

Aus dem Department für Pathobiologie
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Parasitologie
(Leiterin: Univ.Prof. Dr.med.vet. Anja Joachim)

**Ausbreitung und Vorkommen von *Phortica variegata* mit speziellem
Augenmerk auf die Verbreitung von *Thelazia callipaeda* im
westlichen Niederösterreich (Raum Melk).**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Antonia Eberle

Wien, im Juni 2023

Betreuer: Priv.Doz. Dr. Hans-Peter Fuehrer
Institut für Parasitologie
Department für Pathobiologie
Veterinärmedizinische Universität Wien

Begutachter: Ao.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Franz Schwarzenberger
Institut für Physiologie, Pathophysiologie und experimentelle Endokrinologie
Veterinärmedizinische Universität Wien

INHALTSVERZEICHNIS

1.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	1
2.	LITERATURÜBERSICHT.....	1
2.1.	<i>PHORTICA VARIEGATA</i>	1
2.1.1.	Morphologie.....	1
2.1.2.	Lebensraum in Europa.....	3
2.1.3.	Verbreitung in Österreich.....	4
2.2.	<i>THELAZIA CALLIPAEDA</i>	4
2.2.1.	Morphologie.....	5
2.2.2.	Lebenszyklus.....	5
2.2.3.	Klinik.....	6
2.2.4.	Diagnostik.....	7
2.2.5.	Therapie und Prophylaxe.....	7
2.2.6.	Verbreitung und klinische Fälle in Europa.....	8
2.2.7.	Verbreitung und klinische Fälle in Österreich.....	9
2.3.	<i>FRAGESTELLUNG</i>	9
3.	MATERIAL UND METHODIK.....	10
3.1.	<i>MATERIAL</i>	10
3.2.	<i>STANDORTE DER FALLEN</i>	11
3.3.	<i>METHODIK</i>	18
3.4.	<i>MORPHOLOGISCHE ANALYSE</i>	18
3.5.	<i>MOLEKULARE ANALYSE (GEPLANT BEI VERDACHTSFALL)</i>	19
3.5.1.1	PCR-Protokoll.....	19
3.5.1.2	Gelelektrophorese.....	23
3.5.1.3	Sequenzierung.....	23
4.	ERGEBNISSE.....	24
4.1.	<i>MORPHOLOGISCHE ANALYSE</i>	25

4.2.	<i>MOLEKULARE ANALYSE</i>	25
5.	DISKUSSION	26
6.	ZUSAMMENFASSUNG.....	30
7.	ABSTRACT	31
8.	LITERATURVERZEICHNIS.....	32
9.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	36
10.	TABELLENVERZEICHNIS	39
11.	DANKSAGUNG	40

1. Abkürzungsverzeichnis

cm	Zentimeter
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNS	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Deoxynucleosidtriphosphate
EW	Endwirt
L	Liter
L1	Larvenstadium 1
L2	Larvenstadium 2
L3	Larvenstadium 3
m	Meter
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
min	Minute(n)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
°C	Grad Celsius
<i>P. variegata</i>	<i>Phortica variegata</i>
<i>P. okadai</i>	<i>Phortica okadai</i>
PCR	Polymerase Chain Reaction
PET	Polyethylenterephthalat
p.i.	post Infektionem
PKW	Personenkraftwagen
<i>T. callipaeda</i>	<i>Thelazia callipaeda</i>

zw.

Zwischen

ZW

Zwischenwirt

2. Literaturübersicht

2.1. *Phortica variegata*

Phortica variegata gehören der Ordnung *Diptera*, zu Deutsch Zweiflügler, an, welche sich in die Familie der Drosophilidae, ins Deutsche übersetzt mit Essig-, Tau-, Fruchtfliegen weiter aufgliedert. Die Drosophilidae sind als Studienobjekt in der Genetik von großer Bedeutung und daher eine sehr gut erforschte Spezies (Deplazes et al. 2021a). Drosophilidae ernähren sich von teils vergorenem Obst sowie Gemüse. Demgegenüber steht die zweite Subfamilie, die der *Steganinae*, die sich durch zoophile Fressgewohnheiten auszeichnet. Aber auch *Phortica variegata* ernähren sich nicht nur von Obst, sondern auch von Tränenflüssigkeit bei Hunden sowie anderen Säugetieren wie auch dem Menschen (Otranto et al. 2006a). Vor allem in der späten Saison, von Juli bis Oktober, werden lacryphage Fressgewohnheiten sowohl von Männchen als auch von Weibchen beobachtet. Als zwei der Gründe werden auf der einen Seite spezielle diätische Bedürfnisse diskutiert und auf der anderen Seite könnte es auch mit einem höheren Aufkommen und vermehrter Aktivität von männlichen *P. variegata* einhergehen. Otranto schreibt nur den männlichen *P. variegata* zoophile Fressgewohnheiten zu, wohingegen Roggero auch bei den Weibchen diese Eigenschaft beobachten konnte (Otranto et al. 2006b, Roggero et al. 2010).

2.1.1. Morphologie

Adulte *P. variegata* haben eine Länge zwischen 3,5 mm – 5 mm, wobei die Männchen (3,5 – 4 mm) kleiner sind als die Weibchen. Beim männlichen Tier ist das gelbe Abdomen mit dunkelbraunen sowie drei transversalen Bändern und einer Längsbänderung in einer helleren Farbe durchzogen. Das Scutum ist, im Vergleich mit anderen *Drosophiliden*, kurz und mit grauen konfluierenden Pünktchen gesprenkelt. Der mittlere Teil des Thorax wird von einem relativ breiten, dunklen und ebenfalls mit grauen Punkten gesprenkelten Scutellum überzogen. Die Beine machen einen tigerähnlichen Eindruck, denn durch die dunkle Hüfte und den dunklen Femur, der durch ein helleres distales und proximales Ende gekennzeichnet ist, sowie den drei dunklen Bändern um die Tibia herum, entsteht das Bild der typischen gestreiften Beine. Der Tarsus hebt sich durch seine Gelbfärbung vom Rest des Beines ab. Die beiden Flügel sind transparent und durch zwei Queradern, sogenannte cross-veins, gekennzeichnet. Für die taxonomische Bestimmung der Drosophiliden ist die doppelte Unterbrechung der

Kostalader, sogenannte *costal vein*, von Bedeutung. Das Auge hat eine rote Farbe mit einer charakteristischen hellen Umrandung herum. Die Fühler hingegen sind gelb bis goldgelb.

Die Weibchen unterscheiden sich nur in wenigen Punkten in ihrem Aussehen von dem männlichen Pendant. Sie erscheinen durch ihr üppig zweigefärbtes Abdomen etwas heller im Gesamteindruck. Die Cerci, zu Deutsch der Hinterleibesbehang, ist nicht sklerotisiert, haarig und an der Basis unterteilt (Otranto et al. 2006a).



Abbildung 1: *Phortica variegata* seitliche Aufnahme Quelle: Gerhard Schlüsslmayr, Maria Unterköfler

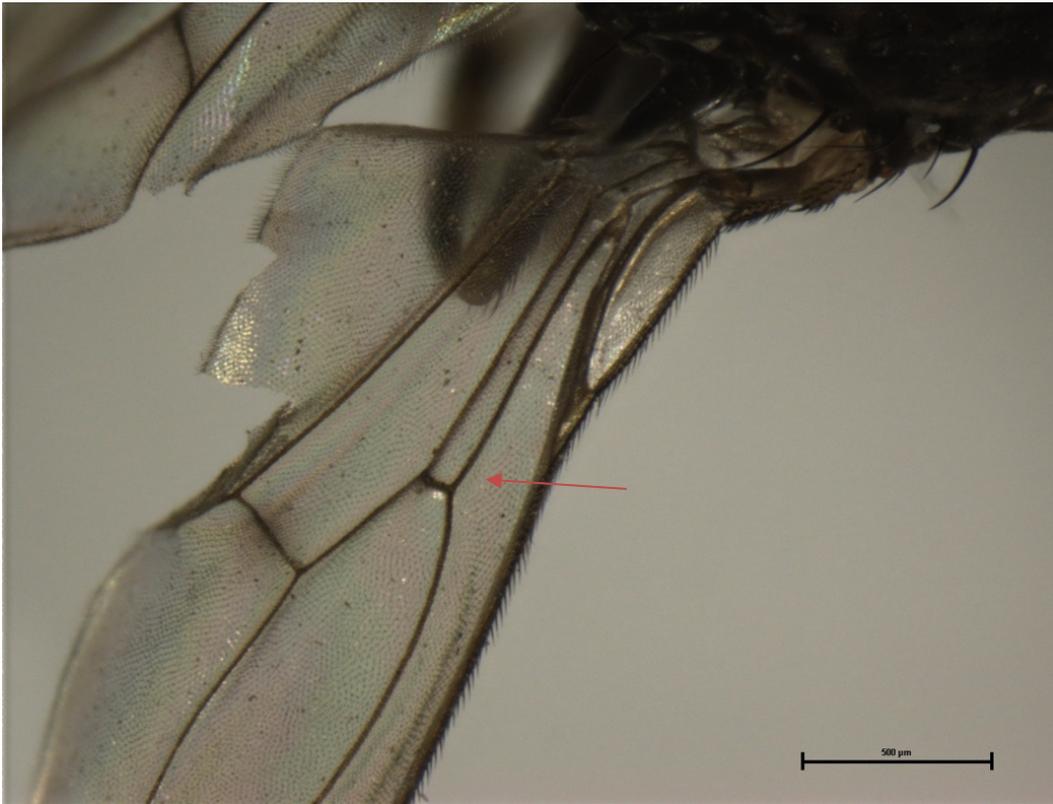


Abbildung 2: *Phortica variegata* Flügel "cross- vein" mit Pfeil markiert Quelle: Gerhard Schlüsslmayr, Maria Unterköfler

2.1.2. Lebensraum in Europa

Die optimalen Lebensbedingungen der Fruchtfliege sind durch eine Temperatur von 20-25°C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50-75% gekennzeichnet (Otranto et al. 2006a). Da diese hervorragenden Lebensbedingungen besonders im Juli und August in Europa zu finden sind, werden diese Monate mit einer höheren Aktivität der *P. variegata* in Zusammenhang gebracht (Palfreyman et al. 2018). Ebenso konnte eine positive Korrelation mit einer erhöhten Temperatur und dem vermehrten Vorkommen von *P. variegata* ausgemacht werden (Pombi et al. 2020). Otranto beschreibt eine Vorliebe der *P. variegata* zu Eichenwäldern, die in einer Höhe von 850 m über dem Meeresspiegel wachsen. In diesen Gebieten soll sich die Wahrscheinlichkeit erhöhen, *P. variegata* vorzufinden (Otranto et al. 2006a). Zusätzlich beschreibt Roggero eine Abwesenheit der *P. variegata* ab einer Seehöhe von über 1200 m (Roggero et al. 2010). Jedoch wurde in einer groß angelegten Studie von Pombi gezeigt, dass männliche *P. variegata* bei großen Temperaturschwankungen von mindestens 7°C bis zu maximal 35°C vorkommen können. Im Zuge dieser Studie konnten 4862 Exemplare der *P. variegata* im Highland Park (Rochester, New York, USA), New Forest (Hampshire District, England), El Escorial (Sierra de Guadarrama, Madrid, Spanien), Manziana (Lazio Region,

Italien) sowie Oliveto Lucano (Basilicata Region, Italien) gefunden werden. Zusammenfassend lässt sich somit sagen, dass weite Teile Europas, im Besonderen auch Österreich, optimale Lebensbedingungen für *P. variegata* darstellen (Pombi et al. 2020).

Weiters wurde beobachtet, dass die *P. variegata* langsame, vertikale, kleine Kreise fliegt, bevor sie dann auf ihrer Mahlzeit landet. Diese Eigenheit wird als Suchverhalten der *Phortica* interpretiert (Otranto et al. 2006a).

2.1.3. Verbreitung in Österreich

Im Mai 2018 wurden im Burgenland, Bezirk Schützen, Goldberg sowie im April 2020 in Niederösterreich, Bezirk Mödling, genauer in Eichkogel, vereinzelt *P. variegata* gefunden. Im Zeitraum der Studie konnten insgesamt 24 Exemplare von *P. variegata* in Österreich nachgewiesen werden. Interessant ist, dass von den 24 gefundenen Exemplaren in Österreich, acht *P. variegata* hinter dem dritten Augenlid eines zwei Jahre alten Dobermanns gefunden wurde, der aufgrund von Augenausfluss vorstellig wurde (Unterköfler et al. 2023).

2.2. *Thelazia callipaeda*

Früher waren Thelazien unter dem Namen „orientalischer Augewurm“ bekannt, da diese ursprünglich im asiatischen Raum in China, Indien, Indonesien, Japan, Südkorea, Thailand, Bangladesch, Nepal sowie Vietnam verbreitet waren (Farkas et al. 2018, do Vale et al. 2019). *T. callipaeda* wurde bereits 1910 von Railliet und Henry bei einem Hund in Rawal Pindi, Indien, beschrieben. Erste Aufzeichnungen über das Vorkommen dieses Parasiten in Peking, China folgten 1917 von Stuckey. In beiden Fällen wurden adulte Nematoden in der Nickhaut der Hunde gefunden (Faust 1928). Zu diesem Zeitpunkt war der Vektor der Thelaziose noch völlig unklar. Die Thelaziose beschreibt eine Konjunktivitis bei Fleischfressern, Pferden, Rindern, Wildtieren sowie selten auch bei Menschen. *Thelazia callipaeda* befallen sowohl Fleischfresser als auch Menschen. Als Zwischenwirte in Europa dienen hierfür *P. variegata* (Deplazes et al. 2021b). Im asiatischen Raum fungiert *Phortica okadai* als Vektor für *T. callipaeda* (Otranto et al. 2005).–*Thelazia callipaeda* gehört dem Stamm der Nematoda, zu Deutsch auch Faden- oder Rundwürmer genannt, an und gilt als weit verbreiteter Parasit der Haus- und Nutztiere in bestimmten Teilen Europas. Sie wird zu der Klasse Secernentea gezählt, die wiederum der Ordnung Spirurida, zu Deutsch Rollschwänze, angehört ist (Deplazes et al. 2021a). Die Thelazien parasitieren beim Endwirt im Konjunktivalsack und in den Drüsen der Ausführungsgänge im Orbitabereich.

2.2.1. Morphologie

Adulte Thelazien sind weiße bis gelblich-weiße 0,5 bis 2 cm lange sowie 340 – 430 µm (weiblich) und 370 – 510 µm (männlich) breite, dünne Nematoden (Otranto et al. 2005, do Vale et al. 2019, Deplazes et al. 2021b.) Die weiblichen Thelazien werden als solche erkannt, da die Vulva vor der ösophageal-intestinalen Öffnung und in der cranialen Körperhälfte zu liegen kommt. Die männlichen Nematoden besitzen ein nach ventral gebogenes caudales Ende, fünf paarige Papillen an der ventralen Seite sowie zwei Spiculae (do Vale et al. 2019). Die Stadien der Larven werden in L1, L2 und L3 unterschieden und charakterisieren sich makroskopisch wie folglich beschrieben. Die L1 ist an einem Ende bereits eingerollt wurmförmig, an dem anderen Ende hängt ein Rudiment der Eimembran, was an einen Ballon erinnert. (Otranto et al. 2005) Zu diesem Zeitpunkt misst die Larve 180 – 220 µm (Deplazes et al. 2021a). L2, 2,24 mm +/- 0,093 mm groß, wird gekennzeichnet durch eine „Wurstform“ mit einem noch unterentwickelten Intestinaltrakt. Die L3 ist eine vollständig entwickelte Larve mit sichtbaren Genitalien im Abdomen und misst 2,5 - 3,2 mm +/- 0,91 - 0,98 mm (Deplazes et al. 2021b).

2.2.2. Lebenszyklus

Weibliche Thelaziennematoden produzieren infektiöse L1 und legen diese in lacrymale Ausführungsgänge, dazu zählen Augenlider, drittes Augenlid, Konjunktiven, Bindehautsack und Ductus Nasolacimalis, des Endwirtes ab. Nun begeben sich die vorwiegend männlichen *P. variegata* zur Mahlzeit auf den Endwirt und nehmen mit der Tränenflüssigkeit die L1 auf und werden selbst zum Zwischenwirt (do Vale et al. 2019). Die Entwicklung von L1 zu L3 findet in der Haemocoel, der Leibeshöhle, der *P. variegata* statt. Wenn die L3 Entwicklung nahezu abgeschlossen ist, beginnt sich diese in ihrer Kapsel zu bewegen und wandert vom Haemocoel über den Thorax und Kopf in den Proboscis, den Rüssel, ein. Somit können nach 14 bis 17 Tagen p.i. L3 sowohl im Kopf als auch im Rüssel der *P. variegata* festgestellt werden. Hervorstehend ist auch der Fund von L1 und L2 sowohl im Hoden männlicher *Phortica* als auch im Haemocoel weiblicher Individuen während dieses Zeitraumes (Otranto et al. 2005). Otranto vermutet auch einen Zusammenhang zwischen der Reproduktionsaktivität von *T. callipaeda* sowie seinem Vektor *P. variegata*. Diese Vermutung wird durch die Beobachtung bekräftigt, dass L1 nur während der Periode von Juni bis Juli beobachtet werden konnten. Denn nur die L1 Larven werden von *P. variegata* aufgenommen, welche im Sommer ihre höchste Aktivität haben. Außerdem beschreibt Otranto in seiner Studie, dass der vermehrte

Fund von Larveneiern im Zeitraum von Frühling bis zum Frühherbst zusammenhängend mit dem Vorkommen von *P. variegata* sein kann (Otranto et al. 2004).

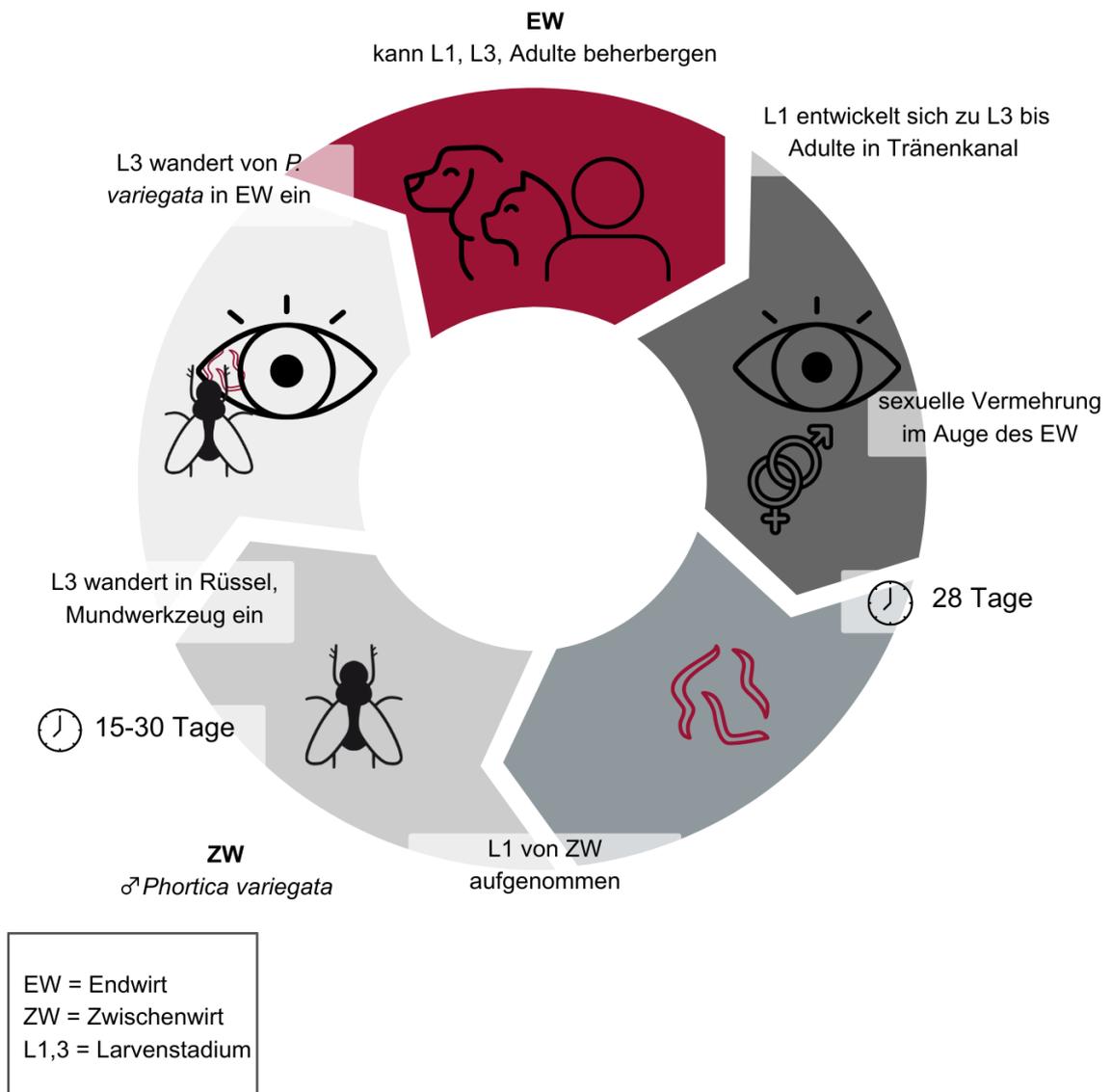


Abbildung 3: Lebenszyklus von *Thelazia callipaeda* modifiziert nach do Vale et al. (2019)

2.2.3. Klinik

Eine Infektion mit Thelazien wird im Allgemeinen als Thelaziose bezeichnet und kann, je nach Thelazienart Fleischfresser, (Wild-)Wiederkäuer, Pferde und selten auch den Menschen betreffen. Thelazien befallen die vordere Augenkammer, zumeist sitzt der Parasit hinter dem

Palpebra tertia (3. Augenlid), im *Ductus nasolacrimalis* (Tränennasenkanal) oder *Saccus conjunctivae* (Bindehautsack) und verursacht leichte Symptome wie Epiphora, Blepharospasmus, Konjunktivitis oder Juckreiz, bis hin zu schwerwiegenden Symptomen wie konjunktivale beziehungsweise korneale Ulzera. Die Thelaziose kann subklinisch bis klinisch verlaufen. Generell lässt sich sagen, dass die Wurmbürde nicht mit dem Erkrankungsgrad korreliert. Die Parasitose kann von gering- bis hochgradig verlaufen, wobei Blepharospasmus, Konjunktivitis, Epiphora und Juckreiz zu den leichten Symptomen zählen. Bei schweren Verläufen kann es zu einer Keratitis oder kornealen Ulzerationen kommen (do Vale et al. 2019).

2.2.4. Diagnostik

Nach einer allgemeinen klinischen Untersuchung mit speziellem Augenmerk auf Auslandsaufenthalte in der Anamnese, folgt ein gründlicher ophthalmologischer Untersuchungsgang. Um korneale Defekte auszuschließen, ist eine Fluoreszinfärbung und Adspektion mit blauem Licht vorzunehmen. Nach einer lokalen Betäubung des Auges mittels Tropicamid, wird mit Hilfe der Graefepinzette das 3. Augenlid nach vorne verlagert und nach adulten Würmern gesucht. Außerdem muss der Konjunktivalsack ebenfalls gründlich inspiziert werden. Die Thelazien können mittels sterilem Wattetupfer aus dem Auge entfernt werden, dieses sollte danach mit steriler Kochsalzlösung gespült werden. Um eine pathologische Bestimmung der Würmer vorzunehmen, kann man die Nematoden in 70%-igem Ethanol lagern (Farkas et al. 2018). Differentialdiagnosen wie bakterielle/allergische/autoimmunmedierte Konjunktivitis, Fremdkörper unter dem 3. Augenlid, eine Infektion mit *Onchocerca lupi* müssen ebenfalls in Betracht gezogen werden. Eine Infektion mit *O. lupi* verursacht bei Hunden ein chronisch granulomatöses Geschehen (ESCCAP Deutschland 2023).

2.2.5. Therapie und Prophylaxe

Neben einer mechanischen Entfernung der adulten Nematoden ist eine lokale oder systemische Verabreichung von Antiparasitika essentiell, da eine Entfernung von L1 bis L3 nur sehr schwer möglich ist. Das Mittel der Wahl bei Hunden und Katzen ist Milbemycin, welches der Gruppe der Makrozyklischen Laktone angehört ist. Milbemycinoxim wird in der Minimaldosis von 0,5 mg/kg bis 2 mg/kg ein- bis zweimal pro Woche, zwei Wochen lang *per os* gegeben. Bei Hunden zeigt die Behandlung mit Milbemycinoxime (Milbemax[®], Elanco Tiergesundheit AG, Basel, Deutschland) eine Wirksamkeit von 72,7% bei einmaliger

Behandlung pro Woche, sowie eine Wirksamkeit von 90,9% bei zweimaliger Gabe pro Woche. Katzen hingegen zeigen einen schlechteren therapeutischen Effekt, dieser liegt bei 53,3% und 73,3% bei einer bzw. zwei Behandlungen pro Woche. (Motta et al. 2012) Als Prophylaxe wird einmalig ein Spot on mit den Wirkstoffen 2,5% Moxidectin/ 10% Imidacloprid (Advocate[®], Provet AG, Lyssach bei Burgdorf, Deutschland) empfohlen, bevor eine Reise in ein endemisches Gebiet angetreten wird (Naucke et al. 2011).

2.2.6. Verbreitung und klinische Fälle in Europa

Der erste Fall von Thelaziose wurde 1910 in der damaligen Russischen Föderation sowie im Fernen Osten bekannt. Damals war der Lebenszyklus von *T. callipaeda* noch vollkommen unklar. 2003 trat der erste Fall in Italien auf und es wurde eine Studie über die mögliche Verbreitung in Italien angelegt. Dabei konzentrierte sich Otranto auf die Piemontregion in Nord-Westitalien, sowie die Basilicata Region, Süditalien. Im Zuge dieser Studie wurden 534 Hunde in Italien untersucht. In Norditalien, Piemontregion, wurden von Juni bis August 2002 91 Hunde untersucht. In Süditalien, Basilicataregion, wurden zwischen Oktober bis Dezember 199 sowie Mai 2002 bis Jänner 2023 443 Hunde untersucht. Weiters wurden 903 Fuchskarkassen, im Zeitraum von Jänner 1995 bis Dezember 2001, sowie 4 Katzen auf Vorhandensein von Thelazien untersucht. 23,07% der Hunde der Piemontregion, 41,76% der Hunde aus der Basilicataregion, 100% der Katzen sowie 5,1% der Füchse wurden positiv auf *T. callipaeda* getestet. Hierbei ist aber zu erwähnen, dass nur Katzen, die bereits mit einer Thelazieninfektion vorstellig wurden, mit in die Studie genommen worden sind (Otranto et al. 2003). Im Jahr 2000 wurde im Süden der Schweiz, Ticino, ein Thelaziosefall eines Hundes publik (Malacrida et al. 2008). Ebenso konnten in Frankreich 2006 insgesamt bei vier Hunden sowie einer Katze Thelaziose diagnostiziert werden. Im Jahr 2010 konnten in West- und Zentralspanien ein Befall mit *Thelazia callipaeda* bei 61 Hauskatzen festgestellt werden (Marino et al. 2021). Auch in der Slowakei wurden im Jahr 2016, nahe der ukrainischen Grenze bei vier Hunden ein Thelazienbefall registriert (Čabanová et al. 2017). In Deutschland, Nordrhein-Westfalen, wurde 2020 ein Fallbericht über einen autochthonen Thelaziosefall bei einer Hündin publiziert (Kregel-Weber et al. 2021). Seit 2003 wurden in Mitteleuropa autochthonen Fälle von Infektionen mit *T. callipaeda* beschrieben. Darunter fallen Frankreich, Schweiz, Deutschland, Spanien, Portugal, Bosnien-Herzegowina, Kroatien, Rumänien, Bulgarien, Ungarn, Griechenland, Slowakei und Serbien (Palfreyman et al. 2018).

Das breite Wirtsspektrum der Nematoden, bezogen auf Europa, umfasst Wild,- und domestizierte Wiederkäuer (*Thelazia skrjabini*, *T. rhodesi*, *T. lacrymalis*, *T. gulosa*), Pferde (*Thelazia rhodesi*, *T. lacrymalis*), Fleischfresser und Menschen (*Thelazia callipaeda*). Weltweit betrachtet gibt es noch eine Vielzahl weiterer Endwirte für Parasiten aus der Gattung *Thelazia*: Rinder (*Thelazia brevispiculata*, *T. ferulata* und *T. hsüi* in China, und *T. petrowi* in Osteuropa), Büffel (*Thelazia bubalis* in Indien), Fleischfresser, domestizierte und wildlebende Wiederkäuer sowie Menschen (*Thelazia californiensis* in Nordamerika) und Schweine (*Thelazia erschowi* in Osteuropa) (Otranto und Traversa 2005).

2.2.7. Verbreitung und klinische Fälle in Österreich

Auch in Teilen Österreichs sind Thelaziosefälle bei Hunden und Katzen bekannt. Der erste autochtone feline Thelaziosefall wurde 2019 in Deutschlandsberg in der Steiermark publiziert (Hodžić et al. 2019). Ein weiterer Thelaziosefall wurde in Niederösterreich, Gänserndorf, bekannt. Im Zeitraum von 2015 bis 2022 konnten zwölf *T. callipaeda* bei sechs Hunden festgestellt werden. Keiner der Hunde, wovon je zwei Hunde aus der Steiermark sowie dem Burgenland und je ein Hund aus Oberösterreich und Wien stammten, hat jemals Österreich verlassen (Hinney et al. 2016, Unterköfler et al. 2023).

2.3. Fragestellung

Das Ziel dieser Diplomarbeit ist es, mehr über das Vorkommen und die Verbreitung einer speziellen Drosophilidenart, *Phortica variegata*, im westlichen Niederösterreich, Raum Melk zu erfahren. Um zu klären, ob *P. variegata* in dieser Gegend endemisch ist, wurden an 18 Standorten Fliegenfallen, modifiziert nach Roggero et al., aufgehängt. Der Standort der Fallen, welche in 50 cm Höhe mit Hilfe eines Garns an Sträuchern und Bäumen angebracht wurden, wurde nach den Kriterien von Roggero et al. ausgesucht. In den drei Sommermonaten Juli bis September 2021 wurde nach einem speziellen Regime, ein wöchentlicher Köderwechsel (fermentiertes Obst) sowie alle zwei Wochen ein Erntezyklus, verfahren. Danach wurden die gefangenen Insekten mittels morphologischer Bestimmung auf *P. variegata* untersucht. Im Falle einer morphologischen Identifizierung als *P. variegata*, war eine weitere molekulare Analyse mittels PCR vorgesehen.

3. Material und Methodik

3.1. **Material**

Zu Beginn des Projekts wurden die Fliegenfallen nach einer speziellen Anleitung gebaut. Meiner Diplomarbeit ging eine Vorstudie von Patrick Dengg voraus, welche sich mit der optimalen Fallenwahl beschäftigte, um möglichst erfolgreich *P. variegata* zu sammeln (Dengg et al. 2021). Aus diesem Grund wurden die Fliegenfallen nach Roggero et al. gewählt. Hierzu wurden drei durchsichtige 1,5 l PET-Flaschen für eine Falle benötigt. Bei jeweils zwei Flaschen wurde das untere Drittel mit einer Schere oder einem Messer abgesetzt, bei der dritten Flasche wurde auf gleiche Weise das untere Viertel, der Flaschenboden, abgetrennt. Die zwei oberen Flaschenteile wurden ineinandergesteckt und mittels transparenten breiten Klebebandes miteinander verklebt. Auf den unteren Teil des Konstrukts wurde eine schwarze, durchscheinende 20 DEN Damenstrumpfhose gespannt und ebenfalls befestigt. Dies ist nötig, um zu verhindern, dass die Fliegen in den Köderbereich gelangen. Der Köderbehälter, welcher der ursprüngliche Flaschenboden ist, wird am untersten Teil, also an der weitest entfernten Stelle von der Flaschenöffnung, befestigt. 1 – 3 cm oberhalb des Köderbehälters werden mit einem Schraubenzieher in einer horizontalen Linie mehrere ca. 3 mm große Löcher im Abstand von 1cm zueinander gebohrt. Zuletzt wird die Fallenkonstruktion an der unteren Hälfte mit schwarzem Sprühlack eingefärbt. Damit der befüllte Köderbehälter besser hält, wurde dieser zusätzlich zu dem Klebeband mit einem handelsüblichen Garn an den Flaschenhals befestigt. Um die Feuchtigkeit innerhalb der Flasche zu minimieren, wurde im unteren Flaschenhals ein kleiner, mit Reis befüllter Sack aus einer Feinstrumpfhose befestigt.



Abbildung : Foto der unbefüllten Fallen.

3.2. Standorte der Fallen

Die Standorte der Fallen wurden unter verschiedenen Gesichtspunkten ausgewählt. Im Vordergrund stand hier die geographische und lokal klimatische Komponente. Bei allen Fallenstandorten wurde auf eine baumreiche Vegetation geachtet. Zusätzlich gab es kleine Unterschiede wie Bachnähe, urbanes Gebiet, Waldgebiete, Obstgarten sowie Sträucher, wie bei Roggero et al. beschrieben (Roggero et al. 2010). Zusätzlich wurde darauf geachtet, dass die Fallen an vor Witterung geschützten Standorten aufgehängt werden. Dies verhindert ein Volllaufen mit Wasser und eine daraus resultierende schlechte Fangquote. Eine weitere wichtige Voraussetzung war eine gute Erreichbarkeit mit dem PKW, da alle Fallen mindestens einmal in der Woche auf Beschädigungen kontrolliert wurden sowie ein Köderwechsel durchgeführt wurde.

Tabelle 1: Standorte der *Phortica variegata* Fallen

Name	Breitengrad	Längengrad	Meereshöhe (m)	Flora des Standortes	Dorf und PLZ
NOE_01	48.207313	15.329871	279	Garten, Dirndlstrauch	Pöverding 3390
NOE_02	48.207466	15.3301	273,6	Garten: Apfel und Quittenbaum, Himbeerstrauch	Pöverding 3390
NOE_03	48.207462	15.329812	281,7	Nussbaum	Pöverding 3390
NOE_04	48.207082	15.329707	270,1	Kleines Waldstück	Pöverding 3390
NOE_05	48.207352	15.329187	277,7	Kleines Waldstück	Pöverding 3390
NOE_06	48.207152	15.329231	277,5	Birnengarten	Pöverding 3390
NOE_07	48.206576	15.330207	272,9	Wald mit Bachnähe	Pöverding 3390
NOE_08	48.206901	15.331342	270,6	Garten, Pfirsichbaum	Pöverding 3390
NOE_09	48.207311	15.328266	302,8	Energiewald	Pöverding 3390
NOE_09_NEU	48.207242	15.328328	304,1	Energiewald	Pöverding

					3390
NOE_10	48.207137	15.328226	295,7	Energiewald	Pöverding 3390
NOE_11	48.236412	15.422345	377,7	Streuobstwiese	Mauer 3362
NOE_12	48.236268	15.421969	370,7	Streuobstwiese	Mauer 3362
NOE_13	48.2572	15.377589	234,3	Apfelbaum	Schönbühel a.d. Donau 3392
NOE_14	48.257273	15.377232	232,4	Streuobstwiese	Schönbühel a.d. Donau 3392
NOE_15	48.256617	15.377923	240,4	Pfirsichbaum im kultivierten Garten	Schönbühel a.d. Donau 3392
NOE_16	48.232654	15.367263	255,8	Kirschbaum	Pielachberg 3390
NOE_17	48.23279	15.367445	246,1	Wald	Pielachberg 3390
NOE_18	48.22807	15.344127	251,9	Urbaner Garten	Stadt Melk 3390

In der Detailansicht kann man jeweils die Standorte der Fallen in Pöverding, Stadt Melk, Pielachberg, Schönbühel an der Donau und Mauer sehen. Jeder dieser Orte befindet sich in und rund um Melk und weist ein warmes und gemäßigtes Klima auf. In Abbildung 5 werden die Minimaltemperaturen, Maximaltemperaturen, Durchschnittstemperatur, Niederschlag in mm, Luftfeuchtigkeit, durchschnittliche Regentage und Sonnenstunden pro Monat aufgeschlüsselt. Zwischen Juni und September schwanken die Temperaturen durchschnittlich zwischen mind. 13,6 und max. 24,5 °C. Die relative Luftfeuchtigkeit pendelt sich im Schnitt zwischen 70 und 77% ein 12.09.23 22:07:00.

	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
ø. Temperatur (°C)	-0.5	0.8	4.9	10.4	14.6	18.4	20	19.8	15.1	10.1	5.1	0.7
Min. Temperatur (°C)	-3.6	-2.9	0.4	5.1	9.7	13.6	15.3	15.2	11	6.4	2	-2.1
Max. Temperatur (°C)	2.6	4.6	9.6	15.4	19.2	22.8	24.5	24.3	19.3	14.3	8.4	3.8
Niederschlag (mm)	56	47	69	64	93	98	96	87	83	61	57	55
Luftfeuchtigkeit(%)	82%	79%	74%	69%	72%	71%	70%	71%	77%	81%	84%	83%
Regentage (Tg.)	8	7	10	9	11	11	11	9	8	8	8	9
Sonnenstd. (Std.)	3.6	4.7	6.2	8.7	9.6	10.8	11.0	10.0	7.1	5.2	3.8	3.6

Data: 1991 - 2021 Min. Temperatur (°C), Max. Temperatur (°C), Niederschlag (mm), Luftfeuchtigkeit, Regentage. Data: 1999 - 2019: Sonnenstd.

Abbildung 4: Klimatabelle Raum Melk. Quelle: <https://de.climate-data.org/europa/oesterreich/niederoesterreich/melk-9325/t/august-8/> zuletzt geöffnet am 01.08.2023

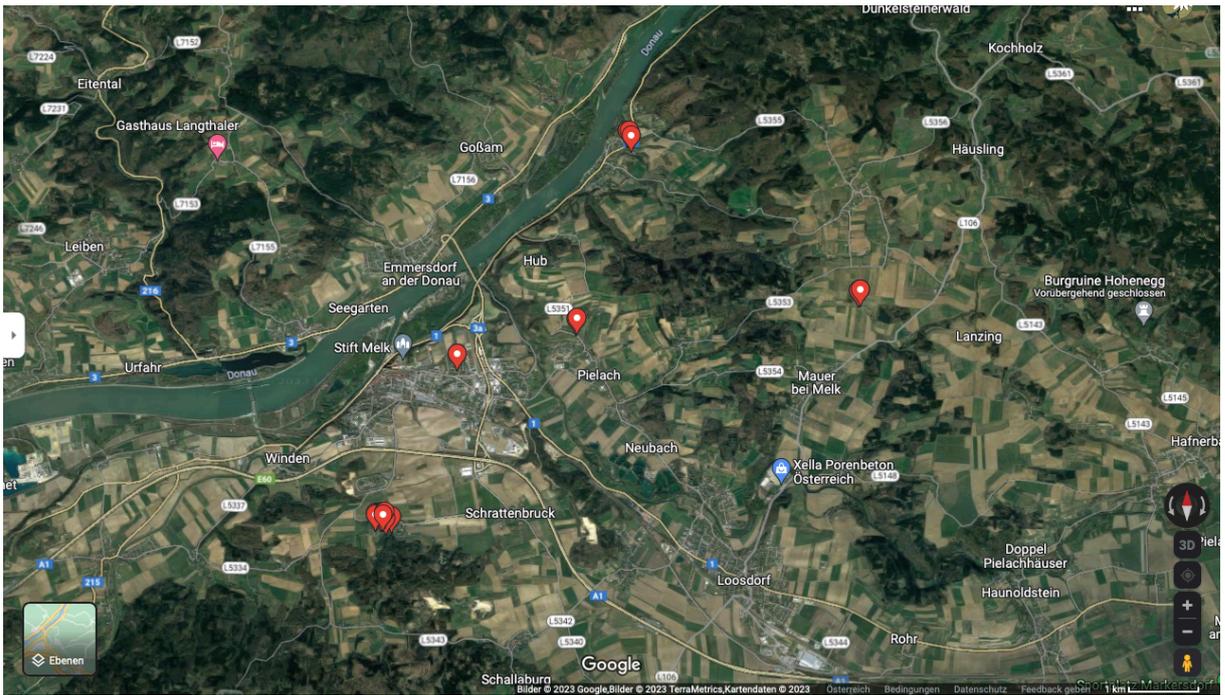


Abbildung 5: Standort der Fallen im Raum Melk in der Übersicht Quelle: <https://www.google.at/maps/>

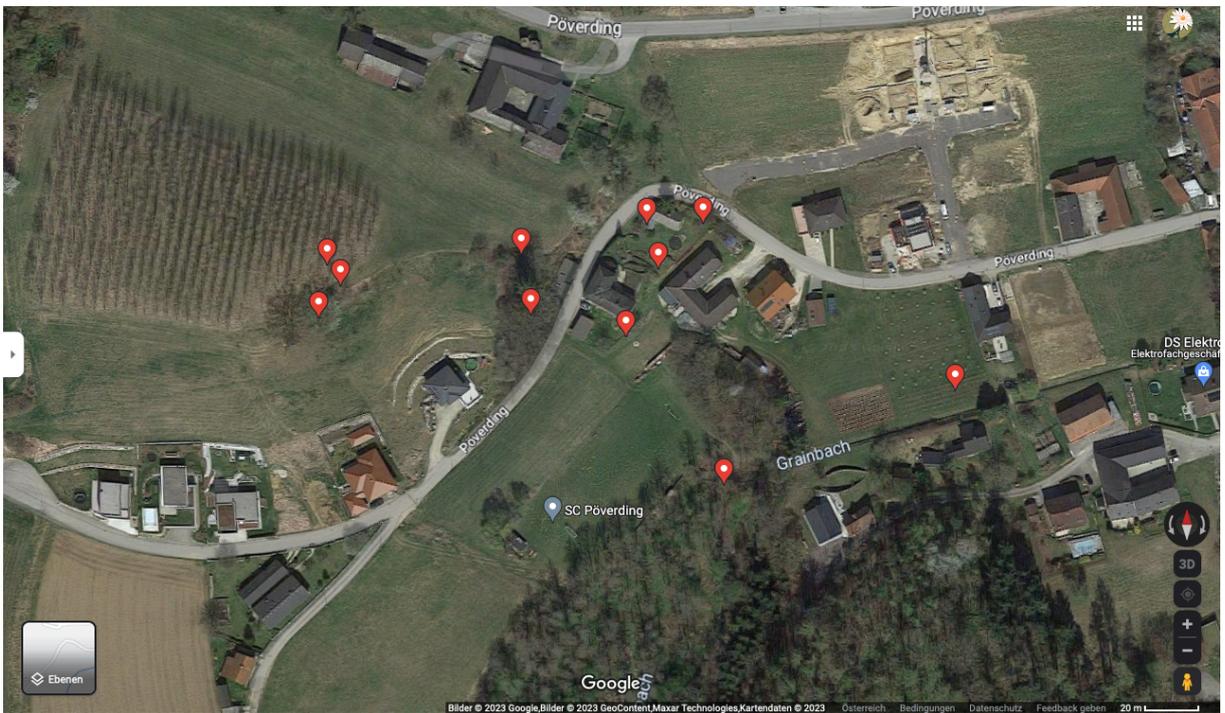


Abbildung 6: Standort der Fallen in Pöverding Quelle: <https://www.google.at/maps/>

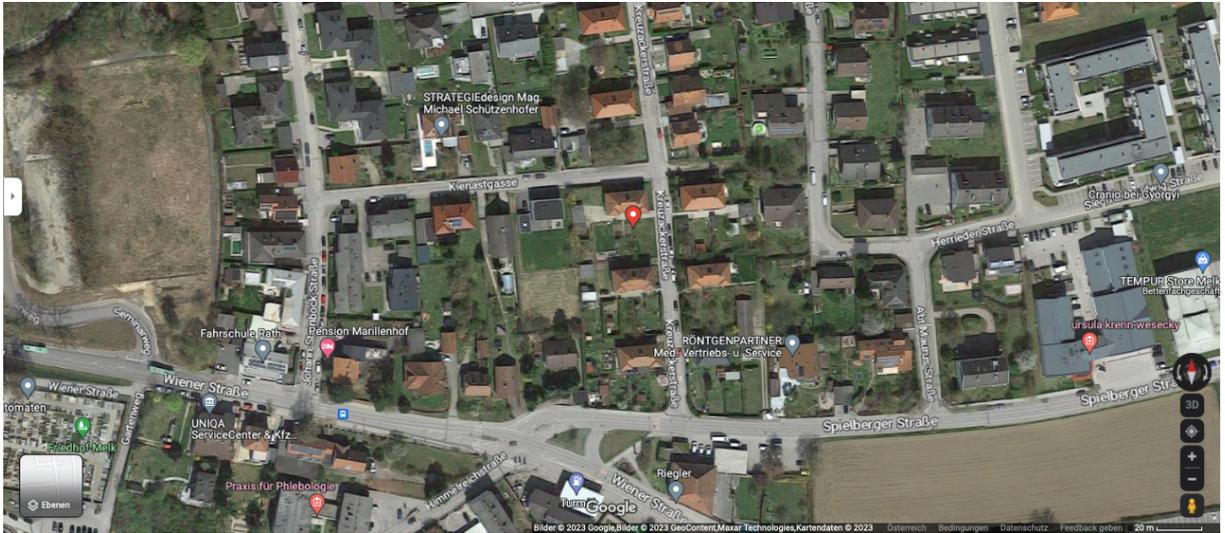


Abbildung 7: Standort der Fallen in der Stadt Melk Quelle: <https://www.google.at/maps/>

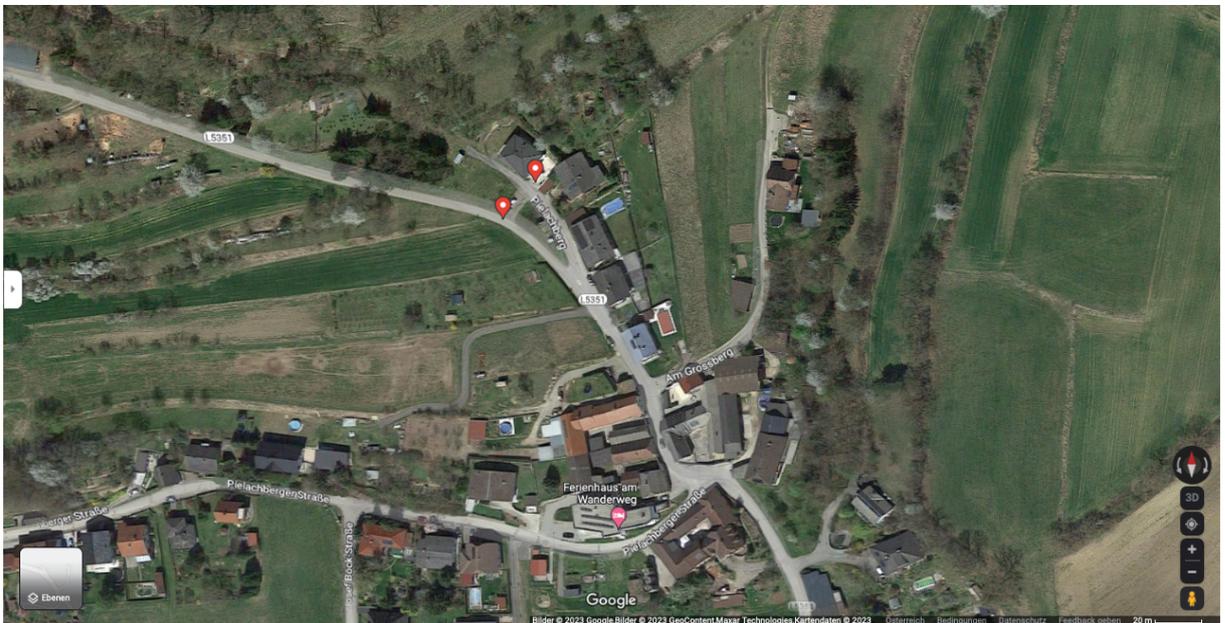


Abbildung 8: Standort der Fallen in Pielachberg Quelle: <https://www.google.at/maps/>



Abbildung 9: Standort Fallen in Schönbühel an der Donau Quelle: <https://www.google.at/maps/>

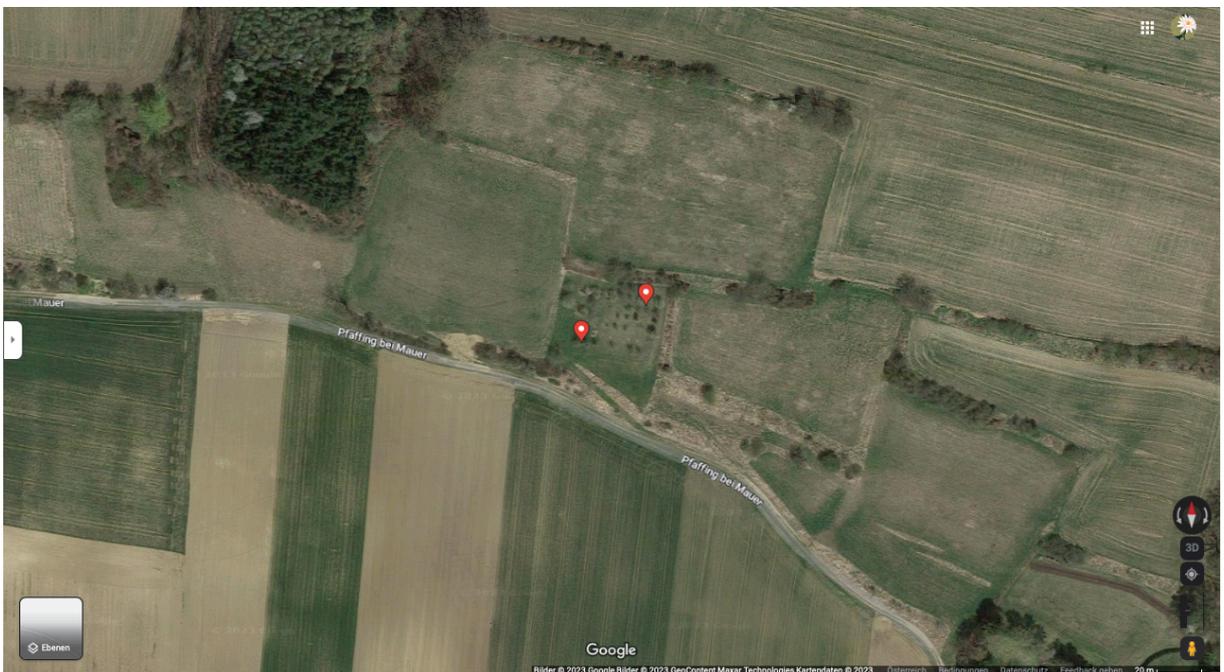


Abbildung 10: Standort der Fallen in Mauer Quelle: <https://www.google.at/maps/>

3.3. **Methodik**

Es wurden über drei Monate, von Juli bis September 2021, Fruchtliegenfallen modifiziert nach Roggero et al. (2010) an den Standorten, wie in Tab. 1 kategorisiert, aufgestellt. Die Fallen zu dem Projekt wurden im Mai 2021 konstruiert und mit „Standort_Fallnummer:JahrMonatTag“ der letzten Entnahme in der App VECMAP® (Avia Gis, Zoersel, Belgien) eingetragen. Als Name wird bei allen Fallen das Kürzel „NÖ“ für Niederösterreich verwendet. Zusätzlich wurde mithilfe von VECMAP® am Tag des Aufstellens der Fallen die genauen Standortdaten wie Längengrad, Breitengrad und Meereshöhe mittels GPS ins System überspielt. Die ersten zehn Fallen wurden am 4.7.2021 an ihren Standorten platziert und frisch beködert. Vier Tage später wurden die restlichen Fallen, Nummer 11 bis 18 an ihren Plätzen aufgehängt. Ab diesem Zeitpunkt wurden die Fallen im Wochentakt mit kleingeschnittenen reifen Äpfeln, Birnen, Zwetschgen sowie Kriecherln beködert und im zweiwöchigen Abstand wurden die Obstfliegen geerntet. Es wurden die obigen Obstsorten als Köder gewählt, da diese vom eigenen Garten reif geerntet wurden und somit besonders viel Aroma ausstrahlten. Um die Fliegen von der Falle zu ernten, wurde die PET Flasche 10 Sekunden lang geschüttelt, und im Zuge dessen die gefangenen Fliegen betäubt. Anschließend wurde ein schwarzer, feinmaschiger Netzbeutel über die obige Öffnung gestülpt und mit einem Gummizug festgezogen, um so die Obstfliege von der Falle in das Netz zu transferieren. Folgend wurden die Netzbeutel in ein kleines quadratisches Plastikgefäß, beschriftet mit der Fallnummer und Entnahmedatum, gegeben und für mindestens zwei Stunden im Tiefkühler bei minus 20°C eingefroren und somit die Fliegen abgetötet. Nach den zwei Stunden wurden die toten Fliegen von dem Beutel auf ein weißes DIN-A4-Blatt geleert, um sie somit leichter in ein kleines, verschraubbares Zylindergefäß zu überführen. Die Gefäße wurden wiederum mit der Fallnummer sowie Entnahmedatum beschriftet und bis zur weiteren Diagnostik bei minus 20°C verwahrt.

3.4. **Morphologische Analyse**

Die morphologische Analyse fand am Institut für Parasitologie an der Vetmeduni Vienna statt. Es wurden immer alle 18 Standorte eines Entnahmedatums untersucht. Mithilfe von Pinzetten und Sonden wurden die gefrorenen Fruchtliegen in eine Glaspetrischale geleert und unter einem Stereomikroskop (Nikon SMZ1270i, Nikon Europe BV, Niederland) mäanderförmig durchsucht. Bei einem Verdacht eines *P. variegata* Exemplares wurde dieses in eine kleinere Glaspetrischale überführt. Hierbei wurde besonders auf die morphologischen Besonderheiten der *P. variegata* geachtet. Darunter zählen die Größe, der helle Ring um die roten Augen, die getigerten Beine, helle graue Punkte auf dem Scutum sowie die auffällige „cross-vein“ an den

Flügeln. Alle morphologischen Merkmale, die hier zum Tragen kommen, wurden zuvor von Otranto und Bächli erwähnt (Otranto et al. 2006a). Anschließend wurden Flügel, Augen, Beine sowie der Körper genau auf speziesspezifische Merkmale untersucht. Bei einem positiven Fund wurden jeweils Fotos von Kopf, Thorax und Terminalia angefertigt und die *Phortica variegata* beschriftet separiert. Um einzelne Teile der *P. variegata* besser zu fotografieren, wurden kleine Lagerungshilfen, gefaltet aus Papier, verwendet.

3.5. Molekulare Analyse (geplant bei Verdachtsfall)

Bei der molekularen Analyse wurden *Phortica variegata*, die bei der makroskopischen Untersuchung als solche erkannt wurden, einer PCR (Polymerasekettenreaktion) unterzogen. Obwohl im Zuge dieser Arbeit keine Verdachtsfälle ermittelt werden konnten, wird die hierfür geplante molekulare Analyse dennoch beschrieben.

3.5.1.1 PCR-Protokoll

In diesem Versuch wurden zwei verschiedene Protokolle verwendet. Im ersten Durchgang wurden die Lepidoptera Primer verwendet (=Durchgang 1). Im zweiten Durchgang wurden die LCO/HCO COI Barcoding Primer benutzt, mit dem die PCR besser funktionierte (=Durchgang 2). Im Anschluss werden beide PCR-Protokolle aufgelistet.

Durchgang 1

Als Primer-Paar wurden Lepidoptera Primer verwendet.

Forward Primer: **Lep-F1:** 5'- ATTCAACCAATCATAAA- 3' 10 pmol/μl

reverse Primer: **Lep-R1:** 5'-TAAACTTCTGGATGTCCAAAAA—3' 10 pmol/μl

<i>Reagens</i>	1 Tube (Menge in μl)	10 Tubes (Menge in μl)
H₂O	13.675	136.75
5X Green Reaction Buffer	5	50
dNTP's (25mM)	0,2	2,0
TaqPolymerase (GoTaq) 5 u/μl	0,125	1,25
Primer (10pmol/μl)	1	10
Primer (10pmol/μl)	1	10
MgCl₂	1	10
Template	3	10 x 3 μl
Total volume	25	250

Tabelle 2: Mastermixprotokoll Durchgang 1

Organismus	PCR-Produkt
<i>Lepidoptera</i>	Ca 648 bp

<i>Temperatur (°C)</i>	<i>Dauer (min)</i>	<i>Wiederholungen</i>
94	2	Initiale Denaturation
94 45 72	1 1,5 75 sek	6x
94 51 72	1 1,5 75 sek	36x
72	5	Finale Verlängerung
4	Lagerung	

Tabelle 3: PCR Protokoll Durchgang 1

Durchgang 2

Als Primer-Paar wurden Universalprimer, LCO/HCO COI Barcoding Primer verwendet.

forward Primer: **LCO1490:** 5' - AGCCATTTAATCGCGACAA -3' 10 pmol/μl

reverse Primer: **HCO2198:** 5' - GGATGTCCAAAAAATCAAATAAATGTT -3' 10 pmol/μl

<i>Reagens</i>	1 Tube (Menge in μ l)	10 Tubes (Menge in μ l)
<i>H₂O</i>	12,175	121,75
<i>5X Green Reaction Buffer</i>	5	50
<i>dNTP's (25mM)</i>	0,2	2,0
<i>TaqPolymerase (GoTaq) 5 u/μl</i>	0,125	1,25
<i>Primer (10pmol/μl)</i>	2,5	25
<i>Primer (10pmol/μl)</i>	2,5	25
<i>Template</i>	2,5	10 x 2,5 μ l
<i>Total volume</i>	25	250

Tabelle 4: Mastermix Protokoll Durchgang 2

<i>Organismus</i>	PCR-Produkt
<i>Culicidae</i>	Ca. 708 bp

<i>Temperatur (°C)</i>	Dauer (min)	Wiederholungen
94	2	Initiale Denaturation
94	1	40x
45	1	
72	1	
72	5	Finale Verlängerung
15	Lagerung	

Tabelle 5: PCR Protokoll Durchgang 2

3.5.1.2 Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese bezeichnet eine Wanderung von geladenen Teilchen innerhalb eines elektrischen Feldes. Die auf die Gelmatrix pipettierten DNS-Sequenzen wandern aufgrund ihrer negativen elektrischen Ladung von der Katode zur Anode. Nach Anlegen einer 120 V Spannung bilden sich somit unterschiedlich lange Banden, die mithilfe von bekannten positiven Proben bestimmt werden können (Kues et al. 2021). In diesem Projekt wurde eine Gelelektrophorese in 2% Agarosegel, versetzt mit Midori Green (Nippon Genetics Europe, Deutschland) durchgeführt (Unterköfler et al. 2023).

3.5.1.3 Sequenzierung

Bei der Sequenzierung werden unbekannte Teilabschnitte der DNS mit bekannten Positivproben von sogenannten Gendatenbanken, verglichen. Positivproben von der Gelelektrophorese wurden zur Sequenzierung an LGC Genomics GmbH, Deutschland weitergeleitet (Unterköfler et al. 2023).

4. Ergebnisse

Innerhalb der ersten Woche (nach 4.7.2021), nachdem die Fallen Nummer 1 bis 10 aufgestellt wurden, konnten keine Fruchtfliegen innerhalb des Fallensystems gesichtet werden. Erst bei dem ersten Erntetag am 17.7.2021 wurden, trotz regnerisch-nassem Wetter, viele Fruchtfliegen innerhalb der Fallen gesichtet und entnommen. Als Köder wurden reife Äpfel klein geschnitten und wenige Stunden lang fermentiert.

Im zweiten Köderwechsel (25.7.2021) und Entnahmezyklus (31.7.2021) konnten mit Falle Nummer 2 und 10 keine Obstmücken gefangen werden. In der Falle Nummer 9 sowie in Falle Nummer 10 stand das Wasser innerhalb der mittleren Flasche, sodass die Mücken nicht mehr einfliegen wollten. Zudem muss erwähnt werden, dass es in dieser Woche sehr viel Niederschlag im Raum Melk gegeben hat. Der Köder bestand bei diesem Zyklus aus säuerlichen Sommeräpfeln.

Im dritten Köderwechsel (8.8.2021) und Entnahmezyklus (14.8.2021) war auffällig, dass bei den Fallen mit der Nummer 1, 7, 12 und 13 die Einfluglöcher geringgradig mit dem Tesaband überklebt waren und somit der Einflug erschwert möglich war. Dieser Umstand wurde bereinigt und in der Entnahmewoche wurden sehr viele Obstmücken gefangen. Zusätzlich ist hier zu erwähnen, dass es in dieser Woche zumeist sonnig war und es nur wenig Niederschlag gab. Die Fallen 9 und 10 wurden ca. 5 m vom lichten Energiewald in ein dichteres Gestrüpp gehängt, da sich in diesen beiden Fallen Regenwasser sammelte. Als Köder wurden einmal etwas säuerliche Äpfel genommen und beim zweiten Köderwechsel in diesem Zeitraum, reife Sommeräpfel.

Im vierten Köderwechsel (21.8.2021) und Entnahmezyklus (28.8.2021) wurden viele Obstmücken gefangen, das Wetter war in den beiden Wochen warm und trocken. In der Falle 12 war im feinmaschigen Netz ein Loch, wodurch viele Mücken bis hinunter zum Köder gelangen konnten und somit beim Köderwechsel entweichen konnten. Als Köder fungierten klein geschnittene Zwetschgen sowie Sommeräpfel aus dem eigenen Garten.

Im fünften Köderwechsel (4.9.2021) und Entnahmezyklus (11.9.2021) gab es keine größeren Zwischenfälle. Bei manchen Fallen waren jedoch mehrere Obstmücken im Köderbehälter, obwohl weder Löcher im Netz noch andere Mängel festgestellt werden konnten. Das Wetter war spätsommerlich warm und trocken. Auch bei diesem Entnahmezyklus bestand der Köder aus reifen, kleingeschnittenen Zwetschgen gemischt mit Sommeräpfeln.

Im sechsten Köderwechsel (19.9.2021) und Entnahmezyklus (26.9.2021) wurden die Fallen abgenommen und nach der Mückenernte entsorgt. In der Falle Nummer 16 hat eine Spinne ihr Netz gesponnen, dadurch waren viele *Drosophilae* im Netz gefangen und für die weiteren Untersuchungen nicht zugänglich. Der Köder bestand aus klein geschnittenen Zwetschgen mit klein geschnittenen Sommeräpfeln.

Generell war eine Vielzahl von Fliegen zwischen den einzelnen Flaschenebenen der Falle eingeklemmt und somit für unsere Untersuchungen unbrauchbar. Nach Absprache mit dem Betreuer wurden diese ebenfalls mit den Fallen entsorgt. Zusätzlich muss die große Anzahl an Fruchtfliegen im Monat August erwähnt werden, denn trotz dieses Umstands wurden keine *P. variegata* gefunden. Zur besseren Übersicht sind die einzelnen Köderwechsel und Köderwechsel mit Entnahme der Fallenstandorte (bei Entnahme eins als zwei Kohorten, bei den übrigen Entnahmen als eine Kohorte) aufgelistet.

	Fallenstandorte	Köderwechsel	Köderwechsel und Entnahme
Entnahme 1	1-10	04.Jul.21	17.Jul.21
	11-18	-	-
Entnahme 2	1-18	25.Jul.21	31.Jul.21
Entnahme 3	1-18	08.Aug.21	14.Aug.21
Entnahme 4	1-18	21.Aug.21	28.Aug.21
Entnahme 5	1-18	04.Sep.21	11.Sep.21
Entnahme 6	1-18	19.Sep.21	26.Sep.21

Tabelle 6: Protokoll Beköderung und Entnahme der Fallen

4.1. *Morphologische Analyse*

Die morphologische Analyse wurde am Institut für Parasitologie an der Vetmeduni Vienna durchgeführt. Trotz der Vielzahl der gefangenen *Drosophilidae* wurde kein Exemplar von *Phortica variegata* gefunden.

4.2. *Molekulare Analyse*

Da keine *Phortica variegata* gefunden wurde, konnte somit auch keine molekulare Analyse durchgeführt werden.

5. Diskussion

Diese Diplomarbeit entstand im Zuge einer größeren Studie, bei der mehrere Diplomarbeiten parallel arbeiteten. Eine Kollegin, Miriam Niederbacher, untersuchte das Vorkommen von *P. variegata* in Südtirol, Eppan, die andere, Sarah Lindorfer, legte ihren Schwerpunkt auf den Raum Linz. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse dieser Diplomarbeit mit den Funden meiner beiden Kolleginnen verglichen. Die gesammelten Ergebnisse dieser Großstudie (inklusive jener dieser Diplomarbeit) wurden zusammengefasst und in einem Fachjournal eingereicht (Unterköfler et al. 2023).

Im Raum Linz, genauer in Puchenau, wurden insgesamt drei weibliche *P. variegata* und in der Stadt Leonding ein männliches Exemplar gefangen. Die Gebiete variierten von ländlichem Wohngebiet über eine Wohnsiedlung in Waldnähe, ein Wohngebiet am Waldrand sowie einer Wohnsiedlung mit zahlreichen Gärten mit Obstbäumen. Die Falle, die das Männchen gefangen hatte, hing an einem Pfirsichbaum. Ein Weibchen wurde in der Falle, die an einem Nussbaum hing, gefunden. Weiters wurden zwei weibliche *P. variegata* in der Nähe beziehungsweise am Waldrand gefangen (Lindorfer et al. 2022).

In Südtirol, Gemeinde Eppan Fraktion Frangart, wurden 21 Exemplare auf dem Grundstück eines Obstlandwirtes gefangen. Von der Gesamtanzahl handelt es sich bei zehn Individuen um Weibchen, bei sechs Individuen um Männchen und die verbleibenden fünf Exemplare konnten morphologisch wegen des schlechten Zustands keinem Geschlecht zugeordnet werden. Auffällig hierbei war, dass *P. variegata* ausschließlich bei Fallen gefunden wurden, bei denen die gefangene Anzahl der Fruchtfliegen weit unter dem Durchschnitt der gefangenen Fruchtfliegen anderer Standorte waren. „Bestanden die Fänge in derselben Sammelprobe in den Standorten aus teilweise über 200 Insekten, so betrug die Anzahl der gesammelten Individuen in Eppan maximal 20“ (Niederbacher et al. 2022).

Weder bei den Standorten in Linz, Puchenau, noch bei den Standorten in Südtirol, Frangart, konnte die These von Otranto, dass sich *P. variegata* sehr gerne in Eichenwäldern aufhält, bestätigt oder widerlegt werden (Otranto et al. 2006b). Es wurden *P. variegata* in Waldnähe gefunden, doch um die Aussage zu verifizieren oder falsifizieren, bräuchte es eine genauere

Beschreibung des umliegenden Waldes, die leider zu diesem Zeitpunkt nicht vorliegt. Auffällig ist jedoch, dass alle *P. variegata*, die von meinen beiden Kolleginnen gefunden wurden, bei oder in der Nähe von Obstbäumen gefangen wurden. Somit kann die Hypothese von Roggero et al. unterstützt werden, dass Gebiete mit Obstgärten, gefolgt von Gebieten nahe oder im Wald, bevorzugt werden (Roggero et al. 2010). Alle Fundorte befinden sich auf einer sehr ähnlichen Seehöhe von 238-393m (Fraktion Frangart) sowie 310 – 391 m über dem Meeresspiegel (Puchenau). Das Klima der Gemeinde Puchenau wird als „Buchenklima“ beschrieben, mit einer durchschnittlichen Temperatur von 18°C im Juli und einem jährlichen mittleren Niederschlag von 800 - 1000mm/Jahr. Bei der Fraktion Frangart herrscht mildes mediterranes Klima mit einer durchschnittlichen Julitemperatur von 22°C sowie eine jährliche mittlere Niederschlagsmenge von 6mm/Jahr (Gemeinde Puchenau, Merkel, Weinstraße).

Der Umstand, dass trotz korrekter (und zu den Kollegen identer) Falle und adäquater Standortbetreuung und Regime sowie einer großen Fangzahl anderer Drosophilidae keine *P. variegata* in den Standorten im Raum Melk gefunden werden konnte, spricht für eine tatsächliche Abwesenheit von *P. variegata* im Zeitraum Juli bis September 2021 im Untersuchungsgebiet. Um diese Hypothese weiter zu verifizieren, muss der Versuch wiederholt werden, hierzu sind die Grunddaten gesetzt, um einen weiteren Verlauf zu starten. Der Bezirk Melk liegt in einem Kontinentalklima und hat eine mittlere Julitemperatur von 18°C und eine durchschnittliche Niederschlagsmenge von 594mm/Jahr. Die durchschnittliche Windgeschwindigkeit beläuft sich im Jahresmittel auf 10,4km/h, wobei sie im September am niedrigsten (7,6km/h) und im Jänner am höchsten (13,3km/h) ist. Auch die Meereshöhe liegt bei allen Fallenstandorten zwischen 240 bis 380 Höhenmeter, wodurch sich zusätzlich eine tatsächliche Abwesenheit von *P. variegata* im Raum Melk erschließen lässt. Aufgrund der geographischen Nähe zwischen Raum Linz und Raum Melk lässt sich eine baldige Ansiedelung von *P. variegata* in dieser Gegend nicht ausschließen („Mühr Bernhard e.V. http://www.klimadiagramme.de/GMA_neu/Europa/Oesterreich/melk.html (Zugriff 1.08.2023)“).

Während der Probensammlung sind keine größeren Schwierigkeiten aufgetreten. Zwei der insgesamt 18 Fallen wurden, aufgrund der wiederkehrenden Problematik mit stehendem Regenwasser innerhalb des Fallensystems, in ein geschützteres Areal umgehängt und die

Koordinaten neu ins System VECMAP eingespielt. In beiden Fällen war dies jedoch in unmittelbarer Umgebung, jeweils ca. zwei Meter vom ursprünglichen Standort, entfernt. Es ist klar, dass während des Überführens der Drosophilidaen von der Falle in den Netzbeutel einige wenige Exemplare durch unzureichendes Zusammenziehen des Gummis entweichen können. Jener Umstand stellt aber nach anfänglichen kleineren Schwierigkeiten keine Probleme im weiteren Probenverlauf dar. Um den Köderbehälter adäquat an der Falle zu befestigen, wurde zusätzlich zum Garn, welches über die ganze Flasche geknotet wurde, ein Tesaband horizontal zwischen dem Köderbehälter und der Falle geklebt. Hierbei wurden irrtümlicherweise bei einigen Fallen die Einfluglöcher überklebt, sodass in der Woche zwischen dem erneuten Besuch der Standorte keine Fruchtfliegen innerhalb der Fallen zu finden waren. Infolgedessen wurde beim nächsten Besuch der Umstand korrigiert und beim weiteren Verlauf auf freie Einfluglöcher geachtet.

Im Rahmen der groß angelegten Studie konnte bei keinem der insgesamt 25 *P. variegata* Individuen *T. callipaeda* molekularbiologisch nachgewiesen werden. (Unterköfler et al. 2023) Dieses Ergebnis schließt ein Vorkommen von *T. callipaeda* in Österreich nicht aus, jedoch ist das Risiko, dass das Haustier an Thelaziose erkrankt, zu diesem Zeitpunkt gering. Hierzu muss beachtet werden, dass vorwiegend männliche *P. variegata* für die Übertragung der Nematoden verantwortlich sind. In Österreich wurde nur ein männliches Exemplar nachgewiesen, im Rahmen der gesamten Studie waren es insgesamt nur 7 männliche *P. variegata*.

Insgesamt wurde an zwei lokalen Gebieten, an 18 Standorten (westliches Niederösterreich, Raum Melk) sowie 17 verschiedenen Standorten (Ostoberösterreich, Raum Linz) und Wien, stellvertretend für Österreich, nach *P. variegata* gesucht. Aus diesem Grund ergibt sich die Notwendigkeit, auch in anderen Bundesländern Österreich großflächige Studien durchzuführen. Denn nur so ist es möglich, einen Status quo zu erheben, um somit einen besseren Überblick über mögliche Ausbreitungen von *P. variegata* inklusive ihrer Parasiten frühzeitig zu erkennen. Auch Gebiete, in denen es momentan zu kalt für die Fruchtfliege ist, müssen aufgrund des fortschreitenden Klimawandels und somit die damit verbundene Erhöhung der mittleren Lufttemperatur, in naher Zukunft in Betracht gezogen werden.

Bei allen Fruchtfliegen, die morphologisch und molekularbiologisch als *P. variegata* bestimmt wurden, konnten insgesamt 22 verschiedene Haplotypen differenziert werden. Lediglich eine Gensequenz war näher zu *Phortica chi* und *P. okadai* verwandt, welche im asiatischen Raum endemisch sind. Im Gegensatz dazu steht die genetische Vielfalt von *T. callipaeda* in Europa, denn hier konnte nur ein Haplotyp nachgewiesen werden. Zusammenfassend kann man somit sagen, dass *P. variegata* schon länger in Europa, Österreich miteingeschlossen, endemisch ist, *T. callipaeda* jedoch nicht (Unterköfler et al. 2023).

6. Zusammenfassung

Phortica variegata, eine Drosophilidenart, fungiert als Vektor von *Thelazia callipaeda*, einem parasitischen Nematoden. Eine Infektion mit *T. callipaeda*, auch als Thelaziose bekannt, verursacht milde bis schwere Symptome. Diese zeigen sich als Augenentzündungen bei Carnivoren sowie Menschen, welche mit Blepharospasmus, Epiphora, Konjunktivitis und Korneale Ulzera einhergehen können. Seit 1989 ist *P. variegata* in Südeuropa endemisch, viele weitere europäische Länder, wie Italien, Schweiz, Spanien, Deutschland, Slowenien, Frankreich und auch Österreich folgten.

Im Zeitraum von Juli bis September 2021 wurden speziell konstruierte Fruchtfliegenfallen an 18 verschiedenen Standorten installiert. Nach einem vorgegebenen Regime wurde der Köder wöchentlich erneuert sowie die Fruchtfliegen im Zwei-Wochen-Intervall geerntet und bis zur weiteren Untersuchung bei -20°C gelagert. An der Veterinärmedizinischen Universität folgte die Differenzierung der Drosophilidae mittels eines Lichtmikroskops. Dabei wurden verdächtige Exemplare in eine Petrischale überführt und genauer inspiziert. Trotz korrektem Fallen- und Köderregime konnten keine *P. variegata* im Raum Melk nachgewiesen werden.

Im gleichen Zeitraum konnten in Oberösterreich, Linz, vier Individuen von *P. variegata* gefangen werden und in Südtirol, Eppan, 21 *P. variegata*. Alle drei Areale, Eppan (Südtirol), Linz (Österreich) und Melk (Österreich) liegen auf einer ähnlichen Seehöhe, von 238 – 391m über dem Meeresspiegel sowie in einer ähnlichen Klimazone. Trotz alldem konnte im Raum Melk keine *P. variegata* nachgewiesen werden, obwohl diese Gegend passend für diese Drosophilidae sein sollte. Aus diesem Grund wird vermutet, dass im westlichen Niederösterreich *P. variegata* im Zeitraum des Projektes nicht endemisch war.

Schlussendlich konnten im Laufe einer übergeordneten Studie insgesamt 25 *P. variegata* nachgewiesen werden, denen 22 verschiedene Haplotypen zugrunde liegen. Somit ist *P. variegata* in manchen Teilen Österreichs bereits längere Zeit endemisch. Dennoch könnte aufgrund der räumlichen Nähe von Linz und Melk eine baldige Ausbreitung der *P. variegata* ins westliche Niederösterreich stattfinden.

7. Abstract

Phortica variegata, a drosophilid species, acts as a vector of *Thelazia callipaeda*, a parasitic nematode. Infection with *T. callipaeda*, also known as thelaziosis, causes mild to severe symptoms. These manifest as ocular inflammation in carnivores as well as humans, which may be accompanied by blepharospasm, epiphora, conjunctivitis, and corneal ulcers. Since 1989, *P. variegata* has been endemic in southern Europe, and many other European countries, such as Italy, Switzerland, Spain, Germany, Slovenia, France, and also Austria followed.

Specially designed fruit fly traps were installed at 18 different locations between July and September 2021. Following a predetermined regime, the bait was renewed weekly as well as the fruit flies were harvested at two-week intervals and stored at -20°C until further examination. This was followed at the University of Veterinary Medicine by differentiation of the Drosophilidae using a light microscope. This involved transferring suspect specimens to a Petri dish for closer inspection. Despite correct trap and bait regime, no *P. variegata* could be detected in the Melk area.

During the same period, four individuals of *P. variegata* could be caught in Upper Austria, Linz, and 21 *P. variegata* in South Tyrol, Eppan. All three areas, Eppan (South Tyrol), Linz (Austria) and Melk (Austria) are located at a similar altitude, from 238 - 391m above sea level as well as in a similar climatic zone. Despite all this, no *P. variegata* could be detected in the Melk area, although this area should be suitable for this Drosophilidae. For this reason it is assumed that *P. variegata* is not endemic in western Lower Austria during the period of the project.

Finally, a total of 25 *P. variegata* could be detected in the course of a superordinate study, based on 22 different haplotypes. Thus, *P. variegata* is already endemic in some parts of Austria for a longer period of time. Nevertheless, due to the spatial proximity of Linz and Melk, an early spread of *P. variegata* into western Lower Austria could take place.

8. Literaturverzeichnis

- Čabanová V, Kocák P, Víchová B, Miterpáková M. 2017. First autochthonous cases of canine thelaziosis in Slovakia: a new affected area in Central Europe. *Parasites & Vectors*, 10(1):179.
- Dengg P. Analyse des derzeitigen Wissensstandes zu *Thelazia callipaeda* von Tierärzten/-innen und Studenten/-innen der Veterinärmedizin in Österreich, sowie eine Etablierung von Dipterenfallen zum Nachweis des Vektors – *Phortica variegata* [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien.
- Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, Samson-Himmelstjerna G von, Zahner H. 2021a. *PARASITOLOGIE für die Tiermedizin*. 4., überarbeitete Auflage 4., überarbeitete Auflage. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.
- Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, Samson-Himmelstjerna G von, Zahner H. 2021b. *Parasitologie für die Tiermedizin*. 4., überarbeitete Auflage 4., überarbeitete Auflage. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.
- Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, von Samson-Himmelstjerna G, Zahner H. 2021c. *Parasitologie für die Tiermedizin*. vierter 4. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, Samson-Himmelstjerna G von, Zahner H. 2021d. *Parasitologie für die Tiermedizin*. 4., überarbeitete Auflage 4., überarbeitete Auflage. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.
- ESCCAP Deutschland. 2023. ESCCAP Deutschland e.V. <https://www.esccap.de/thelaziose-bei-hunden-und-katzen/> (Zugriff 1.08.2023). *Thelaziose bei Hunden und Katzen*.
- Farkas R, Takács N, Gyurkovszky M, Henszelmann N, Kisgergely J, Balka G, Solymosi N, Vass A. 2018. The first feline and new canine cases of *Thelazia callipaeda* (Spirurida: Thelaziidae) infection in Hungary. *Parasites & Vectors*, 11(1):338.
- Faust EC. 1928. Studies on *Thelazia callipaeda* Railliet and Henry, 1910. *The Journal of Parasitology*, 15(2):75.
- Gemeinde Puchenau. Gemeinde Puchenau e. V. https://www.puchenau.at/Leben_in_Puchenau/Wissenswertes/Steckbrief_der_Gemeinde (Zugriff 1.08.2023).
- Hinney et al. B. *Thelazia callipaeda* bei Hunden aus Österreich. *KompaktVET*. 2016:12.
- Hodžić A, Payer A, Duscher GG. 2019. The first autochthonous case of feline ocular thelaziosis

in Austria. *Parasitology Research*, 118(4):1321–1324.

Kregel-Weber MK, Delling C, Dyachenko V, Lüttgenau H. 2021. Okuläre Thelaziose bei einem Hund in Deutschland – ein autochthoner Fall? *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere / Heimtiere*, 49(01):55–59.

Kues WA, Köckritz-Blickwede M von, Simon Betz D, Hrsg. 2021. *Biochemie für die Tiermedizin: basierend auf dem Werk von Joachim Rassow, Karin Hauser, Roland Netzker, Rainer Deutzmann*. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.

Lindorfer et al. 2022. *Phortica variegata* in Oberösterreich [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien.

Malacrida F, Hegglin D, Bacciarini L, Otranto D, Nägeli F, Nägeli C, Bernasconi C, Scheu U, Balli A, Marengo M, et al. 2008. Emergence of canine ocular thelaziosis caused by *Thelazia callipaeda* in southern Switzerland. *Veterinary Parasitology*, 157(3–4):321–327.

Marino V, Montoya A, Mascuñan C, Domínguez I, Gálvez R, Hernández M, Zenker C, Checa R, Sarquis J, Barrera JP, et al. 2021. Feline thelaziosis (*Thelazia callipaeda*) in Spain: state-of-the-art and first prophylactic trial in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(12):1117–1128.

Merkel A. Merkel, Alexander, AM Online Projects e.V. <https://de.climate-data.org/europa/oesterreich/niederoesterreich/melk-9325/t/august-8/> (Zugriff 1.08.2023).

Motta B, Schnyder M, Basano FS, Nägeli F, Nägeli C, Schiessl B, Mallia E, Lia RP, Dantas-Torres F, Otranto D. 2012. Therapeutic efficacy of milbemycin oxime/praziquantel oral formulation (MilbemaxW) against *Thelazia callipaeda* in naturally infested dogs and cats.

Mühr Bernhard e.V. http://www.klimadiagramme.de/GMA_neu/Europa/Oesterreich/melk.html (Zugriff 1.08.2023).

Naucke T, Magnis J, Auer H, Schnyder M. 2011. Zoonotische Nematoden-Infektionen des Hundes – Ausbreitung von Thelaziose und kutaner Dirofilariose. *kleintier konkret*, 14(04):3–8.

Niederbacher et al. 2022 M. Monitoring von *Phortica Variegata* in Südtirol [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität.

Otranto D, Traversa D. 2005. *Thelazia* eyeworm: an original endo- and ecto-parasitic nematode.

Otranto D, Ferroglio E, Lia RP, Traversa D, Rossi L. 2003. Current status and epidemiological

observation of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in dogs, cats and foxes in Italy: a “coincidence” or a parasitic disease of the Old Continent? *Veterinary Parasitology*, 116(4):315–325.

Otranto D, Lia RP, Buono V, Traversa D, Giangaspero A. 2004. Biology of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) eyeworms in naturally infected definitive hosts. *Parasitology*, 129(5):627–633.

Otranto D, Lia RP, Cantacessi C, Testini G, Troccoli A, Shen JL, Wang ZX. 2005. Nematode biology and larval development of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in the drosophilid intermediate host in Europe and China. *Parasitology*, 131(06):847.

Otranto D, Brianti E, Cantacessi C, Lia RP, Máca J. 2006a. The zoophilic fruitfly *Phortica variegata*: morphology, ecology and biological niche. *Medical and Veterinary Entomology*, 20(4):358–364.

Otranto D, Cantacessi C, Testini G, Lia RP. 2006b. *Phortica variegata* as an intermediate host of *Thelazia callipaeda* under natural conditions: Evidence for pathogen transmission by a male arthropod vector. *International Journal for Parasitology*, 36(10–11):1167–1173.

Palfreyman J, Graham-Brown J, Caminade C, Gilmore P, Otranto D, Williams DJL. 2018. Predicting the distribution of *Phortica variegata* and potential for *Thelazia callipaeda* transmission in Europe and the United Kingdom. *Parasites & Vectors*, 11(1):272.

Pombi M, Marino V, Jaenike J, Graham-Brown J, Bernardini I, Lia RP, Beugnet F, Miro G, Otranto D. 2020. Temperature is a common climatic descriptor of lachryphagous activity period in *Phortica variegata* (Diptera: Drosophilidae) from multiple geographical locations. *Parasites & Vectors*, 13(1):89.

Roggero C, Schaffner F, Bächli G, Mathis A, Schnyder M. 2010. Survey of *Phortica* drosophilid flies within and outside of a recently identified transmission area of the eye worm *Thelazia callipaeda* in Switzerland. *Veterinary Parasitology*, 171(1–2):58–67.

Unterköfler et al. 2023. M. Occurrence of *Thelazia callipaeda* and its vector *Phortica variegata* in 2 Austria and Southern Tyrol (Italy) and global comparison by phylogenetic 3 network analysis.

do Vale B, Lopes AP, da Conceição Fontes M, Silvestre M, Cardoso L, Coelho AC. 2019. Thelaziosis due to *Thelazia callipaeda* in Europe in the 21st century—A review. *Veterinary Parasitology*, 275:108957.

Weinstraße GE an der. Eppan an der Weinstraße e.V.
https://www.eppan.eu/de/Dorfleben/Wissenswertes/Zahlen_und_Fakten (Zugriff 1.08.2023).
Eppan an der Weinstraße.

9. Abbildungsverzeichnis

Čabanová V, Kocák P, Víchová B, Miterpáková M. 2017. First autochthonous cases of canine thelaziosis in Slovakia: a new affected area in Central Europe. *Parasites & Vectors*, 10(1):179.

Dengg. et al. 2021. Analyse des derzeitigen Wissensstandes zu *Thelazia callipaeda* von Tierärzten/-innen und Studenten/-innen der Veterinärmedizin in Österreich, sowie eine Etablierung von Dipterenfallen zum Nachweis des Vektors – *Phortica variegata* [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien.

Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, Samson-Himmelstjerna G von, Zahner H. 2021a. *PARASITOLOGIE für die Tiermedizin*. 4., überarbeitete Auflage 4., überarbeitete Auflage. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.

Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, Samson-Himmelstjerna G von, Zahner H. 2021b. *Parasitologie für die Tiermedizin*. 4., überarbeitete Auflage 4., überarbeitete Auflage. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.

Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, von Samson-Himmelstjerna G, Zahner H. 2021c. *Parasitologie für die Tiermedizin*. vierter 4. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.

Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, Samson-Himmelstjerna G von, Zahner H. 2021d. *Parasitologie für die Tiermedizin*. 4., überarbeitete Auflage 4., überarbeitete Auflage. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.

ESCCAP Deutschland. 2023. ESCCAP Deutschland e.V. <https://www.esccap.de/thelaziose-bei-hunden-und-katzen/> (Zugriff 1.08.2023). *Thelaziose bei Hunden und Katzen*.

Farkas R, Takács N, Gyurkovszky M, Henszelmann N, Kisgergely J, Balka G, Solymosi N, Vass A. 2018. The first feline and new canine cases of *Thelazia callipaeda* (Spirurida: Thelaziidae) infection in Hungary. *Parasites & Vectors*, 11(1):338.

Faust EC. 1928. Studies on *Thelazia callipaeda* Railliet and Henry, 1910. *The Journal of Parasitology*, 15(2):75.

Gemeinde Puchenau. Gemeinde Puchenau e. V. https://www.puchenau.at/Leben_in_Puchenau/Wissenswertes/Steckbrief_der_Gemeinde (Zugriff 1.08.2023).

Hinney et al. B. *Thelazia callipaeda* bei Hunden aus Österreich. *KompaktVET*. 2016:12.

Hodžić A, Payer A, Duscher GG. 2019. The first autochthonous case of feline ocular thelaziosis in Austria. *Parasitology Research*, 118(4):1321–1324.

Kregel-Weber MK, Delling C, Dyachenko V, Lüttgenau H. 2021. Okuläre *Thelaziose* bei einem Hund in

Deutschland – ein autochthoner Fall? Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere / Heimtiere, 49(01):55–59.

Kues WA, Köckritz-Blickwede M von, Simon Betz D, Hrsg. 2021. Biochemie für die Tiermedizin: basierend auf dem Werk von Joachim Rassow, Karin Hauser, Roland Netzker, Rainer Deutzmann. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.

Lindorfer et al. 2022. *Phortica variegata* in Oberösterreich [Diplomarbeit]. Wien:Veterinärmedizinische Universität Wien.

Malacrida F, Hegglin D, Bacciarini L, Otranto D, Nägeli F, Nägeli C, Bernasconi C, Scheu U, Balli A, Marengo M, et al. 2008. Emergence of canine ocular thelaziosis caused by *Thelazia callipaeda* in southern Switzerland. *Veterinary Parasitology*, 157(3–4):321–327.

Marino V, Montoya A, Mascuñan C, Domínguez I, Gálvez R, Hernández M, Zenker C, Checa R, Sarquis J, Barrera JP, et al. 2021. Feline thelaziosis (*Thelazia callipaeda*) in Spain: state-of-the-art and first prophylactic trial in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(12):1117–1128.

Merkel A. Merkel, Alexander, AM Online Projects e.V. <https://de.climate-data.org/europa/oesterreich/niederoesterreich/melk-9325/t/august-8/> (Zugriff 1.08.2023).

Motta B, Schnyder M, Basano FS, Nägeli F, Nägeli C, Schiessl B, Mallia E, Lia RP, Dantas-Torres F, Otranto D. 2012. Therapeutic efficacy of milbemycin oxime/praziquantel oral formulation (MilbemaxW) against *Thelazia callipaeda* in naturally infested dogs and cats.

Mühr Bernhard e.V. http://www.klimadiagramme.de/GMA_neu/Europa/Oesterreich/melk.html (Zugriff 1.08.2023).

Naucke T, Magnis J, Auer H, Schnyder M. 2011. Zoonotische Nematoden-Infektionen des Hundes – Ausbreitung von Thelaziose und kutaner Dirofilariose. *kleintier konkret*, 14(04):3–8.

Niederbacher et al. 2022 M. Monitoring von *Phortica Variegata* in Südtirol [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität.

Otranto D, Traversa D. 2005. *Thelazia* eyeworm: an original endo- and ecto-parasitic nematode.

Otranto D, Ferroglio E, Lia RP, Traversa D, Rossi L. 2003. Current status and epidemiological observation of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in dogs, cats and foxes in Italy: a “coincidence” or a parasitic disease of the Old Continent? *Veterinary Parasitology*, 116(4):315–325.

Otranto D, Lia RP, Buono V, Traversa D, Giangaspero A. 2004. Biology of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) eyeworms in naturally infected definitive hosts. *Parasitology*, 129(5):627–633.

Otranto D, Lia RP, Cantacessi C, Testini G, Troccoli A, Shen JL, Wang ZX. 2005. Nematode biology and larval development of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in the drosophilid intermediate host in Europe and China. *Parasitology*, 131(06):847.

- Otranto D, Brianti E, Cantacessi C, Lia RP, Máca J. 2006a. The zoophilic fruitfly *Phortica variegata*: morphology, ecology and biological niche. *Medical and Veterinary Entomology*, 20(4):358–364.
- Otranto D, Cantacessi C, Testini G, Lia RP. 2006b. *Phortica variegata* as an intermediate host of *Thelazia callipaeda* under natural conditions: Evidence for pathogen transmission by a male arthropod vector. *International Journal for Parasitology*, 36(10–11):1167–1173.
- Palfreyman J, Graham-Brown J, Caminade C, Gilmore P, Otranto D, Williams DJL. 2018. Predicting the distribution of *Phortica variegata* and potential for *Thelazia callipaeda* transmission in Europe and the United Kingdom. *Parasites & Vectors*, 11(1):272.
- Pombi M, Marino V, Jaenike J, Graham-Brown J, Bernardini I, Lia RP, Beugnet F, Miro G, Otranto D. 2020. Temperature is a common climatic descriptor of lachryphagous activity period in *Phortica variegata* (Diptera: Drosophilidae) from multiple geographical locations. *Parasites & Vectors*, 13(1):89.
- Roggero C, Schaffner F, Bächli G, Mathis A, Schnyder M. 2010. Survey of *Phortica* drosophilid flies within and outside of a recently identified transmission area of the eye worm *Thelazia callipaeda* in Switzerland. *Veterinary Parasitology*, 171(1–2):58–67.
- Unterköfler et al. 2023. M. Occurrence of *Thelazia callipaeda* and its vector *Phortica variegata* in 2 Austria and Southern Tyrol (Italy) and global comparison by phylogenetic 3 network analysis.
- do Vale B, Lopes AP, da Conceição Fontes M, Silvestre M, Cardoso L, Coelho AC. 2019. Thelaziosis due to *Thelazia callipaeda* in Europe in the 21st century—A review. *Veterinary Parasitology*, 275:108957.
- Weinstraße GE an der Eppan an der Weinstraße e.V. https://www.eppan.eu/de/Dorfleben/Wissenswertes/Zahlen_und_Fakten (Zugriff 1.08.2023). Eppan an der Weinstraße.

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Standorte der <i>Phortica variegata</i> Fallen	12
Tabelle 2: Mastermixprotokoll Durchgang 1	20
Tabelle 3: PCR Protokoll Durchgang 1	21
Tabelle 4: Mastermix Protokoll Durchgang 2.....	22
Tabelle 5: PCR Protokoll Durchgang 2	22
Tabelle 6: Protokoll Beködierung und Entnahme der Fallen.....	25

11. Danksagung

Hiermit möchte ich mich ganz besonders bei dem besten Betreuer, den man sich nur wünschen kann, bedanken: Priv. Doz. Dr. rer. Nat. Hans-Peter Fuehrer. Egal zu welcher Tages- oder Nachtzeit, ich konnte mich immer auf eine ausführliche Antwort innerhalb kürzester Zeit (max. 3 Minuten!) verlassen, wenn man bei Fragestellungen nicht mehr weiterwusste. Es ist keine Selbstverständlichkeit, einen Betreuer zu finden, der selbst sowohl Motivation als auch außerordentliche Expertise und Begeisterung an den Tag legt, so wie Hans- Peter Fuehrer und diese auch noch bereitwillig und mit Freude an seine Schützlinge weitergibt.

Ein weiterer großer Dank gilt natürlich auch Dr. med vet. Maria Unterköfler, die sich nicht minder Zeit genommen hat, um uns sämtliche Fragen zu beantworten sowie uns auch bei der praktischen Arbeit im Labor zu unterstützen. Geduldig und mit Motivation beantwortete sie mir meine Fragen und gab mir auch (Bild-)Material, welches ich dankend in meiner Arbeit verwenden durfte. Vielen lieben Dank für deine Hilfe Maria!

Zu guter Letzt möchte ich mich auch bei meiner Familie und meinen Freunden bedanken, die mich auf allen Ebenen unterstützt haben. Danke Mama, dass du mit mir einen halben Tag lang zu meinen Fallen gefahren bist und danke Papa für die Unterstützung beim PET Flaschen sammeln. Danke, dass ich immer auf euch zählen kann!