Aus dem Department für Pathobiologie

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Parasitologie

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

Die Stechmückenfauna am Wiener Zentralfriedhof
Teil 1: Larven

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Ute Wiesbauer

Wien, Mai 2022

Betreuer: Priv.-Doz. Dr. Hans-Peter Fuehrer

Institut für Parasitologie

Department für Pathobiologie

Veterinärmedizinische Universität Wien

Begutachterin: Priv.-Doz. Dr. med. vet. Eva Lewisch Dipl. ECAAH

Universitätsklinik für Geflügel und Fische

Klinische Abteilung für Fischmedizin

Veterinärmedizinische Universität Wien

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG 1

2. LITERATURÜBERSICHT 3

2.1 ALLGEMEINE TAXONOMISCHE EINTEILUNG DER STECHMÜCKEN 3

2.1.1 Ausgewählte Stämme und Gattungen der Unterfamilien 3

2.1.2. Stechmücken in Österreich 4

2.2 BIOLOGIE DER STECHMÜCKE 5

2.3 LEBENSFORMTYPEN 7

2.4 MORPHOLOGIE DER STECHMÜCKE 8

2.4.1 Adulte 8

2.4.2 Larven 10

2.5 UNTERFAMILIE DER CULICINAE 11

2.5.1 *Culex* spp. 12

2.5.2 *Culex pipiens* s.l. 12

2.5.3 *Aedes* spp. 13

2.6. UNTERFAMILIE DER ANOPHELINAE 14

2.6.1 *Anopheles maculipennis* Komplex 15

3. MATERIAL UND METHODIK 17

3.1 STANDORTWAHL UND PROBENSAMMLUNG 17

3.2. MORPHOLOGISCHE BESTIMMUNG DER LARVEN MITTELS MIKROSKOPS 21

3.2.1 Bestimmungsschlüssel nach Becker (Becker et al. 2010) 21

3.3 GENETISCHE ANALYSE 24

3.3.1 DNA-Extraktion 24

3.3.2 PCR 25

3.3.3 Gelelektrophorese 29

3.3.4 Sequenzierung 30

4. ERGEBNISSE 31

4.1 Allgemein 31
4.2 Auflistung der Monate Juli, August und September 33
4.3 Vergleich der Standorte 35
4.4 Vergleich Artvorkommen in Zusammenhang mit den drei wichtigsten Standorten 37
5. DISKUSSION 38
6. ZUSAMMENFASSUNG 43
7. SUMMARY 44
8. LITERATURVERZEICHNIS 45
9. ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS 50
ANHANG 53
DANKSAGUNG 55

Abkürzungen

Ae.	Gattung *Aedes*
Abb.	Abbildung
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CO2	Kohlenstoffdioxid
CuliCoi	Culicidae COI Barcoding Primer
Cx.	Gattung *Culex*
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
et al.	und andere
H_2O	Wasser
L4	viertes Larvenstadium
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
PCR	Polymerasekettenreaktion
Rpm	rounds per minute = Umdrehungen pro Minute
spp.	Spezies (lat.) – Spezies (Plural)
Tab.	Tabelle
WNV	West Nile Virus
z.B.	zum Beispiel
V	Volt

1. Einleitung

Europa wird zunehmend von neobiotischen (gebietsfremden) Stechmückenarten besiedelt, welche sich vor allem in Aussehen und Genetik voneinander unterscheiden und unterschiedliche Präferenzen hinsichtlich Brutstätten und Lebensraum aufweisen. Hierfür gibt es mehrere Gründe weswegen ein Anstieg von nicht endemischen Gelsenarten beobachtet werden kann (Bakran-Lebl und Fuehrer 2019).

Diese Neubesiedelung wird zum einen durch steigende Temperaturen und den daraus resultierenden milderen Wintern angetrieben, wodurch sich die Verbreitung der Stechmücken von Südeuropa Richtung Norden hin verschiebt (Bakran-Lebl und Fuehrer 2019). Zum anderen nimmt der internationale Tourismus und Warenverkehr, vor allem aus dem asiatischen Raum, stetig zu (Ibanez-Justicia 2020). Zudem wurde in den vergangenen Jahren der Fokus auf die Forschungstätigkeit von Stechmücken stark erhöht, wodurch Arten entdeckt werden konnten, welche schon lange in Österreich heimisch waren, aber bisher unentdeckt blieben. So konnte im Zeitraum von 2002 bis 2015 in Österreich ein Anstieg von 39 auf 49 Gelsenarten beobachtet werden (Bakran-Lebl und Fuehrer 2019).

Stechmücken bergen in vielerlei Hinsicht ein großes Risiko für Mensch als auch Tier, denn Gelsen fungieren als Vektoren vieler übertragbarer Krankheitserreger, wobei in Österreich vor allem das West Nil Virus (WNV), Usutu Virus, Tahyna Virus, Sindbis Virus, aviäre Plasmodien und Dirofilarien von Bedeutung sind (Hubalek 2008, Lebl et al. 2014).

Außerdem findet man in Österreich bereits immer wieder Exemplare der asiatischen Tigermücke *Aedes albopictus*, des Asiatischen Buschmoskitos *Aedes japonicus,* sowie der koreanischen Buschmücke*, Aedes koreicus.* Die asiatische Buschmücke, die ursprünglich aus dem südostasiatischen Raum stammt und vermutlich durch den Gebrauchtreifen-Handel nach Europa gelangte, konnte sich bereits etablieren, wohingegen die asiatische Tigermücke noch keine stabilen, überwinterungsfähigen Populationen hervorbringen konnte (Werner et al. 2012, Bakran-Lebl 2020). Seit dem Jahr 2018 konnte *Ae. koreicus* auch in Österreich immer wieder gefunden werden.

Da in Industrieländern ein Großteil der Bevölkerung in Städten lebt, ist die Ausbreitung von Krankheiten im städtischen Raum von besonderer Bedeutung. Mit einer durchschnittlichen Anzahl von 15 bis 20 heißen Tagen im Jahr erfüllt die Hauptstadt Wien die Anforderungen für mögliche schwere Ausbrüche von durch Vektoren übertragenen Krankheitserregern (Lebl et

al. 2014). In diesem Projekt haben wir den Wiener Zentralfriedhof ausgewählt, da es bekannt ist, dass vor allem Friedhöfe mit zahlreichen artifiziellen Bruthabitaten bevorzugt von potenziell gefährlichen neobiotischen *Aedes* Arten bevölkert werden (Rydzanicz et al. 2021). Zudem bieten Friedhöfe durchwegs ein hervorragendes Milieu für die Vermehrung und Ausbreitung vieler verschiedener Stechmücken. Aus diesem Grund ist es Ziel dieser Arbeit herauszufinden, welche Gelsenarten in Österreich bereits Einzug gefunden haben und welche speziell im Raum Wien Vormarsch nehmen und welchen Gefahren die Bevölkerung rund um Wien bereits ausgesetzt ist bzw. in naher Zukunft ausgesetzt sein wird.

Infolgedessen haben wir im Rahmen dieser Diplomarbeit in Zusammenarbeit mit der Stadt Wien in den Sommermonaten von Mitte Juli bis September 2021 erstmals ein Monitoring-Programm am Wiener Zentralfriedhof gestartet und jeweils einmal wöchentlich im Abstand von fünf bis neun Tagen Proben aus Wasserbecken an zwölf verschiedenen Standorten entnommen und anschließend im Labor analysiert.
Die Arbeit wird in zwei Teilen verfasst, wobei der erste Teil von den Larven handelt. In einer weiteren Diplomarbeit befasst sich meine Kommilitonin Laura Schreier mit den Eiern und Adulten der Stechmücken des Wiener Zentralfriedhofs.

2. Literaturübersicht

2.1 Allgemeine taxonomische Einteilung der Stechmücken

Stamm: Arthropoda (Gliederfüßler)

Unterstamm: Tracheata (Tracheentiere)

Klasse: Insecta (Insekten)

Unterklasse: Pterygota (Fluginsekten)

Ordnung: Diptera (Zweiflügler)

Unterordnung: Nematocera (Mücken)

Familie: Culicidae (Stechmücken)

Unterfamilie: Anophelinae, Culicinae

(Becker et al. 2010)

2.1.1 Ausgewählte Stämme und Gattungen der Unterfamilien

Unterfamilie Anophelinae

Genus *Anopheles (An.)*

Genus *Bironella (Bi.)*

Genus *Chagasia (Ch.)*

Unterfamilie Culicinae

Tribus Aedini

Genus *Aedes (Ae)*

Genus *Ochlerotatus (Oc.)*

Tribus Culicini

Genus *Culex (Cx.)*

Tribus Culisetini

Genus *Culiseta (Cs.)*

Tribus Mansoniini

Genus *Coquillettidia (Cq.)*

Tribus Orthopodomyiini

Genus *Orthopodomyia (Or.)*

Tribus Uranotaeniini

Genus *Uranotaenia (Ur.)*

(Mohring 1969, Becker et al. 2010, Zittra 2011)

Die Familie der Culicidae, die der Ordnung der Zweiflügler angehört, umfasst weltweit etwa 3587 Arten, die sich in die zwei Subfamilien Anophelinae und Culicinae, sowie 113 Gattungen gliedern. Zur Unterfamilie der Anophelinae zählen drei Gattungen, wobei hier die Gattung *Anopheles* aus medizinischer Sicht am bedeutendsten ist, da diese als alleinige Malariaüberträger der Menschen gilt (Vogel 1929, Dobler und Aspöck 2010, http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045).
Die Unterfamilie der Culicinae gliedert sich in 110 Gattungen, aufgeteilt auf elf Stämme (http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045).

2.1.2. Stechmücken in Österreich

In Österreich findet man bereits um die 50 verschiedenen Stechmückenarten aus 8 Gattungen: *Anopheles, Aedes, Ochlerotatus, Culex, Culiseta, Coquillettidia, Orthopodomyia, Uranotaenia*. Diese können entsprechend ihrer Lebensraumvorliebe bei uns in Österreich grob in Hausgelsen, Überschwemmungsgelsen, Frühjahrsgelsen, Baumhölenbrüter und neobiotische potentiell invasive Stechmücken gegliedert werden (Zittra und Waringer 2013, Bakran-Lebl und Fuehrer 2019).
Die am häufigsten in Österreich anzufindende Stechmückenart ist die gemeine Stechmücke *Culex pipiens* s.l., die vor allem im urbanen Raum vertreten ist (Bakran-Lebl und Fuehrer 2020).

2.2 Biologie der Stechmücke

Stechmücken können aufgrund ihrer Vielzahl an Anpassungsmechanismen fast alle wasserführenden Lebensräume dieser Welt als Brutstätten nützen. Auch schon kleinste Ansammlungen von Wasser, wie zum Beispiel wassergefüllte Behälter oder Fußabdrücke, dienen als Brutplätze für Gelsen. Aufgrund ihrer enormen ökologischen Anpassungsfähigkeit gelingt es ihnen, sich auch an klimatische Bedingungen anzupassen, die nicht ihrem ursprünglichen Habitat entsprechen (Becker et al. 2010).

Wie alle Dipteren, machen auch Stechmücken eine Metamorphose durch, welche sich in vier unterschiedliche Stadien gliedert: Ei, Larve, Puppe und Adulte/Imago. Für die Entwicklung der Eier zu Stechmücken-Larven ist Wasser unumgänglich, wobei Arten der Gattungen *Aedes* oder *Ochlerotatus* ihre Eier auch in ausgetrocknete Erde ablegen können. Die Eier werden entweder einzeln (z.B. bei Vertretern der Gattung *Aedes* oder *Anopheles*) oder in Verbänden (z.B. bei *Culex, Uranotaenia, Coquillettidia*) an Wasseroberflächen oder in der Nähe von Gewässern abgelegt (Becker et al. 2010, https://www.biologie-seite.de/Biologie/Stechmücken).

Je nach Larvenart und Temperatur dauert die Entwicklung unterschiedlich lange. Zwei bis sieben Tage nachdem die Eier gelegt worden sind entwickeln sich die Larven, welche vier Stadien durchlaufen. Der Körper von Larven ist dreigeteilt, wobei am achten Abdominalsegement bei Vertretern der Unterfamilie Culicinae ein Atemrohr (Siphon) ausgebildet ist. Die Larven hängen an diesem Rohr senkrecht von der Wasseroberfläche und stehen so mit der Außenwelt in Kontakt und sind dadurch befähigt zu atmen. Gattungen der Unterfamilie der Anophelinae hingegen schwimmen horizontal im Wasser und können ebenso mit dem Atemrohr am achten Hinterleibssegment Luft holen (Becker et al. 2010, https://www.biologie-seite.de/Biologie/Stechmücken).

Larven ernähren sich von Mikroorganismen, Algen, Detritus, Protozoen und Invertebraten und flüchten bei jeglichen Gefahren von der Oberfläche in die Tiefe. Nachdem die ersten zwei Stadien durchlaufen sind, entwickeln sie sich anschließend zur Puppe weiter. Diese Phase ist als Ruhestadium bekannt und dauert nur wenige Tage an. Die Puppen benötigen in dieser Zeit keine Nahrung. Zudem sind sie ebenso beweglich und können bei Störungen abtauchen. Am Ende der Metamorphose entwickeln sich dann schlussendlich die Adulten, welche über einen dorsalen, längsverlaufenden Riss an der Häutungslinie der Puppencuticula herauskriechen (orthorrhaph) (Mehlhorn und Piekarski 2002, Becker et al. 2010, https://www.biologie-seite.de/Biologie/Stechmücken).

In der Regel schlüpfen die Männchen einige Tage früher als die Weibchen und bilden Schwärme. Sie erzeugen durch ihren Flügelschlag feine Summtöne und setzen Sexuallockstoffe frei, um auf sich aufmerksam zu machen, wodurch die Weibchen angelockt werden und die Begattung vollzogen wird (Zittra 2013). Bei den meisten Gelsenarten benötigen die Weibchen nach der Paarung Proteine aus einer Blutmahlzeit, um die Eireifung zu vollenden. Je nach Mückenart dient hierzu das Blut von unterschiedlichen Wirten wie z.B. von Vögeln, als auch von Säugetieren, Amphibien oder Menschen (Zittra 2013). Die Stechmücken werden durch Duftstoffe wie Milchsäure, Ammoniak und Fettsäuren, die von der Hautoberfläche freigesetzt werden, angelockt. Zudem spielt der Ausstoß von Kohlenstoffdioxid (CO_2) eine bedeutende Rolle für die Wirtsfindung (Zittra 2013). Ansonsten ernähren sich Männchen wie Weibchen von Nektar und anderen zuckerhaltigen Pflanzen- oder Fruchtsäften. Nur einige wenige Arten sind autogen, was bedeutet, dass bei diesen die Eireifung auch ohne Blutmahlzeit stattfinden kann (Becker et al. 2010, Frank und Schnitter 2016). Weibchen legen drei bis vier Tage nach Aufnahme der Blutmahlzeit im Schnitt 150 bis 300 Eier (Abb. 1). Die Larven benötigen nach Wasserkontakt ca. zwei bis vier Tage um zu schlüpfen. Die Entwicklungszyklen sind nicht nur stark abhängig von der Temperatur und vom Nahrungsangebot, sondern auch von der jeweiligen Art. So durchlaufen Arten, die an kurzlebige Gewässer gebunden sind, einen schnelleren Zyklus als andere (Zittra 2013).

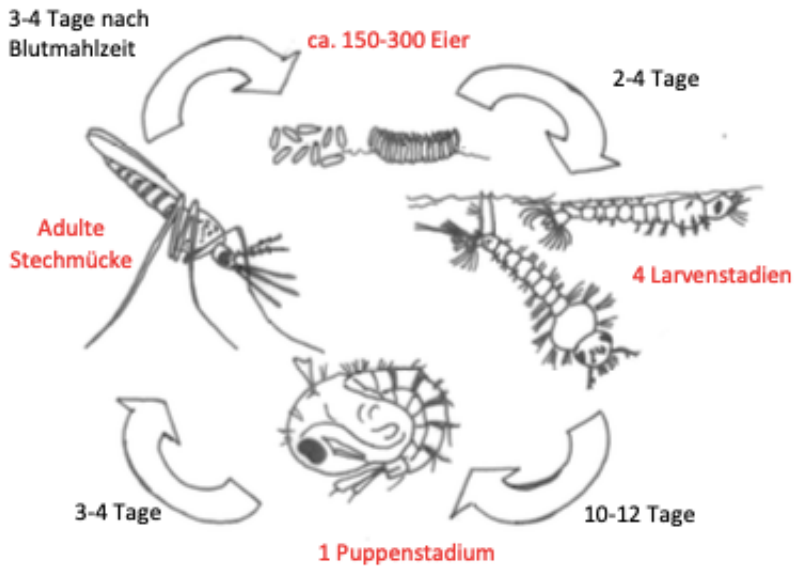

Abb.1: Allgemeiner Lebenszyklus der Stechmücke (Zittra 2013)

2.3 Lebensformtypen

Wie im Unterkapitel *2.1.2 Stechmücken in Österreich* bereits beschrieben, können die Gelsenarten in Österreich in fünf unterschiedliche Gruppen gegliedert werden. **Überschwemmungsgelsen**, zu denen vor allem Vertreter der Gattung *Aedes* und *Ochlerotatus* gehören, legen ihre Eier hauptsächlich an trockenliegenden Ufern von Überschwemmungsgebieten ab, wodurch es dann zu einer explosionsartigen Vermehrung und Massenschlupf nach Überflutungen kommt. Diese Gelege können auch mehrere Jahre nach Ablage ohne Wasserkontakt noch intakt sein. Adulte leben nur sehr kurze Zeit und nur robuste Eigelege haben eine Chance zu überwintern (Zittra 2013, https://www.ages.at/themen/ages-schwerpunkte/vektoruebertragene-krankheiten/stechmuecken-in-oesterreich/).

Bei **Hausgelsen** (Vertreter der Gattungen *Culex* und *Culiseta*) hingegen überwintern die Weibchen in hohlen Bäumen, Erdlöchern oder aber auch bevorzugt in frostfreien Räumen, wie zum Beispiel in Kellern von Wohnhäusern. Sie sind dämmerungsaktiv und sind weder auf Überschwemmungsgebiete noch auf Auen angewiesen. Im Frühjahr legen sie dann Eipakete von bis zu 250 Eiern auf Wasseroberflächen ab, aus denen sich dann pro Jahr mehrere Generationen entwickeln können (Zittra 2013, https://www.ages.at/themen/ages-schwerpunkte/vektoruebertragene-krankheiten/stechmuecken-in-oesterreich/).

Frühjahrsgelsen, welche zumeist aus der Gattung *Aedes* stammen, brüten lediglich einmal pro Jahr. Ab April kann man bereits erste Adulte finden, da geringe Wassertemperaturen um die 10°C für die Entwicklung zum adulten Tier genügen (Bakran-Lebl und Fuehrer 2020).

Zur Gruppe der **Baumhöhlenbrüter** gehören vor allem Vertreter der Gattung *Aedes*, die ihre Eier hauptsächlich in Baumhöhlen ablegen und nach deren Überflutung zum Adulten heranreifen. Da diese im urbanen Raum vor allem in Regentonnen bis hin zu Blumentopfuntersetzern brüten, werden diese auch als „Container-Brüter“ bezeichnet (Zittra 2013, https://www.ages.at/themen/ages-schwerpunkte/vektoruebertragene-krankheiten/stechmuecken-in-oesterreich/).

In den vergangenen Jahren wurden in Europa auch gebietsfremde, potenziell **invasive Stechmücken** eingeschleppt, die innerhalb eines nicht heimischen Gebietes oft negative Auswirkungen auf die Umwelt haben. Dazu zählen Arten wie z.B. *Aedes albopictus*, *Aedes japonicus* oder aber auch die Gelbfiebermücke *Aedes aegypti*. Dabei muss mit dem Begriff *invasiv* vorsichtig umgegangen werden, denn als invasiv zählen nur jene, die zum einen negativ in die Struktur und Zusammensetzung von Ökosystemen eingreifen und zum anderen

auch zu einer Veränderung von einheimischen Artinventaren führen (Zittra 2013, Bakran-Lebl und Fuehrer 2020).

2.4 Morphologie der Stechmücke

2.4.1 Adulte

Der feingliedrige, ca. vier bis zehn Millimeter große mit Schuppen und Borsten überzogene Körper der Stechmücken gliedert sich grob wie bei allen Nematocera in Kopf, Thorax, Abdomen und trägt drei Beinpaare (Abb. 2). Als auffälligstes Merkmal der Mücken gilt der geschuppte Saugrüssel, der immer die Länge des Thorax überragt (Becker et al. 2010, https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/stechmuecken/63444). Der Thorax wird durch Scutum (Schild), Scutellum (Schildchen) und Postnotum in drei Teile geteilt (Abb. 2). Im Gegensatz zu anderen Insekten findet man nur ein Flügelpaar, wobei das zweite ursprüngliche Paar Flügel zu Schwingkölbchen (Halteren) modifiziert ist. Diese Halteren sind für die Flugkoordination von Bedeutung. Die Flügel erscheinen bei den meisten Arten durchsichtig und das durchschimmernde Gefäßsystem gilt als wichtiger Indikator bei der Bestimmung unterschiedlicher Gattungen und Arten (Becker et al. 2010, Deplazes et al. 2020). Das Abdomen setzt sich, je nach Art, aus bis zu elf Segmenten zusammen. (Becker et al. 2010).

Es gibt mehrere morphologische Unterschiede, die zur Bestimmung der einzelnen Arten herangezogen werden können. Als wichtiges Unterscheidungsmerkmal zählen unter anderem die Schuppen, denn diese können von hell bis dunkel in allen Farbtönen variieren und sind je nach Spezies auch unterschiedlich lang und different geformt (Becker et al. 2010). Die Männchen unterscheiden sich bei den meisten Arten deutlich von den Weibchen. Männliche Stechmücken sind in den meisten Fällen kleiner als die Weibchen und weisen zudem viel buschigere Fühler (Antennae), sowie lange, haarige Mundtaster (Palpen) auf (Becker et al. 2010).

Im Gegensatz dazu besitzen Weibchen stechend-saugende Mundwerkzeuge, mit denen es ihnen ermöglicht wird, Blutmahlzeiten aufzunehmen. Dieser Stechrüssel setzt sich aus Oberlippe (Labrum), einem paarig angelegten Oberkiefer (Mandibeln), einem Hypopharynx, sowie einem paarigen Unterkiefer (Maxillen) und Unterlippe (Labrum) zusammen. Bis auf die Unterlippe werden alle anderen Bestandteile des Stechrüssels als Stechborsten bezeichnet, welche bei der Blutaufnahme auch in die Haut eindringen. Die Maxillen übernehmen durch ihren größeren Durchmesser den Hauptpart bei der Perforation der Haut. Die Unterlippe dient

bei diesem Vorgang lediglich der Führung (Becker et al. 2010, Zittra 2013). Nachdem ein Gefäß angestochen wurde, wird über den Hypopharynx Speichel in das Blutgefäß injiziert, welches Proteine enthält und antikoagulativ wirkt. Das Blut wird dann mittels Oberlippe und einer dafür vorgesehenen Pumpeinrichtung in den Darm aufgenommen. Die Dauer der Blutaufnahme kann von wenigen Sekunden bis über zwei Minuten stark variieren. Dabei können Blutmengen von bis zu 2 bis 3 µl aufgenommen werden, was dem Doppelten ihres Körpergewichts entspricht.

Bei männlichen Individuen sind sowohl Unterkiefer als auch Oberkiefer weniger stark ausgeprägt und für einen richtigen Stich ungeeignet. Ihre Mundwerkzeuge dienen lediglich der Aufnahme von Nektar und zuckerhaltigen Säften (Becker et al. 2010, Zittra 2013).

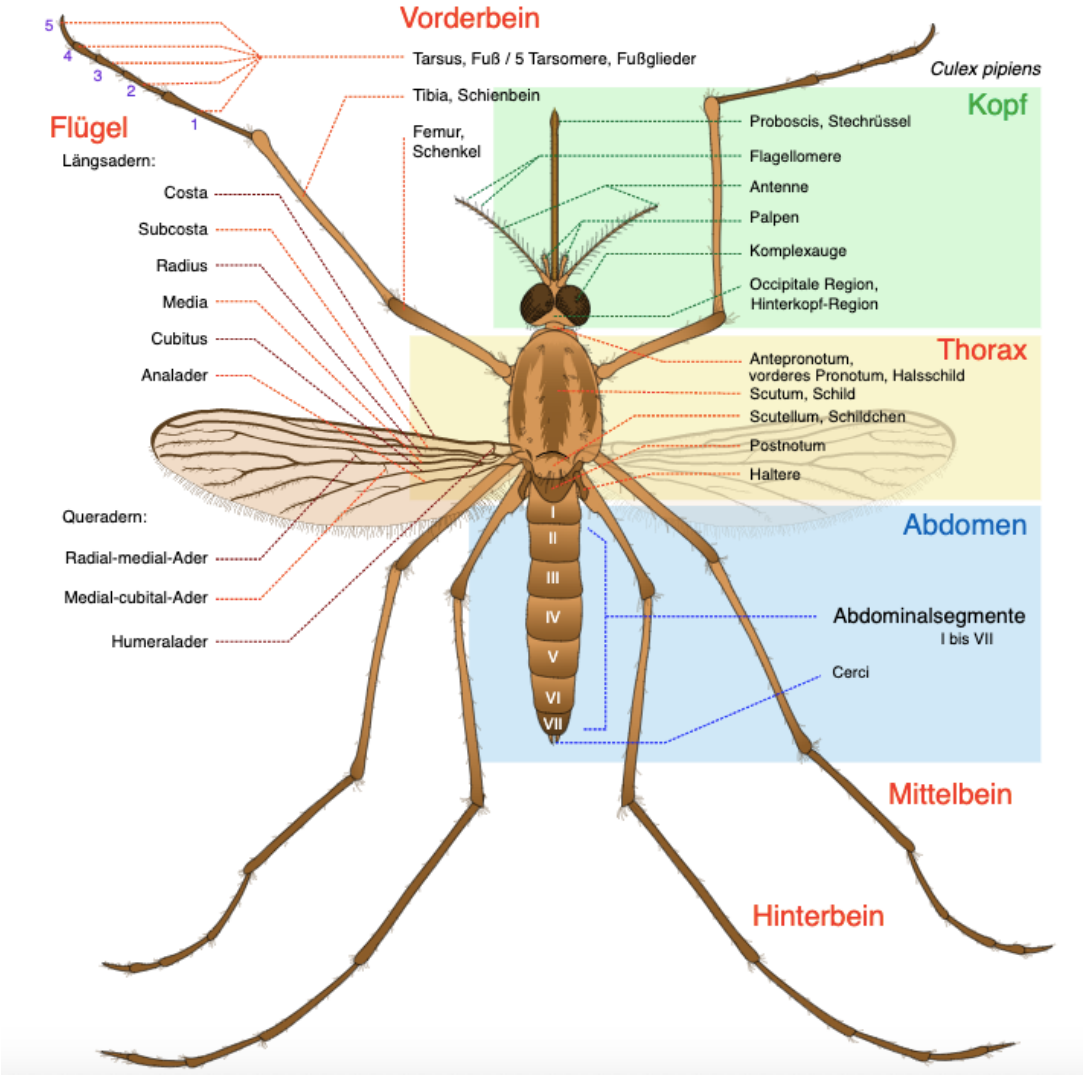

Abb. 2: Körperbau einer adulten, weiblichen *Culex pipiens* (Culex_pipiens_diagram_en.svg @ Wikimedia Commons; Zugriff: 14.02.2022)

2.4.2 Larven

Der dreiteilige Körper von Larven gliedert sich in die sklerosierte Kopfkapsel, den Thorax aus drei miteinander verschmolzenen Segmenten und dem Abdomen, welches sich aus zehn Segmenten zusammensetzt.



Abb. 3: viertes Larvenstadium

Der Thorax überragt in seiner Breite Kopfkapsel und Abdomen (Abb. 3, Abb. 4). Stechmückenlarven heben sich von anderen Dipteralarven vor allem durch ihre Mundbürsten, ihren breit gebauten Thorax und durch ihr Atemrohr (Abb.5) hervor (Becker et al. 2010). Der Siphon ist bei allen Stechmückenarten bis auf *Anopheles*, *Bironella* und *Chagasia* vorhanden, dient als wichtiges Unterscheidungsmerkmal und ist an der dorsalen Oberfläche des achten Abdominalsegments lokalisiert. Während des Durchlaufens der vier Larvenstadien ändern sich viele charakteristische Merkmale, die zur morphologischen Bestimmung der unterschiedlichen Arten dienen. Dazu zählen unter anderem die Breite der Kopfkapsel, die Anzahl der Pektenzähne (Abb. 5) oder aber auch die Anzahl der Setae (Borsten), weswegen zur morphologischen Identifikation der Larven hauptsächlich das vierte Stadium (Abb. 3) herangezogen wird. Der Larvenkörper ist mit bis zu 222 Paaren Setae (Abb. 4) überzogen, welche durch ihre Anordnung und Struktur auf unterschiedliche Arten schließen lassen.

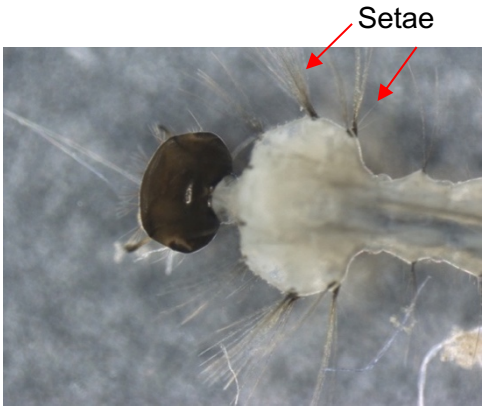

Abb. 4: Kopf und Thorax einer L4

Zur Identifizierung der einzelnen Gattungen und Arten können Bestimmungsschlüssel herangezogen werden, auf welche ich später noch genauer eingehen werde (Becker et al. 2010).

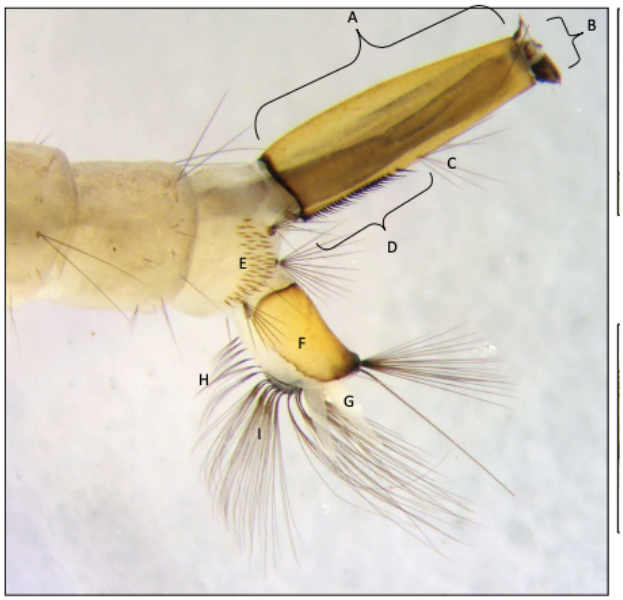

Abb. 5: Abdomenende einer *Aedeslarve* (Zittra 2013)

2.5 Unterfamilie der Culicinae

Die meisten weltweit vorkommenden Stechmückenarten sind der Unterfamilie der Culicinae zugehörig. Wie schon im Unterkapitel *2.1 Taxonomische Einteilung der Stechmücken* erwähnt, gliedert sich diese Unterfamilie in elf Stämme und 110 Gattungen, wobei ich mich hier auf die wichtigsten Gattungen, die für meine Arbeit von Relevanz sind, beschränken werde (Becker et al. 2010).

Morphologische Unterschiede

Die Weibchen der Culicinae unterscheiden sich grundlegend von der Unterfamilie der Anophelinae durch kurze Palpen, sowie durch ein dreigelapptes Scutellum (Abb. 2). Im Gegensatz zu den Anophelinae wird der Körper der Weibchen parallel zum Untergrund

gehalten und die Eier werden entweder in Eigelegen auf der Wasseroberfläche abgelegt (dies ist beispielsweise bei *Culex*, *Culiseta* und *Coquillettidia* der Fall) oder einzeln (Becker et al. 2010).

2.5.1 *Culex* spp.

Die Gattung *Culex* zählt mit *Aedes* zu den umfangreichsten Unterfamilien der Culicinae (Mohring 1969). Weltweit wurden bisher mehr als 750 Arten beschrieben, von denen der Großteil in tropischen Gebieten beheimatet ist (Becker et al. 2010). In Österreich zählt vor allem im urbanen Raum *Culex pipiens* s.l. zu den am häufigsten vorkommenden Mückenarten (Bakran-Lebl und Fuehrer 2019).

Stechmücken dieser Gattung sind von kleiner bis mittlerer Größe. Das Scutellum ist dreigelappt ohne präspiraculäre Setae. Das Abdomen ist abgerundet und mit kurzen, kaum sichtbaren Ausziehungen, den sogenannten Cerci (Abb. 6) (Becker et al. 2010).

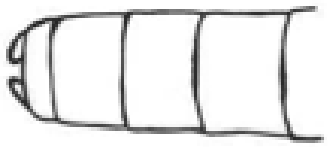

Abb. 6: Abdomenende *Culex* mit kaum sichtbaren Cerci (Zittra 2012)

2.5.2 *Culex pipiens* s.l.

Vertreter des *Culex pipiens* Komplex sind aufgrund ihrer morphologischen Ähnlichkeit kaum voneinander unterscheidbar. Sie weisen jedoch Unterschiede in Verhalten, Physiologie und Wirtsspezifität auf (Zittra et al. 2016).

Dieser Komplex beherbergt folgende 7 Arten/Formen: *Cx. quinquefasciatus* Say, *Cx. pipiens pallens* Coquillet, *Cx. australicus* Dobrotworsky & Drummond, *Cx. globocoxitus* Drobrotworsky und *Cx. pipiens* L., bestehend aus *Cx. pipiens* f. *pipien*s und *Cx. pipiens* f. *molestus* (Zittra et al. 2016). Der *Culex pipiens* Komplex spielt eine Schlüsselrolle in der Übertragung von Krankheitserregern wie aviären Plasmodien und Dirofilarien und fungiert als Hauptvektor des West Nile Virus und des Usutu Virus (Lebl et al. 2014, Zittra et al. 2016). Das WNV konnte

2008 erstmals in Österreich aus Raubvögeln isoliert werden und später dann aus *Cx. pipiens* s.l. In den Jahren von 2001 bis 2005 waren während der Sommermonate in und rund um Wien immer wieder Ausbrüche des Usutu Virus zu beobachten, was zu einem Massensterben von Vögeln führte (Chvala et al. 2007, Lebl et al. 2014).

2.5.3 *Aedes* spp.

Auch die Gattung *Aedes* spielt in der Verbreitung von Krankheitserregern, welche mit einer erheblichen Morbidität und Mortalität von Menschen einhergehen, eine wichtige Rolle. Von besonderer Bedeutung ist *Ae. aegypti*, der Hauptüberträger des Dengue Fieber (Alphey et al. 2013). Bisher konnte das Virus in Österreich ausnahmslos nur bei Reise-Rückkehrenden aus endemischen Gebieten nachgewiesen werden (https://www.ages.at/mensch/krankheit/krankheitserreger-von-a-bis-z/dengue-fieber).
In die Gattung *Aedes* reihen sich auch die asiatische Tigermücke, *Ae. albopictus,* sowie die asiatische Buschmücke, *Ae. japonicus,* ein (Ciocchetta et al. 2018).

Neben dem Dengue Fieber kommt es durch Arten von *Aedes* auch zur Übertragung von Erregern, welche beim Menschen Gelbfieber auslösen können. Außerdem sind sie auch für die Übertragung anderer pathogener Arboviren verantwortlich, welche unter anderem zu Enzephalitis bei Menschen und Pferden führen können (Becker et al. 2010). Das Hauptverbreitungsgebiet stellen die Tropen dar, aber einige sind auch mittlerweile in Europa heimisch (Becker et al. 2010).

Ein besonderes Augenmerk ist hierbei auf die asiatische Tigermücke zu legen, da diese nicht nur tagaktiv und sehr aggressiv ist, sondern auch bestens an urbane Habitate angepasst ist. Durch den transkontinentalen Gebrauchtreifenhandel wurde sie aus den tropischen Wäldern Südostasiens nach Europa eingeschleppt und durch passiven Transport von Südeuropa auch in nördlichere Gebiete gebracht (Medlock et al. 2012, Bakran-Lebl et al. 2021). Charakteristisch für das Aussehen der asiatischen Tigermücke ist neben den schwarz-weiß gestreiften Beinen vor allem die silbrig-weiße Linie, welche am Kopf beginnt und sich im oberen Brustteil fortsetzt. *Ae. albopictus* brütet in kleinen Wasseransammlungen wie Pfützen, Eimern und Wasserresten von Blumenvasen (https://eu.biogents.com/aedes-albopictus-asiatische-tigermuecke/?lang=de). Die Eier können aber auch mit Trockenheit sehr gut umgehen. Die Tigermücke ist von besonderer humanmedizinischer Relevanz, da sie als erster Überträger nicht nur des Dengue Fiebers und des Chikungunya Virus fungiert, sondern auch

in der Lage ist, das West Nile Virus, Zika und Dirofilarien zu übertragen (Dobler und Aspöck 2010, Zittra und Waringer 2013, Bakran-Lebl et al. 2021). Da der asiatischen Tigermücke unter anderem nicht nur der Mensch, sondern auch Vögel und andere Säugetiere als Blutressource dienen, birgt sie des Weiteren die Gefahr eines Brückenvektors. Darunter wird die Aufnahme und Übertragung von Krankheitserregern von Tieren auf den Menschen verstanden (https://eu.biogents.com/aedes-albopictus-asiatische-tigermuecke/?lang=de).

Morphologische Merkmale

Die *Aedes* Arten sind zumeist von mittlerer Größe und haben ein braunes bis schwarzes Erscheinungsbild. Die Palpen der Weibchen sind sehr kurz bzw. zumindest kürzer als die Hälfte der Länge des Rüssels. Das Scutellum ist wie bei allen weiblichen Vertretern der Unterfamilie der Culicinae dreigelappt, mit einem spitz zulaufenden Abdomen und deutlich sichtbaren Cerci (Abb. 7) und einem Nebenzahn an den Klauen (Mohring 1969, Becker et al. 2010). Die Cerci sind ein gutes Unterscheidungsmerkmal in Hinblick auf andere Gattungen (Zittra 2012).



Abb. 7: Abdomenende mit Cerci von *Aedes* (Zittra 2012)

2.6. Unterfamilie der Anophelinae

Zur Unterfamilie der Anophelinae zählen lediglich die Gattungen *Anopheles*, *Bironella* und *Chagasia*, wobei aus medizinischer Sicht *Anopheles* die größte Bedeutung zukommt, da diese als alleinige Überträger der Malaria beim Menschen gilt (Mohring 1969, Becker et al. 2010). Zudem kommt *Anopheles* nahezu weltweit vor.
Die Entwicklung der Anophelinae findet hauptsächlich in Gewässern statt, wobei sich die Larven durch ihre besondere Lage im Wasser von anderen Arten unterscheiden. Sie lauern direkt unter der Wasseroberfläche in horizontaler Position (Abb. 8) und ernähren sich von Partikeln, die auf der Oberfläche treiben (Mohring 1969, Becker et al. 2010).

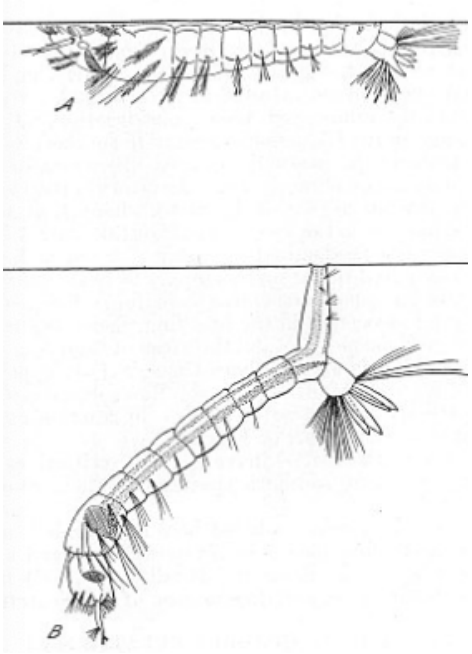

Abb. 8: Unterschiedliche Wasserposition; oben *An*., unten *Cx.* (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Anopheles_Culex_larvae_feeding_position-USDA.jpg; Zugriff: 23.02.2022)

Morphologische Merkmale

Mücken der Gattung *Anopheles* sind schlanke, langbeinige Insekten von graubrauner Farbe. Die fünfgliedrigen Taster sind in etwa gleich lang wie der Stechapparat und somit gut von anderen Gattungen zu unterscheiden (Mohring 1969). Im Gegensatz zur Unterfamilie der Culicinae tragen Anophelinae ihren Körper in einer Linie mit dem Rüssel und der Hinterleib ist vom Untergrund abgespreizt. Bei allen anderen Stechmücken hingegen bilden Rüssel und Körper beinahe einen rechten Winkel (Mohring 1969).

2.6.1 *Anopheles maculipennis* Komplex

Bis ins Jahr 1930 ging man davon aus, dass es sich bei *An. maculipennis* um eine einzelne Art handelt. Jedoch hat sich herausgestellt, dass es sich um einen Artenkomplex mit vielen unterschiedlichen, doch im Aussehen sehr ähnlichen Arten handelt (Becker et al. 2010). Am zuverlässigsten ist die genetische Identifikation. Morphologisch unterscheiden sich weibliche Adulte anhand der Form ihrer Schuppen und Flügelvenen. Zur morphologischen

Artenbestimmung zieht man jedoch standardmäßig die Eier heran (Becker et al. 2010). Die Weibchen des *An. maculipennis* Komplexes kann man von anderen Arten gut durch die gefleckten Flügel, die durch gehäufte Schuppen entstehen, unterscheiden (Vogel 1929, Mohring 1969).

Stechmücken aus diesem Komplex zählen zu den Hausgelsen. Bei *Anopheles* überwintern nur die Weibchen, bevorzugt in Stallungen, da ihr Hauptwirt Säugetiere (v.a. Rinder) sind und nicht der Mensch (Vogel 1929, Zittra 2013). Als Brutplätze bevorzugen sie warme, stehende Gewässer mit grünem Pflanzenwuchs, wobei eine geringgradige Verunreinigung geduldet wird. Die Larven schlüpfen dann in den Monaten von April bis Oktober (Vogel 1929, Mohring 1969).

3. Material und Methodik

3.1 Standortwahl und Probensammlung

Für die vorliegende Arbeit wurde erstmals in Zusammenarbeit mit der Stadt Wien (MA24) ein Gelsenmonitoring-Programm am Wiener Zentralfriedhof gestartet. Sie gliedert sich in zwei Teile, wobei der erste von den Stechmückenlarven handelt. In einer zweiten Diplomarbeit befasst sich meine Kommilitonin Laura Schreier mit den Eiern und Adulten von Gelsen.

Der Zentralfriedhof liegt im elften Wiener Gemeindebezirk und stellt mit einer Fläche von 2,5 Quadratkilometern (km^2) den zweitgrößten Friedhof Europas dar (nach dem Hamburger Ohlsdorf Friedhof). Dieses Areal ist beinahe so groß wie die Wiener Innenstadt und stellt durch seine Lebensraumvielfalt einen Rückzugsort vieler Lebewesen dar. Darunter finden neben streng geschützten Arten, wie dem Neuntöter oder dem Feldhamster, auch diverse Stechmücken optimale Lebensraumbedingungen vor (https://ethikguide.org/blog/es-lebe-der-zentralfriedhof-und-alle-seine-tiere/).

Im Zeitraum von Mitte Juli bis September 2021 wurden am Wiener Zentralfriedhof 24 Standorte festgelegt, an denen im Bereich von Wasserbecken Fallen aufgestellt wurden. Bei der Standortwahl wurde darauf geachtet, sowohl sonnige als auch schattige Plätze auszuwählen und versucht, den Großteil des Friedhofgeländes abzudecken. Die Standorte wurden in Folge von 01 bis 24 nummeriert (Abb.10).

Pro Standort befand sich eine Ovitrap (für die Besammlung der Eier) die permanent vor Ort aufgestellt waren und an den Standorten 04 (Naturgarten) und 05 (Wirtschaftsgebäude) zusätzliche eine BG-Sentinel Adultfalle. Diese Adultfallen wurden zweimal im Monat für 24 Stunden aufgestellt. Für detaillierte Angaben bezüglich Sammlung, Bestimmung und Ergebnisse der Eier und Adulten von Stechmücken am Wiener Zentralfriedhof verweise ich auf die Partnerarbeit meiner Kollegin Laura Schreier.

Wie im Vorherigen schon erwähnt, handelt es sich in diesem Teil der Arbeit um die Larvensammlung und Bestimmung. Zur Larvensammlung ist die klassische Schöpfprobe angewandt worden. Dafür standen die Wasserbecken des Wiener Zentralfriedhofs zur Verfügung, welche sich über das Gelände verteilt befinden und der Pflege der Gräber dienen. Diese Becken haben eine Maße von 99x66x66 cm und werden im Regelfall nicht entleert. Für die Beprobung wählten wir die Becken der Standorte 01, 03, 06, 08, 10, 12, 14, 16, 18, 20,

22, 24 (Abb. 10) und versuchten dabei möglichst vielfältige Orte auszuwählen, da es sowohl wärmeliebende Arten als auch Larven, die kühlere Plätze bevorzugen, gibt.



Abb. 9: Wasserbecken des Wiener Zentralfriedhofs mit Schöpflöffel

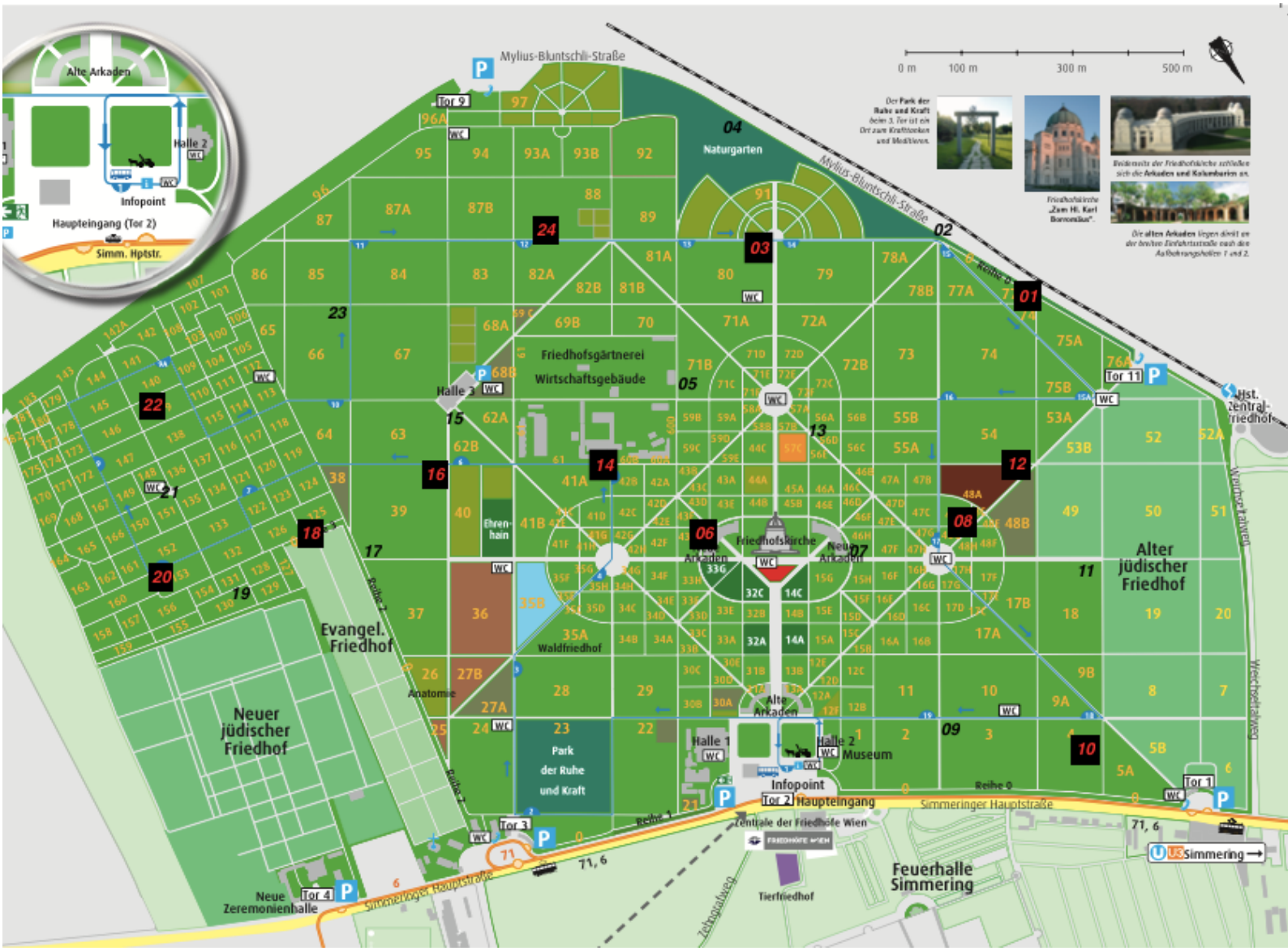

Abb. 10: Lageplan Wiener Zentralfriedhof mit den ausgewählten Standorten (https://www.friedhoefewien.at/media/files/2015/orientierungsplan_153134.pdf; Zugriff: 11.11.2021)

Für das Schöpfen wurden ein großer Holzschöpflöffel und ein Sieb verwendet. Wie bereits im Unterkapitel *2.2 Biologie der Stechmücke* erwähnt, reagieren Larven auf Bewegung, weshalb beim Schöpfen darauf geachtet wurde, nicht zu nahe am Beckenrand zu stehen, damit etwaige Schatten nicht zum Abtauchen der Larven führte. Nach dem erfolgten Schöpfen wurde das Wasser für die Gewinnung der Larven durch ein Netz filtriert. Der im Netz befindliche Inhalt wurde mittels 70%igen Alkohol in ein Behältnis überführt, welches dann in Röhrchen (Abb. 11) für den Transport und die anschließende Lagerung am Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien, bei +4 °C, umgefüllt wurde. Die Schöpfprobe wurde pro Becken dreimal wiederholt, um möglichst aussagekräftige bzw. wahrheitsgetreue Ergebnisse zu erzielen.

Die Röhrchen waren wie folgt gekennzeichnet (Abb. 11):

WS_WZF_XY_Datum_R1/2/3

- WS…Watersample
- WZF…Wiener Zentralfriedhof
- XY…Standortnummer
- Datum…Datum der Probengewinnung
- R1…erste Schöpfung
- R2…zweite Schöpfung
- R3…dritte Schöpfung

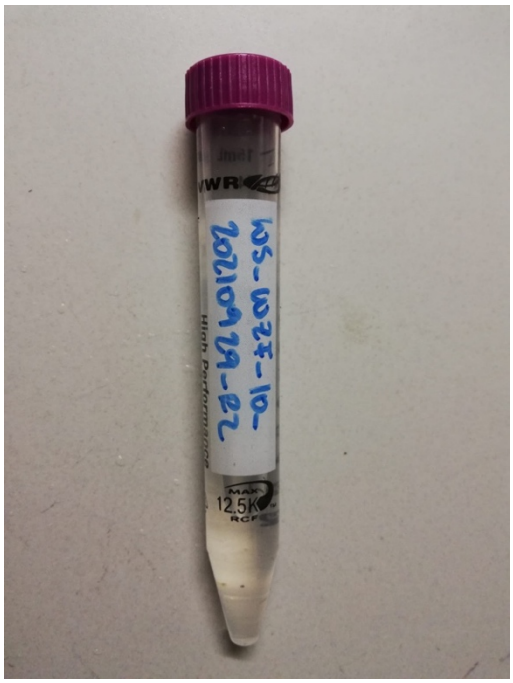

Abb. 11: Probenröhrchen: Standort 10 vom 29.09.2021

3.2. Morphologische Bestimmung der Larven mittels Mikroskops

Im Labor wurden im Anschluss an die Sammeltätigkeit alle Samples mit einem Stereomikroskop der Marke OLYMPUS untersucht. Da die Schöpfmethode nicht larvenselektiv ist, bestand die erste Aufgabe in der Trennung und Identifizierung der Larven in Petrischalen von anderem etwaigem Beifang, der unter anderem aus Wasserflöhen und Puppen bestand.

Die Larven wurden dann in separate, nummerierte 1,5 ml Eppendorf Gefäße mit 70 %igem Ethanol überführt. Eine grobe Bestimmung des Larvenstadiums von L1 bis L4 wurde anschließend wieder in einer Petrischale unter dem Stereomikroskop mit Hilfe von Präpariernadel und Pinzette vorgenommen. Im Weiteren erfolgte die Identifizierung der Larven anhand von morphologischen Merkmalen, wobei sich hier an den Bestimmungsschlüssel für das vierte Larvenstadium nach Becker (Becker et al. 2010) orientiert wurde. Bei dieser Bestimmung wurde lediglich ein Augenmerk auf die Identifikation der Gattung gelegt. Die Proben wurden dann bei -20 °C gelagert, da im Anschluss noch eine vollständige genetische Analyse mittels PCR und Sequenzierung vorgenommen wurde. Zur Erleichterung der Laborarbeit und zur Verringerung der Probenanzahl wurde mit Poolproben gearbeitet, sobald pro Standort und Schöpfung mehr als eine Larve an einem Sammeldatum gefangen wurde. Folglich variierten diese Poolproben, je nachdem wie viele Larven gleicher morphologisch detektierter Gattung und gleichen Larvenstadiums in einer Probe gefunden werden konnten.

3.2.1 Bestimmungsschlüssel nach Becker (Becker et al. 2010)

Dem Bestimmungsschlüssel zufolge beginnt man mit der Inspektion des achten Abdominalsegments.

Befindet sich auf diesem kein Siphon, so handelt es sich um die Gattung *Anopheles* (Becker et al. 2010).

Trägt das achte Abdominalsegment einen kurzen Siphon mit einer stark sklerosierten Spitze, so dient dies als Erkennungsmerkmal für die Gattung *Coquillettidia* (Becker et al. 2010).

Ist der Siphon hingegen länger, nicht spitz zulaufend und ohne adaptierende Werkzeuge, so fährt man im Bestimmungsschlüssel fort (Becker et al. 2010).

Mehrere Paare sogenannter Siphonalbüschel am Atemrohr sprechen für die Gattung *Culex* (Abb. 12) (Becker et al. 2010).

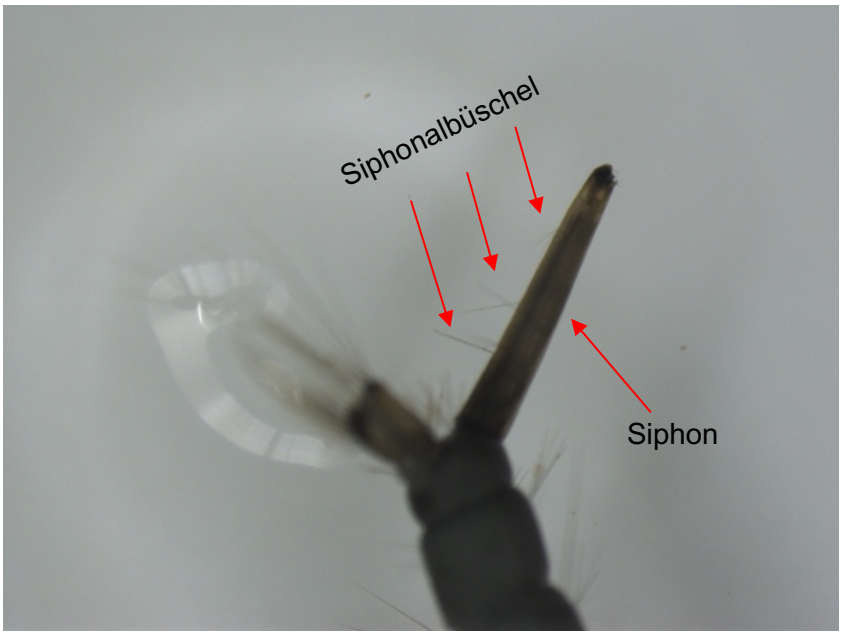

Abb. 12: Foto – Hinterleib *Culex* Larve mit langem Siphon und mehreren Siphonalhaaren

Ist jedoch nur ein einzelnstehendes Siphonalbüschel sichtbar, kein Pekten vorhanden und liegt dem sechsten bis achten Abdominalsegment eine mehr oder weniger stark ausgeprägte, dorsal aufliegende sklerosierte Platte an, so endet der Schlüssel bei der Gattung *Orthopodomyia pulcripalpis* (Becker et al. 2010).

Ist der Siphon mit einem Siphonalbüschel bestückt und dieses am Beginn des Atemrohrs lokalisiert, ein Pekten sichtbar und sind die letzten drei Abdominalsegmente ohne sklerosierte Dorsalplatte, handelt es sich in diesem Fall um *Culiseta* (Becker et al. 2010).

Befindet sich das Siphonalbüschel jedoch in der Mitte oder in der Nähe der Apex führt der Schlüssel weiter. Die Gattung *Uranotaenia unguiculata* erkennt man an den lateral des achten Segments anliegenden, nicht sklerosierten Platten mit Striegelschuppen (Abb. 5) am posterioren Rand der Platte.

Der Schlüssel endet mit der Bestimmung von *Aedes* (Abb. 13, Abb. 14) und *Ochlerotatus*, welche beide lediglich Striegelschuppen ohne sklerosierte Platten aufweisen (Becker et al. 2010).

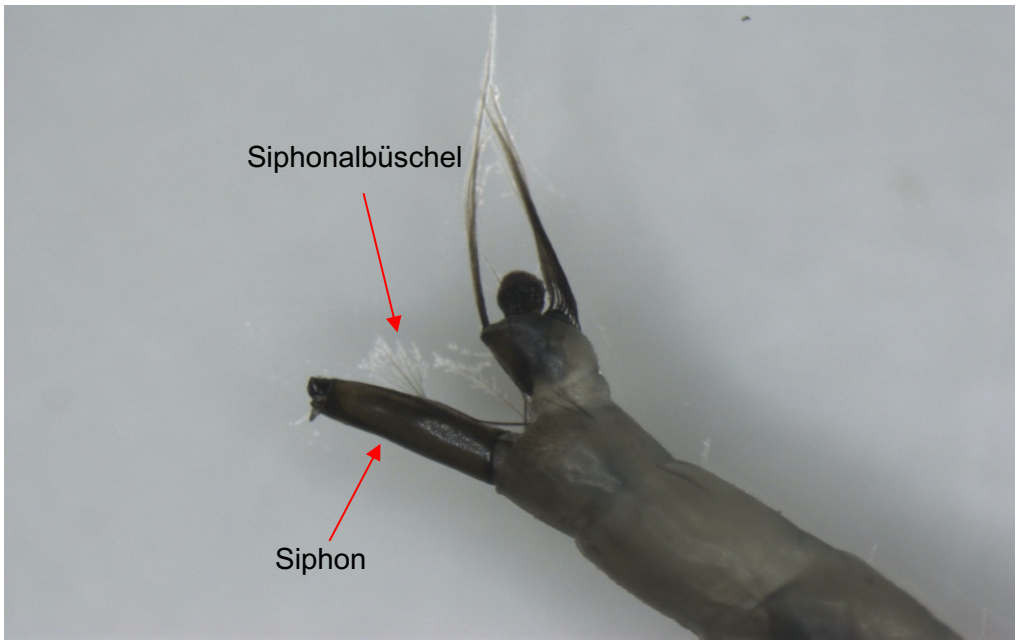

Abb. 13: Foto - Hinterleib *Aedes* Larve mit einem Siphonalbüschel

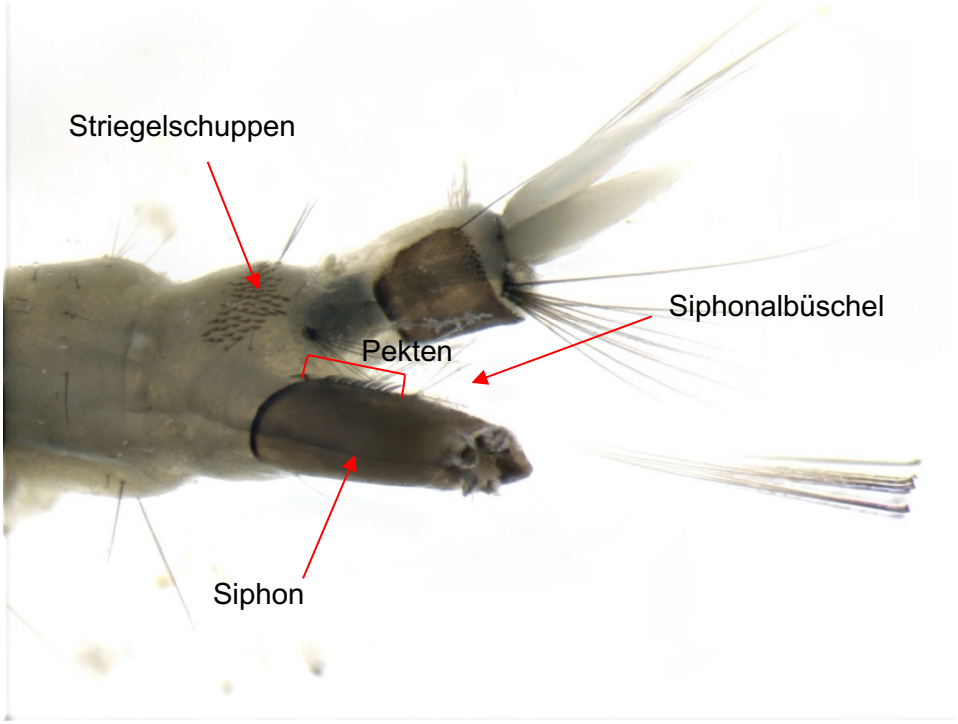

Abb. 14: Foto – Hinterende *Aedes* Larve

3.3 Genetische Analyse

3.3.1 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion erfolgte mit Hilfe des DNeasy® Blood & Tissue Kit der Marke QIAGEN®. Die bei -20 °C gelagerten Larven wurden in neue, beschriftete Eppendorf Tubes überführt. Das Restethanol wurde anschließend im ThermoMixer für 15 Minuten bei 37 °C verdampft. Im ersten Schritt wurde dann das Gewebe zur mechanischen Zerkleinerung mit 180 µl ATL Buffer vermengt und drei 1,4 mm große Keramikkügelchen beigefügt.
Im Anschluss fand drei Minuten lang die Homogenisierung mittels Tissue Lyser 2 statt und darauf folgend für zehn Sekunden die Durchmischung mittels Vortexer.

Die Eppendorf Tubes wurden dann über Nacht bei 56 °C inkubiert und am nächsten Tag erneut gründlich mittels Vortexer durchmischt. Danach wurden zuerst 200 µl Buffer AL hinzugegeben und anschließend nochmals 200 µl 96 %iges Ethanol. Zwischen den beiden Vorgängen wurde es jeweils für zehn Sekunden gründlich gemixt.

Das so hergestellte Gemisch wurde anschließend mittels Pipette in ein DNeasy® Minispin columns mit inkludiertem Mikrofilterpapier für das Auffangen der DNA überführt. Dieses Filtergefäß befindet sich innerhalb eines 2 ml Sammeltubes und wurde dann bei 8000 rounds per minute (rpm) eine Minute lang zentrifugiert. Das Sammeltube wurde nach dem Zentrifugieren, samt Durchfluss, verworfen.

Im Anschluss wurde das Filtergefäß in einem neuen Sammelgefäß platziert, es wurden 500 µl AW1 Buffer hinzugegeben und bei 8000 rpm eine Minute lang zentrifugiert. Auch hier wurde anschließend die Flüssigkeit im Sammelgefäß verworfen und ein neues verwendet. Dieser Waschschritt wurde mit dem AW2 Buffer ein zweites Mal durchgeführt, dieses Mal jedoch drei Minuten lang bei 14000 rpm.

Abschließend wurde dann jedes DNeasy® Minispin columns in ein sauberes 1,5 ml Eppendorf Tube überführt, welches zuvor mit einem A beschriftet worden war und 100 µl Buffer AE direkt auf die Filtermembran pipettiert. Es folgte eine Inkubation für 60 Sekunden bei Raumtemperatur, sowie eine Zentrifugation bei 8000 rpm für eine Minute.

Dieser Vorgang wurde dann mit neuen 1,5 ml Eppendorf Gefäßen wiederholt. Dieses Mal wurden die Tubes mit einem B beschriftet.

Zum Abschluss wurden die DNeasy® Minispin columns entsorgt und die in den Sammelgefäßen befindliche DNA wurde bis zur Durchführung der PCR in diesen Tubes bei - 20 °C gelagert.

3.3.2 PCR

Im Anschluss an die Extraktion wurde eine Polymerasekettenreaktion (PCR) durchgeführt, mit welcher spezifische DNA-Fragmente vervielfältigt werden können.

Zuerst wurde ein Mastermix aus speziellem, DNA-freiem Wasser (H_2O), Green Reaction Buffer, Taq-Polymerase, zwei Primern (forward und reverse), dNTP´s und der jeweiligen Template-DNA hergestellt. Dieser Mastermix wurde mit der zuvor gewonnen DNA in 20-50 µl Tubes vermengt und dann in den Thermocycler gegeben, wo die Reaktion schlussendlich abläuft. Es wurde auch immer eine Negativkontrolle mitgeführt.

Die PCR ist ein trizyklischer Prozess, bei der drei bestimmte Phasen so lange ablaufen, bis die Reaktion schlussendlich stoppt. Im ersten Schritt kommt es zur Denaturierung (Auftrennung) der doppelsträngigen DNA durch Erhitzen auf 95 °C in zwei einzelne, komplementäre DNA-Stränge.

Im Anschluss wird durch Temperaturreduktion eine Anlagerung des Primers an die denaturierte DNA erzielt, wobei die Temperatur individuell an die Schmelztemperatur des Primers angepasst werden muss (http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/5/bc/gentechnik/methoden.vlu/Page/vsc/de/ch/16/biochem/pcr/pcr_einfuehrung/in_der_praxis.vscml.html).

Im letzten Schritt kommt es durch die Taq-Polymerase zur Elongation (Anlagerung komplementärer Basen) in 3‘→ 5‘ Richtung und ein neuer Doppelstrang entsteht.

3.3.2.1. PCR Protokolle

Im Rahmen dieser Arbeit wurden bei allen Proben jeweils bis zu drei Barcoding-Protokolle zur genetischen Artbestimmung angewendet und im Anhang alle PCR Ergebnisse tabellarisch aufgelistet. In den folgenden Tabellen sind jeweils die Zusammensetzung des entsprechenden Mastermix, die Temperaturkurven und die verwendeten Primer angeführt.

Protokoll: Culicidae COI Barcoding Primer

Forward Primer: H15CuliCOIFw: 5‘-AGCCATTTAATCGCGACAA-3‘

Reverse Primer: H15CuliCOIRv: 5‘-GGATGTCCAAAAAATCAAAATAAATGTT-3‘

(Zittra et al. 2016)

Tab. 1: Rezept Mastermix CuliCOI

Reagens	**1 tube**	**10 tubes**
H_2O	10,675 µl	106,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP´s (25mM)	0,2 µl	20 µl
TaqPolymerase (GoTaq) 5u/µl	0,125 µl	1,25 µl
Primer (10pmol/µl)	2 µl	20,0 µl
Primer (10pmol/µl)	2 µl	20,0 µl
Template	5 µl	10 x 5 µl
Total volume	**25**	**250**

Tab. 2: zu erwartende Produktgröße CuliCOI

organism	**PCR-product**
Culicidae	Ca. 730 bp

Tab. 3: Temperaturkurve CuliCOI

95°C	2 min	Initial denaturation
95°C	1 min	
50°C	1 min	**35x**
72°C	1 min	
72°C	5 min	Final extension
4°C	storage	

Protokoll: LCO/HCO COI Barcoding Primer

Forward Primer: LCO1490: 5´- AGCCATTTAATCGCGACAA -3´

Reverse Primer: HCO2198: 5´- GGATGTCCAAAAAATCAAAATAAATGTT -3´

(Folmer et al. 1994)

Tab. 4: Rezept Mastermix LCO/HCO COI

Reagens	1 tube	10 tubes
H_2O	12,175 µl	121,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP´s (25mM)	0,2 µl	20 µl
TaqPolymerase (GoTaq) 5u/µl	0,125 µl	1,25 µl
Primer (10pmol/µl)	2,5 µl	25,0 µl
Primer (10pmol/µl)	2,5 µl	25,0 µl
Template	2,5 µl	10 x 2,5 µl
Total volume	**25**	**250**

Tab. 5: zu erwartende Produktgröße LCO/HCO COI

organism	PCR-product
Culicidae	Ca. 708 bp

Tab.6: Temperaturkurve LCO/HCO COI

95°C	2 min	Initial denaturation
94°C	1 min	
45°C	1 min	**40x**
72°C	1 min	
72°C	5 min	Final extension
15°C	storage	

Protokoll: *Aedes koreicus COI*

Forward Primer: LCO1490: 5‘-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3‘

Revers Primer: UEA8: 5’-AAAAATGTTGAGGGAAAAATGTTA-3’

(Folmer et al. 1994, UEA8: Lunt et al. 1996, Protocol: Kornélia Kurucz)

PCR long fragment GoTaq® Long PCR Master Mix 2X:

Tab. 7: Rezept Mastermix *Aedes koreicus* COI

Reagens	**1 tube (µl)**	**10 tubes (µl)**
H_2O	7,5	75,0
GoTaq® Long PCR Master Mix 2X	12,5	125,0
Primer 1 (10pmol/µl)	2,0	20,0
Primer 2 (10pmol/µl)	2,0	20,0
Template	2,0	20,0
Gesamt	**26**	**260,0**

Tab. 8: zu erwartende Produktgröße *Aedes koreicus* COI

organism	**PCR-product**
Aedes koreicus	~ 1000bp

Tab. 9: Temperaturkurve *Aedes koreicus* COI

94 °C	3 min	initial denaturation
94 °C	30 min	
48 °C	30 min	**35x**
72 °C	45 min	
72 °C	7 min	final extension
15 °C	storage	

3.3.3 Gelelektrophorese

Für die Gelelektrophorese wurde das dafür benötigte Gel zuvor aus 1,8 g Agarose, 100 ml TBE-Puffer und 4,2 µl des Midori Green Marker angefertigt und in eine bereits vorbereitete Gelkammer zur Aushärtung gegossen. Kunststoffkämme dienten dabei als Platzhalter, in welche die Proben dann nach Aushärtung pipettiert wurden. Das Midori Green ist ein Farbmarker, welcher zum Anfärben und im Endeffekt zum Ablesen der Ergebnisse dient. Das Ganze wurde 45 Minuten lang in der Gelkammer belassen und nach dem Ausgelieren aus der Form wieder sorgfältig herausgelöst.
Diese Gelplatte wurde dann in die Elektrophoresekammer eingelegt und die kleinen Aussparungen wurden mit der jeweiligen Probe befüllt. In der letzten Tasche wurde die Negativkontrolle mitgeführt. Bei 120 Volt (V) betrug die Laufzeit der Elektrophorese ca. 60 Minuten, wobei es durch die Ladung im elektrischen Feld zur Bewegung und Auftrennung der DNA anhand ihrer Größe kam.
Um die aufgetrennten Basenpaare sichtbar zu machen, wurde die Platte abschließend unter ultraviolettes Licht gehalten, wodurch die Banden, welche durch die Zugabe des Markers entstanden, erschienen. Durch einen UV-Lichtscanner (ChemiBIS genXpress®, DNR Bio-Imaging Systems Ltd) wurden die Ergebnisse am Gerät sichtbar gemacht (Abb. 15) und mit Hilfe der Gelcapture Software Version 5.0 am Computer gespeichert.

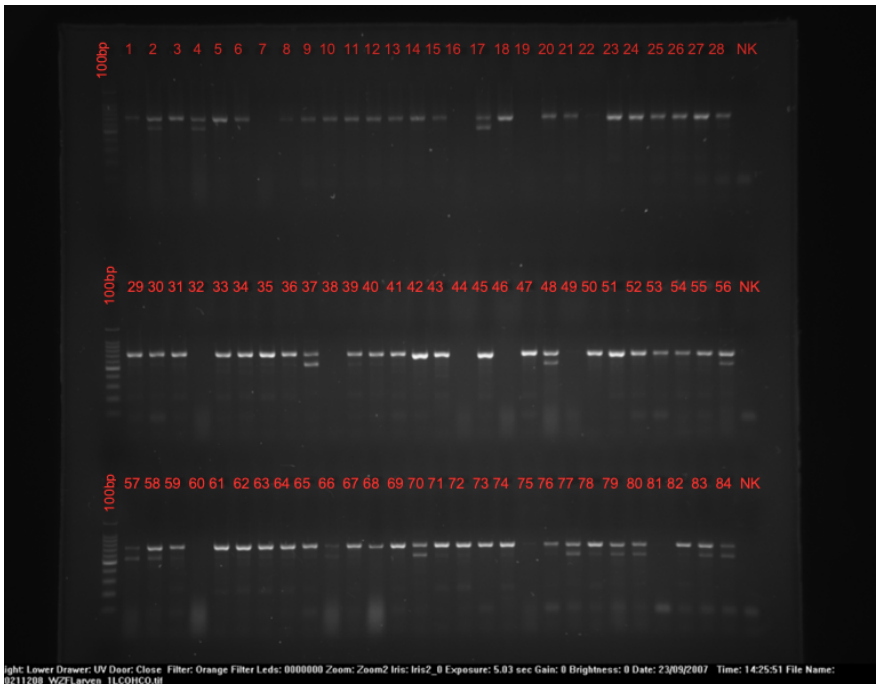

Abb. 15: Foto – Sichtbare Banden der Gelelektrophorese: LCO/HCO NK: Negativkontrolle, Nr. 1-84: entsprechen den jeweiligen Proben

3.3.4 Sequenzierung

Alle Proben, die nach Abschluss der Gelelektrophorese eine deutliche Bande zeigten, wurden für die Sequenzierung nach Berlin zu LGC Genomics geschickt.
Die Sequenzanalyse erfolgte anhand der generierten DNA-Barcodes durch Abgleichen der verfügbaren Sequenzen auf den Datenbanken BOLD und GenBank®.

4. Ergebnisse

4.1 Allgemein

In der Zeit von Mitte Juli bis August konnten bei den insgesamt 372 Schöpfproben 203 Larven gefangen werden. Am häufigsten anzutreffen war der *Cx. pipiens* Komplex mit 75,37% (Abb.16) und einer Gesamtzahl von 153 Larven, gefolgt von *Ae. koreicus* (33 Exemplare, 16,26%), *Cx. torrentium* (sieben, 3,45%) und *Cx. hortensins* (fünf, 2,46%). Fünf Larven konnten mittels PCR und anschließender Sequenzierung nicht identifiziert werden. Von diesen 203 Larven befanden sich lediglich 22 im vierten Larvenstadium, jenem Stadium, in welchem die beste morphologische Bestimmung möglich ist.

In Tab. 10 ist eine allgemeine Veranschaulichung der absoluten und relativen Anteile der jeweiligen Stechmückenarten gegeben. Tab. 11 listet die Anzahl der jeweiligen Arten nach Fangdatum auf, woraus gut ersichtlich ist, dass *Cx. pipiens* s.l., mit Ausnahme des 24.8.2021, bei jeder Beprobung nachgewiesen werden konnte (Abb. 18). Die neobiotische Art *Ae. koreicus* konnte bis auf den 26.7.2021 auch jedes Mal gefunden werden (Abb. 18). *Cx. torrentium* konnte vor allem im September nachgewiesen werden. *Cx. hortensis* trat ausschließlich Ende August bzw. Anfang September auf.

Tab. 10: Larvengesamtanzahl in absoluten und relativen Anteilen

Stechmückenart	**Gesamtanzahl**	**Prozentueller Anteil**
Cx. pipiens s.l.	153	75,37%
Ae. koreicus	33	16,26%
Cx. torrentium	7	3,45%
Cx. hortensis	5	2,46%

Tab. 11: Auflistung der Anzahl der Larvenarten nach Sammeldatum

Datum	***Cx. pipiens* s.l.**	***Ae. koreicus***	***Cx. torrentium***	***Cx. hortensis***	**Gesamt**
12.7.21	19	3	**-**	**-**	**22**
18.7.21	31	6	1	**-**	**38**
26.7.21	24	**-**	**-**	**-**	**24**
4.8.21	18	2	1	**-**	**21**
10.8.21	6	8	**-**	**-**	**14**
18.8.21	2	1	**-**	**-**	**3**
24.8.21	**-**	6	**-**	1	**7**
1.9.21	1	2	**-**	4	**7**
8.9.21	6	2	2	**-**	**10**
14.9.21	7	1	2	**-**	**10**
20.9.21	23	1	1	**-**	**25**
29.9.21	16	1	**-**	**-**	**17**
Gesamt	153	33	7	5	**198**

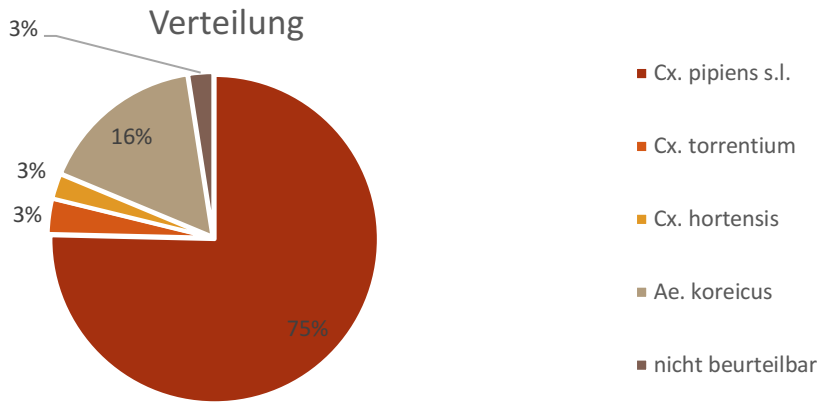

Abb. 16: Relative Verteilung der durch das Schöpfen gewonnener Larvenarten im Zeitraum Juli bis September

4.2 Auflistung der Monate Juli, August und September

In Tab. 12 ist eine Auflistung der Larvengesamtanzahl des jeweiligen Monats mit Anzahl der durchgeführten Schöpfproben ersichtlich. Der Juli war aus larventechnischer Sicht der stärkste Monat. An drei Sammelterminen konnten mit insgesamt 48 Schöpfproben 84 Larven gefangen werden. Bei den ersten beiden Malen wurde jeweils nur eine Schöpfprobe durchgeführt und beim dritten Durchgang, am 26.07.21, zwei. Im August konnten an vier Terminen, durch jeweils drei Schöpfproben pro Standort, 48 Larven gefangen werden (Tab. 12, Abb. 19). Im September wurden an fünf Fangterminen, wiederum bei jeweils drei Probenentnahmen pro Standort und daraus resultierenden 180 Schöpfproben, 71 Larven nachgewiesen.

Tab. 12: Auflistung der Larvengesamtanzahl in den Monaten Juli, August und September

Monat	**Larvengesamtanzahl**	**Schöpfproben**
Juli	84	48
August	48	144
September	71	180

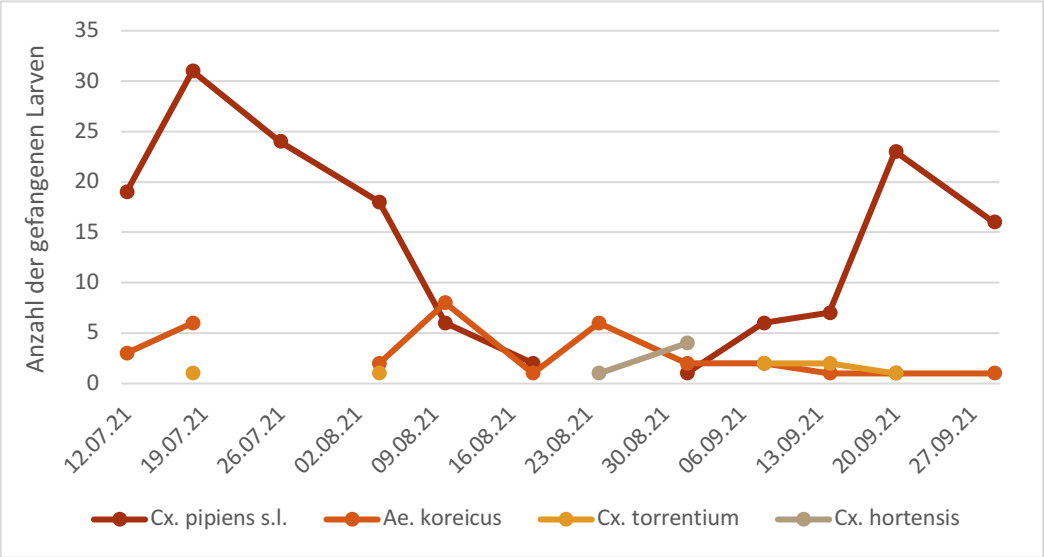

Abb. 17: Vorkommen der Arten nach Sammeldatum

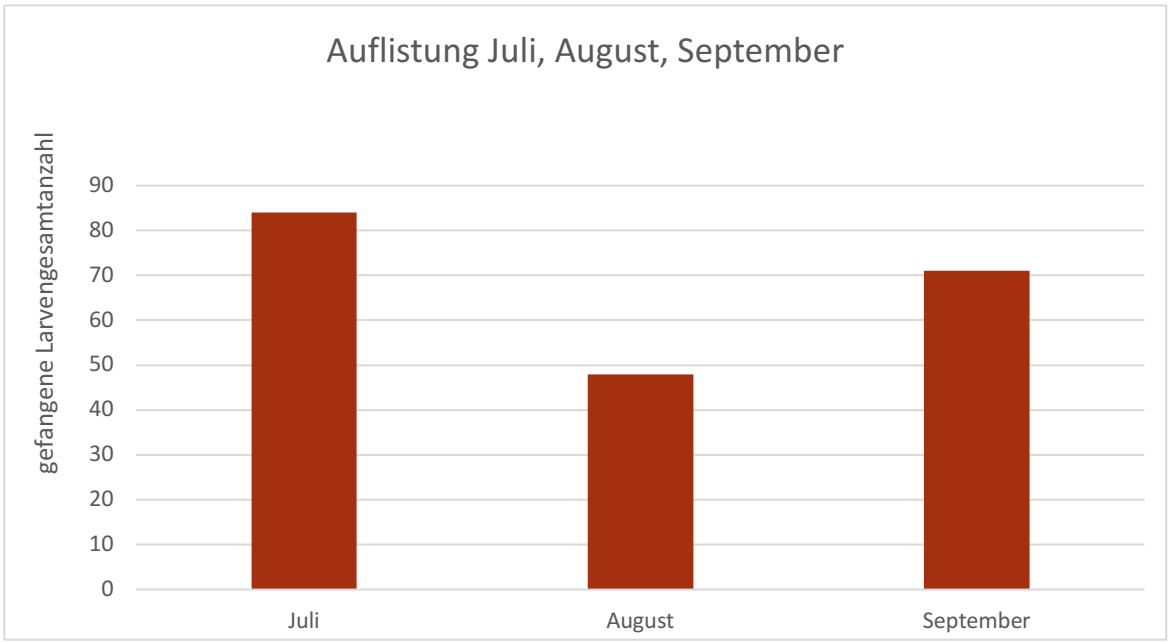

Abb. 18: Auflistung der Monate Juli, August und September 2021

4.3 Vergleich der Standorte

Die Standortwahl bietet eine weitere Vergleichsoption (Tab. 13). Aus Abb. 20 und 21 geht hervor, dass vor allem Standort 03, 06 und 14 die größten Gewinne erbrachten. Dabei handelt es sich um drei durchaus unterschiedliche Habitate (Abb. 10). Der Standort 14 lag direkt an der Hintereinfahrt der Friedhofsgärtnerei, Standort 03 befand sich in der Nähe des Naturgartens und Standort 06 am Fuße der Friedhofskirche bei den neuen Arkaden. Am Standort 14 konnten ausnahmslos bei jeder Probenentnahme mindestens zwei Larven gewonnen werden, insgesamt 35% aller gefangenen Larven stammen folglich von diesem Standort. An den Standorten 12, 18, 20 und 22 konnten an keinem der Termine Larven gefunden werden.

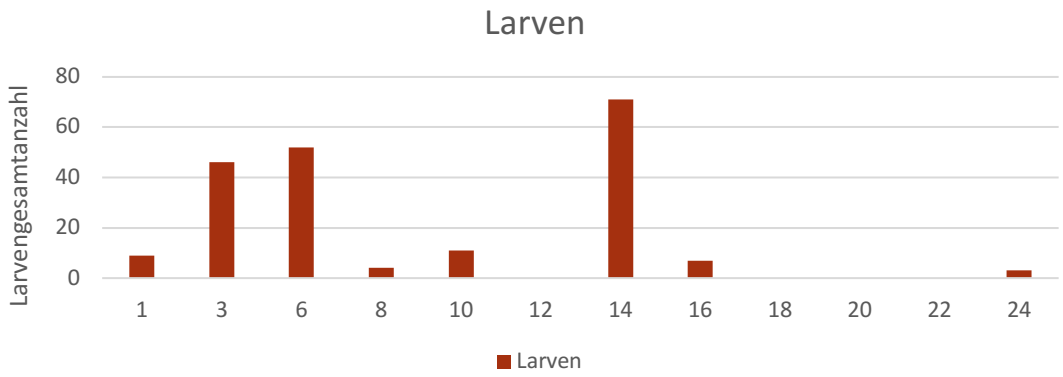

Abb. 19: Anzahl aller Larven, die an einem Standort im Zeitraum von Juli bis September gesammelt wurden

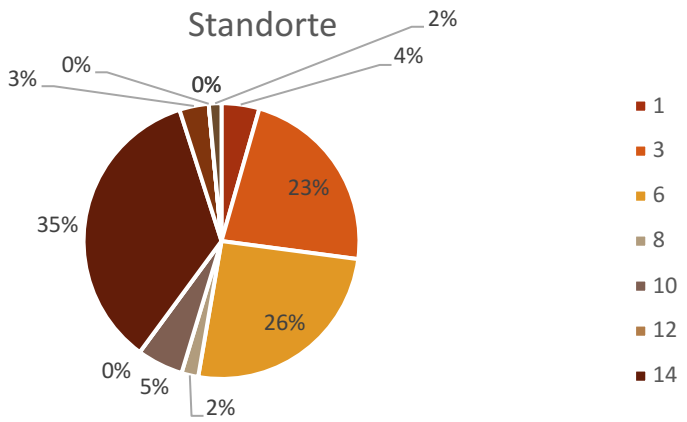

Abb. 20: Relative Verteilung der Larven in Bezug auf die Standortwahl

Tab. 13: Larvenausbeute der Standorte in Gesamtzahlen bezogen auf das Sammeldatum

Standort	12.7.	18.7.	26.7	4.8.	10.8.	18.8.	24.8.	1.9.	8.9.	14.9.	20.9.	29.9.	**Gesamt**
01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	**9**
03	-	3	-	18	7	1	1	1	3	2	8	2	**46**
06	11	30	7	1	-	-	-	-	-	2	1	-	**52**
08	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	**4**
10	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	9	-	**11**
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**0**
14	11	5	12	3	7	2	4	6	5	6	4	6	**71**
16	-	-	5	-	-	-	-	-	2	-	-	-	**7**
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**0**
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**0**
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**0**
24	-	-	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	**3**
Gesamt	**22**	**39**	**24**	**24**	**15**	**3**	**7**	**7**	**10**	**10**	**25**	**17**	**203**

4.4 Vergleich Artvorkommen in Zusammenhang mit den drei wichtigsten Standorten

Aus Tab. 14 wird gut ersichtlich, dass Arten des *Cx. pipiens* Komplex am häufigsten an Standort 06 (Abb. 10) gefunden werden konnten, jedoch keine allzu große Schwankungsbreite hinsichtlich Standort 03 (Abb. 10) und 14 (Abb. 10) vorliegt. *Cx. hortensis* hingegen konnte ausschließlich an Standort 14 nachgewiesen werden, sowie auch Cx. torrentium, mit Ausnahme einer Larve. Den Ansprüchen von *Ae. koreicus* wurde auch Standort 14 am meisten gerecht, da hier am häufigsten Larven gefunden werden konnten.

Tab. 14: Artvorkommen in Zusammenhang mit den wichtigsten Standorten

Standort	*Cx. pipiens* s.l.	*Ae. koreicus*	*Cx. torrentium*	*Cx. hortensis*
03	37	8	1	-
06	49	3	-	-
14	40	18	4	5

5. Diskussion

In Zusammenarbeit mit der MA24 der Stadt Wien wurde in den Sommermonaten Juli bis September 2021 erstmals am Wiener Zentralfriedhof ein Monitoring-Programm gestartet, um potenziell invasive, aber auch einheimische Stechmückenarten nachzuweisen. Wie den soeben dargelegten Ergebnissen entnommen werden kann, konnte bei den Larven neben dem heimischen *Cx. pipiens* Komplex, *Cx. torrentium* und *Cx. hortensis*, die neobiotische Art *Ae. koreicus* nachgewiesen werden. Es gibt keine Hinweise auf das Vorkommen der asiatischen Tigermücke.

Ae. koreicus, die koreanische Buschmücke, war ursprünglich in Japan, im Norden und Osten Chinas, in Korea und in Teilen Russlands endemisch (Fuehrer et al. 2020, https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-koreicus).
In Europa konnten im Jahr 2008 zum ersten Mal etablierte Populationen von *Ae. koreicus* in Belgien nachgewiesen werden (Fuehrer et al. 2020, Hohmeister et al. 2021). 2011 wurden erste Funde in Italien, später dann auch in Russland, in der Schweiz, Slowenien, Deutschland und Ungarn gemacht (Fuehrer et al. 2020, Hohmeister et al. 2021, https://wrbu.si.edu/vectorspecies/mosquitoes/koreicus).
Im Zuge eines Überwachungsprogramms konnte in Österreich erstmals im Jahr 2018 in Osttirol *Ae. koreicus* gefunden werden (Fuehrer et al. 2020). Sie sind dafür bekannt, dass sie sich gerne in bevölkerungsreichen Gebieten aufhalten und vor allem tagsüber aktiv sind, was ein erhöhtes Risiko für den Menschen mit dieser Art in Kontakt zu treten mit sich bringt (https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-koreicus).
Ae. koreicus ist schwierig, sowohl morphologisch als auch genetisch, von der nahe verwandten Art *Ae. japonicus* zu unterscheiden (Hohmeister et al. 2021). Das spiegelt sich auch in den Ergebnissen des im Rahmen dieser Diplomarbeit am Wiener Zentralfriedhof durchgeführten Monitoring-Programms wider. Bei der Partnerarbeit meiner Kollegin Laura Schreier konnten bei den Eiern unter anderem auch *Ae. japonicus* nachgewiesen werden. Bei den Larven hingegen wurde ausschließlich *Ae. koreicus* detektiert. Es ist davon auszugehen, dass diese Ergebnisse den Poolproben der Larven geschuldet sind. Die Pools dienten der Erleichterung der Laborarbeit und der Verringerung der Probenanzahl, wobei es rückblickend betrachtet sinnvoller gewesen wäre, keine Poolproben zu verwenden.

Zusätzlich konnte beobachtet werden, dass die klassischen PCR Protokolle für Stechmücken beim Großteil der Proben von *Aedes koreicus* zu keinem Ergebnis führten, sodass für diese Proben zusätzlich der *Aedes koreicus* COI Barcoding Primer verwendet werden musste. Diese

Erkenntnis konnte bereits 2020 bei einem Monitoring-Programm in Wiesbaden, Deutschland, gemacht werden (Hohmeister et al. 2021). Hier konnten mittels LCO1490 und HCO2198 Primer keine oder nur falsche Amplifikationen bei der PCR erzielt werden (Hohmeister et al. 2021).

Aedes koreicus hält sich in Europa überwiegend im städtischen Raum in der Nähe von industriellen Containern, aber auch in der Nähe von Behältern mit biologisch abbaubaren Materialien auf (https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-koreicus). Die Larven von der koreanischen Buschmücke konnten auch am Zentralfriedhof vor allem an Standort 14 nachgewiesen werden, welcher sich gegenüber einem Kompost und unmittelbar an der Einfahrt der Friedhofsgärtnerei befand, wo neben den Gerätschaften, auch große Mengen an biologischen Abfällen und Containern anzutreffen waren.

Obwohl im August in Summe am wenigsten Larven gesammelt werden konnten (insgesamt nur 48), stellte *Ae. koreicus* in diesem Monat mit 17 Larven die am meisten gefundene Art dar. Grund dafür könnte sein, dass laut Wetterstation ZAMG die Regenmenge 15 % über dem Mittel der letzten 30 Jahre lag und es, trotz der Hitzewelle gegen Monatsmitte, der kälteste August seit 2014 war (https://www.zamg.ac.at/cms/de/klima/news/august-2021-kuehl-trueb-nass). Auch 2014 konnten Vertreter von *Aedes* aufgrund von häufigen Niederschlägen mit Überschwemmungen in Österreich vermehrt gefunden werden (Zittra et al. 2015).

Die genaue Bedeutung von *Ae. koreicus* als Vektor konnte bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht ausreichend geklärt werden. Im Labor konnte bisher ermittelt werden, dass sie bei der Übertragung des Chikungunya Virus und von *Dirofilaria immitis* von Bedeutung sein dürften (Capelli et al. 2011, Montarsi et al. 2015, Venturi et al. 2017, Fuehrer et al. 2020, Hohmeister et al. 2021). Ansonsten ist hinsichtlich der Übertragung von Krankheitserregern nur wenig über die diesbezügliche Gefahr für den Menschen und für die Haustiere erforscht. Auf diesen Aspekt sollte in Zukunft verstärkt ein Augenmerk gelegt werden.

Da insbesondere im Norden Europas (aufgrund von für *Ae. koreicus* optimalen klimatischen Verhältnissen und Umweltbedingungen) mit einer weiteren Ausbreitung zu rechnen ist, sollte die Verbreitung der koreanischen Buschmücke unbedingt beobachtet werden. Vor allem in Gebieten, in denen *Ae. japonicus* vorkommt, sollte auf *Ae. koreicus* geprüft werden. Zusätzlich ist *Ae. koreicus* auch in der Lage, die Winter im Norden Europas zu überleben. Hinzu kommt, dass sie gut an Langstreckentransporte adaptiert sind, was eine Ausbreitung zusätzlich

begünstigt und wodurch uns *Ae. koreicus* in Zukunft vermutlich immer öfter begegnen wird (Ibanez-Justicia 2020, https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-koreicus).

Als Ursprungsgebiete von *Ae. japonicus*, zählen Korea, Taiwan, der südliche Raum Chinas und Russland (Bakran-Lebl et al. 2021, https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-japonicus). 2011 wurde sie österreichweit zum ersten Mal in der Steiermark nahe der slowenischen Grenze entdeckt. Seither konnte sie sich etablieren und auch in allen anderen Bundesländern Österreichs nachgewiesen werden. (Seidel et al. 2012, Schoener et al. 2019, Bakran-Lebl et al. 2021). In Wien wurde die asiatische Buschmücke erstmals 2017 bei Routinesammeltätigkeiten identifiziert (Schoener et al. 2019). Wie auch *Ae. koreicus* besiedelt *Ae. japonicus* bevorzugt urbanes Gebiet und ist vor allem tagsüber aktiv (https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-japonicus). Auch wenn *Ae. japonicus* einen potenziellen Vektor verschiedener Viren darstellt, ist diese Art deutlich weniger kompetent in der Übertragung von Krankheitserregern im Vergleich zu *Ae. albopictus* (Bakran-Lebl et al. 2021).

Aus den Ergebnissen des Monitoring-Programms ist zudem ersichtlich, dass es derzeit keine Hinweise gibt, die auf das Vorkommen der medizinisch relevanten asiatischen Tigermücke, *Ae. albopictus*, am Wiener Zentralfriedhof deuten lassen. Diese konnte bereits 2012 in Tirol und im Burgenland nachgewiesen werden und wird seit 2016 immer wieder an unterschiedlichen Standorten in Tirol gefunden (Bakran-Lebl und Fuehrer 2019). In Wien konnte die asiatische Tigermücke erstmals im August 2020 entdeckt werden (Bakran-Lebl et at. 2021). Die asiatische Tigermücke stellt ein großes Problem für die öffentliche Gesundheit dar. Wie im Kapitel *2.5 Unterfamilie der Culicinae* schon beschrieben, ist *Ae. albopictus* der erste Vertreter, welcher in der Lage ist, das Dengue Virus, Chikungunya Virus, das Zika Virus sowie auch West Nile und Dirofilarien zu übertragen (Medlock et al. 2012, https://eu.biogents.com/aedes-albopictus-asiatische-tigermuecke/?lang=de). Bisher gelang es ihr jedoch nicht überwinterungsfähige Populationen hervorzubringen, was vermutlich mit dem tropischen Klima ihrer Herkunftsgebiete im Zusammenhang steht (Bakran-Lebl und Fuehrer 2019). Dennoch muss künftig österreichweit weiterhin intensive Forschungsarbeit betrieben werden, da davon auszugehen ist, dass in Zukunft aufgrund des Klimawandels und des Handels auch *Ae. albopictus* etablierte Populationen hervorbringen wird (Schoener et al. 2019).

Urbane Räume bieten durch ihre Vielzahl an künstlich erschaffenen Brutgewässern, wie Regentonnen und Co, optimale Bedingungen für die Fortpflanzung dieser gebietsfremden *Aedes*-Arten, da ihnen schon geringe Wassermengen als Brutstätten genügen, weshalb Friedhöfe besonders gerne von diesen besiedelt werden (Versteirt et al. 2009, Bakran-Lebl et al. 2021).

Abgesehen von den neobiotischen Arten *Ae. koreicus* und *Ae. japonicus* konnten am Wiener Zentralfriedhof die Erwartungen in Hinsicht auf die Artenvielfalt bezüglich des jeweiligen Lebensraums erfüllt werden. So wurden überwiegend Larven des heimischen *Cx. pipiens* Komplex gefunden. Die Ergebnisse, die durch das im Rahmen dieser Diplomarbeit durchgeführten Monitoring-Programms gewonnen werden konnten, korrelieren bis auf den Erstnachweis von *Ae. koreicus*, mit jenen vorausgegangener Studien der Stadt Wien und Umgebung (Lebl et al. 2014). Bislang gab es keine Hinweise auf das Vorkommen von *Ae. koreicus* in Wien. Dies konnte aber im Zuge des Überwachungsprogramms am Wiener Zentralfriedhof widerlegt werden.

Um einen genaueren Überblick zu erhalten wäre es optimal über einen längeren Zeitraum Proben zu nehmen, da Larven, die zu Beginn der Sammelsaison gefunden werden, mit großer Wahrscheinlichkeit auf Arten hindeuten, die bereits überwinterungsfähige Populationen hervorgebracht haben. Larven hingegen, die erst in den Sommermonaten gefunden werden können, deuten auf nicht endemische Arten hin, die eingeschleppt wurden. Die beste Sammelzeit für Larven wäre Mai bis Oktober, da in diesem Zeitraum Schlupfzeit der Larven ist.

Weiters kann man keinen direkten Vergleich der jeweiligen Monate ziehen, da anfänglich weniger Schöpfproben genommen wurden und auch die Anzahl der Sammeltermine pro Monat variierten (Juni dreimal, August viermal, September fünfmal). Die Entnahme von drei Schöpfproben pro Standort resultierte aus der Erkenntnis zu Beginn des Projektes, dass man durch eine oder zwei Probenentnahmen zu wenig Gewinn erzielte und viele Larven damit nicht erwischt werden konnten. Aus diesem Grund entschied man sich ab dem vierten Durchgang, pro Standort jeweils drei Schöpfproben zu gewinnen.

Zusätzlich kann man anhand der Ergebnisse der Partnerarbeit sehen, dass durch eine reine Sammeltätigkeit von Larven nicht alle Arten nachgewiesen werden können und somit eine ergänzende Analyse der Adulten und Eier unumgänglich ist, um das gesamte Artenreservoir eines Lebensraums zu detektieren.

Weiterhin wäre es ratsam, die Stechmückenpopulationen am Wiener Zentralfriedhof im Auge zu behalten, sowie neue Standorte sowohl in Wien als auch österreichweit in das Überwachungsprogramm aufzunehmen, um rechtzeitig auf Gefahren, die in Zukunft sowohl auf Menschen als auch Tiere lauern, aufmerksam zu werden.

6. Zusammenfassung

Da in den letzten Jahrzehnten sowohl in Europa als auch in Österreich immer häufiger gebietsfremde Arten anzutreffen sind, war es Ziel dieser Arbeit, in Zusammenarbeit mit der MA24 der Stadt Wien, die Artenvielfalt der heimischen und potenziell invasiven Stechmücken des Wiener Zentralfriedhofs zu erforschen. Dabei wurde vor allem ein Augenmerk auf die gebietsfremden Arten *Ae. japonicus, Ae. albopictus* und *Ae. koreicus* gelegt, welche bevorzugt Friedhöfe sowie urbane Gebiete besiedeln. Grund dafür ist die Vielzahl an künstlich erschaffenen Brutgewässern an Friedhöfen, da den *Aedes* Arten bereits kleinste Wasseransammlungen als Brutstätten ausreichen.

Im Zeitraum von Mitte Juli bis Ende September 2021 konnte mittels Schöpfproben eine Gesamtanzahl von 203 Larven gefangen werden. Wie erwartet ist der heimische *Cx. pipiens* Komplex mit 75% die vorherrschende Stechmückenart am Wiener Zentralfriedhof, gefolgt von der neobiotischen Art *Ae. koreicus* mit 16%. Abgesehen von diesen beiden Arten konnten noch *Cx. torrentium* und *Cx. hortensis* nachgewiesen werden. Von den 3 nicht endemischen *Aedes* Arten konnten im Rahmen dieser Untersuchung erstmals Larven von *Ae. koreicus* in Wien detektiert werden. Bei der Partnerdiplomarbeit meiner Kollegin Laura Schreier wurden zusätzlich Eier von *Ae. japonicus* gefunden. *Ae. albopictus* konnte am Wiener Zentralfriedhof nicht nachgewiesen werden. Dennoch sollte in Zukunft österreichweit eine weitere Ausdehnung der Überwachungsprogramme stattfinden, sowie vermehrt im Bereich der vektorübertragenen Erkrankungen geforscht werden, um Gefahren frühzeitig erkennen zu können.

7. Summary

During the last decade, non-indigenous species have spread over Europe and established populations also in Austria. The aim of this study, in collaboration with the MA24 of the City of Vienna, was to analyze the biodiversity of endemic and potentially invasive mosquitoes in the Central Cemetery of Vienna. Special attention was paid to the non-indigenous species *Ae. japonicus, Ae. albopictus* and *Ae. koreicus*, which prefer to populate cemeteries and urban areas. The reason is their preference for artificially created breeding waters in cemeteries since the smallest water accumulation is sufficient as breeding grounds for the *Aedes* species.

In the period from mid-July to the end of September 2021, a total number of 203 larvae were caught using a scoop test. As expected, the indigenous *Cx. pipiens* s.l. is with 75% the dominant species of the Vienna Central Cemetery, followed by the alien species *Ae. koreicus* with 16%. Apart from these two species, *Cx. torrentium* and *Cx. hortensis* could be detected.

Of the three non-endemic *Aedes* species, larvae of *Ae. koreicus* were detected in Vienna for the first time during this study. In the diploma thesis of my colleague Laura Schreier, eggs from *Ae. japonicus* were found as well. *Ae. albopictus* couldn't be found at the Central Cemetery of Vienna.

Nevertheless, the monitoring program should be expanded throughout Austria in the future, and research should be carried out in the field of vector-borne diseases to be able to identify dangers at an early stage.

8. Literaturverzeichnis

AGES, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit https://www.ages.at/mensch/krankheit/infos-zu-gelsen-krankheiten (Zugriff 14.10.2021) https://www.ages.at/mensch/krankheit/krankheitserreger-von-a-bis-z/dengue-fieber (Zugriff 04.02.2022)

Alphey L, McKemey A, Nimmo D, Oviedo MN, Lacroix R, Matzen K, Beech C. 2013. Genetic control of *Aedes* mosquitoes. Pathog Glob Health, 107(4): 170-179.

Bakran-Lebl K, Fuehrer HP. 2019. Stechmücken in Österreich – neue Arten, neue Krankheiten. Ohne Grenzen https://www.medmedia.at/univ-innere-medizin/stechmuecken-in-oesterreich-neue-arten-neue-krankheiten/ (Zugriff 10.09.2021)

Bakran-Lebl K, Fuehrer HP. 2020. Die Gelsen Österreichs – altbekannte und neue Plagegeister. https://www.austrianbiologist.at/aba/magazin/blog/2020/11/18/die-gelsen-oesterreichs-altbekannte-und-neue-plagegeister/ (Zugriff 12.10. 2021)

Bakran-Lebl K, Zittra C, Weiss S, Hodits B, Zechmeister T, Fuehrer HP. 2021. Range expansion of the alien mosquito species *Aedes japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera: Culicidae) from 2014-2019 in Burgenland, Austria. Entomologica Austriaca, 28: 107-118.

Bakran-Lebl K, Zittra C, Harl J, Shahi-Barogh B, Grätzl A, Ebmer D, Schaffner F, Fuehrer HP. 2021. Arrival of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) in Vienna, Austria and initial monitoring activities. Transboundary and Emerging Diseases, 68, 3145-3150. https://doi.org/10.1111/tbed.14169.

Bakran- Lebl K, Zittra C, Fuehrer HP. 2021. Mosquito Alert – Ein europaweites Citizen-Science Projekt zur Erfassung der Verbreitung von neobiotischen und medizinisch relevanten Stechmücken (Diptera: Culicidae). Entomologica Austriaca, 133-142

Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Dahl C, Madon M, Kaiser A, Hrsg. 2010. Mosquitoes and Their Control. 2n Ed. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.

Biogents https://eu.biogents.com/aedes-albopictus-asiatische-tigermuecke/?lang=de (Zugriff 07.03.2022)

Biologie Seite https://www.biologie-seite.de/Biologie/Stechmücken (Zugriff 04.02.2022)

Capelli G, Drago A, Martini S, Montarsi F, Soppelsa M, Delai N, Ravagnan S, Mazzon L, Schaffner F, Mathis A, Di Luca M, Romi R, Russo F. 2011. First report in Italy of the exotic mosquito species *Aedes* (Finlaya) *koreicus*, a potential vector of arboviruses and filariae. Parasites & Vectors, 4:188. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3203849/.

ChemgaPedia
http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/5/bc/gentechnik/methoden.vlu/Page/vsc/de/ch/16/biochem/pcr/pcr_einfuehrung/in_der_praxis.vscml.html (Zugriff 02.02. 2022)

Chvala S, Bakonyi T, Bukovsky C, Meister T, Brugger K, Rubel F, Nowotny N, Weissenböck H. 2007. Monitoring of Usutu virus activity and spread by using dead bird surveillance in Austria, 2003-2005. Vet Microbiol, 122: 237-245.

Ciocchetta S, Prow NA, Darbro JM, Frentiu FD, Savino S, Montarsi F, Capelli G, Aaskov JG, Devine GJ. 2018. The new European invader *Aedes* (Finlaya) *koreicus*: a potential vector of chikungunya virus. Pathog Glob Health, 112(3): 107-114.

Deplazes P, Eckert J, Samson-Himmelstjerna G, Zahner H, Joachim A, Mathis A. Hrsg. 2020. Parasitologie für die Tiermedizin. Vierte Aufl. Stuttgart: Thieme Verlag.

Dobler G, Aspöck H. 2010. Durch Stechmücken übertragene Arboviren als Erreger von Infektionen des Menschen. Denisia, 0030: 501-553.

Ethik.Guide
https://ethikguide.org/blog/es-lebe-der-zentralfriedhof-und-alle-seine-tiere/
(Zugriff 15.10.2021)

European Centre for Disease Prevention and Control
https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-koreicus
(Zugriff 17.02.2022)
https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-japonicus
(Zugriff 10.03.2022)

Folmer O, Black m, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 from diverse metazoan invertebrates. Mol Mar Biol Biotchnol: 3(5):294-9.

Frank D, Schnitter P. Hrsg. 2016. Pflanzen und Tiere in Sachsen-Anhalt. Ein Kompendium der Biodiversität. Rangsdorf: Natur+Text GmbH, 1041-1042.

Friedhöfe Wien GmbH https://www.friedhoefewien.at/media/files/2015/orientierungsplan_153134.pdf; (Zugriff 11.11.2021)

Fuehrer HP, Schoener E, Weiler S, Barogh BS, Zittra C, Walder G. 2020: Monitoring of alien mosquitoes in Western Austria (Tyrol, Austria, 2018). PLoS Neglected Tropical Diseases 14(6):e0008433.

Hohmeister N, Werner C, Kampen H. 2021. The invasive Korean bush mosquito *Aedes koreicus* (Diptera: Culicidae) in Germany as of 2020. Parasites & Vectors 14:575.

Hubalek Z. 2008. Mosquito-borne viruses in Europe. Parasitology Research; 103: 29-43

Ibanez-Justicia A. 2020. Pathways for introduction and dispersal of invasive *Aedes* mosquito species in Europe: A review. Journal of the European Mosquito Control Association, 38: 1-10. https://e-m-b.myspecies.info/node/1168.

Lebl K, Zittra C, Silbermayr K, Obwaller A, Berer D, Brugger K, Walter M, Pinior B, Fuehrer HP, Rubel F. 2014. Mosquitoes (Diptera: Culicidae) and their relevance as disease vectors in the city of Vienna, Austria. Parasitology research, 114:707-713.

Medlock JM, Hansford KM, Schaffner F, Versteirt V, Hendrickx G, Zeller H, Van Bortel W. 2012. A Review of the Invasive Mosquitoes in Europe: Ecology, Public Health Risks, and Control Options. Vector Brone Zoonotic Diseases, 12: 435-47.

Mehlhorn H, Piekarski G, Hrsg. 2002. Grundriss der Parasitenkunde: Parasiten des Menschen und der Nutztiere. Sechste Aufl. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Mohring W, Hrsg. 1969. Die Culiciden Deutschlands: Untersuchungen zur Taxonomie, Biologie und Ökologie der einheimischen Stechmücken. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag.

Montarsi F, Drago A, Martini S, Calzolari M, De Filippo F, Bianchi A, Mazzucato M, Ciocchetta S, Arnoldi D, Baldacchino F, Rizzoli A, Capelli G. 2015. Current distribution of the invasive mosquito species, *Aedes koreicus [Hulecoeteomyia koreica]* in northern Italy. Parasites & Vectors, 8: 614. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4666031/.

Mosquito Taxonomic Inventory http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045 (Zugriff 15.10.2021) https://mosquito-taxonomic-inventory.myspecies.info/simpletaxonomy/term/8577 (Zugriff 02.03.2022)

Rydzanicz K, Czulowska A, Dyczko D, Kiewra D. 2021. Assessment of mosquito larvae (Diptera: Culicidae) productivitiy in urban cemetries in Wroclaw (SW Poland). International Journal of Tropical Insect Science, 41:3249-3255.

Schoener E, Zittra C, Weiss S, Walder G, Barogh BS, Weller S, Fuehrer HP. 2019. Monitoring of alien mosquitoes of the genus *Aedes* (Diptera: Culicidae) in Austria. Parasitology Research, 118:1633-1638.

Šebesta O, Rudolf I, Betášová L, Peško J, Hubálek Z. 2012. An invasive mosquito species *Aedes albopictus* found in the Czech Republic, 2012. Euro Surveill. 2012;17(43):pii=20301. https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.17.43.20301-en.

Seidel B, Duh D, Nowotny N, Allerberger F. 2012. Erstnachweis der Stechmücken *Aedes (Ochlerotatus) japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Österreich und Slowenien in 2011 und für *Aedes (Stegomyia) albopicuts* (Scuse, 1895) in Österreich 2012 (Diptera: Culicidae). Entomol Z, 125:39-41.

Seidel B, Montarsi F, Huemer HP, Indra A, Capelli G, Allerberger F, Nowotny N. 2016. First record of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, in Italy: invasion from an established Austrian population. Parasites&Vector, 9:284.

Spektrum.de
https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/stechmuecken/63444 (Zugriff 23.11.2022)

Venturi G, Di Luca M, Fortuna C, Remoli ME, Riccardo F, Severini F, Toma L, Del Manso M, Benedetti E, Caporali MG, Amendola A, Fiorentini C, De Liberato C, Giammattei R, Romi R, Pezzotti P, Rezza G, Rizzo C. 2017. Detection of a chikungunya outbreak in Central Italy, August to September 2017. Euro Surveillance, 22(39):17-00646. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5709953/.

Versteirt V, Schaffner F, Garros C, Dekoninck W, Coosemans M, Van Bortel W. 2009. Introduction and Establishment of the Exotic Mosquito Species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Belgium. Journal of Medical Entomology, 46:6, 1464-1467.

Vogel R. 1929. Zur Kenntnis der Stechmücken Württembergs, 1. Teil 258-277. Jahreshefte des Vereins für vaterländische Naturkunde in Württemberg, Band 85.

Werner D, Kronfeld M, Schaffner F, Kampen H. 2012. Two invasive mosquito species, *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus japonicus*, trapped in south-west Germany, July to August

2011. Euro Surveillance, 17:4. https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.17.04.20067-en.

WRBU – The Walter Reed Biosystematics Unit https://wrbu.si.edu/vectorspecies/mosquitoes/koreicus (Zugriff 23.02.2022)

ZAMG http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/5/bc/gentechnik/methoden.vlu/Page/vsc/de/ch/16/biochem/pcr/pcr_einfuehrung/in_der_praxis.vscml.html (Zugriff 24.02.2022)

Zittra C. 2012. Bestimmungsschlüssel der Culiciden (Insecta: Diptera) im Nationalpark Donau-Auen. Wissenschaftliche Reihe Nationalpark Donau-Auen, Heft 27.

Zittra C. 2013. Grundlagenwissen über Stechmücken (Culicidae: Diptera) des Nationalparks Donau-Auen 1-9. Wissenschaftliche Reihe Nationalpark Donau-Auen, Heft 19.

Zittra C. 2013. Species inventory, ecology and seasonal distribution patterns of Culicidae (Insecta: Diptera) in the National Park Donau-Auen. Wissenschaftliche Reihe Nationalpark Donau-Auen, 28: 1- 79.

Zittra C, Waringer J. 2013. Species inventory, ecology and seasonal distribution patterns of Culicidae (Insecta: Diptera) in the National Park Donau-Auen. Wissenschaftliche Reihe Nationalpark Donau-Auen, 5: 837-841.

Zittra C, Joachim A, Fuehrer HP. 2015: Mosquitoes and Dirofilaria in Austria - a review of the current situation of neobiotic Culicidae and Dirofilariae. Tierärztliche Umschau, 70(4), 126-131.

Zittra C, Flechl E, Kothmayer M, Vitecek S, Rossiter H, Zechmeister T, Fuehrer HP. 2016. Ecological characterization and molecular differentation of *Culex pipiens* complex taxa and *Culex torrentium* in eastern Austria. Parasites & Vectors 9:197. http://doi.org/10.1186/s13071-016-1495-4.

9. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb.1: Allgemeiner Lebenszyklus der Stechmücke (Zittra 2013) 6

Abb. 2: Körperbau einer adulten, weiblichen Culex pipiens (Culex_pipiens_diagram_en.svg @ Wikimedia Commons; Zugriff: 14.02.2022) 9

Abb. 3: viertes Larvenstadium 10

Abb. 4: Kopf und Thorax einer L4 10

Abb. 5: Abdomenende einer *Aedeslarve* (Zittra 2013) 11

Abb. 6: Abdomenende Culex mit kaum sichtbaren Cerci (Zittra 2012) 12

Abb. 7: Abdomenende mit Cerci von Aedes (Zittra 2012) 14

Abb. 8: Unterschiedliche Wasserposition; oben An., unten Cx. (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Anopheles_Culex_larvae_feeding_position-USDA.jpg; Zugriff: 23.02.2022) 15

Abb. 9: Wasserbecken des Wiener Zentralfriedhofs mit Schöpflöffel 18

Abb. 10: Lageplan Wiener Zentralfriedhof mit den ausgewählten Standorten (https://www.friedhoefewien.at/media/files/2015/orientierungsplan_153134.pdf; Zugriff: 11.11.2021) 19

Abb. 11: Probenröhrchen: Standort 10 vom 29.09.2021 20

Abb. 12: Foto – Hinterleib Culex Larve mit langem Siphon und mehreren Siphonalhaaren . 22

Abb. 13: Foto - Hinterleib Aedes Larve mit einem Siphonalbüschel 23

Abb. 14: Foto – Hinterende Aedes Larve 23

Abb. 15: Foto – Sichtbare Banden der Gelelektrophorese: LCO/HCO NK: Negativkontrolle, Nr. 1-84: entsprechen den jeweiligen Proben 29

Abb. 16: Relative Verteilung der durch das Schöpfen gewonnener Larvenarten im Zeitraum Juli bis September 33

Abb. 17: Vorkommen der Arten nach Sammeldatum 34

Abb. 18: Auflistung der Monate Juli, August und September 2021 34

Abb. 19: Anzahl aller Larven, die an einem Standort im Zeitraum von Juli bis September gesammelt wurden 35

Abb. 20: Relative Verteilung der Larven in Bezug auf die Standortwahl 35

Tabellen

Tab. 1: Rezept Mastermix CuliCOI 26

Tab. 2: zu erwartende Produktgröße CuliCOI 26

Tab. 3: Temperaturkurve CuliCOI 26

Tab. 4: Rezept Mastermix LCO/HCO COI 27

Tab. 5: zu erwartende Produktgröße LCO/HCO COI 27

Tab.6: Temperaturkurve LCO/HCO COI 27

Tab. 7: Rezept Mastermix *Aedes koreicus* COI 28

Tab. 8: zu erwartende Produktgröße *Aedes koreicus* COI 28

Tab. 9: Temperaturkurve *Aedes koreicus* COI 28

Tab. 10: Larvengesamtanzahl in absoluten und relativen Anteilen 31

Tab. 11: Auflistung der Anzahl der Larvenarten nach Sammeldatum 32

Tab. 12: Auflistung der Larvengesamtanzahl in den Monaten Juli, August und September . 33

Tab. 13: Larvenausbeute der Standorte in Gesamtzahlen bezogen auf das Sammeldatum 36

Tab. 14: Artvorkommen in Zusammenhang mit den wichtigsten Standorten 37

Tab. 15: Übersicht über die Ergebnisse der PCR..... 53

Anhang

Tab. 15: Übersicht über die Ergebnisse der PCR

Primer	Probe	Art	Standort	Datum	Schöpfung	Larvenanzahl/Pool
LCO-UEA	L01	Cx.pipiens	14	12.07.21	R1	2
LCO-HCO	L02	Ae.koreicus	14	12.07.21	R1	1
LCO-HCO	L03	Cx.pipiens	14	12.07.21	R1	8
LCO-UEA	L04	Ae.koreicus	6	12.07.21	R1	2
LCO-UEA	L05	Cx.pipiens	3	12.07.21	R1	9
LCO-HCO	L06	Cx.torrentium	16	08.09.21	R2	1
LCO-UEA	L07	Ae.koreicus	14	08.09.21	R1	2
CuliCOI	L08	Cx.pipiens	3	08.09.21	R1	1
CuliCOI	L09	Cx.pipiens	16	08.09.21	R3	1
LCO-HCO	L10	Cx.torrentium	14	08.09.21	R1	1
LCO-HCO	L11	Cx.pipiens	3	08.09.21	R3	1
LCO-HCO	L12	Cx.pipiens	14	08.09.21	R2	1
LCO-HCO	L13	Cx.pipiens	3	08.09.21	R2	1
LCO-HCO	L14	Cx.pipiens	14	08.09.21	R3	1
LCO-HCO	L15	Cx.pipiens	3	01.09.21	R2	1
LCO-UEA	L16	Ae.koreicus	14	01.09.21	R1	1
LCO-UEA	L17	Ae.koreicus	14	01.09.21	R2	1
LCO-HCO	L18	Cx.hortensis	14	01.09.21	R3	4
LCO-UEA	L19	Ae.koreicus	3	18.08.21	R3	1
LCO-HCO	L20	Cx.pipiens	14	18.08.21	R1	1
LCO-HCO	L21	Cx.pipiens	14	18.08.21	R2	1
LCO-UEA	L22	Ae.koreicus	3	20.09.21	R1	1
LCO-HCO	L23	Cx.pipiens	3	20.09.21	R1	1
LCO-UEA	L24	Cx.pipiens	3	20.09.21	R1	3
LCO-HCO	L25	Cx.pipiens	3	20.09.21	R2	1
LCO-HCO	L26	Cx.pipiens	3	20.09.21	R3	2
LCO-HCO	L27	Cx.pipiens	6	20.09.21	R2	1
LCO-HCO	L28	Cx.pipiens	8	20.09.21	R2	3
LCO-HCO	L29	Cx.pipiens	10	20.09.21	R1	2
LCO-HCO	L30	Cx.pipiens	10	20.09.21	R2	3
LCO-HCO	L31	Cx.pipiens	10	20.09.21	R3	4
LCO-UEA	L32	Cx.torrentium	14	20.09.21	R1	1
CuliCOI	L33	Cx.pipiens	14	20.09.21	R1	1
CuliCOI	L34	Cx.pipiens	14	20.09.21	R2	1
CuliCOI	L35	Cx.pipiens	14	20.09.21	R2	1
CuliCOI	L36	Cx.pipiens	3	14.09.21	R1	2
LCO-UEA	L37	Ae.koreicus	6	14.09.21	R2	1
LCO-UEA	L38	Cx.pipiens	14	14.09.21	R1	2
CuliCOI	L39	Cx.torrentium	14	14.09.21	R2	2
CuliCOI	L40	Cx.pipiens	14	14.09.21	R3	2
CuliCOI	L41	Cx.pipiens	6	14.09.21	R1	1
CuliCOI	L42	Cx.pipiens	3	10.08.21	R1	1
CuliCOI	L43	Cx.pipiens	3	10.08.21	R1	1

LCO-UEA	L44	Ae.koreicus	3	10.08.21	R2	1
CuliCOI	L45	Cx.pipiens	3	10.08.21	R2	2
LCO-UEA	L46	Ae.koreicus	3	10.08.21	R3	1
CuliCOI	L47	Cx.pipiens	3	10.08.21	R3	1
LCO-HCO	L48	Ae.koreicus	10	10.08.21	R3	1
LCO-UEA	L49	Ae.koreicus	14	10.08.21	R1	1
LCO-HCO	L50	kein Ergebnis	14	10.08.21	R1	1
CuliCOI	L51	Cx.pipiens	14	10.08.21	R2	1
CuliCOI	L52	Cx.pipiens	3	04.08.21	R1	3
CuliCOI	L53	Cx.pipiens	3	04.08.21	R2	3
LCO-HCO	L54	Cx.pipiens	3	04.08.21	R3	11
LCO-UEA	L55	Cx.pipiens	6	04.08.21	R3	1
LCO-HCO	L56	kein Ergebnis	10	04.08.21	R3	1
LCO-HCO	L57	kein Ergebnis	14	04.08.21	R1	2
LCO-UEA	L58	Ae.koreicus	14	04.08.21	R2	1
CuliCOI	L59	Cx.torrentium	14	04.08.21	R2	1
LCO-UEA	L60	Cx.pipiens	6	26.07.21	R1	7
LCO-UEA	L61	Cx.pipiens	14	26.07.21	R1	1
CuliCOI	L62	Cx.pipiens	14	26.07.21	R1	7
CuliCOI	L63	Cx.pipiens	14	26.07.21	R2	4
CuliCOI	L64	Cx.pipiens	16	26.07.21	R1	4
LCO-HCO	L65	Cx.pipiens	16	26.07.21	R2	1
LCO-UEA	L66	Ae.koreicus	3	18.07.21	R1	2
LCO-UEA	L67	Cx.torrentium	3	18.07.21	R1	1
LCO-UEA	L68	Cx.pipiens	6	18.07.21	R1	30
LCO-HCO	L69	kein Ergebnis	8	18.07.21	R1	1
LCO-UEA	L70	Ae.koreicus	14	18.07.21	R1	4
CuliCOI	L71	Cx.pipiens	1	29.09.21	R1	1
CuliCOI	L72	Cx.pipiens	1	29.09.21	R3	8
CuliCOI	L73	Cx.pipiens	3	29.09.21	R1	1
CuliCOI	L74	Cx.pipiens	3	29.09.21	R3	1
LCO-UEA	L75	Cx.pipiens	14	29.09.21	R1	1
CuliCOI	L76	Cx.pipiens	14	29.09.21	R1	2
LCO-HCO	L77	Ae.koreicus	14	29.09.21	R2	1
CuliCOI	L78	Cx.pipiens	14	29.09.21	R2	1
LCO-HCO	L79	Ae.koreicus	3	24.08.21	R1	1
LCO-UEA	L80	Ae.koreicus	14	24.08.21	R1	2
LCO-UEA	L81	Ae.koreicus	14	24.08.21	R3	1
LCO-HCO	L82	Cx.hortensis	14	24.08.21	R3	1
LCO-UEA	L83	Ae.koreicus	24	24.08.21	R3	2
LCO-UEA	L84	Ae.koreicus	14	10.08.21	R1	1
LCO-UEA	L85	Ae.koreicus	14	10.08.21	R2	3
LCO-HCO	L86	Ae.koreicus	3	04.08.21	R2	1
LCO-HCO	L87	Cx.pipiens	14	18.07.21	R2	1
LCO-UEA	L88	Cx.pipiens	14	29.09.21	R2	1

Danksagung

Zuallererst ein großes Dankeschön an meinen Betreuer Dr. Hans Peter Fuehrer, für die äußerst unkomplizierte Zusammenarbeit und große Motivation für das Zustandekommen dieser Diplomarbeit. Er stand mir jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite. - Ich hätte mir keinen besseren Betreuer wünschen können.

Ein großer Dank geht auch an Dr. Maria Unterköfler für ihre hervorragende Unterstützung bei der praktischen Arbeit am Zentralfriedhof, als auch bei der Laborarbeit.

Des Weiteren möchte ich mich bei meiner Diplomarbeitspartnerin Laura Schreier für die tolle Zusammenarbeit und mentale Unterstützung bedanken.
Mein Dank geht außerdem an Dr. Karin Bakran-Lebl und Mag. Carina Zittra, die ebenso Teil dieses Projekts waren.

Mein größter Dank gebührt jedoch meinen Eltern und Freunden, die mich jeher in jeglicher Hinsicht immer und überall bedingungslos unterstützt und mich auch in Prüfungsphasen ertragen haben. – Danke dafür!