

VICE

VECTOR-BORNE INFECTIONS: RISK BASED AND COST EFFEC- TIVE SURVEILLANCE SYSTEMS

**Von Vektoren übertragene Infektionskrankheiten: Risikobasierte und kosteneffiziente
Surveillance Systeme**

Förderkennzeichen: 2811ERA248

Aktenzeichen: 514-06.01-2811ERA248

Förderzeitraum: 01.04.2012 - 31.12.2015

Report von: Prof. Dr. Ellen Kiel¹, Dr. Renke Lühken², Sonja Steinke¹

¹AG Gewässerökologie und Naturschutz; Carl von Ossietzky Universität Oldenburg

² AG Arbovirologie, Bernhard Nocht Institut für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Strasse 74, 20359 Hamburg
Germany (bis 2015 Doktorand in der AG Gewässerökologie und Naturschutz; Carl von Ossietzky Universität
Oldenburg)

Stand: 20. Juni 2016

Inhaltsverzeichnis

VICE	1
<i>Vector-borne Infections: risk based and cost effective surveillance systems</i>	1
1. VICE: Projektbeschreibung	2
1.1 Übergeordnete Ziele, Projektpartner und <i>Work packages</i>	2
1.2 Projektziele und Verantwortlichkeiten der Universität Oldenburg	3
1.3 Kommunikation und Kooperation	5
1.3.1 Teilnahme an Konsortialtreffen.....	5
1.3.2 Teilnahme an Telefonkonferenzen.....	5
1.3.3 Consortium agreement.....	6
1.3.4 Datenbanken.....	6
1.3.5 Präsentation der Ergebnisse auf Konferenzen	6
1.3.6. Publikationen.....	6
1.4. Abweichungen von der ursprünglichen Projektplanung.....	7
1.4.1 Inhaltlicher/ zeitlicher Projektablauf	7
1.4.2 Ausgabenplanung / Verwendung der Mittel.....	8
2. Hintergrund	9
2.1 Die Vektorrolle von Culicidae und <i>Culicoides</i>	9
2.2 Untersuchungen zur Brutökologie der Culicidae und <i>Culicoides</i>	12
2.3 Identifikation von Umweltparameter in Bruthabitaten mit Relevanz für die Entwicklung von Gnitzen (Gattung <i>Culicoides</i>) und Stechmücken (<i>Culex pipiens</i> Komplex) (Literatur) 13	
2.3.1 Stechmücken	13
2.3.2 Gnitzen	15
3. Methoden der Feldstudie	18
3.1 Standorte und Untersuchungszeiträume	18
3.2 Stechmücken-/Gnizenfallen.....	19
3.3 Bruthabitate Culicidae	20
3.4 Bruthabitate <i>Culicoides</i>	21
3.5 Bestimmung	23
3.5.1 Culicidae.....	23
3.5.2 <i>Culicoides</i>	23
4. Ergebnisse der Feldstudie (Übersicht)	25
4.1 Culicidae	25
4.1.1 Imagines (BG-Sentinel).....	25
4.1.2 Brutökologie Culicidae (Ergebnisse Gewässeruntersuchung)	27
4.2 <i>Culicoides</i>	31

4.2.1 Imagines (BG-Sentinel).....	31
4.2.2 Brutökologie Gnitzen (Emergenzfallen)	33
5. Weiterführende Auswertung.....	38
5.1 Culicidae	38
5.1.1 Einfluss biotischer und abiotischer Standortfaktoren auf das Vorkommen von <i>Culex pipiens</i> sensu lato und <i>Culex torrentium</i> (Classification Trees)	38
5.1.2 Verbreitung der Arten des <i>Anopheles maculipennis</i> Komplexes in Deutschland (Random Forest Modell)	39
5.2 <i>Culicoides</i>	41
5.2.1 Einfluss biotischer und abiotischer Standortfaktoren auf das Vorkommen der Obsoletus-Gruppe in Bruthabitaten (Lineare gemischte Modelle und binominal verteilte generalisierte gemischte Modelle)	41
5.2.2 Ergebnisse und Diskussion.....	42
5.2.2 Einfluss biotischer und abiotischer Standortfaktoren auf das Vorkommen der Obsoletus-Gruppe in Bruthabitaten (Random Forest Modell)	45
6. Abschließende Betrachtung der Ergebnisse	48
6.1 Culicidae	48
6.2 <i>Culicoides</i>	50
7. Literatur.....	54
8. Final Progress Report: Zusammenfassung.....	63
9. Danksagung.....	64

1. VICE: PROJEKT BESCHREIBUNG

1.1 ÜBERGEORDNETE ZIELE, PROJEKTPARTNER UND *WORK PACKAGES*

Das übergeordnete Ziel des VICE-Projektes war die Entwicklung eines risikobasierten Überwachungssystems, welches eine kontinuierliche Einschätzung des Risikos für den Ausbruch und die Verbreitung von durch Vektoren übertragenen Krankheitserregern erlaubt, um Ressourcen für Überwachungsprogramme gezielter verteilen und bei erhöhtem Risiko rechtzeitig effektive Gegenmaßnahmen treffen zu können. Dadurch sollen Ressourcen für Überwachungsprogramme gezielter verteilt und in Zeiten mit erhöhtem Risiko rechtzeitig effektive Gegenmaßnahmen möglich werden. Die Vektoren im Fokus des Projektes sind Arten der Stechmücken (Culicidae) sowie Arten der Gnitzen (Ceratopogonidae, Gattung *Culicoides*). Es handelt sich um ein Kooperationsprojekt mit insgesamt neun europäischen Projektpartnern. Die notwendigen Aufgaben zur Erreichung der Projektziele wurden in sechs sogenannten „Work packages“ gruppiert und die koordinierende Verantwortlichkeit jeweils einem Projektpartner zugeordnet.

Projektpartner

1. Dänemark, DTU - Technical University of Denmark (Projektkoordination)
2. Niederlande, WUR - Wageningen University & Research Centre
3. Norwegen, NVI - Norwegian Veterinary Institute (Department for Epidemiology)
4. Deutschland, FLI - Friedrich-Löffler-Institut (Institut für Epidemiologie)
5. Deutschland, Carl von Ossietzky Universität Oldenburg (AG Gewässerökologie)
6. Schweiz, VPHI - Veterinary Public Health Institute, Universität Bern
7. Schweden, SVA - National Veterinary Institute
8. Frankreich, INRA EpiA - Animal Epidemiology Unit
9. Belgien, CODA-CERVA - Veterinary and Agrochemical Research Centre

Work packages

Work package 0: Data collection, processing and data sharing

Leitung: Jörn Gethmann, FLI (DE)

Work package 1: Risk of introduction of disease

Leitung: Egil Fischer, CVI-WUR (NL)

Work package 2: Potential spread and establishment after introduction

Leitung: Ellen Kiel, UNI-OL (DE)

Work package 3: Syndromic surveillance

Leitung: Petter Hopp NVI (N)

Work package 4: Calculation and communication of risk

Leitung: Agnès Leblond, INRA EpiA (FR)

Work package 5: Surveillance sensitivity

Leitung: Yves Van der Stede CODA-CERVA (B)

Work package 6: Cost-effectiveness analyses and forecast of surveillance cost

Leitung: Martin Reist, VPHI (CH)

1.2 PROJEKTZIELE UND VERANTWORTLICHKEITEN DER UNIVERSITÄT OLDENBURG

Im work package 2 wurden neue Modelle für das Risiko der Virusübertragung entwickelt. Die zentrale Aufgabe der AG Oldenburg bestand darin, im Rahmen einer großskaligen Studie neue Daten zur Verbreitung von Stechmücken und Gnitzen in Deutschland zu erfassen und auszuwerten. Diese Arbeiten zielten darauf ab, die wichtigsten Bruthabitate und jene Umweltparameter zu identifizieren, welche die Entwicklung veterinärmedizinisch relevanter Arten steuern, um durch die Entwicklung auf Brutplatzdaten basierender statistischer Modelle die Überwachung und das Risikomanagement zu optimieren. Zu diesem Zweck wurde eine umfangreiche

Feldstudie an 20 Standorten in Deutschland durchgeführt (Abb. 3.1). Darüber hinaus wurden Verbreitungsmodelle für Gnitzen und Stechmücken entwickelt. Die erhobenen Daten unterstützen die Projektpartner bei der Entwicklung eines webbasierten, europaweiten dynamischen Modells, welches das wöchentliche Ausbruchsrisiko vektor-übertragener Krankheiten darstellt. Ein Überblick über die Projektziele (im Folgenden *Deliverables* genannt) und deren Einordnung innerhalb des Gesamtprojektes gibt Tabelle 1.1.

Tab. 1.1 Beteiligung der Universität Oldenburg an Work packages 0, 2 und 4 und Bearbeitungsstand einzelner Deliverables (D) aus Work package 2.

<i>Deliverables</i>		Status
<i>Work package 0: Data collection, processing and data sharing (verantwortlich: FLI)</i>		
<i>D1.2</i>	Unterzeichnung Consortium agreement	abgeschlossen
<i>D.1.3</i>	Übermittlung erhobener Daten an die Projektpartner DTU (Gnitzen) und SVA (Stechmücken)	abgeschlossen
<i>Work package 2: Potential spread and establishment after introduction</i>		
<i>D4 Europe-wide relative risk maps of vector density</i>		
<i>D4.1</i> Grobe Abundanzmodelle für wichtige Stechmücken- und Gnitzenarten in Europa (Verantwortlich DTU)*		
<i>D4.2</i>	Erfassung neuer Daten zu Stechmücken und Gnitzen in Deutschland. Zusätzliche Erfassung von Bruthabitaten inklusive biotischer und abiotischer Umweltparameter	abgeschlossen
<i>D4.5</i> Verbesserte Abundanzmodelle für Stechmücken, Gnitzen und Zecken (verantwortlich: DTU)		
	Die erhobenen Daten wurden an die Projektpartner DTU (Gnitzen) und SVA (Stechmücken) übermittelt	abgeschlossen
<i>D5 A minimum of two national high spatial resolution mosquito density maps</i>		
<i>D5.1</i>	Detaillierte Informationen über abiotische und biotische Faktoren in Bruthabitaten von Stechmücken und Gnitzen in Deutschland	abgeschlossen
<i>D5.2</i>	Abundanzmodelle gestützt durch brutökologische Analysen	abgeschlossen
<i>D5.3</i>	Mindestens zwei nationale hochaufgelöste Abundanzkarten	abgeschlossen
<i>Work package 4: Calculation and communication of risk (Verantw. INRA EpiA)</i>		

D10 web based dynamic atlas showing (retrospectively) the weekly risk of an outbreak

Die erhobenen Daten wurden den Projektpartnern DTU (Gnitzen) und SVA (Stechmücken) übermittelt.	abgeschlossen
---	---------------

*Aufgrund von Schwierigkeiten, bei der Zusammenstellung europaweiter Abundanzdaten wurden keine groben Modelle (D4.1) erstellt. Stattdessen wurde direkt mit der Erstellung von verbesserten Abundanzmodellen fortgefahren (D4.5)

1.3 KOMMUNIKATION UND KOOPERATION

1.3.1 TEILNAHME AN KONSORTIALTREFFEN

Die AG Gewässerökologie nahm an allen Treffen des *Steering committees* teil:

1. Erstes Konsortialtreffen (*kick-off-Meeting*) im Juni 2012 in Brighton (2 Personen)
Programm: Konkrete Planung und Aufgabenverteilung in den *Work packages*.
2. Zweites Konsortialtreffen, Oktober 2013, in Brüssel (3 Personen)
Programm: Austausch und Besprechung erster Ergebnisse, Planung der Kooperation und weiteren Vorgehensweise zur Erreichung der Projektziele in den einzelnen *work packages*.
3. Drittes Konsortialtreffen in Kopenhagen, September 2014, in Kopenhagen (2 Personen)
Programm: Austausch und Besprechung weiterer Ergebnisse und Planung abschließender Schritte.
4. Viertes Konsortialtreffen, April 2015, in Brüssel (1 Person)
Programm: Zusammenfassung und Vorstellung der Ergebnisse im Rahmen einer Präsentation für die Vertreter öffentlicher Einrichtungen und nationaler Geldgeber.

Zusätzlich zu den Planungstreffen des Gesamtkonsortiums nahm die AG Oldenburg im April 2013 an einem Koordinationstreffen im Rahmen des *work package 4* in Amsterdam teil (1 Person).

1.3.2 TEILNAHME AN TELEFONKONFERENZEN

Wir haben an den Telefonkonferenzen des *Steering committees* und den uns betreffenden *work packages* teilgenommen. Als Leiter von WP2 führten wir darüber hinaus zwei zusätzliche WP2-interne Telefonkonferenzen durch. Die monatlich stattfindenden Telefonkonferenzen dienten

insbesondere dazu, die gemeinsamen Tätigkeiten (Datenzusammenführung, Modellierung, etc.) untereinander zu koordinieren.

1.3.3 CONSORTIUM AGREEMENT

Koordiniert vom dänischen Projektpartner (DTU) wurde ein *Consortium agreement*, einschließlich eines *Data sharing agreement*, erstellt, von allen Projektpartnern unterzeichnet (Dezember 2012, Quartal 9) und dem BLE am 19.12.2012 übermittelt.

1.3.4 DATENBANKEN

Verfügbare Abundanzdaten aus Deutschland zu Gnitzen und Stechmücken wurden den Projektpartnern DTU und SVA für weitergehende Datenauswertungen zur Verfügung gestellt. Darüber hinaus wurden die erhobenen Daten zu Stechmücken in Deutschland dem FLI zur Einspeisung in die Stechmückendatenbank CULBASE zur Verfügung gestellt.

1.3.5 PRÄSENTATION DER ERGEBNISSE AUF KONFERENZEN

Culicidae Die Ergebnisse der Verbreitungsanalyse der vier Arten des *Anopheles maculipennis* Komplexes wurde 2015 mit zwei mündlichen Vorträgen auf dem *National Symposium on Zoonoses Research* (Berlin) und dem *Malaria Meeting* (Hamburg) vorgestellt: R. Lühken, C. Czajka, S. Steinke, H. Jöst, J. Schmidt-Chanasit, E. Kiel, A. Krüger, E. Tannich: *Distribution of individual members of the Anopheles maculipennis complex in Germany known as potential vectors of *Dirofilariae* and viruses bzw. Distribution of individual members of the Anopheles maculipennis complex in Germany known as historic vectors of malaria.*

Culicoides Erste Ergebnisse der brutökologischen Feldstudie (Gnitzen) wurden in Form eines Posters auf der deutschen Entomologentagung 2013 in Göttingen vorgestellt: S. Steinke, R. Lühken, E. Kiel: *Culicoides breeding ecology studied in farm associated habitats in Germany.* Eine ausführlichere Darstellung der weiterführenden Auswertung der Ergebnisse war Inhalt eines mündlichen Vortrags auf der Deutschen Entomologentagung 2015 in Frankfurt. S. Steinke, R. Lühken, E. Kiel: *Culicoides breeding ecology studied in farm associated habitats.*

1.3.6. PUBLIKATIONEN

- Lühken, R., Steinke, S., Leggewie, M., Tannich, E., Krüger, A., Becker, S., & Kiel, E. (2015) *Physico-chemical characteristics of Culex pipiens sensu lato and Culex torrentium (Diptera: Culicidae) breeding sites in Germany*. *Journal of Medical Entomology* 52: 932-936.
- Lühken R, Czajka C, Steinke S, Jöst H, Schmidt-Chanasit J, Pfitzner W, Becker N, Kiel E, Krüger A & Tannich E (2016) *Distribution of individual members of the mosquito Anopheles maculipennis complex in Germany identified by newly developed real-time PCR assays*. *Medical and Veterinary Entomology* 30: 144-154.
- Steinke, S., Lühken, R., Balczun, C. & Kiel, E. (2016) *Emergence of the Culicoides obsoletus group species from farm-associated habitats in Germany*. *Medical and Veterinary Entomology* 30: 174-184.

1.4. ABWEICHUNGEN VON DER URSPRÜNGLICHEN PROJEKTPLANUNG

1.4.1 INHALTLICHER/ ZEITLICHER PROJEKTABLAUF

- i. Der Beginn des Vorhabens, der ursprünglich für den 01.05.2012 geplant war, wurde auf den 01.04.2012 vorgezogen (siehe Antrag auf vorzeitigen, förderunschädlichen Vorhabensbeginn vom 16.02.2012 und ergänzenden Schreiben vom 26.03.2012 und 30.03.2012 per e-mail und Bescheid vom 30.03.2012).
- ii. Der Beginn der Probenahmen wurde von 2013 auf August 2012 (Quartal 2 des Projektes) vorverlegt. Der vorzeitige Start dieser Projektphase wurde mit dem Gesamtkonsortium abgestimmt und hatte den Zweck, möglichst frühzeitig mit den darauf aufbauenden Arbeitsabschnitten in anderen *WPs* beginnen zu können.
- iii. Die Konsortialtreffen 1, 2 und 4 fanden nicht, wie geplant, in Kopenhagen, sondern in Brighton (1) und Brüssel (2 und 4) statt. Dies wurde im Gesamtkonsortium entschieden, da während dieser Zeiträume jeweils die, für viele Projektteilnehmer relevante EPIZONE-Tagung stattfand (1 und 2) bzw. beim Abschlusstreffen (4) Vertreter öffentlicher Einrichtungen und nationaler Geldgeber mit Sitz in Brüssel eingeladen waren.
- iv. Es wurde eine kostenneutrale Laufzeitverlängerung bis zum 31.10.2015 bewilligt (siehe Antrag vom 08.08.2014 und Änderungsbescheid vom 10.03.2015).
- v. Eine weitere kostenneutrale Laufzeitverlängerung datierte bis zum 31.12.2015 (siehe Antrag vom 18.09.2015 und Änderungsbescheid vom 07.10.2015).

vi. Morphologisch nicht zu differenzierende Stechmückenarten (*Culex pipiens* sensu lato (s.l.)/*Culex torrentium* und die vier Arten des *Anopheles maculipennis* Komplex) konnten in Kooperation mit dem Bernhard-Nocht-Institut in Hamburg (BNI) mit Hilfe molekularer Techniken (quantitative real-time PCR) auf Artniveau bestimmt werden. Die Kosten für diese Probenbearbeitung wurden durch das BNI gedeckt.

1.4.2 AUSGABENPLANUNG / VERWENDUNG DER MITTEL

- i. Das Gesamtbudget wurde um ca. 612 Euro gekürzt (siehe Änderungsbescheid vom 14.01.2014).
- ii. Es wurde eine Umwidmung von 5400 Euro aus der Position 0831 "Gegenstände bis 410/400 Euro" in den Position 0846 "Dienstreisen" vorgenommen (siehe Antrag vom 10.03.2014 und Änderungsbescheid vom 06.06.2014).
- iii. Es wurde eine Umwidmung von 3000 Euro vom Posten 0831 in den Posten 0835 (Vergabe von Aufträgen) vorgenommen (siehe Antrag vom 08.08.2014 und Änderungsbescheid vom 10.03.2015).
- iv. Das Gesamtbudget wurde um insgesamt 5040 Euro aufgestockt (siehe Antrag vom 08.08.2014 und Änderungsbescheid vom 03.09.2014).
- v. Die Kürzung des Gesamtbudgets um ca. 612 Euro wurde aufgehoben (siehe Änderungsbescheid vom 16.01.2014 und 07.10.2015).
- vi. Es wurde eine Umwidmung von 2000 Euro vom Posten 0835 (Vergabe von Aufträgen) in den Posten 0822 vorgenommen (siehe Antrag vom 18.09.2015 und Änderungsbescheid vom 07.10.2015).

2. HINTERGRUND

2.1 DIE VEKTORROLLE VON CULICIDAE UND CULICOIDES

Eine Reihe von Arten der Stechmücken (Culicidae) und Gnitzen (Ceratopogonidae) sind Vektoren (Überträger) für verschiedene human- und veterinärmedizinisch relevante Krankheitserreger. Mit einem gut entwickelten Stechrüssel sind weibliche Stechmücken in der Lage die Haut diverser Wirte zu durchstechen, dazu zählen z.B. der Mensch, zahlreiche andere Säugetiere, Vögel oder Amphibien (Downes, 1958 (Review)). In vielen Regionen besteht dabei das Risiko einer Virusübertragung. Einige Beispiele sind das Dengue Virus (Vektoren: Arten der Gattung *Aedes*, verbreitet in Tropen und Subtropen), das Riffalfieber Virus (Vektoren: Arten der Gattung *Culex* und *Aedes*, verbreitet in Afrika) oder das Japanische Enzephalitis Virus (Vektoren: Arten der Gattung *Culex*, verbreitet in Asien) (Solomon, 2006; Erlanger et al., 2009). Als Hauptüberträger des West-Nil-Virus (Europa, Afrika, Mittlerer Osten, Nordamerika) gelten überwiegend ornithophile Stechmücken der Gattung *Culex*, die das Virus unter Vögeln verbreiten und es von dort auch auf den Menschen und andere Säugetiere übertragen können (Kramer et al., 2008). Dieses Virus breitet sich derzeit auch in Europa aus. Eine Infektion verläuft beim Menschen in der Regel nahezu asymptomatisch, aber in Abhängigkeit der Umweltbedingungen und des Virus-Typs gibt es zahlreiche Beispiele in denen West-Nil-Virus Ausbrüche zur Häufung neurologischer Komplikationen bis hin zum Tod führten (Taylor et al., 1956; Zeller und Schuffenecker, 2004; Rossi et al., 2010; Rizzoli, 2015 (Review)). Im Verlauf intensiver Monitoringprogramme konnten in den letzten Jahren auch eine Vielzahl bisher unbekannter Pathogene (Viren, Filarien, Borrelien) in deutschen Stechmückenarten nachgewiesen werden:

Viren:

- Sindbis Virus (Jöst et al., 2010)
- Batai Virus (Jöst et al., 2011a)
- Usutu Virus (Jöst et al., 2011b)]

Filarien:

- *Dirofilaria repens* (Czajka et al., 2014; Kronefeld et al., 2014)
- *D. immitis* (Kronefeld et al., 2014)

Borrelia burgdorferi Komplex (Melaun et al., 2015):

- *Borrelia afzelii*
- *B. bavariensis*
- *B. garinii*

Insbesondere der Ausbruch des Usutu Virus, welches Massensterben von Singvögeln in Süddeutschland verursachte (Becker et al., 2012), und das Auftreten des ersten autochthonen Infektion eines Menschen durch den Hundehautwurm (Tappe et al., 2014) verdeutlichen die Relevanz von durch Stechmücken übertragenden Pathogenen in Deutschland. Es ist davon auszugehen, dass die fortschreitende Globalisierung und der Klimawandel die weitere Verbreitung der Vektoren als auch der Pathogene fördern wird. So hat sich z.B. die invasive asiatische Stechmückenart *Ae. japonicus*, die zu den Überträgern des West-Nil-Virus und der Japanischen Enzephalitis gezählt wird, mittlerweile auch in vielen Gebieten Deutschlands etabliert (Becker et al., 2011). Eingeschleppte Individuen der Asiatischen Tigermücke (*Ae. albopictus*) werden regelmäßig an den Autobahnraststätten in Süddeutschland festgestellt. Darüber hinaus konnten im Sommer 2015 eine größere Population der Art im Raum Freiburg festgestellt werden. Zukünftige Studien werden zeigen, ob es bereits zu einer dauerhaften Etablierung dieser Art in Deutschland gekommen ist oder eine Überwinterung noch nicht möglich war.



Abb. 2.1 Weibliche Gnitze der Obsoletus-Gruppe (Foto S. Steinke)

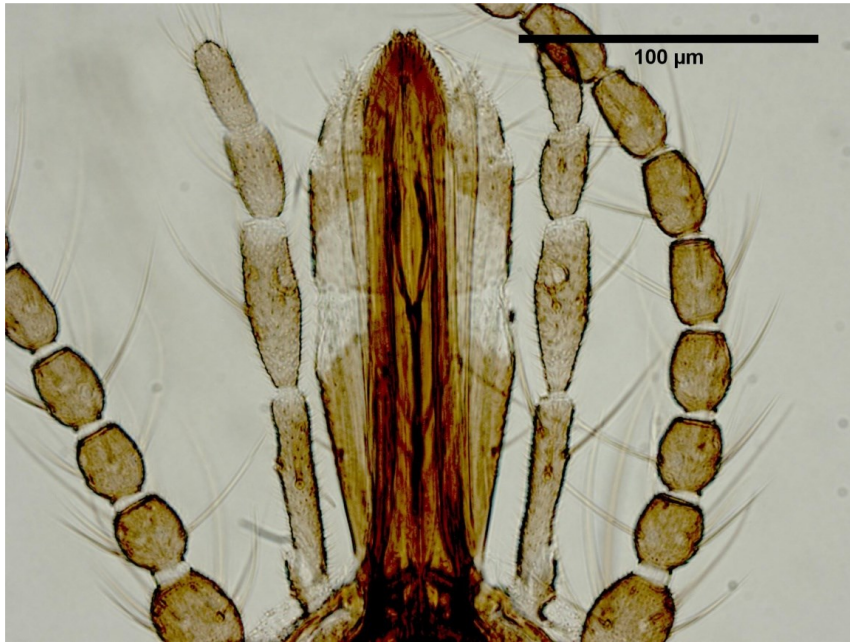


Abb. 2.2 Mundwerkzeuge einer weiblichen Gnitze der Gattung *Culicoides* (*C. dewulfi*, Foto: S. Steinke)

In der Familie der Gnitzen (Abb. 2.1) gehören in erster Linie Arten der Gattung *Culicoides* zu den potenziellen Vektoren verschiedener Pathogene. Neben dem Menschen kommen z.B. Rinder, Pferde, Schweine, Schafe, Vögel oder Menschen als Wirte in Frage (Koch und Axtel, 1979; Blackwell und Page, 2003; Bartsch et al., 2009; Ninio et al., 2011). Für die Aufnahme der Blutmahlzeit wird die Haut des Wirts mit scherenartigen Bewegungen der Mundwerkzeuge (Abb. 2.2) geöffnet und das austretende Blut mit dem Stechrüssel aufgesaugt (Blackwell, 2008). Weltweit sind mindestens 50 verschiedene Viren in Arten dieser Gruppe nachgewiesen worden. Nur wenige davon werden auf den Menschen übertragen, z.B. das Oropouche Virus im Südamerikanischen Raum (Vektor: *C. paraensis*). Die Mehrzahl der von *Culicoides* übertragenen Viren verursacht jedoch Krankheiten bei Tieren darunter z.B. die Afrikanische Pferdepest, eine für Pferde häufig tödliche Krankheit (Vektor: *C. imicola*; Tesh, 1994; Mellor et al., 2000 (Review); Coetzer und Guthrie, 2004; Felipe-Bauer und Sternheim, 2008; Lord, 2008). Das Blauzungenvirus führt bei Schafen und Rindern z.B. zu Fehlgeburten oder verringerter Milchleistung und verläuft vor allem bei Schafen oft tödlich (Conraths et al., 2009). Als die Krankheit 2006 in Nordeuropa ausbrach, verhinderten Wissensdefizite über die Vektoren und die Ökologie der *Culicoides* eine schnelle Bekämpfung der Epidemie. Allein in Deutschland belaufen sich Schätzungen der verursachten Schäden auf 254 Millionen Euro (Conraths et al., 2012 (Review)). Während die Krankheit in Südeuropa und Afrika von *C. imicola* übertragen wird, konnten durch intensive Monitoring-Programme in Nord- und Mitteleuropa die Arten der Pulicaris-

und Obsoletus-Gruppe als Vektoren identifiziert werden (Mehlhorn et al., 2007; Meiswinkel et al., 2008; Wilson und Mellor, 2009 (Review)).

2.2 UNTERSUCHUNGEN ZUR BRUTÖKOLOGIE DER CULICIDAE UND *CULICOIDES*

Fundierte Kenntnisse zur Brutökologie von Stechmücken und Gnitzen sind für die Entwicklung von Bekämpfungsmaßnahmen essentiell und können darüber hinaus die Vorhersage von Risikozeiträumen und -regionen unterstützen. Die Verbreitung und Häufigkeit der beiden hier untersuchten Gruppen von Krankheitsüberträgern hängt unter anderem von der Verfügbarkeit geeigneter Bruthabitate ab. Brutökologische Studien bilden daher eine wichtige Ergänzung zu Monitoring-Programmen, die nur den adulten Populationsanteil erfassen.

Landwirtschaftliche Betriebe mit Tierhaltung liefern ideale Entwicklungsbedingungen für Gnitzen und Stechmücken. Hier befinden sich geeignete Bruthabitate in unmittelbarer Nähe zu potenziellen Wirten. Die Arten der Obsoletus-Gruppe können sich z.B. erfolgreich in Tierdung oder Silagerückständen entwickeln (Kettle und Lawson, 1952, Zimmer et al., 2013), während Stechmücken der Gattung *Culex* oder die invasive Art *Ae. japonicus* künstliche Wasseransammlungen als Brutstätten nutzen, z.B. stehendes Wasser in Altreifen (Yee, 2008; Bartlett-Healy et al., 2012), die zahlreich zur Befestigung der Silofolien zum Einsatz kommen. Ziel der vorliegenden Studie war die repräsentative Analyse des Vorkommens von Stechmücken und Gnitzen auf landwirtschaftlichen Betrieben in Deutschland durch eine Untersuchung der adulten Populationen und der gleichzeitigen Erfassung entsprechender Entwicklungsstadien in den Bruthabitaten. Dabei zielte die Studie insbesondere darauf ab, Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen der betreffenden Arten in ihren Bruthabitaten und den dort vorherrschenden biotischen und abiotischen Faktoren zu identifizieren. Die neu gewonnenen Erkenntnisse wurden analysiert, um Aussagen zu der Vorkommenswahrscheinlichkeit der untersuchten Arten zu erlauben und dadurch langfristig die Vorhersage von Zeiträumen und Regionen mit erhöhtem Risiko für den Ausbruch und die Ausbreitung von Viruserkrankungen zu unterstützen.

2.3 IDENTIFIKATION VON UMWELTPARAMETER IN BRUTHABITATEN MIT RELEVANZ FÜR DIE ENTWICKLUNG VON GNITZEN (GATTUNG *CULICOIDES*) UND STECHMÜCKEN (*CULEX PIFIENS* KOMPLEX) (LITERATUR)

2.3.1 STECHMÜCKEN

Verschiedene Umweltparameter können für das Vorkommen der Larven (Abb. 2.3) und Puppen von Culiciden von Bedeutung sein. Im Folgenden werden Angaben zu einigen Faktoren aus der Literatur am Beispiel des *Cx. pipiens* Komplexes zusammengefasst. Dieser Komplex umfasst mehrere Arten, zu denen auch jene zählen, die in Deutschland als „Gemeine Hausmücke“ bekannt und im Allgemeinen sehr weit verbreitet sind: *Cx. pipiens pipiens* form *pipiens*, *Cx. pipiens pipiens* form *molestus* und *Cx. torrentium*. Zusammenfassend wird beschrieben, dass die Larven an ein breites Spektrum verschiedener Umweltfaktoren angepasst sind (Vinogradova, 2000 (Review)).

Die nachfolgend exemplarisch zusammengestellten Literaturangaben begründen die Wahl der Messgrößen, die in diesem Projekt in allen Gewässern systematisch erfasst und vergleichend ausgewertet wurden. Sie sollen eine bessere Einschätzung potenzieller Präferenzen und Toleranzen der Stechmücken in Bezug auf die Eigenschaften der Brutgewässer im Umfeld landwirtschaftlicher Betriebe ermöglichen. Die Larven und Puppen der beiden Arten *Cx. pipiens* s.l. und *Cx. torrentium* sind sich morphologisch so ähnlich, dass nur genetische Methoden eine zweifelsfreie Differenzierung ermöglichen. Diese Arten kommen außerdem sympatrisch vor, d.h. ihre Verbreitungsgebiete überschneiden sich. Unter Umständen sind daher, v.a. in älteren Studien, in denen die Bestimmung auf morphologischen Bestimmungsmerkmalen basierte, Verwechslungen der beiden Arten wahrscheinlich. Es ist daher sinnvoll, die Anforderungen von *Cx. pipiens* s.l. und *Cx. torrentium* an die Brutgewässer, soweit wie möglich, differenziert zu betrachten.

1. Gewässertyp: Die Arten des *Cx. pipiens* Komplexes besiedeln ein breites Spektrum künstlicher und natürlicher Wasserkörper. *Cx.p. pipiens* entwickelt sich z.B. in Seen, Teichen, Flüssen oder Sumpfgewässer unterschiedlichster abiotischer Grundbedingungen, nutzt aber auch Regenwasseransammlungen in künstlichen Behältern, Entwässerungsgräben oder stehendes Wasser in Kellern für ihre Entwicklung (Vinogradova, 2000 (Review)). Andere Vertreter des Artkomplexes scheinen bestimmte Gewässertypen zu präferieren. Mohrig (1969) beschrieb z.B. die Art *Cx. torrentium* als „wilde Stechmücke“, die häufiger in natürlichen Gewässern zu finden ist. Dagegen wiesen Studien in Polen und England die Art häufiger in künstlichen als in natürlichen Gewässern nach (Snow

und Medlock, 2008; Weitzel et al., 2015). Die aktuelle Studie untersucht, soweit wie möglich, künstliche und natürliche Gewässer gleichermaßen, um eine ggf. vorhandene Präferenz der Arten für unterschiedliche Gewässertypen in landwirtschaftlicher Umgebung zu erkennen.

2. **Temperatur:** Die Wassertemperatur beeinflusst die Entwicklung der präimaginalen Stechmücken entscheidend. Zahlreiche Studien widmeten sich deshalb in der Vergangenheit der Analyse möglicher Zusammenhänge zwischen der Verbreitung adulter Stechmücken und der Ausprägung und Veränderung meteorologischer Parameter, insbesondere mit Bezug auf den Faktor Temperatur. Die Larven des *Cx.pipiens* Komplexes scheinen sich in einem weiten Temperaturbereich zwischen 10 und 30 °C erfolgreich zu entwickeln (Becker et al., 2010). Allerdings beschrieben Hesson et al. (2014) einen statistisch signifikant negativen Zusammenhang zwischen der Lufttemperatur und dem relativen Anteil von *Cx.torrentium* im Vergleich zu *Culex pipiens* s.l..
3. **Gewässerqualität (bezogen auf die Indikatoren Sauerstoff, TOC, Phosphorgehalt, Stickstoffgehalt und pH-Wert):** Studien, die sich mit der Entwicklung und dem Vorkommen juveniler Stechmücken und den Effekten lokaler Umweltparameter in verschiedenen Bruthabitaten befassen, widersprechen sich zum Teil in den Ergebnissen. So wurde in der historischen Literatur z.B. *Cx. torrentium* wiederholt als Art beschrieben, welche saubere Gewässer mit geringem Stickstoffgehalt bevorzugt, während andere Studien sie in verschmutzten Gewässern mit hohem Anteil an organischem Material nachwiesen (Scherpner, 1960; Mohrig, 1969; Gillies und Gubbins, 1982; Ishii und Sohn, 1987; von Struppe, 1989; Raymond, 1995, Vinogradova 2003). Derzeit wird davon ausgegangen, dass *Cx. torrentium* saubere Gewässer nicht unbedingt verschmutzten vorzieht (Hesson et al., 2014). Für die Art *Cx. p. pipiens* ist bereits bekannt, dass die verfügbare Menge an organischem Material eine wichtige Rolle bei der Wahl des Gewässers für die Eiablage spielt, da sie Hinweise auf die vorhandenen Nahrungsressourcen für die Larven liefert (Becker, 1989). Die Menge an im Wasser gelöstem Sauerstoff liefert hingegen indirekte Hinweise auf die Gewässerqualität (z.B. Fäulnisbildung). Bei *Cx. p. pipiens* beobachtete man wiederholt, dass die Larven in einem relativ weiten pH-Bereich überleben. Nach Scherpner (1960) werden Werte zwischen 5.5 und 8.5 toleriert.
4. **Salinität/Leitfähigkeit:** Die Entwicklungsstadien von *Cx. torrentium* und *Cx. pipiens* s.l. scheinen eine hohe Salinität und Konduktivität sowie starke Schwankungen dieser Faktoren im Brutgewässern zu tolerieren (Scherpner, 1960; Gillies und Gubbins, 1982; Ishii

und Sohn, 1987; von Struppe, 1989; Raymond 1995). Dies spiegelt sich auch darin wider, dass Gewässer mit sehr hohen Konzentration von Ammonium, Nitrat, Nitrit oder Phosphat besiedelt werden können. Dementsprechend wurde z.B. *Cx. p. pipiens* als euryhaline Art eingestuft (Vinogradova, 2000 (Review)).



Abb. 2.3 Stechmückenlarve (Foto: E. Timmermann)

2.3.2 GNITZEN

Generell ist auch bei den *Culicoides*-Arten davon auszugehen, dass abiotische Parameter Einfluss auf das Vorkommen der Entwicklungsstadien nehmen. Vor dem Hintergrund der Blauzungenepidemie stieg die Zahl der wissenschaftlichen Arbeiten, die gezielt das Thema Brutökologie der *Obsoletus*-Gruppe aufgriffen. In den Jahren 2012 und 2013 wurden zu mehreren europäischen Ländern Studien mit landwirtschaftlichem Bezug veröffentlicht: z.B. Spanien, England oder Belgien (González et al., 2013; Harrup et al., 2013; Zimmer et al., 2013, 2014). Der Zusammenhang vieler Umweltparameter mit dem Vorkommen der Arten der *Obsoletus*-Gruppe war jedoch nach wie vor weitgehend unklar. In der vorliegenden Studie wurden daher systematisch abiotische Parameter potenzieller Brutsubstrate auf landwirtschaftlichen Betrieben erfasst, um ggf. bestehende Zusammenhänge mit dem Vorkommen der *Obsoletus*-Gruppe zu analysieren.

1. **Substratfeuchte/Hydrologie:** Während sich die juvenilen Stadien vieler Arten in nassen bis semi-aquatischen Habitaten entwickeln, z.B. *C. circumscriptus* (Mellor und Pitzolis, 1979; Foxi und Delrio, 2010) oder *C. furens* (Bidlingmeyer, 1961), meiden andere nasse Substrate. Dies trifft z.B. auf die Art *C. imicola* zu. Auch für die Arten der *Obsoletus*-Gruppe wird generell angenommen, dass ihre Bruthabitate feucht, aber nicht überstaut sind (Nevill et al., 2007; Foxi und Delrio, 2010). *Culicoides obsoletus* s.s. wurde jedoch früheren Publikationen zufolge in sehr unterschiedlichen, vereinzelt auch semi-aquatischen, Bruthabitaten gefunden, z.B. Kompost, Baumlöcher oder Sumpfland (Kettle und Lawson, 1952, Murray, 1957; Campbell & Pelham-Clinton, 1960; Kremer, 1965). Auch für die Besiedlung terrestrischer Brutplätze spielt die Substratfeuchtigkeit offenbar eine erhebliche Rolle. So sind z.B. in Kuhfladen höhere Individuenzahlen von *C. brevitarsis* mit höherer Substratfeuchtigkeit assoziiert (Bishop et al., 1996).
2. **pH-Wert:** Der Zusammenhang chemisch-physikalischer Faktoren mit dem Vorkommen der präimaginalen Entwicklungsstadien unterscheidet sich offenbar innerhalb der Gattung *Culicoides*. Während einige Studien z.B. einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen der Entwicklungsstadien von *C. melleus* oder *C. impunctatus* und dem pH-Wert bemerkten (Magnon et al., 1990; Blackwell et al., 1999), stellten Schmidtman et al. (2000) dagegen für die Arten des *C. variipennis* Komplexes keinen Einfluss des pH-Werts fest. Eine aktuelle Studie beschreibt einen positiven Zusammenhang zwischen hohen Individuenzahlen und einem neutralen bis alkalischen pH-Wert (Harrup et al., 2013).
3. **Organikgehalt/ C/N-Verhältnis:** In einer Belgischen Studie wurde ein positiver Einfluss von hohen C/N-Verhältnissen des Substrates auf die Abundanz der Entwicklungsstadien von *C. obsoletus* s.s./*C. scoticus* vermutet (Zimmer et al., 2010). Generell, scheinen die nachgewiesenen Bruthabitate vieler *Culicoides*-Arten einen hohen organischen Gehalt aufzuweisen (z.B. Braverman et al., 1974; Blackwell, 2008; Zimmer et al., 2014). Auf Basis von Lichtfängen und Auswertungen von Umweltparametern in der Umgebung postulierten darüber hinaus Scolamacchia et al. (2013) einen positiven Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von *C. dewulfi* und dem Gehalt an organischem Material im Boden, während die Häufigkeit von *C. obsoletus* s.s., *C. scoticus* und *C. chiopterus* von einem hohen Gehalt an organischem Material negativ beeinflusst schien.
4. **Phosphorgehalt:** Nur wenige Studien liefern Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Phosphorgehalt in Brutsubstraten und der Verbreitung von *Culicoides*. Uslu und Dik (2010) wiesen zum Beispiel einen positiven Zusammenhang zwischen Phosphorgehalt und der Häufigkeit von *C. festivipennis* nach, während *C. nubeculosus*

von hohen Phosphorgehalten negativ beeinflusst schien. Da Bruthabitate in landwirtschaftlicher Umgebung, generell hohe Phosphor-Werte erwarten lassen (Daniel et al., 1998), wurde der Einfluss dieses Parameters in die vorliegende Studie untersucht.

3. METHODEN DER FELDSTUDIE

3.1 STANDORTE UND UNTERSUCHUNGSZEITRÄUME

Im Vorfeld der Feldstudie wurden 20 landwirtschaftliche Betriebe mit Rinderhaltung ausgewählt (Abb. 3.1). Die Standorte verteilten sich gleichmäßig über Deutschland und auf die deutschen Naturgroßräume – mit Ausnahme der Alpen. Darüber hinaus wurde auf ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen Betrieben mit ökologischer und konventioneller Bewirtschaftung geachtet sowie auf eine moderate Betriebsgröße (zwischen 70 und 260 Rinder, Milch- und/oder Schlachtvieh). Die Untersuchungen erfolgten im Verlauf von insgesamt vier Kampagnen in den Jahren 2012 und 2013: erste Probenahme im Sommer 2012 (21.8.-14.09.2012) und drei Probenahmen im Jahr 2013 (17.04.-11.05.2013; 03.06.-27.06.2013; 22.07.-15.08.2013). Einer der Betriebe im Alpenvorland (Nr. 21) stand für die Probenahmen in 2013 nicht weiter zur Verfügung und wurde daher durch einen vergleichbaren Betrieb (Nr. 18) in derselben Region ersetzt. Infolgedessen beziehen sich die Daten der vorliegenden Studie auf insgesamt 21 Standorte.

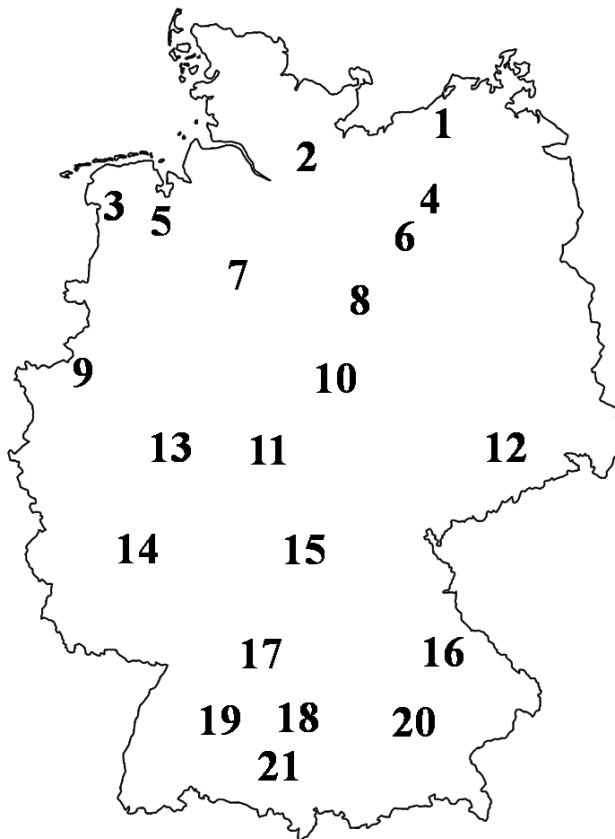


Abb. 3.1 Standorte der Feldstudie: Landwirtschaftliche Betriebe (Grafik aus Steinke et al., 2016)

3.2 STECHMÜCKEN-/GNITZENFALLEN

An jedem Standort kamen drei Fallen des Typs „BG-Sentinel“ (BG-Sentinel Professional Mosquito Trap, Biogents, Regensburg, Abb. 3.2) zum Einsatz. Dabei wurden drei spezifische Lockmittel eingesetzt: i. eine UV-Lampe (12 V) über der Falle als visuelles Lockmittel für *Culicoides* (Lichtfalle), ii. CO₂ (Gasflasche) als olfaktorisches Lockmittel für Stechmücken, iii. Einsatz eines für die invasive Stechmückenart *Ae. albopictus* spezifischen Lockstoffs (Biogents Sweetscent). Die Fallenstandorte auf den Betriebsgeländen wiesen einen Mindestabstand von 50 m zueinander auf, ihre genaue Position wurde mittels GPS festgehalten (Garmin GPS Map 62S, Garching). Die Stromversorgung erfolgte über einen Feststromanschluss. Nach einer ausführlichen Einweisung durch die Mitarbeiter der Universität Oldenburg übernahmen die Landwirte in unserer Abwesenheit die Betreuung der Fallen. Der Fallenbetrieb erfolgte jeweils im Wechsel von 2 x 2 Tagen unter Einsatz von CO₂ und 2 x 5 Tagen ohne CO₂. An allen Standorten zeichneten Datalogger (HOBO Pro v2, Onset, Bourne, MA, USA) während der Probenahmephasen die Lufttemperatur sowie die relative Luftfeuchtigkeit auf.



Abb. 3.2 BG-Sentinel Falle mit UV-Lampe und a CO₂-Versorgung

3.3 BRUTHABITATE CULICIDAE

Tab. 3.1 Im Rahmen der Wasseranalyse untersuchte Parameter zur Charakterisierung der potenziellen Brutgewässer anhand von Messungen im Feld (F) oder im Labor (L)

Parameter	Feld/Labor	Methode/Gerät/Kategorien
Gewässertyp	F	Teich, Graben, Pfütze, Wasseransammlung in Reifen,...
Hydrologie	F	permanent/temporär
Wasserfläche [m ²]	F	Zollstock, Maßband
maximale Wassertiefe [m]	F	Zollstock
pH-Wert	F	pH 3210, WTW, Weilheim
Konduktivität/Salinität [µS/cm bzw. PSU]	F	Cond 3110, WTW, Weilheim
Temperatur [°C]	F	CellOx 325, WTW, Weilheim
Sauerstoffgehalt [mg/L]	F	CellOx 325, WTW, Weilheim
Wasserhärte	F	Wasserhärtest Aquamerck, Merck, Soest
Ammonium (NH ₄ ⁺) [mg/L]	L	DIN 38 406-E5-1
Nitrat (NO ₃) [mg/L]	L	UV-Methode (228nm/218nm)
Nitrit (NO ₂ ⁻) [mg/L]	L	DIN EN 26 777
Gesamt-Stickstoff [mg/L]	L	Aufschluss mit Oxisolv (Merck 1129360030)),
Phosphat (PO ₄ ³⁻) [mg/L]	L	DIN 38405-D11
Gesamt-Phosphor [mg/L]	L	DIN 38405-D11
Eisengehalt (Fe ²⁺) [mg/L]	L	DIN 38406-E1
gesamter organischer Kohlenstoff (TOC) [mg/L]	L	LCK 386, Hach-Lange, Düsseldorf
Chlorid [mg/L]	L	perfectION TM-Chlorid-Kombinationselektrode, Mettler-Toledo, Giesen

An allen Standorten wurden während jeder Probenahmekampagne fünf potenzielle Brutgewässer für Stechmücken untersucht. Die Probenahmen erfolgten in “natürlichen Gewässern”, wie z.B. Teichen, Seen oder Pfützen. Außerdem in „artificialen Gewässern“, wie Wasseransammlungen in Reifen oder Eimern, Viehtränken oder Regentonnen. Gewässer wurden soweit wie

möglich, in Folgeuntersuchungen wiederholt beprobt. Diese Möglichkeit war nicht gegeben, wenn temporäre Gewässer zum Zeitpunkt der Probenahme kein Wasser führten (z.B. Reifen auf Silage).

Vor jeder Probenahme erfolgte eine Charakterisierung der Gewässer anhand verschiedener gewässerstruktureller und physikalischer und chemischer Parameter (Tab. 3.1). Für die weiterführende Wasseranalyse und die Messung verschiedener Parameter im Labor wurden darüber hinaus Wasserproben (0.6 L) eingefroren.

Die Besiedlung der Gewässer durch die Larven und Puppen der Stechmücken wurde bei größeren Gewässern mit Hilfe von drei Kescherproben ermittelt (Kescherrahmen: 25x25 cm, Keschergaze: 500 µm, Netzbeutellänge: 70 cm). Der Inhalt kleinerer Wasserkörper, z.B. stehendes Wasser in Reifen, wurden mit einem kleinen Eimer komplett entnommen und durch ein Sieb gegeben (500 µm). Für die weitere Bearbeitung im Labor wurden die Proben in Ethanol (70%) konserviert.

3.4 BRUTHABITATE *CULICOIDES*

Während jeder Probenahmekampagne wurden auf den landwirtschaftlichen Betrieben jeweils mindestens zehn Emergenzfallen (Abb. 3.3) auf potenziellen Bruthabitate exponiert und für jeweils 14 Tage betrieben. Eine Ausnahme stellte Standort Nr. 7 dar (Abb. 3.1), da dieser Betrieb auf Grund der ganzjährigen Stallhaltung der Milchkühe und der Verwertung aller organischen Materialien durch eine Biogasanlage keine direkt zu untersuchenden Bruthabitate für *Culicoides* aufwies.

Die beprobten Habitattypen umfassten Misthaufen (insgesamt 229 Fallen), Kuhfladen (225 Fallen), Rindenmulchauflage in Blumenbeeten (23 Fallen), Komposthaufen (11 Fallen) und Gewässer (241 Fallen). Hier erfolgte die Exposition der Emergenzfallen in der Regel auf feuchtem Substrat nahe der Wasserlinie, im Uferbereich oder im ausgetrockneten Innenbereich von Gewässern. Folgendem, als „gewässerassoziiert“ bezeichnete Bruthabitate traten im unmittelbaren Hofumfeld auf: Gräben, Teiche, Sumpfland, Pfützen, Schilfkläranlagen, Regenwasserabläufe oder austretende Flüssigkeit aus Silagen, Misthaufen und Güllebecken.

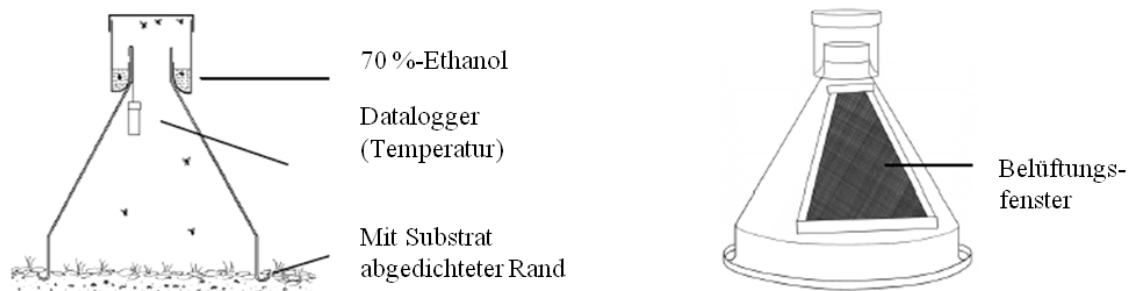


Abb. 3.3 Schematische Zeichnung der Emergenzfallen (Fläche = 0.1 m², Höhe = 32.5 cm), links Innenansicht, rechts Außenansicht. Den Innenraum der Falle verbindet eine Öffnung am oberen Ende mit einem transparenten Sammelbehälter. Unter der Falle geschlüpfte Gnitzen werden in einem Ethanol-Gemisch (70%-Ethanol, Glyzerin, Tensid) im Sammelbehälter konserviert. Zwei mit Gaze (105 µm) bespannte seitliche Öffnungen gewährleisten eine ständige Belüftung. Im Feld sicherten Heringe die Falle am Standort und um den unteren Rand geschichtete Erde dichtete sie gegen Zuflug von außen ab. Pro landwirtschaftlichem Betrieb wurde in einer, mit Datalogger (HOBO Pendant® Temperature/Alarm Data Logger 8K, ONSET) ausgestatteten Falle die Temperaturentwicklung im Falleninneren aufgezeichnet (Zeichnung: M. Stöckmann)

Die Leerung der Fangbehälter erfolgte nach jeweils 14 Tagen und wurde von einer Messung der Substratfeuchte mit einer Feuchtigkeitssonde begleitet (HD2 in Kombination mit TRIME®-PICO 64/32, IMKO, Ettlingen; Einstichsonde). Wenn diese Messung aufgrund zu fester bzw. zu stark verdichteter Substrate nicht durchführbar war, wurden stattdessen – sofern ausreichend Material zur Verfügung stand – drei standardisierte Substratproben genommen (3 x 150 cm³). Die weitere Bearbeitung dieser Substratproben umfasste eine Wägung vor Ort zur Ermittlung des Feuchtgewichtes. Eine 48-stündige Trocknung (105 °C im Trockenschrank) der ins Labor transportierten Proben ermöglichte die Bestimmung des Trockengewichtes. Aus der Differenz von Feucht- und Trockengewicht errechnete sich der Wassergehalt. Eine zusätzlich entnommene Substratprobe diente der Analyse im Labor zur Bestimmung der in Tabelle 3.2 gelisteten Parameter. Die Stellhöhe der auf Misthaufen exponierten Emergenzfallen wurde ebenfalls gemessen. An jedem Fallenstandort erfolgte darüber hinaus die Erfassung der Fallenposition mittels GPS (Garmin GPS Map 62S, Garching, Deutschland).

Tab. 3.2 Untersuchte Parameter zur Charakterisierung der potenziellen Brutsubstrate von *Culicoides* anhand von Messungen im Feld (F) oder Substratproben im Labor (L) (TG = Trockengewicht, FG = Feuchtgewicht, AFTG = aschefreies Trockengewicht, EF = Emergenzfalle)

Parameter	Feld/Labor	Methode/Gerät/Standard
Beschattung	F	nie beschattet, temporär beschattet, immer beschattet
Substratfeuchte	F	HD2 in Kombination mit TRIME® -PICO 64/32, IMKO, Ettlingen
Stellhöhe d. EF über Boden (nur Misthaufen)	F	Zollstock
Wassergehalt	F/L	Differenz TG-FG
Kaliumgehalt	L	nach Hoffmann, 1991
Phosphorgehalt	L	nach Hoffmann, 1991
Substrat-pH	L	Schlichting et al., 1995; pH 3210, WTW, Weilheim
Organikgehalt	L	Differenz TG-AFTG
C/N-Verhältnis	L	Flash 2000, Thermo Fisher Scientific, Braunschweig

3.5 BESTIMMUNG

3.5.1 CULICIDAE

Entwicklungsstadien und Imagines der Stechmücken wurden im Labor aussortiert und mit dem Bestimmungsschlüssel von Becker et al. (2010) morphologisch soweit wie möglich auf Art- oder Komplexniveau bestimmt. Die Determination zweier morphologisch nicht zu differenzierender Art-Komplexe (*Cx. pipiens* Komplex und *An. maculipennis* Komplex) ermöglichte der Einsatz molekularer Techniken (DNA-Typisierung mit Hilfe von quantitativer real-time PCRs nach Rudolf et al. (2013) bzw. Lühken et al. (2016) im Rahmen einer Kooperation mit dem Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin in Hamburg (BNI).

3.5.2 CULICOIDES

Gnizen der Gattung *Culicoides* wurden aus Lichtfallen- und Emergenzfallen-Proben aussortiert und in Ethanol konserviert (70%). Die Bestimmung erfolgte auf Grundlage der Literatur von Campbell und Pelham-Clinton (1960), Delecolle (1985) und Mathieu et al. (2012). Das Material wurde zunächst auf Gruppenniveau bestimmt (Obsoletus-Gruppe, Pulicaris-Gruppe, sonstige *Culicoides*-Arten). Individuen der Obsoletus-Gruppe aus Emergenzfallen wurden darüber hinaus soweit wie möglich morphologisch auf Artniveau bestimmt. Da eine zweifelsfreie

Differenzierung der adulten Weibchen der Arten *C. obsoletus* s.s. und *C. scoticus* anhand morphologischer Merkmale nicht zuverlässig möglich ist (PagesundSarto i Monteys, 2005), bestimmten wir diese Individuen bis auf das Niveau des Art-Komplexes (*C. obsoletus* s.s./*C. scoticus*).

Um die Ergebnisse der morphologischen Artbestimmung der *Obsoletus*-Gruppe zu verifizieren (*C. chiopterus*, *C. dewulfi*, *C. obsoletus* s.s./*C. scoticus*) analysierte die AG Zoologie/Parasitologie (Prof. Schaub) an der Ruhr-Universität Bochum eine Unterprobe von 136 Individuen mit molekularbiologischen Methoden (Singleplex PCR mit artspezifischen Primern, siehe Balczun et al., 2009; Lehmann et al., 2012). Die Kosten für die molekularbiologische Bestimmung übernahm die Universität Oldenburg.

4. ERGEBNISSE DER FELDSTUDIE (ÜBERSICHT)

Die folgenden Kapitel liefern eine zusammenfassende Darstellung der wesentlichen Ergebnisse der Feldstudie. Details und weiterführende Auswertungen der Daten sind in den Kapiteln 5.1 und 5.2 dargestellt.

4.1 CULICIDAE

4.1.1 IMAGINES (BG-SENTINEL)

Mit Hilfe der BG-Sentinel Fallen wurden insgesamt 83.351 adulte Stechmücken gefangen (Tab. 4.1 und 4.2). Insgesamt konnten dabei 11 Stechmückenarten festgestellt werden. Der mit Abstand höchste Anteil (> 99% aller gefangenen Individuen) entfiel dabei auf die gemeine Hausmücke (*Culex pipiens* s.l./*Cx. torrentium*), gefolgt von minimalen Anteilen der Arten *Anopheles maculipennis* s.l. (0.004%) und *Culiseta annulata* (0.003%). Die je Hof gefangenen Stechmücken pro Standort reichten im Mittel aller Fänge je Standort von 12 Individuen bis zu 260 Individuen (Tab. 4.2). Da die Ausbreitung exotischer Stechmückenarten (*Aedes albopictus*, *Ae. japonicus* und *Ae. koreicus*) in Europa und Deutschland in einem starken Fokus stehen, soll hier herausgestellt werden, dass diese drei Arten nicht als Imagines festgestellt werden konnten. Auf zwei landwirtschaftlichen Betrieben wurden jedoch Larven und Puppen von *Ae. japonicus* nachgewiesen (s. Unterkapitel 4.1.2). Der Vergleich der Ergebnisse der vier Fangperioden zeigt einen starken Anstieg der Gesamtindividuenzahl im Jahresverlauf. Die größte Anzahl von adulten Stechmücken in den Fängen trat dabei im Juli/August 2013 auf (Tab. 4.1 und Abb.4.1).

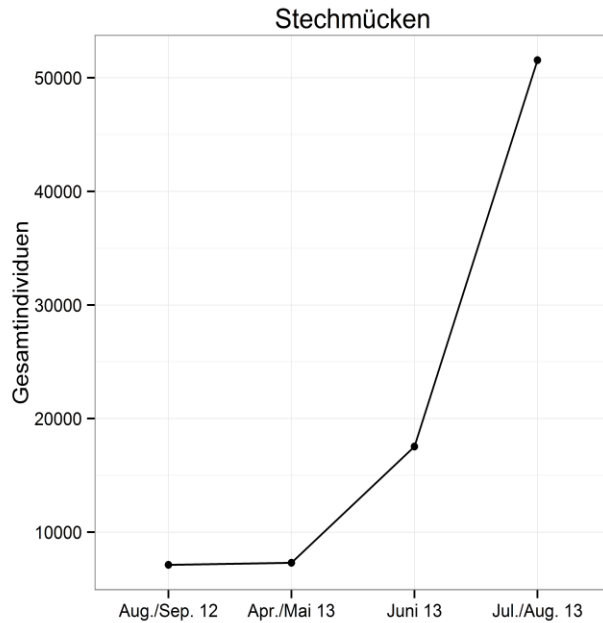


Abb. 4.1 Gesamtanzahl gefangener Stechmücken (Imagines, alle Standorte)

Tab. 4.1 Häufigkeit der gefangenen Stechmückenarten (Imagines) während der vier unterschiedlichen Probenahmen (1 = 21.8.-14.09.2012; 2 = 17.04.-11.05.2013; 3 = 03.06.-27.06.2013; 4 = 22.07.-15.08.2013)

Probenahme	1	2	3	4
<i>Aedes geniculatus</i> (Olivier, 1791)	3	4	6	1
<i>Anopheles plumbeus</i> Stephens, 1882	1	0	4	1
<i>Aedes caspius</i> (Pallas, 1771)	2	3	4	6
<i>Anopheles claviger</i> (Meigen, 1804)	5	9	11	5
<i>Aedes cantans</i> (Meigen, 1818)	0	15	0	16
<i>Aedes cinereus</i> Meigen, 1818	1	2	0	48
<i>Aedes sticticus</i> (Meigen, 1838)	1	1	2	7
<i>Coquillettidia richiardii</i> (Ficalbi, 1889)	2	0	4	36
<i>Aedes vexans</i> (Meigen, 1830)	0	34	20	44
<i>Culiseta annulata</i> (Schrank, 1776)	19	23	50	117
<i>Anopheles maculipennis</i> s.l. van Thiel, 1927	30	23	66	236
<i>Culex pipiens</i> s.l. L., 1758/ <i>Cx. torrentium</i> Martini, 1925	7054	7227	17387	51074
Summe	7118	7307	17534	51547

Tab. 4.2 Häufigkeit der Stechmücken (Imagines), alle Arten zusammengefasst: Standorte im Vergleich

Standort	n	Summe	Mittel	SD
1	47	1668	34,8	44,8
2	48	1979	41,2	88,0
3	44	6350	132,3	251,6
4	18	3609	116,4	366,3
5	40	1555	33,1	58,5
6	48	13407	268,1	416,0
7	35	4293	89,4	134,5
8	44	11188	238,0	624,0
9	46	2333	48,6	79,8
10	46	3073	62,7	98,0
11	42	1274	27,7	42,4
12	46	3737	79,5	128,9
13	47	816	17,4	21,8
14	45	5662	108,9	280,8
15	42	7169	149,4	231,8
16	45	4145	90,1	116,7
17	46	940	20,0	3,7
18	33	4462	127,5	229,5
19	46	2184	47,5	48,8
20	48	3507	73,1	79,6
21	10	144	12,0	13,7

4.1.2 BRUTÖKOLOGIE CULICIDAE (ERGEBNISSE GEWÄSSERUNTERSUCHUNG)

Die Gesamtanzahl der in den Brutgewässern erfassten Stechmücken betrug 149.321 Individuen (Larven/Puppen) (Tab. 4.3). Ähnlich wie bei den Fängen der Imagines mit den BG-Sentinel Fallen handelte es sich bei mehr als 99% der Individuen um *Cx. pipiens* s.l./*Cx. torrentium*. Zusätzlich fanden sich, wie in den Fängen mit den BG-Sentinel Fallen, die Arten *An. maculipennis* s.l. und *Cs. annulata* in deutlich geringeren Zahlen.

Tab. 4.3 Häufigkeit der gefangenen Stechmückenarten (Larven und Puppen)

Art	Summe
<i>Aedes japonicus</i>	298
<i>Aedes cantans</i>	342
<i>Aedes sticticus</i>	344
<i>Aedes vexans</i>	543
<i>Culiseta annulata</i>	612
<i>Anopheles maculipennis</i> s.l.	688
<i>Culex pipiens</i> s.l./ <i>Cx. torrentium</i>	146792
Summe	149023

Tab. 4.4 Häufigkeit der Stechmücken (Larven und Puppen, alle Arten): Standorte im Vergleich

Standort	n	Summe	Mittel	SD
1	13	4769	366,8	404,1
2	12	1057	88,1	67,4
3	10	6191	619,1	913,9
4	8	7222	902,8	1265,8
5	13	5617	432,1	467,3
6	11	9605	873,2	889,0
7	3	9050	3016,7	150,1
8	12	14198	1183,2	2729,9
9	12	1831	152,6	279,1
10	9	8866	985,1	1095,7
11	8	7155	894,4	1083,7
12	11	2703	245,7	348,4
13	10	4390	439,0	929,9
14	12	10673	889,4	447,0
15	11	4410	400,9	720,2
16	11	13972	1270,2	3853,7
17	9	2279	253,2	368,4
18	7	6370	910,0	1680,7
19	8	23546	2943,3	3303,7
20	14	5417	386,9	581,3

Stechmücken konnten in allen untersuchten Gewässertypen nachgewiesen werden, die von artifizellen (z.B. Reifen) bis zu naturnahen Typen (z.B. Gräben und Teiche) reichten (Abb. 4.2). Es gab jedoch keine auffälligen Unterschiede in der Besiedlung dieser Habitate. Dies gilt auch für die Hydrologie (permanent vs. temporär), die keinen nachweisbaren Einfluss auf die Anzahl der Stechmücken hatte.

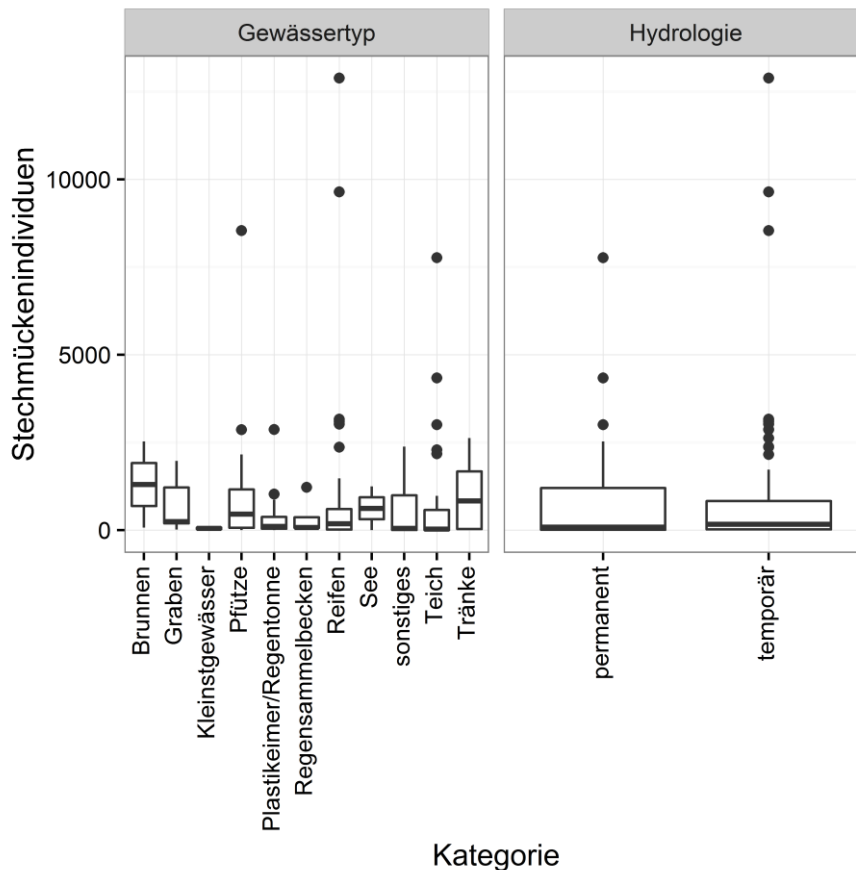


Abb. 4.2 Anzahl der Entwicklungsstadien (Larven/Puppen) von Stechmücken in unterschiedlichen Brutgewässern

Ein Blick auf die erfasste Anzahl aquatischer Entwicklungsstadien von Stechmücken und die aufgenommenen Umweltparameter zeigt, dass keine klaren Muster zu beobachten waren (Abb. 4.2). Stechmücken, hier also die häufigsten Vertreter *Cx. pipiens* s.l./*Cx. torrentium* traten jeweils in breiten Valenzen der jeweils gemessenen Faktoren auf (z.B. Salinitäten von 0 bis über 10).

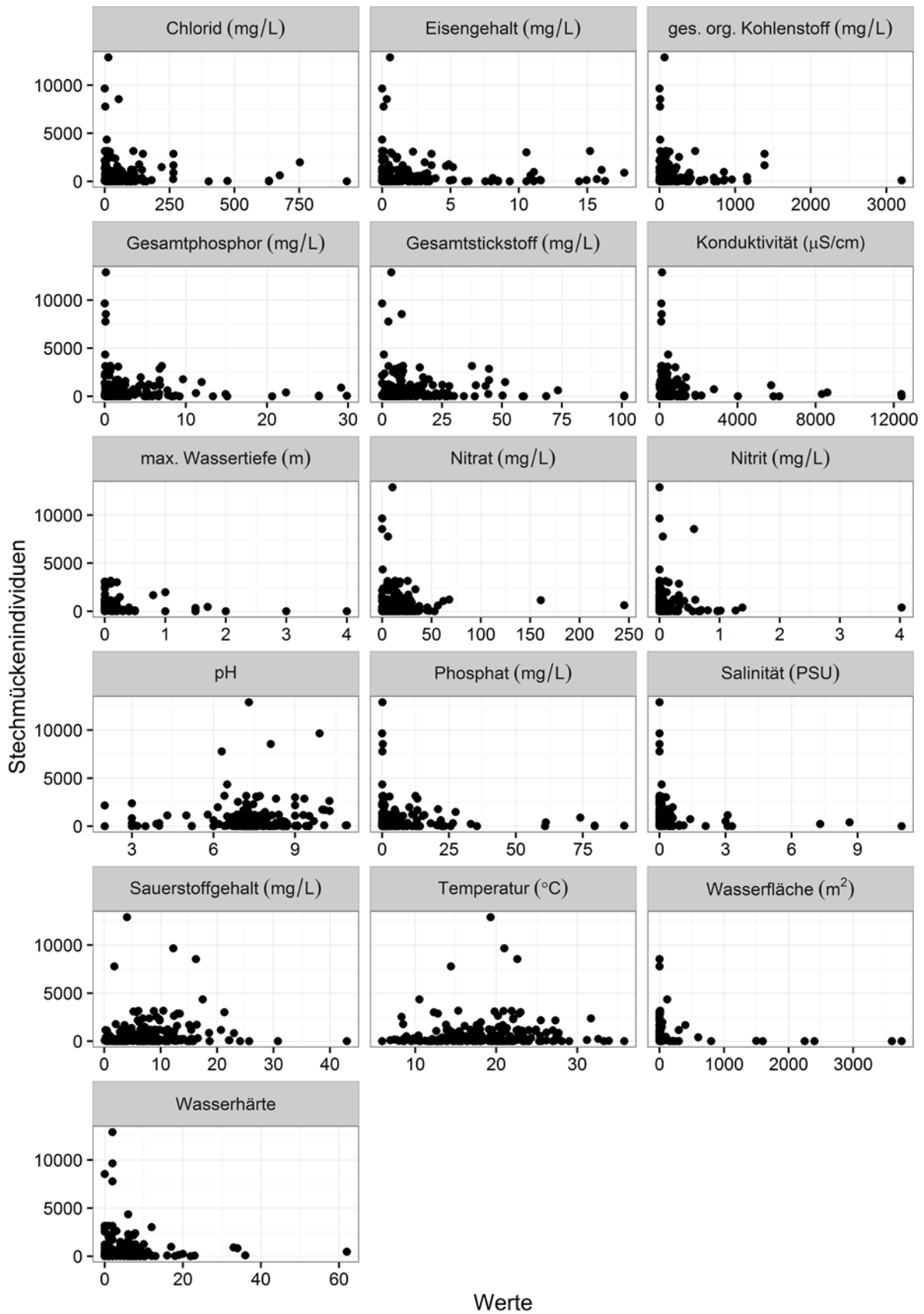


Abb. 4.3 Anzahl der Stechmückenindividuen (Larven/Puppen) in Abhängigkeit der aufgenommenen Wasserparameter (s. Kapitel 5.1.1 für weitere Details zu den Wasserparametern)

Abschließend soll erwähnt werden, dass auf zwei Höfen (Nr. 17 und 18) in Baden-Württemberg die invasive Stechmückenart *Aedes japonicus* (Asiatische Buschmücke) festgestellt werden konnte. Die Höfe liegen im bekannten Verbreitungsgebiet der invasiven Art in Süddeutschland, wo sie erstmals im Jahr 2008 nachgewiesen werden konnte (Schaffner et al., 2009) und sich seitdem bis weit nach Norddeutschland ausgebreitet hat (Huber et al., 2011). Larven und Puppen dieser Art wurden ausschließlich in künstlichen Gewässern festgestellt (Reifen, Regentonnen, etc.), die sich hinsichtlich der aufgenommenen physikalisch-chemischen Parameter nicht von anderen besiedelten Gewässern unterschieden. Die Art kam immer in Assoziation mit Larven und Puppen von *Culex pipiens* s.l./*Cx. torrentium* vor.

4.2 CULICOIDES

4.2.1 IMAGINES (BG-SENTINEL)

An den meisten Standorten wurden die Arten der Obsoletus- und Pulicaris-Gruppe (Tab. 4.5) in z.T. sehr hohen Individuenzahlen gefangen. Die Pulicaris-Gruppe stellte mit 43,5% (52.297 Individuen) der *Culicoides*-Fänge im Vergleich zur Obsoletus-Gruppe 56,5% (67,858 Individuen) den etwas kleineren Anteil dar.

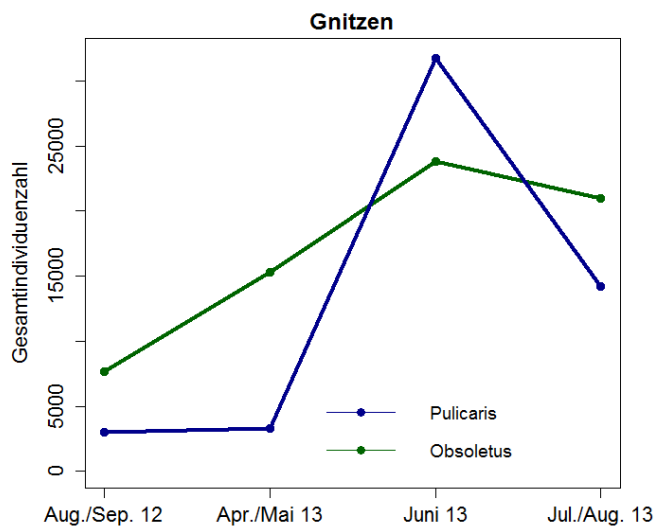


Abb. 4.3 Gesamt-Individuenzahlen der Pulicaris-Gruppe und der Obsoletus-Gruppe im Zeitverlauf (alle Standorte)

Adulte Gnitzen der Obsoletus-Gruppe traten bereits im Frühjahr (April-Mai) 2012 mit hohen Individuendichten in den Fängen auf, während die Arten der Pulicaris-Gruppe erst im Sommer

höhere Fangzahlen aufwiesen (Abb. 4.3). Die höchsten Individuenzahlen beider Gruppen ergaben sich im Juni 2013. Die Fallenstandorte unterschieden sich hinsichtlich der Zahl gefangener Individuen z.T. beträchtlich (Tab. 4.5).

Tab. 4.5 Übersicht der mit BG-Sentinel-Fallen je Standorte erfassten Häufigkeiten der Obsoletus-Gruppe und Pulicaris-Gruppe und sonstiger *Culicoides*-Arten (SD = Standardabweichung); Standorte mit maximalen Mittelwerten = **fett**.

Standort	n	Obsoletus-Gruppe			Pulicaris-Gruppe			sonstige <i>Culicoides</i> -Arten		
		gesamt	Mittel	SD	gesamt	Mittel	SD	gesamt	Mittel	SD
1	47	5	0,1	0,6	178	3,7	7,9	803	17,1	57,0
2	48	190	4,0	13,9	1438	30,0	84,2	1302	27,1	81,0
3	44	2084	47,4	168,5	2520	52,5	117,4	1375	31,3	112,5
4	18	610	33,9	131,5	106	6,6	18,0	135	7,5	22,7
5	40	7218	180,5	546,6	879	22,0	64,3	69	1,7	3,9
6	48	200	4,2	5,6	4340	90,4	188,0	156	3,3	7,5
7	35	1593	45,5	128,5	719	20,5	33,4	280	8,0	11,7
8	44	1582	36,0	134,2	1642	37,3	96,9	877	19,9	56,2
9	46	2392	52,0	93,4	1065	23,2	39,1	370	8,0	11,6
10	46	1244	27,0	51,2	482	10,5	18,9	435	9,5	23,3
11	42	8767	208,7	413,9	4551	108,4	215,7	512	12,2	27,9
12	46	972	21,1	40,7	3623	78,8	223,6	528	11,5	33,9
13	47	10661	226,8	904,6	925	19,7	48,1	583	12,4	44,0
14	45	5638	125,3	342,6	962	21,4	40,0	302	6,7	20,0
15	42	3938	93,8	312,7	13070	311,2	1266,0	967	23,0	67,9
16	45	8610	191,3	505,7	1870	41,6	77,2	395	8,8	21,2
17	46	2714	59,0	180,2	1782	38,7	68,0	408	8,9	16,3
18	33	5673	171,9	383,6	2389	72,4	248,0	606	18,4	69,5
19	46	1365	29,7	72,7	539	11,7	24,0	237	5,2	19,8
20	48	2335	48,6	71,7	9165	190,9	640,3	524	10,9	31,8
21	10	132	13,2	9,4	34	3,4	6,0	0		

4.2.2 BRUTÖKOLOGIE GNITZEN (EMERGENZFALLEN)

Mit dem Ziel genauere Erkenntnisse über die Biologie und Brutökologie der Gnitzen zu bekommen, untersuchten wir in dieser Studie soweit als möglich auf allen Höfen vergleichbare Substrattypen, die für die Entwicklung der Gnitzen in Frage kommen. Der Vergleich der Fangzahlen während der vier Beprobungszeiträume zeigt, dass die meisten Individuen im Frühjahr (April/Mai 2013) schlüpften (Abb. 4.4). Es ist davon auszugehen, dass es sich bei diesen um überwinterte Tiere handelte. Viele Arten der Gattung *Culicoides* überwintern in gemäßigttem Klima im Larvenstadium, dies trifft auch auf die Arten der *Obsoletus*-Gruppe zu (Becker, 1960; Jones, 1967; Szadziwski et al., 1997; Harrup et al., 2013). Während die vorliegenden Daten für die *Pulicaris*-Gruppe ein weiteres Maximum im Spätsommer andeuten (Jul./Aug. 2013), sank die Gesamtindividuenzahl der *Obsoletus*-Gruppe im weiteren Jahresverlauf. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass ein weiteres Schlupfmaximum während des Sommers stattfand, welches in den vorliegenden Daten aufgrund der geringen zeitlichen Auflösung nicht sichtbar wird.

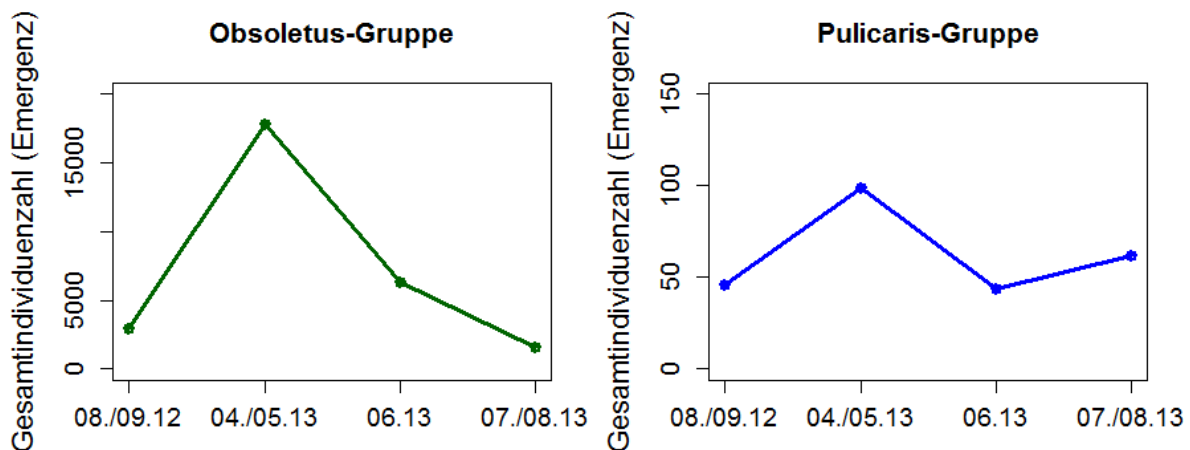


Abb. 4.4 Emergenz (Schlupf) der *Obsoletus*-Gruppe (links) und *Pulicaris*-Gruppe (rechts) im Jahresverlauf

In 48% der Misthaufen-Proben fanden wir Individuen der *Obsoletus*-Gruppe, außerdem trat diese Gruppe in 32% der untersuchten Kuhfladen, in 5% der gewässernahen Substrate, in 9% der Proben aus Beeten mit Rindenmulch und in 45% der Proben aus Komposthaufen auf (Abb. 4.5). Die Arten der *Pulicaris*-Gruppe hingegen wurden vergleichsweise selten und in geringen Individuenzahlen in gewässerassoziierten Substraten gefunden (in 9% aus 241 Proben).

Die höchsten Individuenzahlen der *Obsoletus*-Gruppe fanden wir in Misthaufen-Proben (Mittelwert \pm Standardabweichung: 221 ± 650 Individuen) (Tab. 4.6), wobei die Häufigkeit der Gnitzen zwischen den Misthaufen unterschiedlicher Standorte z.T. erheblich variierte (Tab.

4.7). Insgesamt wurden 24.564 (11.693 Männchen/12.871 Weibchen) Individuen der *Obsoletus*-Gruppe in Proben aus Emergenzfallen auf Misthaufen nachgewiesen. Mit nur wenigen Ausnahmen wurden alle weiblichen Individuen als *C. obsoletus* s.s./*C. scoticus* identifiziert. Die vergleichende Auswertung der bestimmten Arten in diesen Proben zeigte, dass sich in diesem Substrat fast ausschließlich die Art *C. obsoletus* s.s. entwickelte. Zwar können die Weibchen dieser Art morphologisch nicht zweifelsfrei von *C. scoticus* differenziert werden, bei den Männchen aus diesem Substrat handelte es sich allerdings fast ausschließlich um *C. obsoletus* s.s.. Deshalb liegt nahe, dass es sich bei dem Großteil der als *C. obsoletus* s.s./*C. scoticus* identifizierten Weibchen ebenfalls um diese Art handeln muss.

Tab. 4.6 Summe der *Culicoides* (*Obsoletus*-Gruppe) in Emergenzfallen (n = Anzahl der eingesetzten Emergenzfallen; SD = Standardabweichung, n.d. = nicht bestimmbar)

Habitat	Misthaufen	Kuhfladen	Kompost	Rindenmulch	Gewässer
n	229	225	11	23	241
♂ <i>Obsoletus</i> -Gruppe	11693	1671	2	3	526
♀ <i>Obsoletus</i> -Gruppe	12871	1529	7	41	245
♂ <i>C. obsoletus</i> s.s.	11533	28	1	2	455
♂ <i>C. scoticus</i>	2	432	0	0	64
♀ <i>C. obsoletus</i> s.s./ <i>C. scoticus</i>	12852	231	7	41	245
♂ <i>C. chiopterus</i>	13	757	0	0	0
♀ <i>C. chiopterus</i>	9	795	0	0	0
♂ <i>C. dewulfi</i>	9	440	0	0	0
♀ <i>C. dewulfi</i>	0	502	0	0	0
♂ + ♀ n.d.	146	15	1	1	7
Obsoletus-Gruppe					
Mittel ± SD in allen Proben	107,3 ± 465,1	14,2 ± 50,3	0,8 ± 1,3	1,9 ± 6,5	3,2 ± 37,0

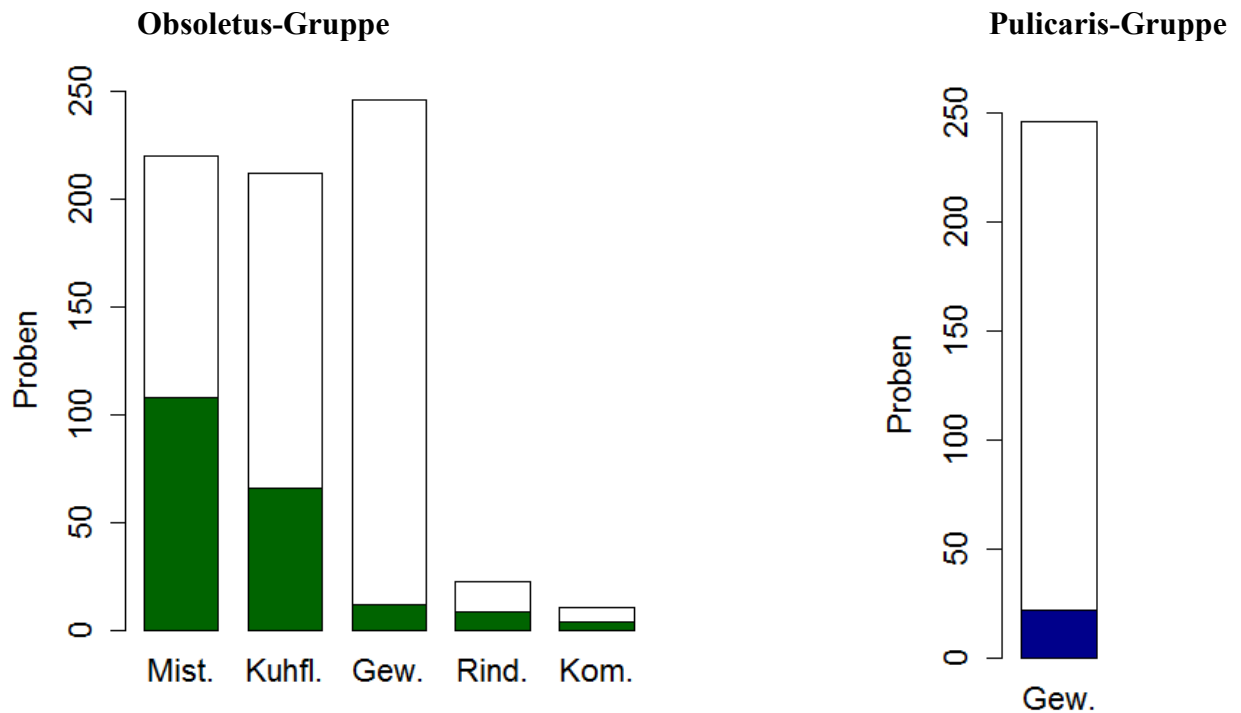


Abb. 4.5 Gesamtanzahl der Proben aus Emergenzfallen auf verschiedenen Substraten und Anteil der positiven Proben (grün und blau) der Obsoletus-Gruppe (links) und der Pulicaris-Gruppe (rechts) (alle Standorte)

Tab. 4.7 Mittlere und gesamte Anzahl der mit Emergenzfallen auf Misthaufen gefangenen *Cu-licoides* (Obsoletus-Gruppe), Standorte im Vergleich (SD = Standardabweichung)

Standort	n	Summe	Mittel	SD	Standort	n	Summe	Mittel	SD
1	10	25	2,5	6,2	12	9	0	0	0
2	12	49	4,1	9,8	13	12	2	0,2	0,4
3	12	2225	185,4	200	14	14	4609	329,2	486,3
4	9	214	23,8	58,1	15	17	755	44,4	104,9
5	13	320	24,6	47	16	18	10417	578,7	1466,4
6 + 7	0	kein Misthaufen			17	3	216	72	123
8	14	2	0,1	0,5	18	6	1653	183,7	345
9	4	7	1,8	2,1	19	16	1808	113	199,7
10	20	81	4,1	9,9	20	17	1641	96,5	270,8
11	18	1104	61,3	187,1	21	4	3	0,75	1,5

In Kuhfladen hingegen entwickelten sich hauptsächlich die beiden Arten *C. chiopterus* (1.552 Individuen, Tab. 4.6) und *C. dewulfi* (942 Individuen). Hier wurden durchschnittlich 43 ± 81

Individuen pro Kuhfladen gefunden. Von *C. obsoletus* s.s. hingegen wurde lediglich eine minimale Zahl an Männchen (28 Individuen) in Kuhfladen nachgewiesen. Mit 432 männlichen Tieren von *C. scoticus* sowie 231 weibliche Individuen von *C. obsoletus* s.s./*C. scoticus* ergab sich in Kuhfladen auch für diese Taxa eine vergleichsweise geringe Dichte. Eine maßgebliche Anzahl der in Kuhfladen gefundenen Individuen von *C. scoticus* und alle *C. obsoletus* s.s. stammten dabei aus einer auffällig geringen Anzahl von Proben (4 Kuhfladen vom selben landwirtschaftlichen Betrieb). Dies erlaubt die Schlussfolgerung, dass Kuhfladen *C. scoticus* und *C. obsoletus* s.s. wahrscheinlich nur ein suboptimales Bruthabitat bieten. Auch in den übrigen Habitattypen, d.h. gewässerassoziierten Substraten, Komposthaufen und Rindenmulch, waren sowohl die Dichten von *C. obsoletus* s.s. als auch die Dichten der Gnitzen pro Probe bzw. pro positiver Proben deutlich niedriger als im Misthaufen.

Tabelle 4.8 fasst die Ergebnisse der Messung physikalischer und chemischer Parameter in Kuhfladen und Misthaufen zusammen. Kapitel 6.2.1 behandelt den potenziellen Einfluss dieser Parameter auf das Vorkommen der Arten der Obsoletus-Gruppe. Generell lässt sich jedoch sagen, dass *C. obsoletus* s.s., *C. dewulfi* und *C. chiopterus* sowohl in Misthaufen als auch in Kuhfladen nahezu die gesamte Spanne der für pH, Phosphor, Substratfeuchte und das C/N-Verhältnis ermittelten Werte zu tolerieren scheinen. Dabei unterschieden sich in diesen beiden Substraten die gemessenen CN-Verhältnisse signifikant (Mann-Whitney Test, $p < 0.001$ (R Core Team, 2014)).

Tab. 4.8 In Misthaufen und Kuhfladen gemessene physikalische und chemische Parameter. Abkürzungen: Minimum (min), Mittelwert \pm Standardabweichung (Mittel, SD), Maximum (max). Ergebnisse aus allen Substratproben (gesamt) im Vergleich mit Ergebnissen aus besiedelten Substraten (positiv). C/N-Werte = **fett** (s. Text)

Habitat	Parameter	Proben	n	Min.	Median	Mittel	SD	Max.
Misthaufen	pH	gesamt	219	5,3	7,9	7,9	0,9	9,9
		positiv	110	5,4	7,8	7,7	0,9	9,8
	Kaliumgehalt (mg 100 g ⁻¹)	gesamt	216	0,1	24,8	284,6	36,0	503,4
		positiv	110	0,1	19,7	22,5	13,2	56,9
	Phosphorgehalt (g kg ⁻¹)	gesamt	216	0,1	3,5	3,8	2,2	18,5
		positiv	110	0,1	3,3	3,7	2,5	18,5
	C/N-Verhältnis	gesamt	216	7,6	12,1	13,2	4,0	40,0
		positiv	110	8,7	12,1	13,0	4,2	40,0
Feuchtigkeit (%)	gesamt	177	0,0	37,5	34,7	16,0	100	
	positiv	88	0,0	39,2	35,7	16,8	100	
Kuhfladen	pH	gesamt	221	5,3	7,3	7,2	0,5	8,4
		positiv	73	5,3	6,8	7,0	0,6	8,2
	Kaliumgehalt (mg 100 g ⁻¹)	gesamt	221	0,2	5,6	6,7	4,1	27,8
		positiv	73	0,2	5,7	5,4	4,0	17,3
	Phosphorgehalt (g kg ⁻¹)	gesamt	221	0,2	4,2	4,2	2,4	13,1
		positiv	73	0,2	4,5	4,2	2,4	10,7
	C/N-Verhältnis	gesamt	220	11,1	15,0	15,4	2,5	23,1
		positiv	72	11,3	15,5	15,7	2,5	23,1
Wassergehalt (%)	gesamt	155	6,9	48,3	45,1	20,0	85,8	
	positiv	51	11,7	45,4	45,7	1,1	85,8	

5. WEITERFÜHRENDE AUSWERTUNG

5.1 CULICIDAE

5.1.1 EINFLUSS BIOTISCHER UND ABIOTISCHER STANDORTFAKTOREN AUF DAS VORKOMMEN VON *CULEX PIFIENS* SENSU LATO UND *CULEX TORRENTIUM* (CLASSIFICATION TREES)

Die Arten *Cx. pipiens* s.l. und *Cx. torrentium* sind die am weitesten verbreiteten Stechmückenarten in Deutschland und gleichzeitig wichtige Vektoren für unterschiedliche Pathogene. Dabei wird im Allgemeinen angenommen, dass die beiden ornithophilen Arten insbesondere guten Vektoren für Viren sind. Dies gilt wahrscheinlich sowohl für den enzootischen Zyklus zwischen Stechmücken und Vögeln als auch für den Übertrag vom Mensch zum Tier (Brückenvektoren). In der Auswertung wurde versucht, einen statistischen Zusammenhang zwischen verschiedenen Gewässerparameter (z.B. pH-Wert, Leitfähigkeit, etc.) und dem Vorhandensein bzw. Fehlen der beiden Arten zu finden. Dafür wurden die Stechmücken aus 90 Gewässern bestimmt. Die Larvenstadien der beiden Arten sind morphologisch nicht zu differenzieren. Daher wurden die beiden Arten in Kooperation mit dem Bernhard Nocht Institut in Hamburg mit Hilfe molekularbiologischer Methoden (quantitative real-time PCR nach Rudolph et al., 2013) bis aufs Artniveau bestimmt. Obwohl in der statistischen Analyse mit dem Statistikprogramm R (*R Core Team, version 3.1.2, 2014; classification trees* aus dem R-Paket *weka*) eine sehr große Anzahl von Wasserparametern integriert wurde (insgesamt 25), ergab diese Auswertung keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den o.g. Parametern und dem Vorhandensein einer der beiden Arten. Dies könnte z.B. dadurch erklärt werden, dass die entscheidenden Parameter, die das Vorkommen der beiden Stechmückenarten beeinflussen, nicht in diese Studie integriert wurden (z.B. Nahrungsverfügbarkeit, Konkurrenten oder Räuber). Eine weitere mögliche und angesichts der hohen Anzahl der betrachteten Umweltparameter wahrscheinlichere Möglichkeit ist, dass die beiden Arten einen hohen Toleranzbereich für viele Umweltparameter aufweisen und sich hinsichtlich ihrer Brutplätze nicht unterscheiden. Die Ergebnisse dieser Studie legen den Schluss nahe, dass die hier analysierten Informationen über die Brutplätze keinen Informationsgewinn für die Verbreitungsmodellierung der Arten *Cx. pipiens* s.l. und *Cx. torrentium* in landwirtschaftlichen Betrieben bieten.

5.1.2 VERBREITUNG DER ARTEN DES *ANOPHELES MACULIPENNIS* KOMPLEXES IN DEUTSCHLAND (RANDOM FOREST MODELL)

Aufgrund ihrer Rolle als Malariaüberträger, beschäftigte sich ein wesentlicher Teil der historischen Stechmückenforschung in Deutschland mit den Arten des *Anopheles maculipennis* Komplexes (e.g. Martini et al., 1931; Weyer, 1938; Weyer, 1941). Mit dem Verschwinden der Malaria Mitte des 20. Jahrhunderts kam dieser Forschungszweig in Deutschland jedoch weitestgehend zum Erliegen. Auch wenn im Allgemeinen nicht mit Malariaepidemien in Deutschland gerechnet wird (Maier, 2003), sind die Arten dieses Artkomplexes beachtenswert. Vermutlich sind sie Vektoren von Pathogenen die aktuell in Europa zirkulierend. Dazu zählen sowohl Ťahyňa Virus (Aspöck et al., 1970), West Nile Virus (Filipe, 1972), Sindbis Virus und Batai Virus (Jöst et al., 2010, 2011), als auch die zwei Filarien *D. immitis* und *D. repens* (Cancrini et al., 1997, 2006; Czajka et al., 2014). In Deutschland sind vier Arten des *An. maculipennis* Komplexes bekannt: *An. atroparvus*, die erst 2004 erstmals beschriebene Art *An. daciae*, *An. maculipennis* s.s. und *An. messeae* s.s. (Weyer, 1938; Kronefeld et al., 2012; Weitzel et al., 2012). Für alle Individuen des *An. maculipennis* Komplexes, die im Rahmen der Feldstudie gefangen oder vom BNI zur Verfügung gestellt wurden, erfolgte mit Hilfe neu entwickelte qPCRs eine Bestimmung bis auf Artniveau. Dabei kamen unterschiedliche qPCRS für Individuenpools bis zu 25 Individuen (90 Pools, insgesamt 723 Individuen) und Einzelindividuen (insgesamt 722 Individuen) zum Einsatz. Diese Daten wurden mit Verbreitungsdaten aus der Literatur ergänzt und für Verbreitungsmodellierungen anhand von Klima- (BioClim, <http://www.worldclim.org/bioclim>) und Landschaftsdaten (Corine-landcover, <http://www.eea.europa.eu/>) sowie mit Hilfe der random forest-Methode durchgeführt (*R Core Team, version 3.1.2*, 2014; R-Paket randomForest). Eine ausführlichere Darstellung dieser Auswertung und der Auswahl der verwendeten statistischen Modelle liefert die entsprechenden Publikation (Lühken et al., 2015). *Anopheles daciae*/*An. messeae* s.s. waren in 98,89% aller analysierter Pools vertreten: *An. daciae* mit 6.93% aller Einzelindividuen und *An. messeae* mit 69.53% aller Einzelindividuen. Die Prävalenz der anderen beiden Arten war dagegen vergleichsweise gering: *An. maculipennis* s.s. mit 13.30% aller Einzelindividuen (6.67% aller Pools) und *An. atroparvus* mit 1.80% aller Einzelindividuen (1.11% aller Pools).

Die statistischen Analysen zeigten, dass die Art *An. atroparvus*, welche historisch in Deutschland eine weite Verbreitung aufwies, aktuell offenbar nur noch sehr vereinzelt auftritt (Abb. 5.1). Diese Veränderung wurde auch in anderen Studien beobachtet (z.B. in den Niederlanden, Takken et al., 2002a, 2002b). Die 2004 erstmals beschriebene Art *An. daciae* hingegen, die in zwei Studien unabhängig voneinander im Jahr 2012 erstmals in Deutschland festgestellt wurde

(Kronefeld et al., 2012; Weitzel et al., 2012), ist hierzulande weit verbreitet, zeigte jedoch einen Schwerpunkt im Nord-Osten/Süd-Westen (Abb. 5.1).

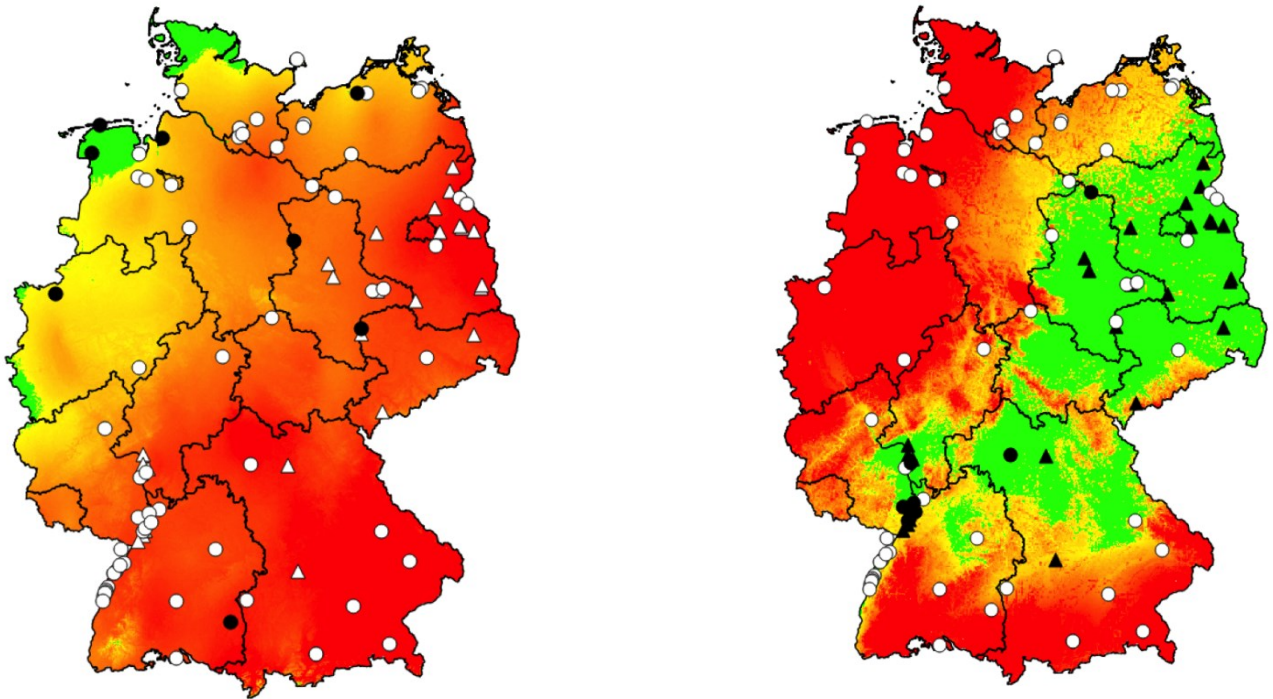


Abb. 5.1 Verbreitung von *Anopheles atroparvus* (links) und *An. daciae* (rechts) in Deutschland. Verbreitungsdaten: Punkte = Daten aus der aktuellen Studie, Dreiecke = Daten aus anderen Studien; schwarz = Präsenz, weiß = Absenz. Vorhersage der Artverbreitung: Die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens der Art steigt von rot über orange zu gelb, in grün markierten Gebieten sagt das Modell vorher, dass die Art auf jeden Fall vorkommt (aus Lühken et al., 2016)

5.2 *CULICOIDES*

5.2.1 EINFLUSS BIOTISCHER UND ABIOTISCHER STANDORTFAKTOREN AUF DAS VORKOMMEN DER *OBSOLETUS*-GRUPPE IN BRUTHABITATEN (LINEARE GEMISCHTE MODELLE UND BINOMINAL VERTEILTE GENERALISIERTE GEMISCHTE MODELLE)

Diese Teilstudie zielte darauf ab, Umweltparameter zu identifizieren, die Einfluss auf das Vorkommen der Arten der *Obsoletus*-Gruppe in potenziellen Bruthabitaten nehmen. Zu diesem Zweck wurde, mit Hilfe einer Regressionsanalyse, nach Zusammenhängen zwischen den gemessenen physikalischen und chemischen Parametern (siehe Kapitel 4.2.2) und der Präsenz/Absenz bzw. Abundanz dieser Arten in den entsprechenden Substraten gesucht. Eine ausführlichere Darstellung dieser Auswertung und der Auswahl der verwendeten statistischen Modelle liefert die entsprechende Publikation (Steinke et al., 2016).

Die Auswertung wurde mit dem Statistik-Programm R (R Core Team, version 3.1.2, 2014) vorgenommen und basiert auf einer Kombination zweier unterschiedlicher Modelltypen: Im ersten Schritt fand eine Auswertung der Häufigkeit bestimmter Arten der Gattung *Culicoides* in positiven Emergenzfallenproben mittels eines linearen gemischten Modell (Funktion *lme*, package "nlme", version 3.1-120, Pinheiro et al., 2015) statt. Für den zweiten Schritt bedurfte es einer Transformation der Ergebnisse in Präsenz-Absenz-Daten, um die Auswertung mit einem binominal verteilten, generalisierten, gemischten Modell (Funktion *glmer*, package "lme4", version 1.1-7, Bates et al., 2014) zu ermöglichen. Diese Art der Auswertung berücksichtigte die Beschaffenheit der vorliegenden Häufigkeitsdaten, d.h. den hohen Anteil an Null-Zählungen, die z.T. hohen positiven Häufigkeitsdaten (Daten $\neq 0$) und die Überdispersion. Die Herangehensweise gestattete darüber hinaus die gleichzeitige Auswertung der Daten aller vier Probenahmezeiträume. Hierzu wurde der Zeitraum als sog. "zufälliger Effekt" (random effect) in die Regressionsanalyse implementiert, um saisonale Schwankungen zu berücksichtigen. Längen- und Breitengrade der Standorte ergänzten die in Tabelle 5.1 aufgeführten Parameter um einen potenziellen Einfluss der geographischen Lage der Bauernhöfe berücksichtigen. Die Ergebnisse sind der Vollständigkeit halber mit aufgeführt. Aufgrund der geringen Anzahl der Standorte bot sich jedoch keine Möglichkeit, gezielte Aussagen über Abundanzunterschiede in Abhängigkeit dieser Parameter zu gewinnen. Der Kaliumgehalt in den Brutsubstraten wurde aufgrund der Korrelation mit dem pH-Wert nicht integriert. Die Analyse erfolgte separat für jene drei Arten, die in der vorliegenden Studie am häufigsten auftraten: *C. obsoletus* s.s. (Misthaufen), *C. chiopterus* (Kuhfladen) und *C. dewulfi* (Kuhfladen).

Tab. 5.1 Variablen der Regressionanalyse zur Auswertung der Emergenz von *C. obsoletus* s.s. aus Misthaufen und *C. dewulfi* und *C. chiopterus* aus Kuhfladen

	Misthaufen	Kuhfladen
Art	<i>C. obsoletus</i> s.s.	<i>C. chiopterus</i> / <i>C. dewulfi</i>
fixed effects	Substrat-pH	Substrat-pH
	Phosphor (g*kg ⁻¹)	Phosphor (g*kg ⁻¹)
	C/N-Verhältnis	C/N-Verhältnis
	Organikgehalt (%)	Organikgehalt (%)
	Schatten (3-level factor)	Schatten (3-level factor)
	Breitengrad	Breitengrad
	Längengrad	Längengrad
		Wassergehalt (%)
	Feuchtigkeit (%)	
	Fallenhöhe (m)	
random effect	Probenahmezeitraum (4-level factor)	Probenahmezeitraum (4-level factor)

5.2.2 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Für den Großteil der abiotischen Parameter, die in den Kuhfladen und Misthaufen gemessen wurden, wiesen *C. chiopterus*, *C. dewulfi* und *C. obsoletus* s.s. einen breiten Toleranzbereich auf (pH-Wert, Phosphorkonzentration, Gehalt an organischem Material oder C/N-Verhältnis). Für einige Parameter konnten jedoch statistisch signifikante Zusammenhänge nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der Regressionsanalyse fasst Tabelle 5.2 zusammen. Höhere Individuendichten von *C. obsoletus* s.s. korrelierten demzufolge mit einem niedrigen **pH-Wert**. Bei niedrigen pH-Werten war auch die Wahrscheinlichkeit für das Vorkommen dieser Art höher. Mit sinkendem pH-Wert stiegen auch die Individuenzahlen von *C. chiopterus* sowie die Wahrscheinlichkeit für die Präsenz von *C. dewulfi* in Kuhfladen. Damit war der pH-Wert der einzige gemessene Parameter mit statistisch signifikantem Einfluss auf das Vorkommen aller drei Arten. In einer Studie aus England wurde ebenfalls ein Zusammenhang zwischen dem pH-Wert im Misthaufen und dem Vorkommen von *C. obsoletus* s.s. nachgewiesen (Harrup et al., 2013). Hier war diese Art mit leicht basischen bis neutralen pH-Werten assoziiert, wobei der gemessene pH-Bereich im Vergleich zu den hier vorliegenden Ergebnissen wesentlich kleiner war (Tab. 4.8). Für andere Arten wurden positive (z.B. *C. impunctatus*; Blackwell et al., 1999)

ebenso wie negative Zusammenhänge (z.B. *C. nubeculosus* (Meigen); Uslu und Dik, 2010) zwischen der Abundanz juveniler Stadien und dem Boden-pH gezeigt.

Tab. 5.2 Regressionskoeffizienten (RK), Standardfehler (SE) und *p*-Werte für die in den *lme*- (positive Häufigkeitsdaten) und *glmer*-Modellen (Präsenz vs. Absenz) verbliebenen Variablen (fixed effects) sowie die Standardabweichung der zufälligen Variable "Zeitraum" (random effect), die Anzahl der Beobachtungen (n), Akaiikes information criterion (AIC) und Determinationskoeffizienten (R^2), (EF = Emergenzfalle)

Antwortvariable/ Koeffizienten	RK	SE	SD	<i>p</i> -Wert	n	AIC	R^2
Emergenz <i>C. obsoletus</i> s.s. (Misthaufen): Häufigkeit					105	446,3	0,27
pH (fixed effect)	-0,94	0,21		< 0,001			
Moisture (fixed effect)	0,04	0,01		< 0,01			
Zeitraum (random effect)			0,51				
Emergenz <i>C. obsoletus</i> s.s. (Misthaufen): Präsenz vs. Absenz					210	239,8	0,43
pH (fixed effect)	-0,69	0,21		< 0,001			
Stellhöhe d. EF (fixed effect)	-1,36	0,22		< 0,001			
Längengrad (fixed effect)	-0,26	0,1		< 0,01			
Breitengrad (fixed effect)	-0,22	0,09		< 0,05			
Zeitraum (random effect)			0				
Emergenz <i>C. chiopterus</i> (Kuhfladen): Häufigkeit					50	171,9	0,34
pH (fixed effect)	-1,36	0,30		< 0,001			
Zeitraum (random effect)			0,0004				
Emergenz <i>C. chiopterus</i> (Kuhfladen): Präsenz vs. Absenz					192	210,6	0,14
Längengrad (fixed effect)	-0,36	0,10		< 0,001			
Zeitraum (random effect)			0,20				
Emergenz <i>C. dewulfi</i> (Kuhfladen): Häufigkeit					27	102,6	0,22
C/N-Verhältnis (fixed effect)	0,29	0,10		< 0,05			
Zeitraum (random effect)			0,0004				
Emergenz <i>C. dewulfi</i> (Kuhfladen): Präsenz vs. Absenz					193	149,9	0,18
pH (fixed effect)	-0,88	0,40		< 0,01			
Längengrad (fixed effect)	-0,34	0,13		< 0,05			
Zeitraum (random effect)			0				

Es ergaben sich keine nachweisbaren Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen oder der Häufigkeit der drei Arten und dem **Gehalt an organischem Material** oder dem **Phosphorgeh-**

alt. Beide Resultate könnten damit zusammenhängen, dass die vorliegende Studie ausschließlich auf landwirtschaftlichen Betrieben durchgeführt wurde. Bruthabitate vieler *Culicoides*-Arten sind reich an organischem Material (z.B. Braverman et al., 1974; Blackwell, 2008; Zimmer et al., 2014). Dies trifft auch auf Tierdung zu (Tab. 4.8). In Misthaufen und Kuhfladen ist der Gehalt an organischem Material daher wohlmöglich kein limitierender Faktor. Als ein Indikator für die organische Belastung sind auch hohe Phosphorwerte im landwirtschaftlichen Umfeld nicht ungewöhnlich (Daniel et al., 1998). Es ist daher nicht überraschend, dass das Vorkommen der Arten der *Obsoletus*-Gruppe, die sich häufig in Habitaten entwickeln, welche mit Viehbestand assoziiert sind, von hohen Phosphorkonzentrationen nicht merklich beeinflusst wird. Alle drei Arten, *C. obsoletus* s.s., *C. chiopterus* und *C. dewulfi*, wiesen bezüglich des Phosphorgehalts einen breiten Toleranzbereich auf (Tab. 4.8).

Individuenzahlen von *C. dewulfi* in Kuhfladen waren mit einem steigenden **C/N-Verhältnis** korreliert. Nur wenige Studien untersuchten bisher den Einfluss des C/N-Verhältnisses auf das Vorkommen von *Culicoides* in Bruthabitaten. Jedoch deutete sich für *C. obsoletus* s.s. in Stallmist ein Zusammenhang zwischen einem höheren C/N-Verhältnis und höheren Abundanzen an (Zimmer et al., 2010). Wie von den Autoren der Studie diskutiert, ließe sich dieser Zusammenhang dadurch erklären, dass ein C/N-Verhältnis zwischen 15 und 30 mikrobielles Wachstum begünstigt und somit auf ein gutes Nahrungsangebot für *Culicoides*-Larven hindeutet. Über die konkreten Nahrungsquellen der Arten der *Obsoletus*-Gruppe weiß man jedoch kaum etwas.

Den Ergebnissen der Regressionsanalyse zufolge waren höhere Individuenzahlen von *C. obsoletus* s.s. auch mit hoher **Substratfeuchtigkeit** korreliert. Ein ähnlicher Zusammenhang für die Häufigkeit dieser Art in Misthaufen wurde in einer Studie aus England berichtet (Harrup et al., 2013).

In der hier präsentierten Studie gab es hingegen keine Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem ermittelten **Wassergehalt** in Kuhfladen und dem Vorkommen von *C. chiopterus* und *C. dewulfi*. Es ist dabei zu berücksichtigen, dass die ermittelten Werte sich jeweils auf ganze Kuhfladen beziehen. Da keine Feuchtigkeitsunterschiede innerhalb dieses Habitat-Typs erhoben werden konnten, lässt sich nicht ausschließen, dass die beiden Arten innerhalb der jeweiligen Kuhfladen Positionen mit höherer Feuchtigkeit präferieren. Zum Beispiel waren die Larven der australischen Art *C. brevitarsis* innerhalb eines Kuhfladens mit höherer Substratfeuchtigkeit assoziiert (Bishop et al., 1996).

Neben der Substratfeuchtigkeit und dem pH-Wert schien das Vorkommen von *C. obsoletus* s.s. auch von der **Höhe** des Misthaufens beeinflusst zu sein. Der Regressionsanalyse zufolge sank die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von *C. obsoletus* s.s. mit zunehmender Stellhöhe der

Emergenzfallen auf dem Misthaufen. Die höchsten Individuenzahlen wurden in einer Höhe zwischen 0 und 1.5 Metern gemessen. Eine Präferenz für bodennahe Bereiche des Misthaufens zeigte auch eine frühere Studie (Lühken et al., 2014). Möglicherweise spiegeln diese Ergebnisse eine Präferenz der adulten Weibchen für die Eiablage in niedriger Höhe wider. *Culicoides obsoletus* s.s. fliegt bevorzugt in Bodennähe (Kettle, 1962). Möglicherweise sind die Bedingungen in höheren Misthaufenlagen für die Entwicklung der juvenilen Stadien ungünstig. Vorausgesetzt das frischer Dung von den Landwirten regelmäßig oben auf dem Misthaufen hinzugefügt wird, wäre z.B. auch ein Zusammenhang zum Alter (Grad der Kompostierung/Rotte) des Mists vorstellbar.

5.2.2 EINFLUSS BIOTISCHER UND ABIOTISCHER STANDORTFAKTOREN AUF DAS VORKOMMEN DER OBSOLETUS-GRUPPE IN BRUTHABITATEN (RANDOM FOREST MODELL)

Ein weiteres Ziel dieses Projektes war die Identifikation von Umweltparametern, die am besten zur Verbreitungsmodellierung von Gnitzen geeignet sind. Diese Variablen können von unterschiedlichen Skalen gewählt werden: z.B. lokale Brutplatzfaktoren (pH-Wert oder C/N-Verhältnis) oder großskalige Landschaftsnutzung in unterschiedlichen Entfernungen zu den Brutplätzen. Die Wahl der jeweiligen Skala wird in den meisten Studien in der Regel nicht erklärt (z.B. Purse et al., 2011) und ist in den meisten Fällen wahrscheinlich im Wesentlichen durch die Datenverfügbarkeit begründet. Unterschiedlichen Studien konnten jedoch zeigen, dass die Wahl der Skala der erklärenden Variablen einen signifikanten Einfluss auf die Vorhersagequalität von Verbreitungsmodellen haben können (Bradter et al., 2013). Die erhobenen Brutplatzinformationen in diesem Projekt in Kombination mit Landnutzungs- und Klimaparametern wurden genutzt, um herauszufinden, welche Variablen am besten geeignet sind die Verbreitung der drei Gnitzenarten *C. chiopterus*, *C. dewulfi* und *C. obsoletus* s.s. in Deutschland vorherzusagen.

Dazu wurde dieselbe random forest-Modelle angewandt (*R Core Team, version 3.1.2, 2014*; R-Paket randomForest), die auch bei der Analyse der Verbreitung der unterschiedlichen Vertretern des *An. maculipennis* Komplexes zum Einsatz kamen (Kapitel 5.1.2). Eine ausführlichere Darstellung der statistischen Methodik liefert die entsprechende Publikation (Lühken et al., 2016). Zur Vorhersage der Verbreitung der *Culicoides*-Arten *C. chiopterus*, *C. dewulfi* und *C. obsoletus* s.s. kamen drei unterschiedliche Datensätze von Umweltparametern zum Einsatz: Brutplatzparameter (s. Kapitel 5.2.1 für mehr Informationen), Klimaparameter (BioClim, s.

Lühken et al., (2016) für mehr Informationen) und Landnutzungsparameter (Corine, s. Lühken et al., (2016) für mehr Informationen). Die Klima- und Landnutzungsparameter wurden jeweils in Umkreisen von acht unterschiedlichen Skalen (0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 7,5 und 10 km) um alle untersuchten Brutplatz extrahiert. Die Umweltparameter von jeder Skala wurden jeweils in Kombination mit den Brutplatzparametern zur Berechnung der Vorkommenswahrscheinlichkeit der drei Arten eingesetzt. Abschließend wurde noch ein multiskaliges Modell etabliert, in dem alle Umweltparameter zusammen eingesetzt wurden (Brutplatzparameter plus alle Klima- und Landnutzungsparameter von allen Skalen).

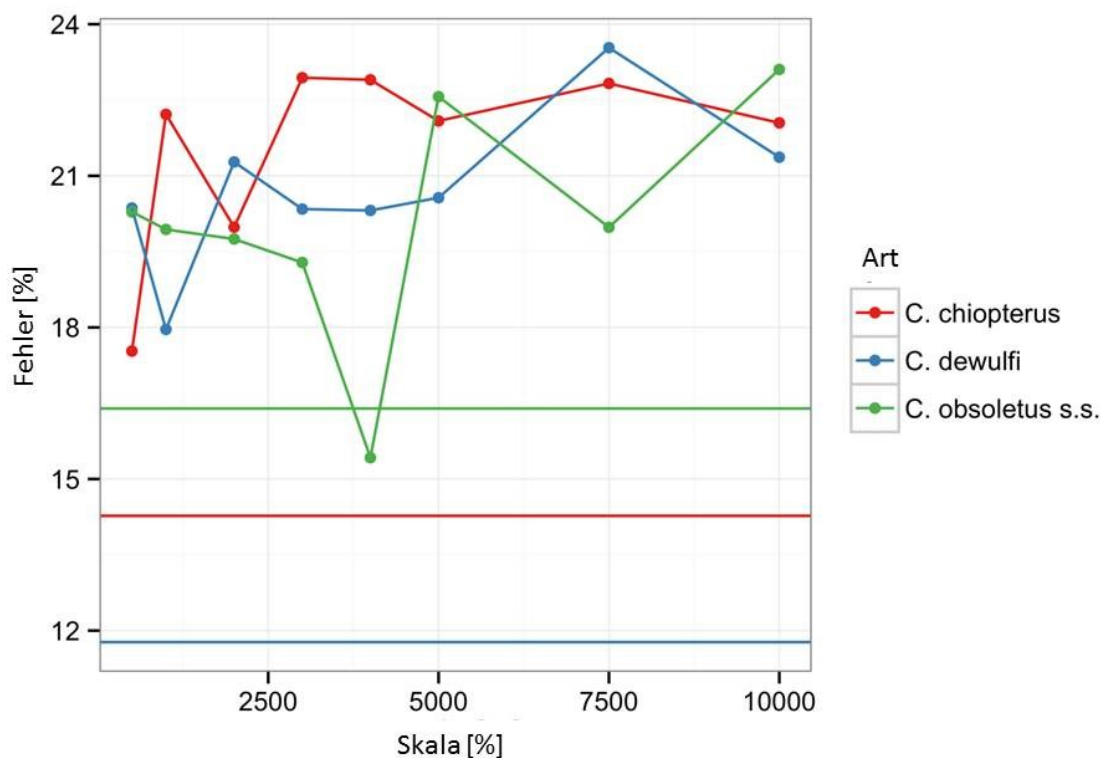


Abb. 5.2 Vorhersagequalität der einzelnen Modelle. Die Punkte auf den gezackten Linien repräsentieren jeweils die einzelnen Modelle mit Umweltparametern der jeweiligen Skala und horizontalen Linien die multiskaligen Modelle mit Umweltparametern von allen Skalen

Bei einer Betrachtung der Vorhersagequalität der unterschiedlichen Modelle zeigte sich deutlich, dass die multiskaligen Modelle für alle drei hier untersuchten Gnitzenarten die beste Vorhersagequalität (= geringsten Vorhersagefehler) hatten (Abb. 5.2). Modelle in denen jeweils nur die Klima- und Landschaftsparameter einer Skala zum Einsatz kamen, hatten relativ ähnlich Vorhersagequalitäten, wobei sich vielleicht ein leichter Trend hinsichtlich eines steigenden Fehlers mit steigender Skala beobachten lässt. Dies spricht wahrscheinlich dafür, dass lokale Faktoren besser geeignet sind, um das Vorhandensein bzw. Fehlen der Arten vorherzusagen.

Die Bedeutung lokaler Faktoren spiegelt sich auch in den Ergebnissen zu verschiedenen Umweltvariablen wieder, die in den Analysen die beste Vorhersagequalität zeigten und hier beispielhaft für die multiskaligen Modelle dargestellt werden (Abb. 5.2 und 5.3). Hier traten lokale Brutplatzparameter (Phosphor, Stickstoff, Kalium, C/N-Verhältnis und Kohlenstoff) häufiger als Landnutzungsparameter auf, während Klimaparameter gar nicht vertreten waren.

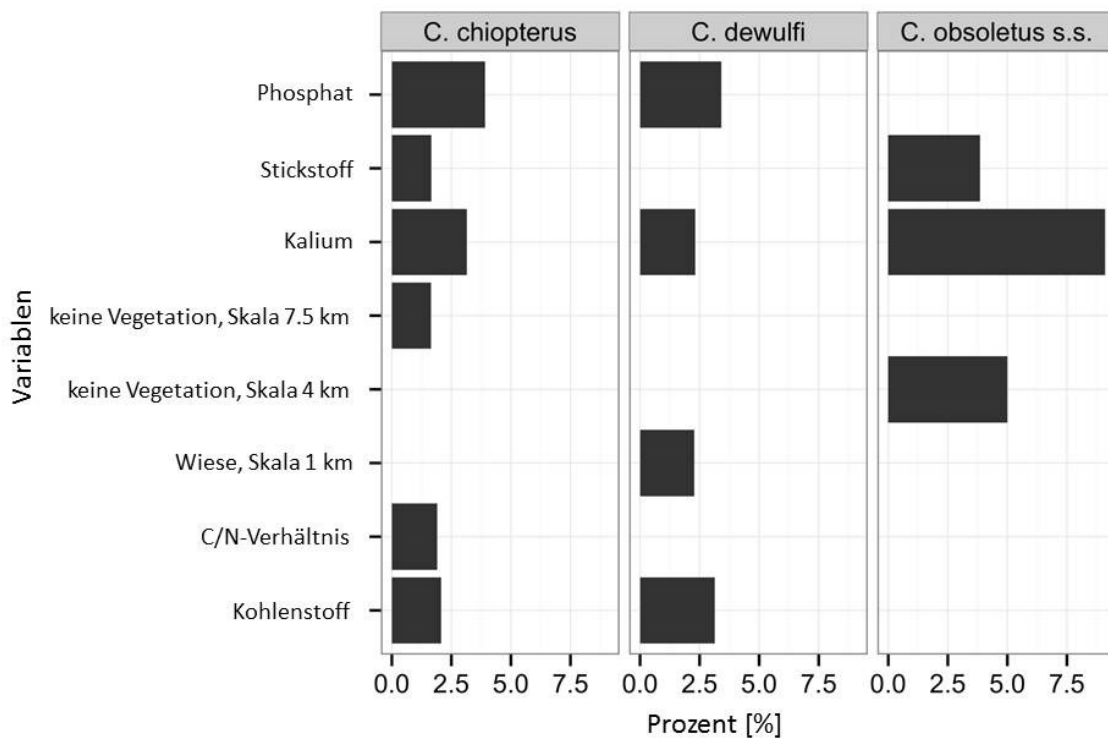


Abb. 5.3 Mittlere prozentuale Reduktion der Modellgenauigkeit der multiskaligen Modelle (horizontale Linien in Abb. 5.2), wenn die jeweilige Variable nicht im Modell ist. Je höher der Wert ist, desto größer ist der Einfluss der jeweiligen Variablen

Zusammenfassend wird festgestellt, dass für die Verbreitungsmodellierung von Gnitzen in Deutschland multiskalige Modelle zu präferieren sind. Dabei ist zusätzlich hervorzuheben, dass lokale Informationen zu den Brutplätzen zu einer signifikanten Modellverbesserung führen. Ein Problem dabei ist natürlich, dass diese lokalen Brutplatzparameter (z.B. pH-Werte) nicht flächendeckend vorhanden sind und somit z.B. nicht für eine landesweite Verbreitungsmodellierung geeignet sind. Zukünftige Studien sollten daher insbesondere eruieren, wie diese lokalen Umweltparameter von flächendeckenden Informationen (z.B. Informationen zum Boden, etc.) abgeleitet werden können.

6. ABSCHLIEßENDE BETRACHTUNG DER ERGEBNISSE

6.1 CULICIDAE

Während der Probenahmen zur Erfassung adulter Stechmücken und aquatischer Entwicklungsstadien (Larven und Puppen) in unterschiedlichen Brutgewässern konnten insgesamt zwölf Stechmückenarten festgestellt werden. Dies entspricht ungefähr 20% der aktuell in Deutschland bekannten vorkommenden Arten. Diese relative geringe Artenvielfalt steht wahrscheinlich im direkten Zusammenhang zur Brutplatzverfügbarkeit auf den untersuchten landwirtschaftlichen Betrieben. Diese sind anthropogen sehr stark überformt: Das direkte Hofumfeld wird fast ausschließlich von künstlichen Gewässern dominiert, wobei insbesondere Reifen, die zur Befestigung der Folie auf Futtersilos genutzt werden, einen sehr großen Anteil einnehmen. Mit steigender Entfernung sinkt zwar der Anteil dieser künstlichen Gewässer, naturnahe (z.B. Gräben oder Teiche) oder natürliche Gewässer (z.B. Kleinstgewässer in feuchten Wäldern) waren in der Regel aber gar nicht oder nur in sehr großer Entfernung (mehrere hundert Meter) vorhanden. Arten mit einer Hauptverbreitung in natürlichen Gewässern waren deutlich in der Minderheit (z.B. *Ae. cantans* oder *Ae. vexans*). Andere Arten wurden nicht als Larven oder Puppen festgestellt, weil die Brutplätze nicht innerhalb der standardisierten Methodik beprobt wurden (z.B. die überwiegenden Baumhöhlenbesiedler *Ae. geniculatus* und *An. plumbeus*). Dies traf auch auf Arten zu, welche auf Grund der speziellen Lebensweise der aquatischen Entwicklungsstadien sehr schlecht zu erfassen sind. Die Larven und Puppen von *Cq. richiardi* leben z.B. dauerhaft tiefer im Wasser und sind dadurch schlecht zu fangen, wenn mit dem Kescher gezielt die oberflächennah lebenden Larven und Puppen beprobt werden).

Die Arten *Cx. pipiens* s.l./*Cx. torrentium* dominieren insgesamt sehr deutliche (> 99% aller gefangenen Individuen). Durch ihre weite Verbreitung in ganz Europa und ihre nachgewiesene Vektorkompetenz für unterschiedliche Pathogene (z.B. parasitische Filarien oder Viren) stehen diese Arten oftmals im Fokus vektorökologischer Studien (Hesson et al., 2015). Diese hauptsächlich ornithophilen Arten sind in Deutschland z.B. die potenziellen Hauptüberträger des Usutu Virus (Jöst et al., 2011b) und des Sindbis Virus (Jöst et al., 2010). Die Stechmücken verbreiten dabei die Viren hauptsächlich zwischen unterschiedlichen Vogelarten (enzootischer Zyklus). Von dort werden die Viren durch die enzootische Vektoren oder Brückenvektoren (Arten, die sowohl Menschen als auch Tiere stechen) auf den Menschen und andere Säugetiere übertragen (z.B. Kramer et al., 2008).

Die beiden Arten *Cx. pipiens* s.l. und *Cx. torrentium* sind morphologisch nicht zu differenzieren und wurden in diesem Projekt daher i.d.R. als *Cx. pipiens* s.l./*Cx. torrentium* zusammengefasst.

Eine molekularbiologische Differenzierung der beiden ist aber für viele vektorökologische Fragen entscheidend, weil diesen Arten eine unterschiedliche Vektorkapazität zugeschrieben wird. So ist z.B. wahrscheinlich *Cx. torrentium* und nicht *Cx. pipiens* s.l. der enzootische Vektor des Sindbis Virus in Schweden (Hesson et al., 2015). Ein besseres Verständnis der Verbreitung beider Arten kann daher auch bei der Analyse der Verbreitung assoziierte Pathogene helfen. Daher wurde im Zuge dieses Projektes untersucht, ob Unterschiede in der Verbreitung und Brutökologie vorliegen (Lühken et al., 2015). Im Zuge der Feldarbeiten wurde eine Vielzahl von Brutplatzparametern aufgenommen (z.B. Gewässergröße, pH-Wert, Leitfähigkeit, etc.), aber keine der Variablen konnte Unterschiede in der Verbreitung der beiden Arten *Cx. pipiens* s.l./*Cx. torrentium* erklären. Frühere Studien zeigten, dass die beiden Arten *Cx. pipiens* s.l. und *Cx. torrentium* in Europa und Deutschland sehr weit verbreitet sind. Allgemein muss davon ausgegangen werden, dass beide Arten eine sehr breite ökologische Nische aufweisen und dadurch in der Lage sind eine Vielzahl unterschiedlicher Habitats zu besiedeln (von Reifen bis zu Tümpeln im Erlenbruch). Darüber hinaus muss jedoch beachtet werden, dass innerhalb dieses Projektes größtenteils sehr ähnliche Brutgewässer im direkten Hofumfeld untersucht wurden. Eine Ausweitung der Untersuchungsgebiete auf natürliche Systeme (z.B. Wälder) könnte zu abweichenden Ergebnissen führen.

Das Umweltparameter im Allgemeinen dazu geeignet sind, die Verbreitung von deutschen Stechmückenarten vorherzusagen, zeigt die Studie zu den vier deutschen Vertretern des *An. maculipennis* Komplexes (*An. atroparvus*, *An. daciae*, *An. messeae* s.s., *An. maculipennis* s.s.). Für alle vier bekannten Arten in Deutschland konnten auf Grundlage von Verbreitungsinformationen und landschaftsökologischer Parametern (Klima und Landschaftsnutzung) Verbreitungskarten erstellt werden (Lühken et al., 2016). Diese Analysen zeigten, dass insbesondere klimatische Bedingungen nützlich sind, um die Verbreitung der Arten zu erklären. Signifikante Veränderungen im Vergleich zu historischen Karten konnten insbesondere für die Art *An. atroparvus* festgestellt werden, welche Anfang des 20. Jahrhunderts noch eine weite Verbreitung im Küstenraum hatte, aber jetzt nur noch vereinzelt festgestellt werden kann. Die Gründe für diesen Wandel sind weitestgehend unklar. Von einigen Wissenschaftlern wird jedoch diskutiert, ob dies mit der reduzierten Verfügbarkeit von Überwinterungsplätzen zusammenhängt (Takken et al., 2002a, 2002b). Zur Überwinterung benötigt *An. atroparvus* geschützte Plätze, z.B. innerhalb von Gebäuden. Es ist ggf. möglich, dass die Konstruktionen moderner Stallungen diesen Schutz nicht mehr bieten.

Mögliche Bekämpfungsmaßnahmen für Stechmücken auf landwirtschaftlichen Betrieben sollten zunächst auf die mit Abstand häufigsten Brutplätze abzielen – artifizielle Gewässer, die mit

simplen Maßnahmen reduziert werden können. Künstliche Gewässer (Plastikbehältnisse, Eimer, etc.) können entweder aus dem offenen Gelände entfernt (z.B. unter Dach lagern) oder mit einem Deckel vollständig verschlossen werden (z.B. Regentonnen). International hat es sich im Zusammenhang mit der Bekämpfung von invasiven Stechmückenarten als sehr erfolgreich erwiesen, Reifen, die nicht in Benutzung sind, unter Dach oder Folien zu lagern, damit sich in diesen kein Wasser sammeln kann. Reifen, die auf dem Silo liegen, sollten aus denselben Gründen in der Mitte durchtrennt werden (Abb. 6.1).



Abb. 6.1 Aufgeschnittene Reifen, in denen sich kein Wasser mehr sammeln kann

6.2 *CULICOIDES*

Im Rahmen der Feldstudie wurden für drei der vier Arten der *Obsoletus*-Gruppe wichtige Bruthabitate im Umfeld landwirtschaftlicher Betriebe identifiziert. Darüber hinaus konnten deutliche artspezifische Präferenzen für bestimmte Habitattypen nachgewiesen werden. So müssen z.B. Misthaufen als eine der wichtigsten Quellen für *C. obsoletus* s.s. angesehen werden. Während weder *C. obsoletus* s.s. noch *C. scoticus* häufig in Kuhfladen gefunden wurden, war dieses Habitat an allen Standorten das wichtigste für die Entwicklungsstadien von *C. chiopterus* und *C. dewulfi*. Die Emergenz beider Arten wurde fast ausschließlich mit Fallen auf Kuhfladen festgestellt.

Culicoides obsoletus s.s. entwickelte sich in zum Teil extrem hohen Individuenzahlen in Misthaufen. Diese Art ist jedoch gleichzeitig in der Lage, unterschiedliche Habitate zu besiedeln. *Culicoides obsoletus* s.s. wurde neben Misthaufen auch in Kuhfladen, in gewässerassoziierten Substraten, Rindenmulch und Komposthaufen nachgewiesen und war damit die einzige der 4 Arten der *Obsoletus*-Gruppe, die in allen untersuchten Habitat-Typen vorkam. Während *C. chiopterus* und *C. dewulfi* auf Kuhfladen spezialisiert sind scheint es sich bei *C. obsoletus* s.s., mit Bezug auf die Bruthabitate, um einen Generalisten zu handeln. Es ist daher nicht überraschend, dass diese Art Lichtfallenstudien zufolge in Europa sehr weit verbreitet ist und häufig in hoher Zahl nachgewiesen wird (z.B., Conte et al., 2007; Meiswinkel et al., 2008; Balczun et al., 2009).

Stattdessen unterschätzen Lichtfallen Abundanzen von *C. chiopterus* (Carpenter et al., 2008), so dass Häufigkeiten mit dieser Methode nur schwer verlässlich bestimmt werden können. In der vorliegenden brutökologischen Studie wurde jedoch deutlich, dass sich *C. chiopterus* wie auch *C. dewulfi*, deutschlandweit in hoher Zahl in Kuhfladen entwickeln. Angesichts der ständigen Verfügbarkeit großer Zahlen dieser Habitate sowie geeigneter Wirte sind diese Arten in hohen Dichten im landwirtschaftlichen Umfeld zu erwarten. Es wird entsprechend angenommen, dass *C. chiopterus* Rinder gegenüber Schafen als Wirte bevorzugt (Garros et al., 2011).

Die Arten der Pulicaris-Gruppe wurden im Vergleich zur Obsoletus-Gruppe vergleichsweise selten gefunden, dagegen aber häufig mit Lichtfallen nachgewiesen. Die vorliegenden Daten erlauben verschiedene Interpretationsweisen dieses Ergebnisses. Es ist nicht auszuschließen, dass die relevanten Habitate für die Arten dieser Gruppen nicht identifiziert wurden. Allerdings wurden vorhandene gewässerassoziierte Substrate, die als typische Habitate dieser Gruppe gelten (z.B., Kettle und Lawson, 1952; Foxi und Delrio, 2010; Kirkeby et al., 2009), intensiv beprobt. Wahrscheinlicher ist daher, dass viele Individuen aus dem weiteren Umfeld der Betriebe zugeflogen sind. *Culicoides* sind in der Lage sich über Distanzen von mindestens 2 km aktiv zu verbreiten (Kirkeby et al., 2013; Kluiters et al., 2015). Eine alternative Erklärung ist, dass die Entwicklungsstadien in den untersuchten Habitaten vorhanden waren, aber mit den Emergenzfallen nicht effektiv nachgewiesen werden konnten. Die Larven könnten in Substratregionen abseits der Fallen abgewandert sein. Des Weiteren suchen viele *Culicoides* Arten für die Verpuppung trockenere Substrat-Bereiche auf (Borkent, 2014), so dass sich möglicherweise die Larven im Substrat unter den Fallen aufgehalten haben, die adulten Gnitzen jedoch in anderen Bereichen geschlüpft sind. Um diese Möglichkeiten auszuschließen, sollten zukünftige Studien evtl. die Emergenz aus Substratproben im Labor unter kontrollierten Bedingungen messen.

Viele der für *Culicoides* entwickelten Bekämpfungsmaßnahmen zielen auf adulte Gnitzen ab, z.B. die Imprägnierung von Schutznetzen mit Insektiziden, um den Viehbestand in Stallungen zu schützen (z.B. Calvete et al., 2010; Baker et al., 2015). Es besteht daher ein großer Bedarf an alternativen Bekämpfungsstrategien, die effektiv auf die Entwicklungsstadien wirken.

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass die Arten der Obsoletus-Gruppe in großer Zahl in ihren Bruthabitaten – Misthaufen und Kuhfladen – überwintern. Mit den Emergenzfallen wurden die höchsten Individuenzahlen im Frühjahr ermittelt. Aus diesem Grund wäre eine Bekämpfung der Entwicklungsstadien vor diesem Schlupfpeak im Frühjahr besonders effektiv, da auch nachfolgende Generationen des Jahres dadurch stark beeinflusst wären. Die Ergebnisse dieser Studie legen darüber hinaus Misthaufen als sinnvolle Ziele potentieller Bekämpfungsmaßnahmen

nahe, da in diesem Habitat viele Individuen der Art *C. obsoletus* s.s. auf engem Raum konzentriert sind. Eine der wenigen untersuchten abiotischen Parameter, die das Vorkommen der Arten der Obsoletus-Gruppe statistisch signifikant beeinflussen, ist dieser Studie zufolge der pH-Wert. Da Individuenzahlen sowie Vorkommenswahrscheinlichkeit von *C. obsoletus* s.s. mit steigendem pH-Wert sanken, könnte eine potenzielle Bekämpfungsmaßnahme die Erhöhung des pH-Werts im Misthaufen beinhalten (z.B. durch die Behandlung mit Kalksorten, welche in der Landwirtschaft ohnehin zur Optimierung der Bodenfruchtbarkeit genutzt werden). Jedoch wiesen *C. obsoletus* s.s. (wie auch *C. chiopterus* und *C. dewulfi*) gleichzeitig einen breiten Toleranzbereich für den pH-Wert auf. Weitere Studien sind daher notwendig, um den praktischen Nutzen dieses Ansatzes besser einschätzen zu können.

Culicoides obsoletus s.s. kann verschiedenste Bruthabitate besiedeln, was womöglich eine effektive Bekämpfung dieser Art erschwert. Es besteht das Risiko, dass eine an sich erfolgreiche Maßnahme in einem Bruthabitat durch Zuflug aus anderen Habitaten kompensiert wird. So blieb z.B. das Abdecken von Misthaufen mit Plane in England ohne messbaren Erfolg (Harrup et al., 2014). In ländlicher Umgebung mit mehreren nah beieinander liegenden landwirtschaftlichen Betrieben wäre es ratsam, eine entsprechende Maßnahme bei allen Misthaufen im näheren Umfeld gleichzeitig anzuwenden, um so zumindest den Zuflug von anderen Misthaufen zu unterbinden. Nur so könnte der Erfolg einer Larvenbekämpfung im Anschluss auch überprüft werden.

Ein weiteres Risiko durch Misthaufen auf landwirtschaftlichen Betrieben ist durch die Tatsache begründet, dass in diesem Habitat durch mikrobielle Aktivität auch im Winter relativ hohe Temperaturen herrschen können (Lühken et al., 2014). Es kann damit nicht ausgeschlossen werden, dass auch zu dieser Zeit Larven ihre Entwicklung im warmen Mikroklima dieses Habitats fortsetzen und adulte Gnitzen schlüpfen können. Gleichzeitig befinden sich die Misthaufen auf vielen Betrieben in unmittelbarer Nähe zum Stall, den die frisch geschlüpften adulten Weibchen unter diesen Umständen auch im Winter gut erreichen könnten. Adulte Individuen der Obsoletus-Gruppe wurden während der Wintermonate in Nordeuropa wiederholt auch innerhalb von Stallungen gefunden (Losson et al., 2007; Clausen et al., 2009). Dieses Verhalten erhöht das Risiko, dass Viren auch im Winter auf einem niedrigen Level zirkulieren können. Um zu verhindern, dass aus dem Misthaufen geschlüpfte Individuen im Winter den Stall erreichen können, sollten Misthaufen möglichst in höherer Entfernung zum Stall gelagert werden. Zwar ist Deutschland seit 2012 offiziell frei vom BTV (FLI, 2012), aufgrund der aktuellen Situation in verschiedenen europäischen Nachbarländern wird jedoch die Gefahr, dass sich das Virus erneut bei uns ausbreitet, aktuell als hoch eingeschätzt (FLI, 2016). Seit August 2015 hat

sich BTV-8 in weiten Teilen Frankreichs verbreitet, während sich BTV-4 in Südeuropa und im Balkan ausbreitet (DEFRA, 2014; DEFRA, 2015; Hornyák et al., 2015). Es ist daher grundsätzlich sinnvoll und notwendig, die Anzahl der Gnitzen der Vektorarten in ländlichem Umfeld zu minimieren, um das Risiko für eine erneute Blauzungen-Epidemie zu verringern.

7. LITERATUR

- Aspöck, H., Kunz, C., Pretzmann, A., 1970. Phänologie und Abundanz der Stechmücken des östlichen Neusiedlersee-Gebietes (Ost-Österreich) in ihrer Beziehung zum Auftreten der durch Stechmücken übertragenen Arboviren. Zentralb. Bakteriolog. Parasitenk. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig., 214, 160-173.
- Baker, T., Carpenter, S., Gubbins, S., Newton, R., Iacono, G.L., Wood, J., Harrup, L.E., 2015. Can insecticide-treated netting provide protection for Equids from *Culicoides* biting midges in the United Kingdom? Parasit. Vectors 8 (1), 1-17.
- Balczun, C., Vorsprach, B., Meiser, C.K., Schaub, G.A., 2009. Changes of the abundance of *Culicoides obsoletus* s.s. and *Culicoides scoticus* in Southwest Germany identified by a PCR-based differentiation. Parasitol. Res. 105 (2), 345-349.
- Bartsch, S., Bauer, B., Wiemann, A., Clausen, P., Steuber, S., 2009. Feeding patterns of biting midges of the *Culicoides obsoletus* and *Culicoides pulicaris* groups on selected farms in Brandenburg, Germany. Parasitol. Res. 105 (2), 373-380.
- Bartlett-Healy, K., Unlu, I., Obenauer, P., Hughes, T., Healy, S., Crepeau, T., Farajollahi, A., Kesavaraju, B., Fonseca, D., Schoeler, G., Gaugler, R., Strickman, D., 2012. Larval mosquito habitat utilization and community dynamics of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 49 (4), 813-824.
- Bates, D., Maechler M., Bolker, B. and Walker, S., 2014. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R, Version 1.1-7, <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>.
- Becker, N., 1989. Life strategies of mosquitoes as an adaptation to their habitats. Bull. Soc. Vector Ecol. 14 (1), 6-25.
- Becker, N., Huber, K., Pluskota, B., Kaiser, A., 2011. *Ochlerotatus japonicus japonicus* – a newly established neozoon in Germany and a revised list of the German mosquito fauna. Eur. Mosq. Bull. 29, 88-102.
- Becker, N., Jöst, H., Ziegler, U., Eiden, M., Höper, D., Emmerich, P., Fichet-Calvet, E., Ehi-chioya, D.U., Czajka, C., Gabriel, M., 2012. Epizootic emergence of Usutu virus in wild and captive birds in Germany. Plos One 7 (2), e32604.
- Becker, N., Petrić, D., Boase, C., Lane, J., Zgomba, M., Dahl, C., Kaiser, A., 2010. Mosquitoes and their Control. Springer, Heidelberg.
- Becker, P., 1960. Observations on the life cycle and immature stages of *Culicoides circumscriptus* Kieff. (Diptera, Ceratopogonidae). Proc. R. Soc. Edinb. B 67 (4), 363-386.
- Bidlingmayer, W., 1961. Field activity studies of adult *Culicoides furens*. Ann. Entomol. Soc. Am. 54 (2), 149-156.
- Bishop, A.L., McKenzie, H.J., Barchia, I.M., Murison, R., Spohr, L.J., 1996. Positions of juvenile stages of *Culicoides brevitarsis* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae) and of four other flies in bovine dung. Aust. J. Entomol. 35, 209-212.

- Blackwell, A., 2008. Biting midges, *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae). In: Capinera, J.L. (Ed.), Encyclopedia of Entomology. Springer, Heidelberg, pp. 510-519.
- Blackwell, A., Lock, K.A., Marshall, B., Boag, B., Gordon, S.C., 1999. The spatial distribution of larvae of *Culicoides impunctatus* biting midges. Med. Vet. Entomol. 13 (4), 362-371.
- Blackwell, A., Page, S.J., 2003. Biting midges and tourism in Scotland. In: Wilks, J., Page, S.J. (Eds.), Managing tourist health and safety in the new millenium: global perspectives in tourism research series. Elsevier Science, Oxford, pp. 177-196.
- Borkent, A., 2014. The pupae of the biting midges of the world (Diptera: Ceratopogonidae), with a generic key and analysis of the phylogenetic relationships between genera. Zootaxa 3879 (1), 1-327.
- Bradter, U., Kunin, W.E., Altringham, J.D., Thom, T.J., Benton, T.G., 2013. Identifying appropriate spatial scales of predictors in species distribution models with the random forest algorithm. Methods Ecol. Evol. 4 (2), 167-174.
- Braverman, Y., Galun, R., Ziv, M., 1974. Breeding sites of some *Culicoides* species (Diptera, Ceratopogonidae) in Israel. Mosq. News 34 (3), 303-308.
- Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M., Del Rio, R., Borrás, D., Beldron, F., Martínez, A., Calvo, A., Lucientes, J., 2010. Protection of livestock against bluetongue virus vector *Culicoides imicola* using insecticide-treated netting in open areas. Med. Vet. Entomol. 24 (2), 169-175.
- Campbell, J.A., Pelham-Clinton, E., 1960. A taxonomic review of the British species of *Culicoides* Latreille (Diptera, Ceratopogonidae). Proc. R. Soc. Edinb. B 67 (3), 181-302.
- Cancrini, G., Pietrobelli, M., Di Regalbono, A.F., Tampieri, M., 1997. Mosquitoes as vectors of *Setaria labiata* papillosa. Int. J. Parasitol. 27 (9), 1061-1064.
- Cancrini, G., Magi, M., Gabrielli, S., Arispici, M., Tolari, F., Dell'Omodarme, M., Prati, M.C., 2006. Natural vectors of Dirofilariasis in rural and urban areas of the Tuscan region, central Italy. J. Med. Entomol. 43 (3), 574-579.
- Carpenter, S., Szmaraagd, C., Barber, J., Labuschagne, K., Gubbins, S., Mellor, P., 2008. An assessment of *Culicoides* surveillance techniques in northern Europe: have we underestimated a potential bluetongue virus vector? J. Appl. Ecol. 45 (4), 1237-1245.
- Clausen, P., Stephan, A., Bartsch, S., Jandowsky, A., Hoffmann-Köhler, P., Schein, E., Mehlitz, D., Bauer, B., 2009. Seasonal dynamics of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae, *Culicoides* spp.) on dairy farms of Central Germany during the 2007/2008 epidemic of bluetongue. Parasitol. Res. 105 (2), 381-386.
- Coetzer, J., Guthrie, A., 2004. African horse sickness. In: Coetzer J.A.W., Tustin R.C. (Eds.), Infectious diseases of livestock, second edition, Oxford University Press Southern Africa, Cape Town, pp. 1231-1246.

- Conraths, F.J., Gethmann, J.M., Staubach, C., Mettenleiter, T.C., Beer, M., Hoffmann, B., 2009. Epidemiology of bluetongue virus serotype 8, Germany. *Emerg. Infect. Dis.* 15 (3), 433-435.
- Conraths, F.J., Eschbaumer, M., Freuling, C., Gethmann, J., Hoffmann, B., Kramer, M., Probst, C., Staubach, C., Beer, M., 2012. Bluetongue disease: an analysis of the epidemic in Germany 2006–2009. In: Mehlhorn, H. (Ed.), *Arthropods as vectors of emerging diseases*. Springer, Berlin, pp. 103-135.
- Conte, A., Goffredo, M., Ippoliti, C., Meiswinkel, R., 2007. Influence of biotic and abiotic factors on the distribution and abundance of *Culicoides imicola* and the *Obsoletus* Complex in Italy. *Vet. Parasitol.* 150 (4), 333-344.
- Czajka, C., Becker, N., Jöst, H., Poppert, S., Schmidt-Chanasit, J., Krüger, A., Tannich, E., 2014. Stable transmission of *Dirofilaria repens* nematodes, Northern Germany. *Emerging Infect. Dis.* 20 (2), 328-331.
- Daniel, T., Sharpley, A., Lemunyon, J., 1998. Agricultural phosphorus and eutrophication: a symposium overview. *J. Environ. Qual.* 27 (2), 251-257.
- DEFRA (Department for Environment Food and Rural Affairs), 2014. Preliminary outbreak assessment bluetongue virus (BTV-4) in Greece, Bulgaria and the Republic of Macedonia, 3 p.
- DEFRA (Department for Environment Food and Rural Affairs), 2015. Preliminary outbreak assessment. Bluetongue virus (BTV-8) in France, 2 p.
- Delécolle, J., 1985. Nouvelle contribution à l'étude systématique et iconographique des espèces du genre *Culicoides* (Diptera: Cératopogonidae) du Nord-Est de la France. Dissertation. Université de Strasbourg, France, 293 pp.
- Downes, J., 1958. The feeding habits of biting flies and their significance in classification. *Annu. Rev. Entomol.* 3 (1), 249-266.
- Erlanger, T.E., Weiss, S., Keiser, J., Utzinger, J., Wiedenmayer, K., 2009. Past, present, and future of Japanese encephalitis. *Emerging Infect. Dis.* 15 (1), 1-7.
- Felippe-Bauer, M.L., Sternheim, U.S., 2008. *Culicoides paraensis* (Diptera: Ceratopogonidae) infestations in cities of the Itapocu river valley, southern Brazil. *Entomol. News* 119 (2), 185-192.
- Filipe, A.R., 1972. Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes. *Acta Virol.* 16 (4), 361.
- Foxi, C., Delrio, G., 2010. Larval habitats and seasonal abundance of *Culicoides* biting midges found in association with sheep in northern Sardinia, Italy. *Med. Vet. Entomol.* 24 (2), 199-209.
- Friedrich-Löffler-Institut, 2012. Tiergesundheitsjahresbericht 2012. Bundesinstitut für Tiergesundheit, Riems.

- Friedrich-Löffler-Institut, 2016. Qualitative Risikobewertung zur Einschleppung der Blauzungkrankheit, Serotyp 4/8. Bundesinstitut für Tiergesundheit, Riems.
- Garros, C., Gardes, L., Allene, X., Rakotoarivony, I., Viennet, E., Rossi, S., Balenghien, T., 2011. Adaptation of a species-specific multiplex PCR assay for the identification of blood meal source in *Culicoides* (Ceratopogonidae: Diptera): applications on Palaearctic biting midge species, vectors of Orbiviruses. *Infect. Genet. Evol.* 11 (5), 1103-1110.
- Gillies, M., Gubbins, S., 1982. *Culex (Culex) torrentium* Martini and *Cx.(Cx.) pipiens* L. in a southern English county, 1974–1975. *Mosq. Syst.* 14, 127-130.
- González, M., Lopez, S., Mullens, B.A., Baldet, T., Goldarazena, A., 2013. A survey of *Culicoides* developmental sites on a farm in northern Spain, with a brief review of immature habitats of European species. *Vet. Parasitol.* 191 (1-2), 81-93.
- Grunewald, J., Habedank, B., Hartelt, K., Kampen, H., Kimmig, P., Maier, W., Naucke, T., Oehme, R., Vollmer, A., Schöler, A., 2001. Mögliche Auswirkungen von Klimaveränderungen auf die Ausbreitung von primär humanmedizinisch relevanten Krankheitserregern über tierische Vektoren sowie auf die wichtigen Humanparasiten in Deutschland. Umweltforschungsplan (UFOPLAN 200 61 218/11) Des BM Umwelt. Naturschutz und Reaktorsicherheit, Prague.
- Harrup, L., Gubbins, S., Barber, J., Denison, E., Mellor, P., Purse, B., Carpenter, S., 2014. Does covering of farm-associated *Culicoides* larval habitat reduce adult populations in the United Kingdom? *Vet. Parasitol.* 201 (1), 137-145.
- Harrup, L., Purse, B., Golding, N., Mellor, P., Carpenter, S., 2013. Larval development and emergence sites of farm-associated *Culicoides* in the United Kingdom. *Med. Vet. Entomol.* 27 (4), 441-449.
- Hesson, J.C., Lundström, J.O., Halvarsson, P., Erixon, P., Collado, A., 2010. A sensitive and reliable restriction enzyme assay to distinguish between the mosquitoes *Culex torrentium* and *Culex pipiens*. *Med. Vet. Entomol.* 24 (2), 142-149.
- Hoffmann, G., 1991. Methodenbuch Band 1, Die Untersuchung von Böden. Auflage. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.
- Hornýák, Á., Malik, P., Marton, S., Dóró, R., Cadar, D., Bányai, K., 2015. Emergence of multireassortant bluetongue virus serotype 4 in Hungary. *Infect. Genet. Evol.* 33, 6-10.
- Huber, K., Pluskota, B., Jöst, A., Hoffmann, K., Becker, N., 2012. Status of the invasive species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in southwest Germany in 2011. *J. Vec. Ecol.* 37 (2), 462-465.
- Ishii, T., Sohn, S.R., 1987. Highly polluted larval habitats of the *Culex pipiens* complex in central Sweden. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 3 (2), 276-281.
- Jones, R.H., 1967. An overwintering population of *Culicoides* in Colorado. *J. Med. Entomol.* 4 (4), 461-463.

- Jost, H., Bialonski, A., Maus, D., Sambri, V., Eiden, M., Groschup, M.H., Gunther, S., Becker, N., Schmidt-Chanasit, J., 2011. Isolation of Usutu virus in Germany. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 85 (3), 551-553, DOI: 10.4269/ajtmh.2011.11-0248.
- Jost, H., Bialonski, A., Schmetz, C., Gunther, S., Becker, N., Schmidt-Chanasit, J., 2011. Isolation and phylogenetic analysis of Batai virus, Germany. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 84 (2), 241-243, DOI: 10.4269/ajtmh.2011.10-0483.
- Jost, H., Bialonski, A., Storch, V., Gunther, S., Becker, N., Schmidt-Chanasit, J., 2010. Isolation and phylogenetic analysis of Sindbis viruses from mosquitoes in Germany. *J. Clin. Microbiol.* 48 (5), 1900-1903, DOI: 10.1128/JCM.00037-10.
- Kettle, D., 1962. The bionomics and control of *Culicoides* and *Leptoconops* (Diptera, Ceratopogonidae = Heleidae). *Annu. Rev. Entomol.* 7 (1), 401-418.
- Kettle, D.S., Lawson, J., 1952. The early stages of British biting midges *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) and allied genera. *Bull. Entomol. Res.* 43 (3), 421-467.
- Kirkeby, C., Græsbøll, K., Stockmarr, A., Christiansen, L.E., Bødker, R., 2013. The range of attraction for light traps catching *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae). *Parasit. Vectors* 6 (6), DOI: 10.1186/1756-3305-6-67.
- Kluiters, G., Swales, H., Baylis, M., 2015. Local dispersal of palaeartic *Culicoides* biting midges estimated by mark-release-recapture. *Parasit. Vectors* 8, DOI: 10.1186/s13071-015-0658-z.
- Koch, H.G., Axtell, R.C., 1979. Attraction of *Culicoides furens* and *C. hollensis* (Diptera: Ceratopogonidae) to animal hosts in a salt marsh habitat. *J. Med. Entomol.* 15 (5-6), 494-499.
- Kramer, L.D., Styer, L.M., Ebel, G.D., 2008. A global perspective on the epidemiology of West Nile virus. *Annu. Rev. Entomol.* 53, 61-81.
- Kremer, M., 1965. Contribution a l'étude du genre *Culicoides* Latreille, particulièrement en France. Paul Lechevalier, Paris, 299 pp.
- Kronefeld, M., Kampen, H., Sassnau, R., Werner, D., 2014. Molecular detection of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Setaria tundra* in mosquitoes from Germany. *Parasit. Vectors* 7 (1), 30.
- Kronefeld, M., Werner, D., Kampen, H., 2014. PCR identification and distribution of *Anopheles daciae* (Diptera, Culicidae) in Germany. *Parasitol. Res.* 113 (6), 2079-2086.
- Lehmann, K., Werner, D., Hoffmann, B., Kampen, H., 2012. PCR identification of culicoid biting midges (Diptera, Ceratopogonidae) of the *Obsoletus* complex including putative vectors of bluetongue and Schmallenberg viruses. *Parasit. Vectors* 5 (1), DOI: 10.1186/1756-3305-5-213.
- Lord, C.C., 2008. African Horse Sickness Viruses. In *Encyclopedia of Entomology*. Springer Netherlands. 66-68 pp.

- Losson, B., Mignon, B., Paternostre, J., Madder, M., De Deken, R., De Deken, G., Deblauwe, I., Fassotte, C., Cors, R., Defrance, T., Delecolle, J.C., Baldet, T., Haubruge, E., Frederic, F., Bortels, J., Simonon, G., 2007. Biting midges overwintering in Belgium. *Vet. Rec.* 160 (13), 451-452.
- Lühken, R., Czajka, C., Steinke, S., Jöst, H., Schmidt-Chanasit, J., Pfitzner, W., Becker, N., Kiel, E., Krüger, A., Tannich, E., 2016. Distribution of individual members of the mosquito *Anopheles maculipennis* complex in Germany identified by newly developed real-time PCR assays. *Med. Vet. Entomol.* DOI: 10.1111/mve.12161.
- Lühken, R., Kiel, E., Steinke, S., 2014. *Culicoides* biting midge density in relation to the position and substrate temperature in a cattle dung heap. *Parasitol. Res.* 113 (12), 4659-4662.
- Lühken, R., Steinke, S., Leggewie, M., Tannich, E., Krüger, A., Becker, S., Kiel, E., 2015. Physico-Chemical characteristics of *Culex pipiens* sensu lato and *Culex torrentium* (Diptera: Culicidae) breeding sites in Germany. *J. Med. Entomol.* 52 (5), 932-936, DOI: 10.1093/jme/tjv070.
- Magnon, G.J., Hagan, D.V., Kline, D.L., Linley, J.R., 1990. Habitat characteristics and phenology of larval *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae) from a coastal Georgia salt marsh. *Environ. Entomol.* 19 (4), 1068-1074.
- Martini, E., Missiroli, A., Hackett, L.W., 1931. Versuche zum Rassenproblem des *Anopheles maculipennis*. *Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene.* 35, 622-643.
- Mathieu, B., Cêtre-Sossah, C., Garros, C., Chavernac, D., Balenghien, T., Carpenter, S., Setier-Rio, M., Vignes-Lebbe, R., Ung, V., Candolfi, E., 2012. Development and validation of IIC: an interactive identification key for *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) females from the Western Palaearctic region. *Parasit. Vectors* 5 (1), 1-11.
- Mehlhorn, H., Walldorf, V., Klimpel, S., Jahn, B., Jaeger, F., Eschweiler, J., Hoffmann, B., Beer, M., 2007. First occurrence of *Culicoides obsoletus*-transmitted bluetongue virus epidemic in Central Europe. *Parasitol. Res.* 101 (1), 219-228.
- Meiswinkel, R., Goffredo, M., Dijkstra, E., Van der Ven, I., Baldet, T., Elbers, A., 2008. Endophily in *Culicoides* associated with BTV-infected cattle in the province of Limburg, south-eastern Netherlands, 2006. *Prev. Vet. Med.* 87 (1), 182-195.
- Melaun, C., Zotzmann, S., Santaella, V.G., Werblow, A., Zumkowski-Xylander, H., Kraiczy, P., Klimpel, S., 2015. Occurrence of *Borrelia burgdorferi* s.l. in different genera of mosquitoes (Culicidae) in Central Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* DOI:10.1016/j.ttbdis.2015.10.018.
- Mellor, P., Pitzolis, G., 1979. Observations on breeding sites and light-trap collections of *Culicoides* during an outbreak of bluetongue in Cyprus. *Bull. Entomol. Res.* 69 (2), 229-234.
- Mellor, P., Boorman, J., Baylis, M., 2000. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annu. Rev. Entomol.* 45 (1), 307-340.

- Mohrig, W., 1969. Die Culiciden Deutschlands. Anzeiger für Schädlingkunde 42 (8), 126-127.
- Murray, W., 1957. Investigations on the bionomics of *Culicoides obsoletus* (Meigen) and other biting midges at Mount Solon, Virginia. Mosq. News 17, 77-82.
- Nevill, H., Venter, G., Meiswinkel, R., Nevill, E., 2007. Comparative descriptions of the pupae of five species of the *Culicoides imicola* complex (Diptera: Ceratopogonidae) from South Africa. Onderstepoort J. Vet. Res. 74 (2), 97-114.
- Ninio, C., Augot, D., Delecolle, J., Dufour, B., Depaquit, J., 2011a. Contribution to the knowledge of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) host preferences in France. Parasitol. Res. 108 (3), 657-663.
- Pagès, N., i Monteys, V.S., 2005. Differentiation of *Culicoides obsoletus* and *Culicoides scoticus* (Diptera: Ceratopogonidae) based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit I. J. Med. Entomol. 42 (6), 1026-1034.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. and R Core Team, 2015. nlme: linear and non-linear mixed effects models. R, Version 3.1.2. <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- Purse, B., Falconer, D., Sullivan, M., Carpenter, S., Mellor, P., Pierrney, S., Albon, S., Gunn, G., Blackwell, A., 2012. Impacts of climate, host and landscape factors on *Culicoides* species in Scotland. Med. Vet. Entomol. 26 (2), 168-177.
- R Core Team, 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, version 2.14.1, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org>.
- R Core Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, version 3.1.2, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org>.
- Raymond, M., 1995. On the breeding period of *Culex pipiens* and *C. torrentium* (Diptera, Culicidae) in Uppsala, Sweden. Entomol. Tidskr. 116, 65-66.
- Rizolli, A., Jiménez-Clavero, M.A., Barzon, L., Cordioli, P., Figuerola, J., Koraka, P., Martina, B., Moreno, A., Nowotny, N., Pardigon, N., 2015. The challenge of West Nile virus in Europe: knowledge gaps and research priorities. Eurosurveillance 20, pii: 21135.
- Rossi, S.L., Ross, T.M., Evans, J.D., 2010. West Nile virus. Clin. Lab. Med. 30 (1), 47-65.
- Rudolf, M., Czajka, C., Börstler, J., Melaun, C., Jöst, H., von Thien, H., Badusche, M., Becker, N., Schmidt-Chanasit, J., Krüger, A., 2013. First nationwide surveillance of *Culex pipiens* complex and *Culex torrentium* mosquitoes demonstrated the presence of *Culex pipiens* biotype *pipiens*/molestus hybrids in Germany. PLoS One 8 (9), e71832.
- Schaffner, F., Kaufmann, C., Hegglin, D., Mathis, A., 2009. The invasive mosquito *Aedes japonicus* in Central Europe. Med. Vet. Entomol. 23 (4), 448-451.
- Scherpner, C., 1960. Zur Ökologie und Biologie der Stechmücken des Gebietes von Frankfurt am Main (Diptera, Culicidae). Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin. Zoologisches Museum und Institut für Spezielle Zoologie (Berlin) 36 (1), 49-99.

- Schlichting, E., Blume, H., K. Stahr, 1995. Bodenkundliches Praktikum. Auflage. Verl. Blackwell Wiss. Berlin, Oxford (ua).
- Schmidtmann, E., Bobian, R., Belden, R., 2000. Soil chemistries define aquatic habitats with immature populations of the *Culicoides variipennis* complex (Diptera: Ceratopogonidae). J. Med. Entomol. 37 (1), 58-64.
- Scolamacchia, F., Van Den Broek, J., Meiswinkel, R., Heesterbeek, J., Elbers, A., 2014. Principal climatic and edaphic determinants of *Culicoides* biting midge abundance during the 2007–2008 bluetongue epidemic in the Netherlands, based on OVI light trap data. Med. Vet. Entomol. 28 (2), 143-156.
- Snow, K., Fallis, P., 1982. The Mosquitoes of Epping Forest. London Naturalist 61, 65-71.
- Solomon, T., 2006. Control of Japanese encephalitis-within our grasp? N. Engl. J. Med. 355 (9), 869.
- Steinke, S., Lühken, R., Balczun, C., Kiel, E., 2016. Emergence of *Culicoides obsoletus* group species from farm-associated habitats in Germany. Med. Vet. Entomol. DOI: 10.1111/mve.12159.
- Struppe, T., 1989. The biology and ecology of the mosquito *Culex torrentium* with respect to human habitations. Zeitschrift fuer Angewandte Zoologie (Germany, FR).
- Szadziewski, R., Krzywinski, J., Gilka, W., 1997. Diptera Ceratopogonidae, Biting midges. In: Nilsson A.N. (Ed.), The aquatic insects of North Europe 2, pp. 243-263.
- Takken, W., Geene, R., Adam, W., Jetten, T.H., van der Velden, J.A., 2002a. Distribution and dynamics of larval populations of *Anopheles messeae* and *A. atroparvus* in the Delta of the Rivers Rhine and Meuse, The Netherlands. AMBIO. 31, 212–218.
- Takken, W., Geene, R., Koenraadt, S., 2002b. Malaria mosquitoes in South-Holland, The Netherlands – a future public health risk? Proc. Exp. Appl. Entomol. 13, 143–146.
- Tappe, D., Plauth, M., Bauer, T., Muntau, B., Diebel, L., Tannich, E., Herrmann-Trost, P., 2014. A case of autochthonous human *Dirofilaria* infection, Germany, March 2014. Euro. Surveill. 19 (17), 2-4.
- Taylor, R., Work, T., Hurlbut, H., Rizk, F., 1956. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. Am. J. Trop. Med. Hyg. 5 (4), 579-620.
- Tesh, R.B., 1994. The emerging epidemiology of Venezuelan hemorrhagic fever and Oropouche fever in tropical South America. Ann. N. Y. Acad. Sci. 740 (1), 129-137.
- Uslu, U., Dik, B., 2010. Chemical characteristics of breeding sites of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae). Vet. Parasitol. 169 (1-2), 178-184.
- Vinogradova, E.B., 2003. Ecophysiological and morphological variations in mosquitoes of the *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae). Acta Soc. Zool. Bohem. 67 (March), 41-50.

- Vinogradova, E.B., 2000. *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics. Applied importance and control. Pensoft Publishers, Moscow, Russia.
- Weitzel, T., Gauch, C. & Becker, N., 2012. Identification of *Anopheles daciae* in Germany through ITS2 sequencing. Parasitol. Res. 111, 2431–2438.
- Weitzel, T., Jawień, P., Rydzanicz, K., Lonc, E., Becker, N., 2015. *Culex pipiens* sl and *Culex torrentium* (Culicidae) in Wrocław area (Poland): Occurrence and breeding site preferences of mosquito vectors. Parasitol. Res. 114 (1), 289-295.
- Weyer, F., 1941. Neuere beobachtungen über die Winterruhe bei *Anopheles maculipennis* Mg. Parasitol. Res. 12 (2), 157-164.
- Weyer, F., 1938. Die geographische Verbreitung der Rassen von *Anopheles maculipennis* in Deutschland. Parasitol. Res. 10 (4), 437-463.
- Wilson, A., Darpel, K., Mellor, P.S., 2008. Where does bluetongue virus sleep in the winter? Plos Biol. 6 (8), DOI: 10.1371/journal.pbio.0060210.
- Yee, D.A., 2008. Tires as habitats for mosquitoes: a review of studies within the eastern United States. J. Med. Entomol. 45 (4), 581-593.
- Zeller, H., Schuffenecker, I., 2004. West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 23 (3), 147-156.
- Zimmer, J., Saegerman, C., Losson, B., Haubruge, E., 2010. Breeding sites of bluetongue virus vectors, Belgium. Emerg. Infect. Dis. 16 (3), 575-576.
- Zimmer, J., Saegerman, C., Losson, B., Beckers, Y., Haubruge, E., Francis, F., 2013. Chemical composition of silage residues sustaining the larval development of the *Culicoides obsoletus*/*Culicoides scoticus* species (Diptera: Ceratopogonidae). Vet. Parasitol. 191 (1-2), 197-201.
- Zimmer, J., Brostaux, Y., Haubruge, E., Francis, F., 2014. Larval development sites of the main *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in northern Europe and distribution of coprophilic species larvae in Belgian pastures. Vet. Parasitol. 205 (3), 676-686.

8. FINAL PROGRESS REPORT: ZUSAMMENFASSUNG

Vector-borne Infections: risk based and cost effective surveillance systems (VICE)

Ziel des Projekts war es, ein Grundgerüst für ein dynamisches, risikobasiertes Surveillance-System bei Vektor übertragenen Krankheiten (VBD) zu entwickeln. Das mögliche Risiko der Einschleppung und der Ausbreitung von VBD in der Population wird abgeschätzt. Dies ermöglicht die aktive Surveillance auf die Risikoperioden zu beschränken und Ressourcen anzupassen. Im Fokus standen durch Stechmücken und Gnitzen (*Culicoides*) verursachte Krankheiten.

Dazu wurde in Kooperation von neun europäischen Partnern (DTU; WUR; NVI; FLI; CvO Oldenburg; VPHI; SVA; INRA EpiA und CODA-CERVA) (1) Daten koordinierte zusammengestellt und aufbereitet, (2) ein Modells zur Abschätzung des Risikos entwickelt sowie (3) vorhandene Überwachungssysteme auf ihre Eignung und Kosten überprüft.

Das Risikomodell berücksichtigt die Biologie der Krankheit, Gefahren der Einschleppung und die räumliche Ausbreitung der Krankheit sowie Ergebnisse einer syndromischen Surveillance. Die Ergebnisse des Modells werden in einem Risikoscore, dem ‚Joint Risk Scores‘ (JRS) zusammenfasst. Während das Modell für African Horse Sickness und Equine Encephalitis gut funktionierte, erbrachte es für die Blauzungkrankheit (BTV) keine bessere Früherkennung. Allerdings standen nicht alle Daten für die Modelle Verfügung, weshalb einige Aspekte nicht berücksichtigt werden konnten. Für Stechmücken und Gnitzen resultierten differenzierte, auf Europa bezogene Abundanzkarten und Erkenntnisse über die Brutökologie. Ein zusätzlich geliefertes, über vektorgebundene Erreger hinaus anwendbares Kalkulationsprogramm verbessert die Entscheidungsfindung bei Fragen der Ressourcenverteilung für Surveillance-systeme. Die Überprüfung der Surveillance bei BTV zeigte eine schlechtere Performance kostenintensiver Sentinelprogramme im Vergleich zur passiven klinische Überwachung.

This project attempts to develop the basics structure for a dynamic risk based surveillance of vectorborn diseases (VBD). In order to restrict the active surveillance to mere risk periods and, thus, optimize resources, the potential risk of introduction and spread of VBD was estimated, for VDBs transmitted by mosquitoes and biting midges. A team of nine EU-partners (DTU; WUR; NVI; FLI; CvO Oldenburg; VPHI; SVA; INRA EpiA und CODA-CERVA) compiled and analyzed adequate data (1), developed a specific model for risk assessment (2), and evaluated the appropriateness and the costs of available surveillance system. The VICE-risk model includes biological characteristics of the diseases, the risk of introduction and its special spread, and the syndromic surveillance. So called “joint risk scores” (JRS) summarize the results of these risk models. While this model works well for African Horse Sickness and Equine Encephalitis, it does not improve the early diagnosis of BTV. However, data were incomplete, thus restricting modelling to specific aspects. Moreover, European wide abundance maps and new ecological data on breeding sites were achieved for mosquitoes and biting midges. An economic evaluation by calculation of the costs is aided by a model in an Excel workbook. A comparison between active and passive surveillance showed that active surveillance does not improve the early detection but is very expensive.

9. DANKSAGUNG

Die durchgeführten Studien wurde im Rahmen des von EMIDA-ERA-NET geförderten Projektes VICE (Vector-borne Infections: risk based and Cost Efficient surveillance systems) durch das Bundesamt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) finanziert (314-06.01-2811ERA248). Wir danken dem BLE und unseren Projektpartnern für die gute Kooperation und Prof. Dr. Schaub und Dr. Balczun von der Ruhr-Universität Bochum für die Unterstützung. Des Weiteren bedanken wir uns bei Prof. Dr. Egbert Tannich (Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin) und Prof. Dr. Stephanie Becker (Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin) für die Hilfe bei der molekularbiologischen Differenzierung der Stechmücken (*Anopheles maculipennis* s.l. und *Culex pipiens* s.l./*torrentium*). Ein besonderer Dank geht außerdem an die Landwirte und ihre Familien, die dieses Projekt durch ihre Mithilfe ermöglicht haben und die zahlreichen Behörden sowie Kolleginnen, Kollegen und Freunden, die uns halfen, den Kontakt zu diesen Betrieben aufzunehmen.