

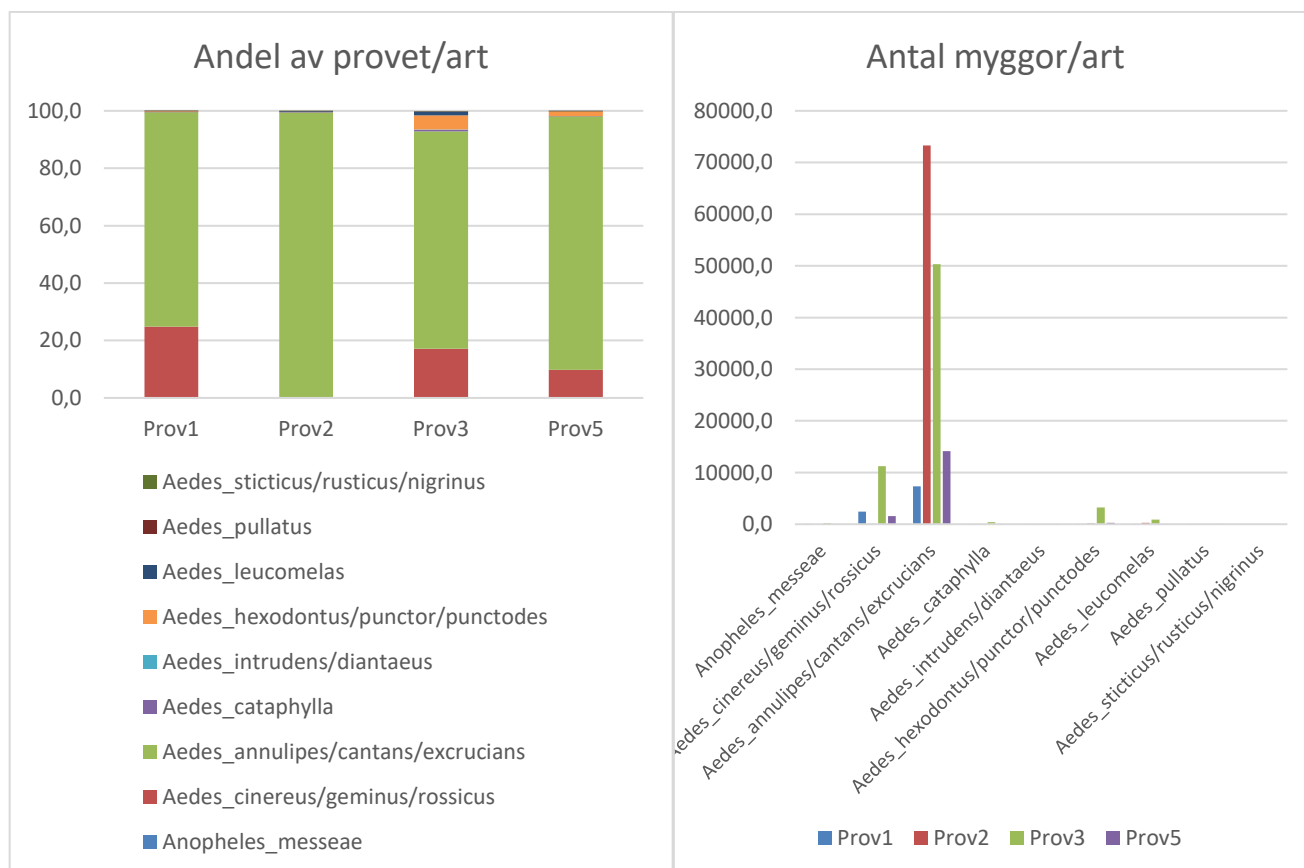
Analys av myggfångster, Mariestads kommun 2018

SVA har för Mariestads kommuns räkning analyserat myggfångster från fyra stycken fällor utställda under sommaren 2018. Vi har uppskattat antalet insamlade stickmyggor i fällorna till ca 166.000 stycken och gjort artbestämningar av delprov från varje fällfångst.

Resultatet visar att de klart dominerande arterna i insamlingarna är gulbrun skogsmygga, *Aedes annulipes*, sommarskogsmygga, *Ae. cantans* och vinkelklomygga, *Ae. excrucians*. De redovisas tillsammans då de är närbesläktade och svåra att skilja, av dem hittades ca 145.000 st. Dessa arter var helt dominerande i alla fällor och utgjorde mer än 75% av fångsten i alla fällor. Näst vanligast var rödbrun höstmygga, *Aedes cinereus*, vår metod kan inte helt säkert skilja den från grå svämmygga, *Aedes rossicus*, och arterna redovisas tillsammans men troligen är det rödbrun höstmygga, *Ae. cinereus*, som dominerar dem emellan. Den var den näst vanligaste arten i alla fällor. Av dem hittades ca 15.000 st men väldigt få i fälla 2. I år var det inga andra arter som förekom i några avsevärda mängder men framför allt i fälla 3 hittades relativt många tidig tömygga, *Aedes punctor* (fjälltömygga, *Aedes hexodontus*, och salttömygga, *Aedes punctodes*, har snarlika sekvenser men är i huvudsak nordliga arter). Totalt hittades ca 3.700 st. I fälla 3 hittades också *Aedes leucomelas*. totalt 1.100 st. Vi hittade även knappt 400 ängstömygga, *Aedes cataphylla*, i fälla 3.

Den totala fångsten var större 2018 än tidigare analyserade år. Till skillnad från tidigare år verkar de dominerande arterna vara gulbrun skogsmygga, *Aedes annulipes*, sommarskogsmygga, *Ae. cantans* och vinkelklomygga, *Ae. excrucians*, som varit mindre problem tidigare. Rödbrun höstmygga, *Aedes cinereus*, och vårsvämmygga, *Aedes sticticus*, är inte så dominerande 2018 som de varit tidigare.

Till SVA skickades insamlade myggor från Mariestads kommun. Myggfällor har varit uppställda vid fyra platser och från varje fälla skickades insamlade myggor. Myggproverna var delvis krossade när de kom till SVA och manuellt räknande av myggor och morfologisk artbestämning var omöjlig. För att uppskatta vilka arter som finns i provet användes så kallad Next generation DNA sekvensering. Med denna teknik kan myggarter kännas igen genom unika DNA-sekvenser även från ett prov bestående av flera arter. Tekniken tillåter även att en uppskattning av mängden av olika arter i provet görs.



Metodik

Från två prover räknades och vägdes myggor för att kunna uppskatta vikten av enskilda mygg. Fyra prov med 100 myggor vägde 0,145g, 0,095, 0,115 och 0,125g och vikten av en mygga beräknades till ca 1,2mg. Skillnader kan bero på hur torkade myggorna var i provet och hur kompletta myggor som fanns i provet. Resterande insamlade mygg vägdes och två underprov från varje fälla togs för artbestämning genom DNA-sekvensering.

DNA från myggprov isolerades som beskrivet i (Zhou, Xin, et al. "Ultra-deep sequencing enables high-fidelity recovery of biodiversity for bulk arthropod samples without PCR amplification." *Gigascience* 2.1 2013), i korthet: Myggprov för artbestämning hällades i en kyld mortel och krossades. 5ml kyld MS buffer (Mannitol 210mM, Sackaros 70mM, Tris HCl pH 5mM, EDTA 0.5M 1mM) tillsattes och proven centrifugerades vid 1300 g vid 4°C i 2min. Supernatanten sparades och centrifugerades vid 17000 g 4°C i 30 min. Pelleten löstes i 40ul Mitochondria lysis buffer (NaCl 150mM, Tris HCl pH 8.0 10mM, EDTA 1mM, SDS 5%, Proteinase K 0,5mg/ml) vid 56°C i 15 min. DNA renades sedan fram med JetQuick PCR purification kit.

DNA från dessa prov användes som templat i PCR av COI regionen med två olika primer-par taggade med MinION-adaptor sekvenser (se tabell). PCR produkter kontrollerades på agarosgel, multiplexades med MinION index-adapter primers och användes för sekvenseringsbibliotek för sekvensering på en Oxford Nanopore MinION sekvenator. De 8 proverna kördes på 3 st flowcells kombinerade.

C1-J-2495	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCHGCNYTWYTWGATCwTTAGG
GB_1960_1936R	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGTCCAATGCACTAATCTGCCATATTA
GB_1358_83F	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGACTCAAGAAAGAGGTAAAAAGGAAAC
C1-N-2659	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGATTRYTAAWCCTGTTAATARWGGRTATC
Miseq-LCO	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGGTCAACAAATCATAAAGATATTGG
rev1859	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGNGGRTAHACHGTTCAHCCWGHCC
GB1310_29F	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGAAGGAGTTTGATCAGGAATAGT
C1-N-1992	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGTAARGGTAWWCGRTcARwGTAATwCC

Sekvenseringen gav totalt 114 000 sekvens-reads som matchade COI genen i någon art. Genom BLAST mot en lokal databas av referenssekvenser från myggor som förekommer i norra Europa sorterades sekvenserna. Slutligen räknades vilket antal reads som matchade varje kluster. På detta sätt kan antal sekvensreads som kommer från varje myggart bestämmas vilket gör att antal myggor av varje art i provet kan beräknas. Ett medelvärde av de olika underproverna räknades ut och representerar artsammansättningen i de stora proverna.