolution* 30: 772–780.
- Katoh, K., Kuma, K., Toh, H. & Miyata, T. 2005. MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment. — *Nucleic Acids Research* 33: 511–518.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. & Miyata, T. 2002. MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. — *Nucleic Acids Res.* 30: 3059–3066.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P. & Drummond, A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. — *Bioinformatics* 28(12): 1647–1649.
- Klopfstein, S., Kropf, C. & Quicke, D. L. J. 2010. An Evaluation of Phylogenetic Informativeness Profiles and the Molecular Phylogeny of Diplazontinae (Hymenoptera, Ichneumonidae). — *Systematic Biology* 59(2): 226–241.
- Klopfstein, S., Vilhelmsen, L., Heraty, J. M., Sharkey, M. & Ronquist, F. 2013. The hymenopteran tree of life: evidence from protein-coding genes and objectively aligned ribosomal data. — *PLoS One* 8: e69344.
- Koetschan, C., Förster, F., Keller, A., Schleicher, T., Ruderisch, B., Schwarz, R., Müller, T., Wolf, M. & Schultz, J. 2010. The ITS2 Database III – sequences and structures for phylogeny. — *Nucleic Acids Research* 38: D275–9.
- Korkmaz, E. M., Budak, M. & Hasan, H. B. 2011. Utilization of cytochrome oxidase I in *Cephus pygmaeus* (L.) (Hymenoptera: Cephidae). — *Turk. J. Biol* 35: 713–726.
- König, K., Krimmer, E., Gantert, C., Klopfstein, S., Wendt, I., Ko, C., Baur, H., Krogmann, L. & Steidle, J. L. M. 2015. Does

- early learning drive ecological divergence during speciation processes in parasitoid wasps? — *Proceedings of the Royal Society of London B-Biological Sciences* 282: 20141850.
- Laamanen, T. R., Meier, R., Miller, M. A., Hille, A. & Wiegmann, B. M. 2005. Cladistics Phylogenetic analysis of Themira (Sepsidae : Diptera): sensitivity analysis , alignment , and indel treatment in a multigene study. — *Cladistics* 21: 258–271.
- Laurenne, N. M., Broad, G. R. & Quicke, D. L. J. 2006. Direct optimization and multiple alignment of 28S D2–D3 rDNA sequences: problems with indels on the way to a molecular phylogeny of the cryptine ichneumon wasps (Insecta: Hymenoptera). — *Cladistics* 22: 442–473.
- Lindgren, A. R. & Daly, M. 2007. The impact of length-variable data and alignment criterion on the phylogeny of Decapodiformes (Mollusca: Cephalopoda). — *Cladistics* 23: 464–476.
- Lipscomb, D. 1998. *Basics of Cladistic Analysis*. — Kompendium. George Washington University, Washington D.C.
- Lloyd, D. G., & Calder, V. L. 1991. Multi-residue gaps, a class of molecular characters with exceptional reliability for phylogenetic analyses. — *J. Evol. Biol.* 4: 9–21.
- Löytynoja, A., Vilella, A. J. & Goldman, N. 2012. Accurate extension of multiple sequence alignments using a phylogeny-aware graph algorithm. — *Bioinformatics* 28: 1684–91.
- Maddison, W. P. & Maddison, D. R. 2015. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.04. <http://mesquiteproject.org>
- Malcicka, M., Bezemer, T. M., Visser, B., Bloembergen, M., Snart, C. J. P., Hardy, I. C. W. & Harvey, J. A. 2015. Multi-trait mimicry of ants by a parasitoid wasp. — *Scientific reports* 5: 8043.
- Mason, W. R. M. 1978. Ichneumonid parasites (Hymenoptera) accidentally introduced into Canada. — *Can. Ent.* 110: 603–608.
- Mlambo, S., Sole, C. L. & Scholtz, C. H. 2015. A molecular phylogeny of the African Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae). — *Arthropod Systematics & Phylogeny* 73: 303–321.
- Morrison, D. A. 2009. Why would phylogeneticists ignore computerized sequence alignment? — *Systematic biology* 58, 150–8.
- Moulton, J. K. & Wiegmann, B. M. 2004. Evolution and phylogenetic utility of CAD (rudimentary) among Mesozoic-aged Eremoneuran Diptera (Insecta). — *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31:363–378.
- Navajas, M., Lagnel, J., Gutierrez, J. & Boursot, P. 1998. Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite Tetranychus urticae contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism. — *Heredity* 80: 742–752.
- Nielsen, E. 1928. *De Danske Edderkoppers Biologi*. — Levin & Munksgaards Forlag. København.
- Nixon, K. C., Carpenter, M. & Yark, N. 1993. On outgroups. — *Cladistics* 9: 413–426.
- Notredame, C., Higgins, D. G. & Heringa, J. 2000. T-Coffee: a novel method for fast and accurate multiple sequence alignment. — *Journal of Molecular Biology* 302: 205–217.
- van Nouhuys, S. & Kaartinen, R. 2008. A parasitoid wasp uses landmarks while monitoring potential resources. — *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences* 275: 377–385.
- Nylander, J. A. A., Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P. & Nieves-Aldrey, J. L. 2004. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. — *Systematic Biology* 53: 47–67.
- Pamilo, P. & Nei, M. 1988. Relationships between Gene Trees and Species Trees. — *Mol. Biol. Evol.* 5(5): 568–583.
- Petersen, G., Seberg, O., Aagesen, L. & Frederiksen, S. 2004. An empirical test of the treatment of indels during optimization alignment based on the phylogeny of the genus Secale (Poaceae). — *Molecular phylogenetics and evolution* 30: 733–42.
- Pichon, A., Bézier, A., Urbach, S., Aury, J., Jouan, V., Ravallec, M., Guy, J., Cousserans, F., Thézé, J., Gauthier, J., Demettré, E., Schmieder, S., Wurmser, F., Sibut, V., Poirié, M., Colinet, D., Silva, C., Couloux, A., Barbe, V., Drezen, J. & Volkoff, A. 2015. Recurrent DNA virus domestication leading to different parasite virulence strategies. — *Sci. Adv.* 1: e1501150.
- Posada, D. 2009. Selecting models of evolution. — I: Lemey, P., Salemi, M. & Vandamme, A.-M. (red.), *The Phylogenetic Handbook*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Quicke, D. L. J. 2015. *The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Systematics, Evolution and Ecology*. — John Wiley & Sons, Ltd, Chichester. 688 s.
- Quicke, D. L. J., Smith, M. A., Janzen, D. H., Hallwachs, W., Fernandez-Triana, J., Laurenne, N. M., Zaldívar-Riverón, A., Shaw, M. R., Broad, G. R., Klopstein, S., Shaw, S. R., Hrcek, J., Hebert, P. D. N., Miller, S. E., Rodriguez, J. J., Whitfield, J. B., Sharkey, M. J., Sharanowski, B. J., Jussila, R., Gauld, I. D., Chesters, D. & Vogler, A. P. 2012. Utility of

- the DNA barcoding gene fragment for parasitic wasp phylogeny (Hymenoptera: Ichneumonoidea): data release and new measure of taxonomic congruence. — *Molecular ecology resources* 12: 676–85.
- Rannala, B. & Yang, Z. 1996. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. — *Journal of Molecular Evolution* 43: 304–311.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P. D. N. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). — *Molecular Ecology Notes* 7: 355–364.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P. D. N. 2013. A DNA-based registry for all animal species: the barcode index number (BIN) system. — *PLoS One* 8: e66213.
- Rollard, C. 1988. Révision préliminaire des *Gelis* Thunberg, 1827, arachnophages et entomophages (Hymenoptera, Ichneumonidae). — *Bull. Soc. Ent. Mulhouse Avr.–Juin*: 17–24.
- Rollard, C. 1990. Approche eco-biologique de l'interaction araignée/insecte archnophage a travers l'exemple d'*Argiope bruennichi* (Ar., Argiopidae) / *Tromatobia ornata* (Hym., Ichneumonidae). — *Bull. Sooc. zool. Fr.* 115(4): 379–385.
- Ronquist, F. & Deans, A. R. 2010. Bayesian phylogenetics and its influence on insect systematics. — *Annual Review of Entomology* 55: 189–206.
- Ronquist, F., Klopfstein, S., Vilhelmsen, L., Schulmeister, S., Murray, D. L. & Rasnitsyn, A. P. 2012 a. A total-evidence approach to dating with fossils, applied to the early radiation of the Hymenoptera. — *Systematic Biology* 61(6): 973–99.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A. & Huelsenbeck, J. P. 2012 b. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. — *Systematic Biology* 61(3): 539–542.
- Rosenfeld, J. A., Payne, A. & DeSalle, R. 2012. Random roots and lineage sorting. — *Molecular phylogenetics and evolution* 64: 12–20.
- Salt, G. 1952. Trimorphism in the Ichneumonid Parasite *Gelis corruptor*. — *Quarterly Journal of Microscopical Science* 93(4): 453–474.
- San Mauro, D. & Agorreta, A. 2010. Molecular systematics: a synthesis of the common methods and the state of knowledge. — *Cellular & Molecular Biology Letters* 15:311–341.
- Sanchis, A., Michelena, J. M., Latorre, A., Quicke, D. L. J. & Belshaw, R. 2001. The Phylogenetic Analysis of Variable-Length Sequence Data : Elongation Factor-1a Introns in European Populations of the Parasitoid Wasp Genus *Pauesia* (Hymenoptera: Braconidae : Aphidiinae). — *Molecular biology and evolution* 18(1): 1117–1131.
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A. & Chen, W. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. — *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109: 6241–6.
- Schulmeister, S., Wheeler, W. & Carpenter, J. 2002. Simultaneous analysis of the basal lineages of Hymenoptera (Insecta) using sensitivity analysis. — *Cladistics* 18: 455–484.
- Schultz, J. & Wolf, M. 2009. ITS2 sequence-structure analysis in phylogenetics: a how-to manual for molecular systematics. — *Molecular phylogenetics and evolution* 52: 520–523.
- Schwarz, M. 1994. Beitrag zur Systematik und Taxonomie europäischer *Gelis*-Arten mit macropteren oder brachypteren Weibchen (Hymenoptera, Ichneumonidae). — *Linzer biol. Beitr.* 26: 381–391.
- Schwarz, M. 1995. Revision der westpaläarktischen Arten der Gattungen *Gelis* Thunberg mit apteren Weibchen und *Thaumatogelis* Schmiedeknecht (Hymenoptera, Ichneumonidae). Teil 1. — *Linzer biol. Beitr.* 27: 5–105.
- Schwarz, M. 1998. Revision der westpaläarktischen Arten der Gattungen *Gelis* Thunberg mit apteren Weibchen und *Thaumatogelis* Schmiedeknecht (Hymenoptera, Ichneumonidae). Teil 2. — *Linzer biol. Beitr.* 30: 629–704.
- Schwarz, M. 2001. Revision der westpaläarktischen Arten der Gattungen *Gelis* Thunberg mit apteren Weibchen und *Thaumatogelis* Schwarz (Hymenoptera, Ichneumonidae). Teil 4. — *Linzer biol. Beitr.* 33: 1111–1155.
- Schwarz, M. 2002. Revision der westpaläarktischen Arten der Gattungen *Gelis* Thunberg mit apteren Weibchen und *Thaumatogelis* Schwarz (Hymenoptera, Ichneumonidae). Teil 3. — *Linzer biol. Beitr.* 34: 1293–1392.
- Schwarz, M. & Shaw, M. R. 1999. Western Palaearctic Cryptinae (Hymenoptera: Ichneumonidae) in the National Museums of Scotland, with nomenclatural changes, taxonomic notes, rearing records and special reference to the British check list. Part 2. Genus *Gelis* Thunberg (Phygadeuontini: Gelina). — *Ent. Gaz.* 50: 117–142.
- Schwarz, M. & Shaw, M. R. 2000. Western Palaearctic Cryptinae (Hymenoptera: Ichneumonidae) in the National Museums of Scotland, with nomenclatural changes, taxonomic notes, rearing records and special reference to the British check list. Part 3. Tribe Phygadeuontini, subtribes Chiroticina, Acrolytina, Hemitelina and Gelina (excluding *Gelis*), with descriptions of new species. — *Ent. Gaz.* 51: 147–186.

- Shaw, M. R. 1994. Parasitoid host ranges. — I: Hawkins, B.A. & Sheehan, W. (red.), *Parasitoid Community Ecology*: 111–144. Oxford University Press, Oxford.
- Simmons, M. P. 2004. Independence of alignment and tree search. — *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31: 874–879.
- Simmons, M. P., Müller, K. F. & Norton, A. P. 2010. Alignment of, and phylogenetic inference from, random sequences: The susceptibility of alternative alignment methods to creating artifactual resolution and support. — *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57: 1004–1016.
- Smith, M. A., Eveleigh, E. S., McCann, K. S., Merilo, M. T., McCarthy, P. C. & Van Rooyen, K. I. 2011. Barcoding a quantified food web: crypsis, concepts, ecology and hypotheses. — *PloS One* 6: e14424.
- Smith, M. A., Rodriguez, J. J., Whitfield, J. B., Deans, A. R., Janzen, D. H., Hallwachs, W. & Hebert, P. D. N. 2008. Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology, and collections. — *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 12359–64.
- Steel, M. & Penney, D. 2000. Parsimony, likelihood, and the role of models in molecular phylogenetics. — *Molecular Biology and Evolution* 17: 839–850.
- Stigenberg, J. & Ronquist, F. 2011. Revision of the Western Palearctic Meteorini (Hymenoptera, Braconidae), with a molecular characterization of hidden Fennoscandian species diversity. — *Zootaxa* 3084: 1–95.
- Stigenberg, J., Boring, C. A. & Ronquist, F. 2015. Phylogeny of the parasitic wasp subfamily Euphorinae (Braconidae) and evolution of its host preferences. — *Systematic Entomology* 40: 570–591.
- Strickland, E. H. 1912. The Pezomachini of North America. — *Annals of the Entomological Society of America* 5: 113–140.
- Sundin, R. & Gärdenfors, U. 2012. *Svenska artprojektets vetenskapliga del – de första tio åren (2002–2011)*. ArtDatabanken rapporterar 12. — ArtDatabanken, SLU, Uppsala
- Taylor, H. R. & Harris, W. E. 2012. An emergent science on the brink of irrelevance: a review of the past 8 years of DNA barcoding. — *Molecular ecology resources* 12: 377–88.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. — *Nucleic Acids Research* 22: 4673–4680.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D. G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. — *Nucleic Acids Research* 25: 4876–4882.
- Thunberg, C. P. 1827. Gelis. Insecti genus descriptum. — *Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsaliensis* 9: 199–204.
- Townes, H. 1969. The genera of Ichneumonidae, part 2. — *The American Entomological Institute, Ann Arbor*. 537 s.
- Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M., Rozen, S. G. 2012. Primer3 – new capabilities and interfaces. — *Nucleic Acids Research* 40(15): e115.
- Vahtera, V. & Muona, J. 2006. The molecular phylogeny of the Miarus campanulae species group inferred from CO1 and ITS2 sequences. — *Cladistics* 22(3): 222–229.
- Varón, A., N. Lucaroni, L. Hong & W. C. Wheeler. 2013. *POY 5.0*. New York, American Museum of Natural History. Documentation by L. M. Crowley, M. Cevasco, J. S. S. Denton. <http://www.amnh.org/our-research/computational-sciences/research/projects/systematic-biology/poy>
- Vilhelmsen, L. & Turrisi, G. F. 2011. Per arborem ad astra: morphological adaptations to exploiting the woody habitat in the early evolution of Hymenoptera. — *Arthropod structure & development* 40: 2–20.
- Villers, C. de. 1789. *Caroli Linnaei entomologia, Faunae Suecicae descriptionibus*. Tomus tertius. Lugduni. 657 s.
- Visser, B., Le Lann, C., Snaas, H., Hardy, I. C. W. & Harvey, J. A. 2014. Consequences of resource competition for sex allocation and discriminative behaviors in a hyperparasitoid wasp. — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 68: 105–113.
- Völkl, W., Hübner, G. & Dettner, K. 1994. Interactions between *Alloxysta brevis* (Hymenoptera, Cynipoidea, Alloxystidae) and honeydew-collecting ants: How an aphid hyperparasitoid overcomes ant aggression by chemical defense. — *Journal of Chemical Ecology* 20(11): 2901–2915.
- Wagener, B., Reineke, A., Löhr, B. & Zebitz, C. P. W. 2006. Phylogenetic study of *Diadegma* species (Hymenoptera: Ichneumonidae) inferred from analysis of mitochondrial and nuclear DNA sequences. — *Biological Control* 37: 131–140.
- Wheeler, W. C. 1996. Optimization alignment: the end of multiple sequence alignment in phylogenetics? — *Cladistics* 12: 1–10.

- Wheeler, W. C. 2010. Distinctions between optimal and expected support. — *Cladistics* 26: 657–663.
- Wheeler, W. C., Lucaroni, N., Hong, L. & Crowley, L. M. 2015. Cladistics POY version 5: phylogenetic analysis using dynamic homologies under multiple optimality criteria. — *Cladistics* 31: 189–196.
- Wheeler, W. C., Aagesen, L., Arango, C. P., Faivovich, J., Grant, T., D'Haese, C., Janies, D., Smith, W. L., Varón, A. & Giribet, G. 2006. *Dynamic homology and phylogenetic systematics: A unified approach using POY*. — American Museum of Natural History. 365 s.
- Wirta, H. K., Hebert, P. D. N., Kaartinen, R., Prosser, S. W., Várkonyi, G. & Roslin, T. 2014. Complementary molecular information changes our perception of food web structure. — *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(5): 1885–1890.
- Zimmermann, J. 2009. *Untersuchungen zur Phylogenie der Ichneumonidae (Hymenoptera) anhand morphologischer Merkmale*. — Diplomarbeit, Johann-Friedrich-Blumenbach-Institut für Zoologie und Anthropologie der Georg-August-Universität zu Göttingen. 190 s.
- Zwart, K. W. R. 1979. Biosystematisch onderzoek aan sluipwespen. — I: H. Klomp & J.T. Wiebes (red.), *Sluipwespen in relatie tot hun gastheren*. Centrum voor Landbouwpublikaties en Landbouwdocumentatie, Wageningen. 198 s.
- Yu, D. S., van Achterberg, K. & Horstmann, K. 2005. *World Ichneumonoidea 2004. Taxonomy, biology, morphology and distribution*. — Vancouver, Canada.

S1

Innehåll

1. Extraheringsprotokoll ... i
2. PCR ... ii
3. Primers ... ii
4. Sekvensredigering ... iii
5. Sekvensanalys med POY ... iii

1. DNA-extrahering, protokoll

0. Stekelbenen i sina eppendorfrör torkas i 56°C ca 30 min eller i rumstemperatur över natten.
1. Det absolut torra benet mortlas i eppendorfröret vars spets kylts i flytande kväve.
2. 200 µl digestionsbuffert(1) tillsätts, mortla lite till.
3. Inkubation i 56° under omskakning (450 rpm) över natten.
4. Vortexera, sedan centrifugering 13 000 rpm 5 min.
5. Pipettera supernatanten till nya rör.
6. Tillsätt 8 µl NaCl 2M, låt stå ett par min i rumstemperatur.
7. Tillsätt 8 µl NaAc 3M, blanda, förvara 15 min i -20°C.
8. Centrifugering 13 000 rpm, 20 min i +4°C.
9. Pipettera supernatanten till nya rör.
10. Tillsätt 200 µl ren etanol ur frysen (-20°C), blanda, förvara 90–120 min i -20°C.
11. Centrifugering 13 000 rpm, 20 min i +4°C.
12. Avlägsna etanolen. Tillsätt 250 µl 70 % etanol ur frysen (-20°C).
13. Centrifugering 13 000 rpm, 10 min i +4°C.
14. Avlägsna etanolen, låt torka i rumstemperatur över natten.
15. Resuspendera i 30 H₂O. Förvara i -20°C.

Modifierat från OpenWetWare contributors/Marcus McHale: *DNA extraction – Salting Out* (http://openwetware.org/index.php?title=DNA_extraction_-_Salting_Out&oldid=368452, sidversion 368452). Jag infogade punkt 6 i protokollet eftersom bufferten innehåller SDS: NaCl ser till att SDS inte precipiterar tillsammans med DNA:t när etanolen tillsätts (bitesizebio.com/253/the-basics-how-ethanol-precipitation-of-dna-and-rna-works/).

I punkt 6–9 precipiteras protein och cellrester, i punkt 10–14 precipiteras och tvättas nukleinsyror.

Låg temperatur gynnar precipitation av längre stycken av DNA, och ITS2-sekvenserna kunde bli upp mot 900 bp.

Men det går också långsamt, därför har jag i punkt 10 förlängt precipitationstiden 6–9 gånger jämfört med McHales protokoll.

1) Digestionsbuffert

- 10 mM NaCl
- 10 mM Tris (pH 8,0)
- 10 mM EDTA (pH 8,0)
- 0,5% SDS
- H₂O
- Proteinas K 20 mg/ml

P.g.a. låga DNA-koncentrationer provade jag även ett annat utsaltningsprotokoll och tre kommersiella extraheringspaket: GeneJet (Fermentas), DNEasy Blood&Tissue Kit (Qiagen) och Phire Animal Tissue Direct PCR Kit (Finnzymes/Thermo Fisher). Eftersom dessa inte gav högre DNA-halt, och utsaltnings med god marginal är den penningmässigt förmånligaste metoden, beslöt jag att fortsätta med det smidigaste utsaltningsprotokollet.

2. PCR

För PCR av ITS2 använde jag 2 µl extraherat DNA per 20 µl PCR-reaktion.

1 µl PCR-produkt från första omgången (ITS2A/B) amplifierades med dessa (ITS2GIF/R).

PCR-reaktionsblandning

11,9 H₂O
2,5 MgCl 25 mM
1,5 buffert 10×
1,5 dNTP (spädd 1:10 i MQ)
1,0 primer F
1,0 primer R
0,1 Taq 5u
2 templat

PCR-protokoll, ITS2

94°C 4'30"
35× // 95°C 30"
53°C 30"
72°C 90" //
72°C 3'30"

För CAD använde jag samma protokoll, först med temperaturgradient 50–66,8°C. Eventuellt kan en annealing temperature på 52°C vara att rekommendera, men framgången var alltså på det hela taget mycket klen.

Jag kontrollerade amplifieringsframgången med gel-elektrofores och putsade lyckade PCR-produkter med AMPure Bead Purification (Agencourt).

Amplikonerna sekvenserades i båda riktningarna med en ABI 3730 Sangersekvenseringsmaskin och Big Dye terminator-paket (Thermo Fisher).

PCR-mix för ABI 1× (10)
2 buffert
1,3 primer
0,25 BigDye
PCR-produkt + H₂O till 10

3. Primers

Primers syntetiserades av Oligomer Oy, Helsingfors.

ITS

ITS2A 5'-GGG TCG ATG AAG AAC GCA GC-3'

ITS2B 5'-ATA TGC TTA AAT TCA GCG GG-3'

(Navajas m.fl. 1998)

ITS2GIF 5'-GCG AGC AGT AAC GGA TGA GAG-3'

ITS2GIR 5'-GTC CAC GGA TGC AAT TCC CG-3'

(ITS2 Gelis Internal Forward/Reverse / IÖ oktober 2012)

COI

LepF1 ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG

LepR1 TAAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA

(Hebert m.fl. 2004)

CAD

CADfor9 5'-GAT GAA RAG YGT NGG NGA RGT NAT GGC-3'

CADlchnRb1 5'-ACC AAT SAC CAT CGT RTA RTT TCC-3'

(Klopfstein m.fl. 2013)

4. Sekvensredigering

Sekvenserna redigerades i Geneious. Jag kombinerade forward- och reverse-sekvenserna för att 1) få ett längre stycke av målsekvensen än vad som i allmänhet går att utläsa ur sekvenseringen av bara den ena riktningen och 2) med hjälp av den komplementära DNA-strängen avgöra identiteten hos tvetydiga nukleotider: om kromatogrammet för ena strängen t.ex. visar lika höga kurvor för A och T, är det fullt möjligt att den kompletterande sekvensen ger ett entydigt T. I fall som förblev tve- eller mångtydiga använde jag IUPAC-beteckningar. Konsensussekvenserna exporterades från Geneious till fasta-format.

5. Sekvensanalys med POY

Viktningen grundas därför helst på en känslighetsanalys (sensitivity analysis) (Wheeler 1995, Schulmeister m.fl. 2002), där två eller flera datapartitioner (morfologiskt + molekylärt data, eller olika gener) analyseras med en uppsättning olika kostnadsmatriser. Från de resulterande trädens längd beräknas karaktärernas överensstämmelse mellan de olika analyserna. Man väljer den kombination av parametervärden som ger den bästa överensstämmelsen, och den kombinerade analys som använder den bästa kostnadsmatrisen anses vara den bästa fylogenetiska hypotesen eftersom den minimerar den homoplasi som uppstår när man kombinerar olika data. Känslighetsanalysen visar även vilka klader som är stabila, dvs återkommer trots förändrade parametervärden. Stabilitet är ett mått på tillförlitlighet (Schulmeister m.fl. 2002).

I en känslighetsanalys prövades 4 olika kostnadsmatriser för transitioner:transversioner:indels, med proportionerna 1:1:1, 1:2:2, 1:4:4, 1:2:4 och 1:4:2. Kostnadsmatriser med mer extrema värden har använts i andra studier, men de bästa träderna har konsekvent hittats med moderat viktning (Petersen m.fl. 2004). Med anledning av ITS2-sekvensernas varierande längd prövade jag dessutom kraftig nedviktning av luckor i början och slutet av sekvenser för kostnadsproportionerna 1:2:4 och 1:4:2 (då enligt parametervärdena 50:100:200:1 och 50:200:100:1, där 1 är kostnaden för ändluckor, enligt instruktion av Ward Wheeler på ett nätforum för POY-användare, groups.google.com/forum/?hl=en#!forum/poy4 den 21.4.2007).

Karaktärsinkongruens för kostnadsmatriserna utvärderades med

$RILD \text{ (Rescaled Incongruence Length Difference)} = (\text{Length combined} - \sum \text{Length individual data}) / (\text{Max length combined} - \sum \text{Length individual sets})$

Maxlängder erhöles med kommandot transform(weightfactor:-1) enligt instruktion av Andres Varon på POY-forumet den 28.7.2008. Analyser gjordes som variationer på följande tema:

```
transform(tcm:("s50t100i200.mat"),td:(1,1,1,1,1),ti:(1,1,1,1,1))
build(100)
swap(tbr,sectorial,drifting:(0.5,2.0))
fuse(replace:best)
```

build(100) innebär att hundra slumpmässiga kladogram konstrueras och följs av omkombinationer av grenar. Kommandona drifting och ratchet gör det lättare för algoritmen att bryta sig ut lokala optima, fuse byter ut och kombinerar resultat från många lokala optima. Dessa rekommenderas för att på bästa sätt hitta optimala träd, gärna i kombination med hopfogningsalternativet sectorial (Wheeler m.fl. 2006, Giribet 2007). Stöd för trädets grenar utvärderades med bootstrap resampling på nukleotider i implicit linjering, med en extra omgång byten för att nå lokalt maximum innan stödvärdena beräknas, enligt Varón m.fl. (2013):

```
transform(all,(static_approx))
swap()
calculate_support(bootstrap)
```

coll. no*	species	sex	loc.	coord.	habitat	date	leg.	det.	ITS2	COI, BOLD Accession No.	CAD	voucher location
-	<i>Gelis proximus</i> (Förster 1850)	F	A. Oberösterreich / Kobernauser Wald / Frauschereck	48°06'N 13°18'E		14.vi.2008	M.&J. Schwarz	M. Schwarz	-	GTRP065-13 (barcode failed)		Coll. Schwarz; Biologiezentrum, Linz, Austria
-	<i>Gelis spurius</i> (Förster, 1850)	F	A. Oberösterreich, Linz-Dornach	48°20'N 14°18'E		2001	M. Schwarz	M. Schwarz	x	GTRP066-13		Coll. Schwarz; Biologiezentrum, Linz, Austria
1002 1369	<i>Gelis fallax</i> (Förster 1850)	F	SE Vr, Munkfors, Ransäter	N66°36.454' E13°69.030'	Rudstorp, Sandy railway embankment through pasture-land.		Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP194-13 (barcode failed)		NRM
1002 1375	<i>Gelis trux</i> (Förster, 1850)	F	SE Vr, Munkfors, Ransäter	N66°36.454' E13°69.030'	Rudstorp, Sandy railway embankment through pasture-land.	07.vii - 15.vii.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP195-13		NRM
1007 1984	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	SE BD, Kiruna, Abisko NP.	68° 21,648'N 18° 43,244'E	Bare mountain above tree limit, 900 m.a.s.l.	2005.vii.21-2005.vii.27	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP067-13		NRM
1007 1988	<i>Gelis glacialis/nitidus</i>	F	SE BD, Kiruna, Abisko NP.	68° 21,648'N 18° 43,244'E	Bare mountain above tree limit, 900 m.a.s.l.	2005.viii.17-2005.viii.31	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP196-13		NRM
12 175	<i>Gelis cayennator</i> (Thunberg 1822)	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	20.vii - 02.viii.2003	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP206-13 (barcode failed)		NRM
12 178-0	<i>Gelis notabilis</i> (Förster 1850)	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	25.viii - 19.ix.2003	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP170-13 (barcode failed)		NRM
12 178-1	<i>Gelis ?humipennis</i>	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	25.viii - 19.ix.2003	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP171-13 (barcode failed)		NRM
12 178-2	<i>Gelis</i> sp.	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	25.viii - 19.ix.2003	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP172-13 (barcode failed)		NRM
12 178-3	<i>Dichrogaster</i> sp.	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	25.viii - 19.ix.2003	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	-		NRM
12 895-1	<i>Gelis rufipes</i> (Förster 1850)	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	19.viii - 28.viii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP197-13 (barcode failed)		NRM
12 895-2	<i>Gelis micurus</i> (Förster 1850)	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	19.viii - 28.viii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP068-13		NRM
12 896	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	28.viii - 11.ix.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP064-13		NRM
12 896-2	<i>Gelis</i> sp., 'bicolor-Gruppe'	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	28.viii - 11.ix.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP173-13 (barcode failed)		NRM
12 896-3	<i>Gelis obscuripes</i> Horstmann 1986	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable.	28.viii - 11.ix.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP048-13		NRM
12 898	<i>Gelis fallax</i> (Förster 1850)	F	SE Sö, Trosa, Hunga Södergård	N58°55.244' E17°31.274'	Tall grass close to pile of manure behind stable. Next to old cellar in Norway spruce forest w. big harvested ashes.	02.x - 31.x.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP175-13 (barcode failed)		NRM
17 968-1	<i>Gelis</i> sp.	F	SE Sm, Gränna, Lönnemålen.	N58°02.935' E14°34.382'		13.vii - 20.viii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP177-13 (barcode failed)		NRM
22 1314-1	<i>Gelis cayennator</i> (Thunberg 1822)	F	SE ÖI, Mörbylånga, Gamla Skogsby (Kalkstad).	N56°37.002' E16°30.457'	Meadow with bushes.	15.vi - 29.vi.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP178-13		NRM
22 1314-2	<i>Gelis</i> sp.	F	SE ÖI, Mörbylånga, Gamla Skogsby (Kalkstad).	N56°37.002' E16°30.457'	Meadow with bushes.	15.vi - 29.vi.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP179-13 (barcode failed)		NRM
22 1314-3	<i>Gelis longicauda</i> (Thomson 1884)	F	SE ÖI, Mörbylånga, Gamla Skogsby (Kalkstad).	N56°37.002' E16°30.457'	Meadow with bushes.	15.vi - 29.vi.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP180-13		NRM
22 1729-3	<i>Gelis trux</i> (Förster, 1850)	F	SE ÖI, Mörbylånga, Gamla Skogsby (Kalkstad).	N56°37.002' E16°30.457'	Meadow with bushes.	28.vi - 03.vii.2006	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP181-13		NRM
22 1730-1	<i>Gelis cayennator</i> (Thunberg 1822)	F	SE ÖI, Mörbylånga, Gamla Skogsby (Kalkstad).	N56°37.002' E16°30.457'	Meadow with bushes.	03.vii - 20.vii.2006	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP182-13		NRM
28 1469	<i>Gelis areator</i> (Panzer, 1804)	F	Go, Gotland, Roleks	N57°32.207' E18°20.273'	Grazed calcareous pine forest.	02.ix-08.xi.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP070-13 (barcode failed)		NRM
29 1391	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	SE Go, Gotland, Rembs	N56°56.036' E18°16.127'	Lichen pine forest.	09.iv-06.v.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP071-13		NRM
34 1096	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	SE Ha, Laholm, Mästocka ljunghed	N56°36.831' E13°14.026'	Calluna heath, NE edge.	14.ix-24.ix.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP072-13 (barcode failed)		NRM
34 1098-1	<i>Gelis areator</i> (Panzer, 1804)	F	SE Ha, Laholm, Mästocka ljunghed	N56°36.831' E13°14.026'	Calluna heath, NE edge.	14.ix-24.ix.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP073-13		NRM
35 559	<i>Gelis spurius</i> (Förster 1850)	F	SE Ha, Halmstad, Gårdshult, Buskastytcket.	N56°41.693' E13°09.030'	Moist hay meadow	05.ix - 29.ix.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP004-13 (barcode failed)		NRM
38 1449	<i>Gelis kiesenwetteri</i> (Förster 1850)	F	SE Sk, Tomelilla, Drakamöllan	N55°45.706' E14°07.068'	Agrostis capillaris heath.	02.vii - 09.viii.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP184-13		NRM
40 1146	<i>Gelis cayennator</i> (Thunberg 1822)	F	SE , Sk, Simrishamn, Stenshuvuds NP	N55°39.683' E14°16.124'	Hornbeam forest.	13.vii - 13.viii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP076-13 (barcode failed)		NRM
41 1157	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	M	SE Sm, Gnosjö, Store mosse, Kittlakull.	N57°17.234' E13°55.148'	Bog.	09.vii - 23.viii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP186-13		NRM
41 1157-2	<i>Gelis cf. mitis/problemator</i> Schwarz 1994 / Aubert 1989	F	SE Sm, Gnosjö, Store mosse, Kittlakull.	N57°17.234' E13°55.148'	Bog.	09.vii - 23.viii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP188-13		NRM
41 1160	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schränk 1781)	F	SE Sm, Gnosjö, Store mosse, Kittlakull.	N57°17.234' E13°55.148'	Bog.	06.viii - 20.viii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	-		NRM
41 1777-2	<i>Gelis bicolor</i> (Villers, 1789)	F	SE Sm, Gnosjö, Store mosse, Kittlakull.	N57°17.234' E13°55.148'	Bog.	05.vi - 20.vi.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	-		NRM
41 1779	<i>Gelis bicolor</i> (Villers, 1789)	F	SE Sm, Gnosjö, Store mosse, Kittlakull.	N57°17.234' E13°55.148'	Bog.	17.vii - 03.viii.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP079-13 (barcode failed)		NRM
41 643	<i>Gelis vagabundus</i> (Förster 1850)	F	SE Sm, Gnosjö, Store mosse, Kittlakull.	N57°17.234' E13°55.148'	Bog.	17.vii - 03.viii.2005	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP199-13 (barcode failed)		NRM
42 650	<i>Gelis</i> sp., 'bicolor-Gruppe'	F	Hr Härejalden, Sänfjället, Nyvallens fåbod	N62°19.001' E13°34.113'	Alpine birch and spruce wood.	21.v-17.vi.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP063-13 (barcode failed)		NRM
43 1168-1	<i>Gelis areator</i> (Panzer, 1804)	F	SE Hs, Hudiksvall, Stensjön-Lomtjärn, Stensjön	N62°08.420' E16°17.166'	Marsh pine wood close to bog.	16.vi - 30.vi.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP085-13		NRM
43 1168-2	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schränk 1781)	F	SE Hs, Hudiksvall, Stensjön-Lomtjärn, Stensjön	N62°08.420' E16°17.166'	Marsh pine wood close to bog.	16.vi - 30.vi.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP086-13 (barcode failed)		NRM
43 1169-2	<i>Gelis bicolor</i> (Villers, 1789)	F	SE Hs, Hudiksvall, Stensjön-Lomtjärn, Stensjön	N62°08.420' E16°17.166'	Marsh pine wood close to bog.	30.vi - 14.vii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. 2012	x	-		NRM
46 1199	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	SE AC, Sorsele, Ammarnäs naturreservat, Tjulträsklaspen	N65°58.007' E16°03.630'	Alpine birch wood.	28.vi - 15.vii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP192-13		NRM
46 690 120 6	<i>Gelis ?bicolor</i> (Villers, 1789)	F	SE AC, Sorsele, Ammarnäs naturreservat, Tjulträsklaspen	N65°58.007' E16°03.630'	Alpine birch wood.	25.x - 20.xii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP087-13		NRM
47 697	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	SE BD, Jokkmokks kommun, Muddus nationalpark	N66°46.172' E20°06.683'	Bilberry-type spruce (Picea) forest.	14.ix - 15.xi.2003	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP213-13		NRM
50 719-1	<i>Gelis hortensis</i> (Christ 1791)	F	SE BD, Kiruna, Abisko NP	N68°21.232' E18°46.929'	Dry alpine birch wood.	23.ix - 17.x.2003	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP193-13 (barcode failed)		NRM

* SMTP-specimens: Trap ID | Coll. event ; e.g. 55|1264-3: Trap 55, collection event #1264; '3' = IO's numbering of specimens w same coll ID. NRM = Naturhistoriska riksmuseet, Stockholm.

coll. no*	species	sex	loc.	coord.	habitat	date	leg.	det.	ITS2	COL. BOLD Accession No.	CAD	voucher location
55 1264-1	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	SE Vb, Vindeln, Kulbäckslidens försöksparck, Granliden	N64°11.554' E19°34.017'	80+ yr old spruce forest.	24.ix - 15.x.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP005-13		NRM
55 1264-3	<i>Phygadeuontini</i> sp.	F	SE Vb, Vindeln, Kulbäckslidens försöksparck, Granliden	N64°11.554' E19°34.017'	80+ yr old spruce forest.	24.ix - 15.x.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP198-13		NRM
6 373-1	<i>Gelis obscuripes</i> Horstmann 1986	F	SE Up, Älvkarleby, Marma skjutfält.	N60°31.456' E17°27.089'	Dry meadow w. birch.	09.ix - 20.x.2003	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012, M. Schwarz conf.	-	GTRP088-13		NRM
6 373-2	<i>Gelis areator</i> (Panzer, 1804)	F	SE Up, Älvkarleby, Marma skjutfält.	N60°31.456' E17°27.089'	Dry meadow w. birch.	09.ix - 20.x.2003	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP090-13 (barcode failed)		NRM
60 1299	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	SE Vb, Vindeln, Kulbäckslidens försöksparck	N64°10.716' E19°35.192'	Dense 20-25 yr old mixed coniferous forest	24.ix - 15.x.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP091-13		NRM
7 862-3	<i>Gelis spurius</i> (Förster, 1850)	F	SE Up, Älvkarleby, Båtfors.	N60°27.639' E17°19.069'	Pine forest w. bilberry.	20.ix - 04.x.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	x	GTRP092-13		NRM
8 1560-2	<i>Gelis longicauda</i> (Thomson 1884)	F	SE Up, Håbo, Biskops-Armö, northern beach.	N59°40.328' E17°30.051'	Elm grove.	29.vii - 08.viii.2004	Swedish Malaise Trap Project	I. Österblad 2012	-	GTRP169-13 (barcode failed)		NRM
G106	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Sa: Heinävesi, Pölläkkä	6909996:3593281	Slope, Kotaselkä lake. Betula dominated open herb-rich heath forest. Beaten from spruce.	14.6.2008	I. Österblad	I. Österblad 2012	-	GTRP006-13		Coll. Österblad
G130	<i>Gelis spurius</i> (Förster 1850)	F	FI Kb: Kontiolahti, Kolvananuuro		Mature Myrtillus-forest, beaten from spruce.	13.6.2012	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	-		Coll. Österblad
G134	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	FI Ks: Taivalkoski	72773:5563	Ex egg sac, <i>Ero furcata</i> . Heap of branches at edge of bog.	5.8.2008	Antero Moilanen	I. Österblad 2012	-	GTRP007-13		Coll. Österblad
G137	<i>Gelis spurius</i> (Förster 1850)	F	FI Ab: Korpo, Wattkast	60.192N 21.629E	Oak #420.	11.9.2008	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP098-13		Coll. Österblad
G149	<i>Gelis</i> sp. n., <i>bicolorgruppen</i>	F	FI N: Kaunissaari	60.3553N 26.7612E	Moist meadow fragment, gravel road in Pinus-dominated Myrtillus-forest.	10.6.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP027-13		Coll. Österblad
G151	<i>Gelis proximus</i> (Förster 1850)	F	FI N: Kaunissaari	6694:3487	Gravel road in mixed heath forest; <i>V.myrtillus</i> , <i>Calluna</i> , <i>V.vitis-idaea</i> , <i>Poaceae</i> , <i>Phegopteris connectilis</i> . Swept.	10.6.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. 2012	x	GTRP008-13		Coll. Österblad
G152	<i>Gelis</i> sp. n., <i>bicolorgruppen</i>	F	FI N: Kaunissaari	6694132:3487595	Stone field (ancient beach), surrounded by mixed forest.	8.6.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP204-13		Coll. Österblad
G175	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Oa: Korsholm, Valsörarna	7051183:3204836	Coastal heath; <i>Empetrum</i> , <i>Juniperus</i> . Swept. (Jussgrund)	15.7.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012	-	GTRP059-13		Coll. Österblad
G177	<i>Gelis bicolor</i> (Villers, 1789)	F	FI Oa: Korsholm, Valsörarna	7051:3204	Äbbskär Coastal <i>Calluna-Empetrum</i> heath.	17.6.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. x		GTRP009-13		Coll. Österblad
G187	<i>Gelis trux</i> (Förster, 1850)	F	FI Oa: Korsholm, Valsörarna	63°25.5'N 21°5.35'E	Kummelskär Bouldery coastal heath; <i>Juniperus</i> , <i>V.vitis-idaea</i> & <i>myrtillus</i> .	7.8.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. 2012	x	GTRP100-13		Coll. Österblad
G188	<i>Gelis proximus</i> (Förster 1850)	F	FI Oa: Korsholm, Valsörarna	63°25.5'N 21°5.35'E	Kummelskär Bouldery coastal heath; <i>Juniperus</i> , <i>V.vitis-idaea</i> & <i>myrtillus</i> . Swept at night.	7.8.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. 2012	x	GTRP010-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G191	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	FI Oa: Korsholm, Valsörarna	63.431N 21.06E	Äbbskär Coastal <i>Calluna-Empetrum</i> heath.	7.8.2009	I. Österblad	M. Schwarz 2012	x	GTRP011-13		Coll. Österblad
G195	<i>Thaumetogelis sylvicola</i> (Förster 1850)	F	FI N: Kaunissaari	76694132:3487595	?Stone field (ancient beach), surrounded by mixed forest.	8.6.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP101-13	x	Coll. Österblad
G196	<i>Gelis proximus</i> (Förster 1850)	F	FI N: Kaunissaari, Vironniemi	6694605:3487697	Pinus-Myrtillus-forest, on ground under piece of bark.	11.6.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP102-13		Coll. Österblad
G199	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	SE Up, Uppsala, Gottsunda	N59° 48' 28" E17° 36' 2.16"	Edge of herb-rich forest. Beaten from oak.	7.9.2009	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. x		GTRP012-13		Coll. Österblad
G206	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	SE Vb, Vindeln, Åheden	N64°13.579' E19°46.209'	N-facing slope towards stream, beaten from spruce.	9.5.2010	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. x		GTRP106-13		Coll. Österblad
G207	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	SWE Vb Vindeln, Åheden	64°13.579' 19°46.209'	N-facing slope towards stream, beaten from spruce.	9.5.2010	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. x		GTRP013-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G216	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Oa: Korsholm, Iskmo		Spruce dominated Myrtillus-forest w old aspen.	22.5.2010	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP014-13		Coll. Österblad
G217	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Oa: Korsholm, Iskmo		Spruce dominated Myrtillus-forest w old aspen.	22.5.2010	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	-	GTRP015-13		Coll. Österblad
G218	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Oa: Korsholm, Iskmo		Spruce dominated Myrtillus-forest w old aspen.	22.5.2010	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	-	GTRP016-13		Coll. Österblad
G219	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Oa: Korsholm, Södra Jungsund	63.1871N 21.5747E		21.5.2010	I. Österblad	I. Österblad 2012	-	GTRP017-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G220	<i>Phygadeuon</i> sp.	F	SE Vb Vindeln, Åheden	64°13.579' 19°46.209'	N-facing slope towards stream, beaten from spruce.	9.5.2010	I. Österblad	M. Schwarz 2012	-	GTRP018-13		Coll. Österblad
G225	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Oa: Korsholm, Valsörarna	704919:320427	Beaten from pine on rocky, sparsely wooded heath.	6.8.2010	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. 2012	-	GTRP019-13		Coll. Österblad
G229	<i>Gelis micrurus</i> (Förster 1850)	F	FI Oa: Korsholm, Valsörarna	704883:320456	Stony beach; <i>Juniperus communis</i> , <i>Betula</i> sp., <i>Poaceae</i> spp. Beneath wood.	6.8.2010	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	-		Coll. Österblad
G232	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schrank 1781)	F	FI Oa: Korsholm, Valsörarna	704883:320456	On boulder at waterline.	6.8.2010	I. Österblad	I. Österblad 2012	-	GTRP093-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G235	<i>Theroscopus esenbeckii</i> (Gravenhorst 1815)	F	FI Oa: Korsholm, Valsörarna	705097:320379	(Tuorelaskatan). <i>Rubus vitis-idaea</i> , <i>Poaceae</i> spp, <i>Cladonia</i> spp. Under stone.	8.8.2010	I. Österblad	M. Schwarz 2012	x	GTRP107-13		Coll. Österblad
G237	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Oa: Korsholm, Södra Jungsund	63.1871N 21.5747E	Garden in Myrtillus-forest, on building.	13.8.2010	N. R. & F. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP108-13		Coll. Österblad
G241	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schrank 1781)	F	FI N: Hangö, Oset	664594:328671	Ex exposed spider egg sac found on branch, pine/spruce forest, edge of bog.	1.8.2010	N. R. & F. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP020-13		Coll. Österblad
G243	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI N: Hangö, Oset	664594:328671	Ex exposed spider egg sac found on branch, pine/spruce forest, edge of bog.	1.8.2010	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP109-13		Coll. Österblad
G246	<i>Thaumetogelis audeax</i> (Olivier 1792)	F	FI Ab: Raseborg, Trollböle	66585:32981	E <i>Agroeca</i> (?) <i>brunnea</i> egg sac in low vegetation, glade by gravel road in mixed forest.	7.7.2010	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP221-13		Coll. Österblad
G262	<i>Gelis ?bicolor</i> (Villers, 1789)	F	FI Ks: Kuusamo, Ruka	734383:359665	Sparse Myrtillus-forest, W-slope to lake. Also <i>Betula</i> , <i>Salix</i> , <i>Trientalis</i> , <i>R.tomentosum</i> . Beaten from spruce.	14.6.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP110-13		Coll. Österblad
G263	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schrank 1781)	F	FI Oa: Korsholm, Södra Jungsund	63.1871N 21.5747E	Garden in spruce dominated Myrtillus-forest.	24.6.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012	-	GTRP021-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G268	<i>Gelis melanogaster</i> (Thomson 1884)	F	FI Ks: Kuusamo, Kiutakängäs		Ex ichneumonid cocoon, vertical rock wall adjacent to stream.	15.6.2011	N. R. Fritzen & I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP047-13		Coll. Österblad
G270	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Ks: Kuusamo, Kiutakängäs		Ex ichneumonid cocoon, vertical rock wall adjacent to stream.	15.6.2011	N. R. Fritzen & I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP207-13		Coll. Österblad
G281	<i>Gelis melanogaster</i> (Thomson 1884)	F	FI Oa: Korsholm, Grönvik	N 63° 11.666' E 21° 33.01'	Ex cocoon on boat shed, sheltered beach, meadow/deciduous grove fragments.	14.7.2011	I. Österblad	M. Schwarz 2012	x	GTRP217-13	x	Coll. Österblad

* SMTP-specimens: Trap ID | Coll. event ; e.g. 55|1264-3: Trap 55, collection event #1264; '3' = IO's numbering of specimens w same coll ID. NRM= Naturhistoriska riksmuseet, Stockholm.

coll. no*	species	sex	loc.	coord.	habitat	date	leg.	det.	ITS2	COI, BOLD Accession No.	CAD	voucher location
G282	<i>Gelis discedens</i> (Forster, 1850)	F	FI Om: Kalajoki, Letonokka	7135.3347	Above Leymus-Hieracium-Lathyrus-line; moist area with stable substrate. J. gerardii, Myrica gale, Salix sp, Parnassia palustris, Rhinanthus serotinus, Carex.	21.7.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP114-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G284	<i>Gelis hortensis</i> (Christ 1791)	F	FI Om: Kalajoki, Vihaslahti	7132.3347	Moist meadow; Salix sp, Alnus incana, Potentilla palustris, Sphagnum sp, Equisetum fluviatile, Myrica gale, Molinia caerulea, Peucedanum palustre, Vaccinium oxycoccos.	21.7.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. 2012	x	GTRP219-13	x	Coll. Österblad
G285	<i>Gelis discedens</i> (Forster, 1850)	F	FI N: Tåktom	66414.32783	E Tetragnatha sp egg sac on Phragmites australis. Sheltered, tall seashore meadow; Thalictroflavum, Lysimachia vulgaris.	6.7.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP022-13		Coll. Österblad
G289	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	SWE Gotland, Burgsvik	56.9507°N 18.2115°E	Edge of forest/bog. Beaten from pine.	15.7.2011	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf.	x	GTRP023-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G29	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	SE ÖL Sandby, Sandviken.	56.89N 16.875E	Heath shore, beaten from Juniperus.	38935	I. Österblad	I. Österblad 2012	-	GTRP024-13		Coll. Österblad
G290	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	SE Gotland, Burgsvik	56.9507°N 18.2115°E	Edge of forest/bog. Beaten from pine.	15.7.2011	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP060-13		Coll. Österblad
G294	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schrank 1781)	F	FI Oa: Korsholm, Södra Jungsund	63.1871N 21.5747E	Edge btw garden / spruce dominated Myrtillus-forest.	15.7.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012	-	-		Coll. Österblad
G295	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schrank 1781)	F	FI Oa: Korsholm, Södra Jungsund	63.1871N 21.5747E	E. Agroeca (?) brunnea egg sac. Edge btw garden / spruce dominated Myrtillus-forest.	30.7.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	-		Coll. Österblad
G308	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schrank 1781)	F	FI Oa: Korsholm, Södra Jungsund	7020789:3227307	Garden in spruce dominated Myrtillus-forest, on Ribes nigrum.	8.8.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012	-	-		Coll. Österblad
G310	<i>Gelis acarorum</i> (Linnaeus, 1758)	F	FI Ab: Hangö, Stenskär	6633479:3296450		6.7.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf.	x	GTRP001-13		Coll. Österblad
G311	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Ab: Korpo, Wattkast	60.19590138N 21.64523206E	Mixed forest. Oak #360.	5.9.2011	I. Österblad	I. Österblad 2012	-	-		Coll. Österblad
G316	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schrank 1781)	F	FI Ab: Korpo, Wattkast	60.19274N 21.61996E	Glade in coastal mixed forest; pine, Betula, Alnus, Quercus, Poaceae, Juncus.	5.9.2011	R. Kaartinen, F. Antell & M. Smalén	I. Österblad 2012	-	-		Coll. Österblad
G318	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	SE Stora Karlsö		Deciduous grove. Swept.	11.8.2011	M. Forshage	I. Österblad 2012	-	GTRP031-13		Coll. Österblad
G324	<i>Gelis acarorum</i> (Linnaeus 1758)	F					I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf	x	-		Coll. Österblad
G328	<i>Gelis cf. mitis/problemator</i> Schwarz 1994 / Aubert 1989	F	FI St: Pori		Reared from spider nest in Phragmites australis inflorescence, sea shore.	autumn 2011	R. Pajarre	I. Österblad 2012	x	GTRP116-13		Coll. Österblad
G329	<i>Thaumetogelis sylvicola</i> (Forster 1850)	F	FI Oa: Kurikka, Lintuneva	695402:324442	Pine bog, on ground.	18.5.2011	N. R. Fritzen	M. Schwarz 2012	x	GTRP032-13		Coll. Österblad
G376	<i>Gelis ?bicolor</i> (Villers, 1789)	F	SE Hls, Söderhamn, Ålsjön NR	N61.2727 E17.044		21.5.2007	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP117-13		Coll. Österblad
G381	<i>Gelis ?bicolor</i> (Villers, 1789)	F	SE Hls, Söderhamn, Ålsjön NR	N61.2727 E17.044		21.5.2007	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP033-13		Coll. Österblad
G384	<i>Gelis bicolor</i> (Villers 1789)	F	SE Hls, Söderhamn, Ålsjön NR	N61.2727 E17.044		21.5.2007	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP034-13		Coll. Österblad
G39	<i>Gelis discedens</i> (Forster, 1850)	M	SE LU/Nb Kalix, Bjumisträsk.	N65.8670° E23.2551°	Lake shore, on Salix; reared from egg sac of Tetragnatha [visited by G38].	38892	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP264-13		Coll. Österblad
G390	Phygadeuontini sp.	F	FI N: Karjalohja, Karkali	6681:3324	Mixed forest w/ C.avellana, old Populus tremula, T.cordata. Emergence trap on Tilia.	10-28.8.2006	G Ståhls, J Jakovlev	I. Österblad 2012	x	GTRP220-13		Coll. Österblad
G391	<i>Gelis albipalpus</i> (Thomson 1884)	F	FI N: Karjalohja, Karkali	6681:3324	Mixed forest w/ C.avellana, old Populus tremula, T.cordata. Emergence trap on Tilia.	10-28.8.2006	G Ståhls, J Jakovlev	I. Österblad 2012	x	GTRP208-13		Coll. Österblad
G397	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Ab: Turku, Ruissalo			17.4.2012	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP035-13		Coll. Österblad
G398	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	FI Ab: Turku, Ruissalo			17.4.2012	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	-	GTRP046-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G399	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	FI N: Helsinki, Viikki	N60°12.885' E25°01.401	Forest fragment w spruce, pine, birch, rowan, moss, grass, A.nemorosa. Beaten from spruce.	28.4.2012	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP036-13		Coll. Österblad
G400	<i>Gelis spurius</i> (Forster 1850)	F	N: Helsingfors, Viksbacka	667979x:338844x	Park. On ground.	22.4.2012	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP120-13		Coll. Österblad
G401	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	ROMANIA Sucavea, nr Şaru Dornei Neavra Saralul	47°15'38"N 25°21'10"E	Peat bog, mesophilic grassland; Picea, Salix, Betula. Swept. 900 m	3.vii.2011	J. Noyes	I. Österblad 2012	-	GTRP236-13		Coll. Österblad
G402	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	NO Sogn og Fjordane, Luster, Bargarden Nat. Res.	N 61°26'55.1" E 07°29'06.3"	119 m	7.7-31.8.2011	Andrei Humala & Aleksey Rechshikov	I. Österblad 2012	x	GTRP055-13		Coll. Österblad
G403	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	NO Aust-Agder, Lillesand, Vestre Grimevann.	58°19'23.15"N 8°20'09.09"E	Malaise trap, lake shore.	29.vi-23.viii.2011	Andrei Humala & Aleksey Rechshikov	I. Österblad 2012	x	GTRP237-13	x	Coll. Österblad
G404	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	NO Aust-Agder, Lillesand, Vestre Grimevann.	58°19'23.15"N 8°20'09.09"E	Malaise trap, lake shore.	29.vi-23.viii.2011	Andrei Humala & Aleksey Rechshikov	I. Österblad 2012	x	GTRP056-13		Coll. Österblad
G405	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	NO Vest-Agder, Farsund, Listeid Nat. Res.	N 58°08'46.1" E 06°44'10.7"	133 m	1.vii-24.viii.2011	Andrei Humala & Aleksey Rechshikov	I. Österblad 2012	x	GTRP057-13		Coll. Österblad
G406	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	NO Vest-Agder, Farsund, Listeid Nat. Res.	N 58°08'46.1" E 06°44'10.7"	133 m	1.vii-24.viii.2011	Andrei Humala & Aleksey Reshchikov	I. Österblad 2012	x	GTRP058-13		Coll. Österblad
G407	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	NO Vest-Agder, Farsund, Listeid Nat. Res.	N 58°08'46.1" E 06°44'10.7"	133 m	1.vii-24.viii.2011	Andrei Humala & Aleksey Reshchikov	I. Österblad 2012	x	GTRP051-13		Coll. Österblad
G408	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	NO Vest-Agder, Farsund, Listeid Nat. Res.	N 58°08'46.1" E 06°44'10.7"	133 m	1.vii-24.viii.2011	Andrei Humala & Aleksey Reshchikov	I. Österblad 2012	x	GTRP238-13		Coll. Österblad
G409	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	NO Sogn og Fjordane, Leikanger, Skopargilet	N 61°12'18.7" E 06°40'30.4"	114 m	7.vii-30.viii.2011	Andrei Humala & Aleksey Reshchikov	I. Österblad 2012	x	GTRP052-13		Coll. Österblad
G410	<i>Gelis hortensis</i> (Christ 1791)	F	NO Oppland, Dokka, Rud	N 60°50.138' E 10°04.652'	172 m	23.vi.2011	Aleksey Rechshikov	I. Österblad 2012/14	x	GTRP239-13		Coll. Österblad
G411	<i>Gelis ?bicolor</i> (Villers, 1789)	F	RU Murmansk, Lps; Pasvik Nat. Res, Kalkupya mt.	68°41.4'N 28°56.3'E		4-30.vii.2007	Andrei Humala	I. Österblad 2012	-	GTRP240-13		Coll. Österblad
G412	<i>Gelis cursitans</i> (Fabricius 1775)	F	RU Karelia, Ladozero	63°35'15"N 35°50'40"E		27.vi.2010	Andrei Humala	I. Österblad 2012	x	GTRP241-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G413	<i>Gelis viduus</i> (Forster 1850)	F	RU Murmansk, Pasvik Nat. Res, zap. "Pasvik", Varlam Isl.	69.1216 N 29.2382 E		10.vii-3.viii.2007	Andrei Humala	I. Österblad 2012	x	GTRP053-13		Coll. Österblad
G415	<i>Gelis ?bicolor</i> (Villers 1789)	F	RU Murmansk, Pasvik Nat. Res, zap. "Pasvik", Varlam Isl.	69.1216 N 29.2382 E		10.vii-3.viii.2007	Andrei Humala	I. Österblad 2012	x	GTRP121-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G417	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	UK England: Bucks, Pitstone Common	Ashridge NT estate	Woodland, malaise trap.	17-31.viii.2008	G. Broad	I. Österblad 2012	x	GTRP243-13		Coll. Österblad
G418	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	ROMANIA Sucavea, nr Şaru Dornei Neavra Saralul	47°15'38"N 25°21'10"E	Peat bog, mesophilic grassland; 900m; Picea, Salix, Betula. Swept	3.vii.2011	J. S. Noyes BMNH(E) 2011-111 R. Wolton BMNH(E) 2012-67	I. Österblad 2012	x	GTRP050-13		Coll. Österblad
G419	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	UK: N. Devon, Locks Park Farm S5518022		Malaise trap, hedge	7.xi.2011		I. Österblad 2012	-	GTRP244-13		Coll. Österblad

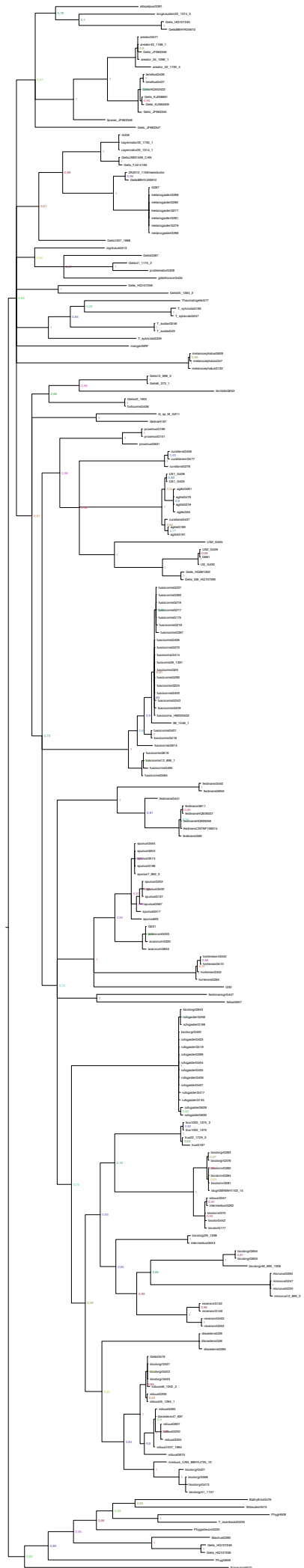
coll. no*	species	sex	loc.	coord.	habitat	date	leg.	det.	ITS2	COI, BOLD Accession No.	CAD	voucher location
G420	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	UK England: Bucks, Pitstone Common	Ashridge NT estate	Woodland, malaise trap.	17-31.viii.2008	G. Broad	I. Österblad 2012	x	GTRP245-13		Coll. Österblad
G421	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	ROMANIA Suceaeva, nr Șaru Dornei Neavra Saralui	47°15'38"N 25°21'10"E	Peat bog, mesophilic grassland; 900m; Picea, Salix, Betula. Swept	3.vii.2011	J. S. Noyes	I. Österblad 2012	x	GTRP246-13		Coll. Österblad
G422	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	UK: N. Devon, Locks Park Farm SS518022		Malaise trap, hedge	7.xi.2011	G. Broad	I. Österblad 2012	x	GTRP247-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G425	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	USA Caledonia County, VT		Ex Neochlamisus bebbianae collected on willow.	september	A. Forbes	I. Österblad 2012	-	GTRP248-13		Coll. Österblad
G426	<i>Gelis tenellus</i> (Say 1835)	F	USA Caledonia County, VT		Ex Neochlamisus bebbianae collected on willow.	september	A. Forbes	I. Österblad 2012	x	GTRP249-13		Coll. Österblad
G427	<i>Gelis tenellus</i> (Say 1835)	F	USA Caledonia County, VT		Ex Neochlamisus bebbianae collected on willow.	september	A. Forbes	I. Österblad 2012	x	GTRP250-13		Coll. Österblad
G428	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	USA Caledonia County, VT		Ex Neochlamisus bebbianae collected on willow.	september	A. Forbes	I. Österblad 2012	x	GTRP122-13		Coll. Österblad
G429	<i>Gelis</i> sp.	F	USA Long Island, NY		Ex Neochlamisus bebbianae pupa found on Bebb's Willow (Salix bebbiana).	september	A. Forbes	I. Österblad 2012	x	GTRP123-13		Coll. Österblad
G43	<i>Thaumatogelis audax</i> (Olivier 1792)	F	FI Al: Eckerö, Degerberg	60.218N 19.6477E	Under stone on rocky outcrop, edge of bog.	7.4.2007	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP037-13		Coll. Österblad
G430	<i>Gelis</i> sp.	M	USA Long Island, NY		Ex Neochlamisus bebbianae pupa found on Bebb's Willow (Salix bebbiana).	september	A. Forbes	I. Österblad 2012	x	GTRP124-13		Coll. Österblad
G434	<i>Gelis gibbifrons</i> (Thomson 1884)	F	FI Oa: Korsholm, Vikby	70030:32341	Agricultural landscape. Sunny day, flying.	23.6.2012	I. Österblad 2012, M. Schwarz conf.	I. Österblad 2012	x	GTRP125-13		Coll. Österblad
G435	<i>Gelis ?infumatus</i> (Thomson 1884)	F	?FI Oa: Korsholm, Södra Jungsund			2011	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP126-13		Coll. Österblad
G436	<i>Gelis forticornis</i> (Förster 1850)	F	FI Oa: Korsholm, Södra Jungsund	63.1871N 21.5747E	Garden in spruce dominated Myrtillus-forest.	1.7.2012	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP251-13		Coll. Österblad
G437	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	France: Aveyron, Livinhac-le-Haut	44°35' N 2°14' E	Ex cocoon of ?Apanteles brunnistigma Abdinbekova coil with Pyrausta sp on Mentha.	5.6.2012	M. R. Shaw	I. Österblad 2012/14	x	GTRP252-13		Coll. Österblad
G441	<i>Gelis festinans</i> (Fabricius 1798)	F	FI Ob: Hailuoto, Marjanieni	72177:33853	Exposed sand beach. Leymus arenaria, Honckenya peploides. On ground.	18.7.2012	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP253-13		Coll. Österblad
G442	<i>Gelis ?bicolor</i> (Villers, 1789)	F	FI Ob: Hailuoto, Marjanieni	72177:33853	Exposed sand beach. Leymus arenaria, Honckenya peploides. On ground.	18.7.2012	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP054-13		Coll. Österblad
G447	<i>Gelis</i> sp.	F	SE Sö, Sorunda, NE Tärnan 1750 m NNE Segersång stn.	RN 6548832/1622333	Stout dead aspen. Window trap T2	25.vi-31.vii.2011	J. Abenius	I. Österblad 2012	-	GTRP254-13		Coll. Österblad
G450	<i>Gelis</i> sp. n., bicolorgruppen	F	SE Sö, Sorunda, NE Tärnan 1750 m NNE Segersång stn.	RN 6548840/1622299	Dying Salix caprea. Window trap T4	25.vi-31.vii.2011	J. Abenius	I. Österblad 2012	x	GTRP255-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G456	<i>Gelis cursitans</i> (Fabricius 1775)	F	SE Sö, Sorunda, NE Tärnan 1750 m NNE Segersång stn.	RN 6548840/1622299	Dying Salix caprea. Window trap T4	31.vi-25.vi.2011	J. Abenius	I. Österblad 2012	x	GTRP256-13		Coll. Österblad
G457	<i>Thaumatogelis sylvicola</i> (Förster 1850)	F	SE Sö, Ösmo, 750 m NE Djursnäs	RN 6536038/1616115	W-slope. Aspen stump. Window trap D12	19.vi-12.vi.2011	J. Abenius	I. Österblad 2012	x	GTRP128-13		Coll. Österblad
G460	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	SE Sö, Brandalslund	RT90 6555286/1606142	Rock outcrop, dead rowan. Window trap B5	2-30.vi.2011	J. Abenius	I. Österblad 2012	x	GTRP129-13		Coll. Österblad
G47	<i>Gelis melanocephalus</i> (Schränk 1781)	F	FI Al: Eckerö, Rödklobb		Sandy seashore, beneath Fucus and debris.	19.5.2007	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP038-13		Coll. Österblad
G477	<i>Gelis cursitans</i> (Fabricius 1775)	F	FI Al: Eckerö, Slatmyra	670593:309233	Rich fen. Swept.	5.v.2011	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP131-13		Coll. Österblad
G479	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	FI Oa: Kurikka, Lintuneva	695510:324472	Pine bog, swept.	18.v.2011	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP132-13		Coll. Österblad
G48	<i>Gelis acarorum</i> (Linnaeus 1758)	F	FI Al: Eckerö, Rödklobb		Sandy seashore, beneath Fucus and debris.		N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP002-13[Lab Mixup: fuscicornis-sekv]		Coll. Österblad
G481	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	FI Al: Lemland, Flaka	667698:311968	Rock outcrop, beaten from Juniperus.	3.vi.2011	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP133-13		Coll. Österblad
G500	<i>Gelis proximus</i> (Förster 1850)	F	FI N: Sibbo	668648:41257	Hay field on clay, streamside, dryish meadow, hay and leaf litter.	10.xii.2006	A. Albrecht	I. Österblad 2012	-	GTRP134-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G505	<i>Gelis</i> sp.	F	USA Massachusetts, Nantucky County, Nantucket, Miacomet	41°17'N 70°05'W	Ex tetragnathid egg sac in emergent vegetation (rush), a metre above water surface.	2.viii.2012	C. Eiseman	I. Österblad 2012	x	GTRP257-13		Coll. Österblad
G513	<i>Gelis nigrifolius</i> (Zetterstedt 1838)	F	FI Ab: Korpo, Wattkast	60.192470N 21.628558E	Dry forest health w rock outcrop: Pleurozium. On ground/?fox droppings. Mixed forest. Malaise trap.	11.ix.2012	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP135-13		Coll. Österblad
G515	<i>Phygadeuontini</i> sp.	F	FI Sb: Varkaus, Kangaslampi	N 62.313 E 28.322		-13.ix.2006	N. Laurence	I. Österblad 2012	x	-		Coll. Österblad
G519	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	NO Oppland, Ormtjernkampen NP	N 61°11'12.7" E 09°49'40.4" 992m	Spruce forest on slope, malaise trap.	19.viii-20.x.2011	Humala & Reshchikov	I. Österblad 2012/14	x	GTRP138-13		Coll. Österblad
G520	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	NO Oppland, Ormtjernkampen NP	N 61°11'12.7" E 09°49'40.4" 992m	Spruce forest on slope, malaise trap.	19.viii-20.x.2011	Humala & Reshchikov	I. Österblad 2012	-	GTRP094-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G530	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	RUS Pasvik Nat. Res, Varlam isl.		Malaise trap	6.vi-10.vii.2007	A. Humala	I. Österblad 2012	x	GTRP142-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G54	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	FI Oa: Korsholm, Jungsund	702078:322730	Garden in spruce-dominated Myrtillus-forest.	16.6.2007	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP039-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G55	<i>Gelis agilis</i> (Fabricius 1775)	F	FI Al: Hammarland, Bredmossen	60°16.29'N 19°43.98'E	Edge of gravel road/glade in mixed forest; ex cocoon aggr. (?Microgastrinae) on grass.	19.5.2007	I. Österblad	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf. 2012	x	GTRP003-13		Coll. Österblad
G553	<i>Gelis ?bicolor</i> (Villers 1789)	F	NO Oppland, Ormtjernkampen NP, Storlagerv.	N 61°08.133" E 09°43.089" 990m	Birch forest, malaise trap.	25.vi-18.viii.2011	Reshchikov & Kopilyas	I. Österblad 2012	x	GTRP218-13		Coll. Österblad
G557	<i>Gelis bicolor</i> (Villers 1789)	F	RUS Karelia, Kpor, Ladozero.	N 63°35'15" E 35°50'40"	Malaise trap.	27.vi-13.viii.2010	A. Humala	I. Österblad 2012/14	x	GTRP041-13		Coll. Österblad
G564	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	SE Up Värmdö, Furuskär	-59.2298, 18.6395	Ex Braconidae sp./Dendrolimus pini (L).	18.ix.2012	S. Kyrk	I. Österblad 2012	-	GTRP042-13		Coll. Österblad
G579	<i>Gelis proximus</i> (Förster 1850)	F	NO Vest-Agder, Farsund, Listeid Nature Reserve	N 58°07'55" E 06°42'57"	Along road Eitland-Frestadheia	1.vii.2011	A. Reshchikov	I. Österblad 2012	x	GTRP258-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G601	<i>Gelis viduus</i> (Förster 1850)	F	Karelia KI, Valaam		Spruce forest. Malaise trap.	27.vii-2.viii.2009	Alexey Polevoi & Andrei Humala	I. Österblad 2012	x	GTRP147-13		Coll. Österblad
G616	<i>Gelis fuscicornis</i> (Retzius 1783)	F	SE Sö Salem, Bornsjön			2.x.2012	K. Takasuka & J. Stigenberg	I. Österblad 2012	x	GTRP152-13		Coll. Österblad
G643	<i>Gelis rufogaster</i> Thunberg 1827	F	Al: M:hamn, Möckelö	66875:31061	Spruce dominated herb-rich forest health; beaten from (mostly) spruce, living & dead branches.	22.x.2012	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012	x	GTRP160-13		Coll. Österblad
G651	<i>Gelis albipalpus</i> (Thomson 1884)	F	FI Sb: Varkaus, Kangaslampi	N 62.313 E 28.322	Mixed forest. Malaise trap.		N. Laurence	I. Österblad 2012	x	-		Coll. Österblad
G652	<i>Gelis terribilis</i> Schwarz 2002	M	A Oberösterreich Eben NE Kirchschatl	48°25'N 14°17'E	820 m	25.iii.2012	M. Schwarz	M. Schwarz 2012	x	GTRP161-13		Coll. Österblad
G653	<i>Gelis bicolor</i> (Villers 1789)	F	A Oberösterreich 1km SE Rechberg	48°19'N 14°43'E	650 m	17.vi.2012	M. Schwarz	M. Schwarz 2012	x	GTRP162-13		Coll. Österblad
G654	<i>Gelis bicolor</i> (Villers 1789)	F	A Oberösterreich 1km SE Rechberg	48°19'N 14°43'E	650 m	17.vi.2012	M. Schwarz	M. Schwarz 2012	x	GTRP163-13		Coll. Österblad
G655	<i>Gelis acarorum</i> (Linnaeus 1758)	M	A Oberösterreich Wels, Flughafen	48°10'N 14°02'E		12.vi.2012	M. Schwarz	M. Schwarz 2012	x	GTRP164-13		Coll. Österblad
G656	<i>Gelis festinans</i> (Fabricius 1798)	F	CZ South Bohemia, Předmí Vytoň	48°37'N 14°10'E	740 m	1.vii.2012	M. Schwarz	M. Schwarz 2012	x	GTRP165-13		Coll. Österblad
G657	<i>Gelis fallax</i> (Förster 1850)	F	A Oberösterreich Eben NE Kirchschatl	48°25'N 14°17'E	820 m	7.vii.2012	M. Schwarz	M. Schwarz 2012	x	GTRP166-13		Coll. Österblad

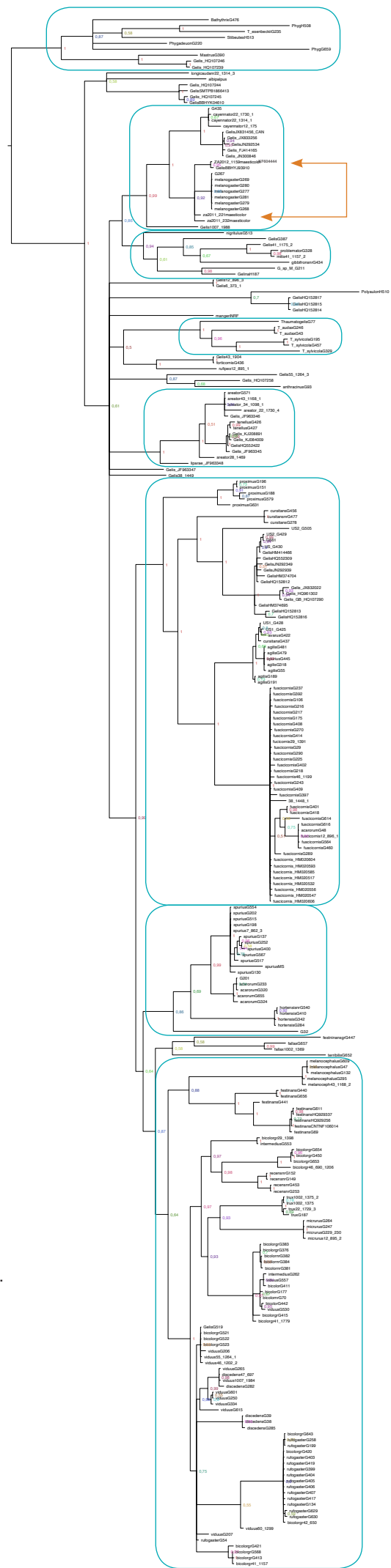
coll. no*	species	sex	loc.	coord.	habitat	date	leg.	det.	ITS2	COI, BOLD Accession No.	CAD	voucher location
G658	Phygadeuontini sp.	F	FI Sb: Varkaus, Kangaslampi	N 62.313 E 28.322	Mixed forest. Malaise trap.	-13.ix.2006	N. Laurene	I. Österblad 2012	x	GTRP061-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
G659	Phygadeuontini sp.	F	FI Sb: Varkaus, Kangaslampi	N 62.313 E 28.322	Mixed forest. Malaise trap.	-13.ix.2006	N. Laurene	I. Österblad 2012	x	GTRP211-13		Coll. Österblad
G660	Phygadeuontini sp.	F	FI Sb: Varkaus, Kangaslampi	N 62.313 E 28.322	Mixed forest. Malaise trap.	-13.ix.2006	N. Laurene	I. Österblad 2012	x	GTRP210-13		Coll. Österblad
G69	<i>Gelis festinans</i> (Fabricius 1798)	F	FI Oa: Korsholm, Valsöarna		Calluna-Empetrum heath; swept.	8.7.2007	N. R. Fritzen	I. Österblad 2012; M. Schwarz conf.	-	GTRP043-13		Coll. Österblad
G70	<i>Gelis bicolor</i> (Villers 1789)	F	FI Oa: Korsholm, Valsöarna		Calluna-Empetrum heath; swept.	8.7.2007	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP044-13		Coll. Österblad
G77	<i>Thaumatogetis neesii</i> (Förster 1850)	F	FI N: Hangö, Tvärminne, Joskär	664295:329030	E egg sac of <i>Oxyptila praticola</i> , northern slope of Joskär; <i>Prunus padus</i> , Sorbus; rocks and ground covered with moss.	21.7.2007	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP045-13		Coll. Österblad
G93	<i>Gelis anthracinus</i> (Förster 1850)	F	FI Oa: Korsholm, Valsöarna	63.42N 21.066E	Storbärgningen Sphagnum bog, caught w/ sweeping net.	29.8.2007	I. Österblad	R. Jussila 2009	x	GTRP097-13		Coll. Österblad
H187	<i>Gelis ornatus</i> (Thomson 1884)	F	FI Oa: Heinävesi	6915678:3595273	E Agroeca-egg sac in Calluna, pine heath forest.	14.vi.2008	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP157-13		Coll. Österblad
H440	Hemigastrini sp.	M	FI N: Hangö, Tvärminne	6642616:3289849	Malaise trap by rocky outcrop, deciduous grove.	30.6-7.7.2011	IÖ & H Luhtasela-Ei Showk	I. Österblad 2012	x	GTRP095-13 (barcode failed)		Coll. Österblad
H508	Phygadeuontini sp.	F	FI Oa: Korsholm, Björkö, Södra Rönnskärgrund	N 63°21'6.61" E 21°9'20.34"	Ex Tetragnatha egg sac. Veg. mainly <i>Vaccinium myrtillus</i> ; sparse trees. Em. 3.ix.	22.viii.2012	I. Österblad	I. Österblad 2012	x	GTRP260-13		Coll. Österblad
H513	Phygadeuontini sp.	F	NO Rogaland, Tysvær, Silgjerd, Åsen	N 59°20'19.0" E 05°43'37.1"	Oak forest, malaise trap.	5.vii-28.viii.2011	Humala & Reshchikov	I. Österblad 2012	x	GTRP159-13		Coll. Österblad
za2011-221	<i>Gelis maesticolor</i> (Roman 1933)	F	Greenland, Wollaston Foreland, Zackenberg Research Station	74.4667°N 20.5667° W			T. Roslin & G. Várkonyi	I. Österblad 2012	x	GRAFW217-11 / GenBank: KF604460		Coll. Österblad
za2011-223	<i>Gelis maesticolor</i> (Roman 1933)	F	Greenland, Wollaston Foreland, Zackenberg Research Station	74.4667°N 20.5667° W			T. Roslin & G. Várkonyi	I. Österblad 2012	-	GRAFW219-11 / GenBank: KF604502		Coll. Österblad
za2011-231	<i>Gelis maesticolor</i> (Roman 1933)	F	Greenland, Wollaston Foreland, Zackenberg Research Station	74.4667°N 20.5667° W			T. Roslin & G. Várkonyi	I. Österblad 2012	-	GRAFW227-11 / GenBank: KF604600		Coll. Österblad
za2011-232	<i>Gelis maesticolor</i> (Roman 1933)	F	Greenland, Wollaston Foreland, Zackenberg Research Station	74.4667°N 20.5667° W			T. Roslin & G. Várkonyi	I. Österblad 2012	x	GRAFW228-11 / GenBank: KF604369		Coll. Österblad

* SMTP-specimens: Trap ID | Coll. event ; e.g. 55|1264-3: Trap 55, collection event #1264; '-3' = IÖ's numbering of specimens w same coll ID.

ITS2-sekvenserna kommer att göras allmänt tillgängliga via GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Figur 1. Bayesianskt konsensussträd baserat på analys av COI, alla tillgängliga sekvenser. Nodunderstöd anges som bayesiansk aposteriori-sannolikhet. Sekvenser nedladdade från GenBank betecknas med accessions-numret.





Figur 2. Bayesianskt konsensussträd, kombinerad analys (COI + ITS2) av alla tillgängliga sekvenser. Nodunderstöd anges som bayesiansk aposteriori-sannolikhet. Sekvenser nedladdade från GenBank betecknas med accessionsnumret. Splittringen av *G. maesticolor* (pil) beror på att de två övre samplen saknar ITS2-sekvens (se avsnitt 4.1.2).

 = stabil klad