

# Pilzmücken - unterschätzt in der Rettung der Natur (Fungus gnats – underestimated in saving the nature)

Aktenzeichen der Umweltstiftung: 30017/379.....  
Zoologisches Forschungsmuseum Alexander Koenig - Leibniz-Institut  
für Biodiversität der Tiere  
Bonn, Deutschland

## **РЕФЕРАТ** за гъбните комари, представен в музея "Александър Кьониг" към Инстит "Лайбниц", Бон, Германия

### Inhaltsverzeichnis:

	Seite:
1. Allgemeines	2
2. Einleitung	2
3. Methoden	2
4. Ergebnisse	4
5. Diskussion	5
6. Arbeitsplan und Begründung	6
7. Veröffentlichungen	6
8. Quellen	6
Anhang 1 - Arbeitsplan	
Anhang 2 - Fotos	
Anhang 3 - Hinweise zu den Fotos	
Anhang 4 - Hinweise zur Molekülbearbeitung	
Anhang 5 - meta Angaben, bereits herausgefunden	

### Wörterverzeichnis:

**DNA barcoding** - ist ein taxonomisches Verfahren, welches mithilfe eines Disoxinukleinsäure (DNA) Markers das jeweilige Organismus einer bestimmten Art zuordnet. Für die Tiere wird die Länge von 658 Basispaaren aus der Cytochrom c Oxidase (COI oder cox1) angewandt.

**DNA sequencing** - ist der Prozess zur Bestimmung der Reihenfolge des jeweiligen DNA Fragments.

**μCTscan** - (Mikro-CT oder μCT) ist ein Verfahren, welches die Röntgenstrahlen dazu verwendet, einen Querschnitt des Objektes anzufertigen, der nachher zum Erstellen einer virtuellen Nachahmung des Originals dienen kann, ohne das ursprüngliche Beispiel irgendwie zu beschädigen.

**PCR** - (englisch: polymerase chain reaction, PCR) ist ein Verfahren zum Vervielfältigen einer einzelnen oder mehrerer Kopien aus einem Segment der DNA in weiteren Reihenfolgen, die tausende bis Millionen Kopien der jeweiligen DNA erzeugen.

**rpm** - (englisch: revolutions per minute; „Umdrehungen pro Minute“ (UpM) ist eine Maßeinheit zur Bestimmung der Umdrehungshäufigkeit, insbesondere zur Bestimmung der Anzahl der Umdrehungen um eine feste Achse pro Minute.

**3D** - drei Dimensionen (x, y, z Achsen)

**Neighbor joining** - ist ein Verfahren zur Erstellung von phylogenetischen Bäumen. Meistens funktioniert das Verfahren auf Grund von Angaben der DNA oder der

Proteinreihenfolge. Das Verfahren bedarf der Wahrnehmung der Entfernung zwischen den einzelnen Taxonenpaaren, z. B. Arten oder Reihenfolgen, damit der Baum angefertigt werden kann.

**Pipeline** – ist eine andere Bezeichnung für Arbeitsvorgang

### Zusammenfassung:

Mitte September 2016 bin ich das Programm über die Pilzmücken (Diptera) am Zoologischen Forschungsmuseum „Alexander König“ in Bonn (Deutschland) als Stipendiantin angegangen. Mein wissenschaftlicher Leiter Herr Björn Rulik ist aktiver Dipterist und arbeitet am Projekt „German Barcode of Life“ (GBOL). Hauptziel des Projektes ist die Anfertigung eines Inventurverzeichnisses von Tieren, Pflanzen und Pilzen in Deutschland, sowie ihre genetische Charakterisierung. Dank meiner Beteiligung an diesem Projekt habe ich Vieles erfahren. In der Zusammenarbeit mit den Kollegen habe ich mich nicht nur mit neuen Arbeitsverfahren vertraut gemacht, sondern auch diese in der Praxis selbst ausgeübt.

Mein wissenschaftliches Vorhaben ist es an der Forschung der Pilzmücken in Bulgarien weiter zu arbeiten und die Pilzmücken als Bioindikator und für Bulgarien von Bedeutung darzustellen.

### Einleitung:

Die Pilzmücken sind eine zahlreiche und mannigfaltige Gruppe von Insekten, die traditionell der Superfamilie Sciaroidea zugeordnet werden. Fünf von diesen Familien Bolitophilidae, Diadocidiidae, Ditomyiidae, Keroplatidae und Mycetophilidae sind unter den meisten europäischen Autoren mit dem Begriff Pilzmücken bekannt. Der größte Teil der Pilzmücken sind ihrem Lebensmilieu gegenüber ziemlich anspruchsvoll. Einige entwickeln sich als Larven in den Pilzen, andere wiederum im Holzgewebe der toten Bäume oder an den Holzpilzen. Die erwachsenen Pilzmücken sind besonders für die feuchten Waldzonen üblich (Kjærandsen, J. & Jordal, J.B., 2007). Vorläufig besteht in Bulgarien eine Liste von 316 Arten Pilzmücken wie Diptera, Bolitophilidae, Diadocidiidae, Ditomyiidae, Keroplatidae und Mycetophilidae (Bechev, 2006; 2010). Im Vergleich zu Bulgarien ist diese Zahl in Deutschland doppelt so hoch. Anders gesagt beträgt die Anzahl der Pilzmücken in Deutschland 684, von denen 594 Mycetophilidae (Kallweit, U. & E.Plassmann, 2016), 22 Arten Bolitophilidae (Kallweit, U. & E.Plassmann, 2015), 4 Arten Diadocidiidae (Kallweit, 2015), 4 Arten Ditomyiidae. (Kallweit, U. & E.Plassmann, 2001) und 60 Arten Keroplatidae. (Kallweit, U. & E.Plassmann, 2016). Wenn man die biologische Mannigfaltigkeit in Bulgarien und auf der gesamten Balkanhalbinsel berücksichtigt, lässt sich schließen, daß noch eine Menge Arbeit für die Erforschung der Pilzmücken in Bulgarien erforderlich ist. In Deutschland verläuft zur Zeit der Projekt GBOL, dessen Ziel es ist, Inventar und genetische Charakteristik der Pflanzen- und Tierwelt, sowie der Pilze in Deutschland aufzunehmen. Der führende Partner dieses Projektes ist das Alexander-König-Museum. Die Diptera Gruppe hat schon bedeutende Ergebnisse über Sciaridae gnats erreicht (Eisemann et al, 2016; Heller & Rulik, 2016; Geiger et. Al, 2016, Sevcik et al., 2016; Weber et al. in press). Die Fortsetzung der Forschungsarbeiten an Materialien aus Bulgarien und dem Balkan durch die morfologische und Molekülanalyse kann zu neuen und interessanten Angaben führen. Diese Angaben können in der Zukunft mit ökologischen und bioinformativen Forschungen verglichen werden, was wichtige Konsequenzen ergeben kann. Nachher kann man daraus schließen, welche Pilzmücken als Bioindikator bezeichnet und unter Naturschutz gestellt werden sollten. Ein solches Vorhaben lässt sich auch durch meine Doktorarbeit zum Thema „Forschung der Fauna von Bolitophilidae, Diadocidiidae, Ditomyiidae, Keroplatidae und Mycetophilidae (Diptera) in Bulgarien, Griechenland und der Türkei“ vollbringen.

## **Methoden; Darstellung der angewandten Methoden:**

Vom Anfang an wurden mir verschiedene Arbeitsmethoden und Standardprozeduren (SOPs) beigebracht, mit denen ich bis damals keine Erfahrung gehabt hatte. Viele grundsätzliche faunistische und taksonomische Arbeitsmethoden, die ich in Bulgarien nicht kannte, wurden mir dadurch vertraut.

### Faunistische und taksonomische Methoden:

Für jeden Fachmann in Zoologie ist das Umgehen und Auslesen des Mustermaterials eine der wichtigsten Fertigkeiten. Das trifft besonders für das Material von Wirbellosen zu, wo verschiedene Gruppen von Lebewesen vertreten sind. Ein typisches Beispiel dafür sind die Materialien aus der Malaisefalle. Da ich keine Erfahrung mit dem Auslesen einer Malaisefalle hatte, war es für mich günstig, sich mit der Methode vertraut zu machen. Ich lernte eine Menge Beispiele aus einer österreichischen Malaisefalle kennen. Ich ordnete sie in Gattungen (Suborder) ein. Anschließend identifizierte ich sie nach ihren Familien (Nematocera Familien). Dabei wurden ihre Anzahl und das Verhältnis zwischen den Geschlechtern in der jeweiligen Familie festgestellt. Zuletzt wurden sie mit einer Code gekennzeichnet.

Der nächste Schritt war die Bestimmung der Pilzmücken. Glücklicherweise fand ich unter den Beispielen aus der österreichischen Malaisefalle etwa 600 Pilzmücken. Dazu kamen noch fast 300 Beispiele aus Bulgarien und der Türkei, die ich mitgebracht hatte. Herr Björn Rulik und die Leitung des Museums stellten mir einen neuen Stereomikroskop, einen Computer mit Internet und Zutritt zur Datenbank des Museums zur Verfügung. Ebenso hatte ich Zugang zur Bibliothek des Museums. Ethanol, Reagenzgläser, eine Schachtel für die trockenen Insekten, Chemikalien, Büchsen and Ähnliches standen mir auch zur Verfügung.

### Feldforschungsmethoden:

Die Probestücke zur Untersuchung habe ich in der Umgebung von Bonn (Venusberg) und im Siebengebirge (Höhle Ofenkaulen) gesammelt. Dort kommen interessante Arten von Pilzmücken vor. Diese Probestücke sind von mir bereits bearbeitet und zur Untersuchung vorbereitet worden. Im Januar werden sie dann in die richtige Reihenfolge getan.

In der Umgebung von Bonn habe ich mich an einer Feldforschung unter der Leitung von Herrn Rulik beteiligt. Die Aufgabe bestand darin, den Ethanol in den Flaschen von zwei voneinander entfernten Malaisefallen zu ersetzen. Dabei habe ich gelernt solche Fallen aufzubauen. Es gilt, dass Malaisefallen in Richtung Süden, unweit vom Gebüsch, aufgestellt und mit Schildern für die neugierigen Passanten versehen werden sollten.

### Vorbereitungstechniken für barcoding Processing:

Der Vorgang umfasst folgende Schritte

- die Vorbereitung einer Box mit 95 Mustern, jeweils mit einer eigenen Identifikationsnummer
- die Vorbereitung einer Excelliste mit allen meta Angaben wie Taxonname, geographische Koordinaten der Fundstelle, Geschlecht, Alter, Datum der Musterentnahme, Name des Musterentnehmers usw.
- das Aufnehmen jedes Insekts
- Herausziehen von DNA, und Kennzeichnen eines Teils der Kette

### Foto-Methode:

Das fotografische Verfahren ist ein ganz eigenartiger Vorgang. Dafür gibt es ein Handbuch, das ich für die künftigen Kollegen ins Englische und Bulgarische übersetzen möchte. Die Camera ist Canon EOS 60D und durch Kabel mit dem Computer verbunden. Mit auf 250 Grad sterilisierten Lanzetten wird der Insekt unter den Fotoapparat gestellt. Nach dem Aufnehmen wird der Insekt ins Reagenzglas zurück gebracht. Inzwischen muss der Ethanol im Reagenzglas bereits gewechselt worden sein. Zum Redaktieren werden die Software Programme EOS Utility und Digital Photo Professional gebraucht, und zum Mastabieren wiederum das Programm

ImageJ.

#### Das Verfahren der DNA Extraction (Herausziehen):

Im Labor wird aus dem Gewebe des Tieres eine Gewebeprobe entnommen und in den so genannten S Block übertragen. Der S Block enthält 96 Nester, die mit spezifischen Puffern und Proteinase für das DNA Herausziehen gefüllt sind. Falls das Objekt ziemlich klein ist, wie im Falle eines Insektes, wird kein einzelnes Gewebestück, sondern ein ganzes Glied oder das ganze Tier zum Herausziehen genommen. So war es bei mir mit dem DNA Herausziehen von Insekten. Nachher wird der Block in ein Thermoschüttelgefäß bei 55 Grad C und 300 Drehzahlen pro Minute die Nacht über für 12 Stunden gelassen. Am darauffolgenden Morgen beginnt im Labor die Vorbereitung von Puffern und PCR Processing. Der Befund wird in ein weiteres Labor zur Einordnung geliefert. Das entgeltliche Sequencing Resultat wird in drei Wochen zurück geschickt. Es besteht ein GBOL Handbuch, das ich versuchen möchte, ins Englische und Bulgarische zu übertragen.

#### Bioinformatische Methoden:

Außerdem habe ich mich an einer Werkstatt zur CTscan Rekonstruktion und Bildbearbeitung beteiligt. Ich habe geübt und das Umgehen mit DataViewer, CTvox, ImageJ, ITKsnap, Reconstruct, MeshLab, Drishti und Blender beherrscht. Dieses Software Programm wird zur Erzeugung von 3D oder Videos von Gewebe und Knochen eingesetzt. Nachträglich lässt sich jedes Glied des Insektes in 3D abdrucken und xmal vervielfältigen, damit es sichtbar wird, wie alles funktioniert. Auf diese Weise haben meine Kollegen am Museum ein 500mal vergrößertes Beispiel von *Ctenosciara hyalipennis* schaffen können. Momentan befasse ich mich mit einer riesengroßen Datenbank namens Diversity Work Bench. Laut meinen Kollegen scheint sie bei der Regelung von Sammlungen, Projekten, Taxonen und Arten nützlich zu sein.

#### Arbeitsverfahren mit Bibliothekskatalogen:

Die Bibliothek am Museum König ist Teil des Online Netzes von Bibliotheken in ganz Deutschland. So habe ich gelernt wissenschaftliche Studien aus diesem Netz herunterzuladen. Dieses Verfahren war für mich bis dahin neu, weil es an meiner Universität kein solches Netz gegeben hatte. Zu dem Zeitpunkt arbeite ich vorwiegend mit der Zeitschriftendatenbank (ZDB) sowie mit dem Online Katalog des Museums König Web OPAC.

#### Teamarbeitfertigkeiten:

Ich habe mich dem Studentenklub am Museum König angeschlossen. Mitglieder dieser Organisation sind Studenten nicht nur aus Deutschland, sondern auch aus dem Ausland. Ihr Ziel ist der Gedankenaustausch, die Unterstützung der Studenten bei der Projektbewerbung und die gegenseitige Hilfe unter ihnen zu fördern.

Infolge meiner Teilnahme an dem jährlichen Treffen der GBOL Mitwirkenden habe ich nicht nur Informationen betreff der GBOL Projekte und Tätigkeiten aus erster Hand erlangt, sondern auch Kollegen und Sachverständige im Bereich des GBOL Projektes aus verschiedenen Regionen Deutschlands kennengelernt.

Am Internationalen Diptera Tag (15. November) haben sich alle Kollegen von der Diptera Abteilung am Museum zusammen getan. Insgesamt waren es 10 Leute: Deutsche, eine Portugiesin, ein Tscheche, ein Kanadier und eine Bulgarin. Wir haben über den Projekt und seine internationale Präsentation Ideen ausgetauscht.

#### **Ergebnisse:**

Meine Erfahrungen mit dem Auslesen und Kennzeichnen verschiedener Insektenfamilien auf eine bestimmte Art und Weise haben sich wesentlich erweitert. Das trifft ebenso für das Aufnehmen der Mustern zu. Ich weiß schon besser mit dem Quellenverzeichnis umzugehen und die erwünschten Studien zu meiner Datenbank hinzuzufügen.

Wir haben einige Probestücke von Pilzmücken aus Bulgarien und der Türkei

untersucht, weil sie schienen nicht in gutem Zustand zu sein. Leider haben wir von den insgesamt 24 getesteten Stücken nur 10 Ergebnisse bekommen. Es steht fest, dass Probestücke, die älter als 25 Jahre sind, kein Resultat ergeben können. Von den Probestücken aus Bulgarien entstanden keine Ergebnisse, wahrscheinlich deswegen, weil sie zu alt sind und keine DNA mehr enthalten. Die Probestücke aus der Türkei haben zu 50% positiv reagiert. Darum ist es wichtig bei den weiteren Forschungen der türkischen Mustern ihr Alter in Rücksicht zu nehmen.

Es folgt Erläuterung zu den Ergebnissen aus dem beigelegten Foto.

Wir haben noch eine Familie Trichoceridae getestet und haben damit bewiesen, dass das Identifizieren einer Art durch die Barcode gut funktioniert. Der nächste Testversuch, diesmal der Familie Thaumaleidae, ist nicht gelungen, weil keine entsprechende Reihenfolge in GBOL und BOLD vorhanden war. Das bedeutet Thaumalea sp. das Weibchen ist erstmalig eingeordnet worden und gehört zu keiner der bekannten Arten.

Es bestehen weitere Probestücke aus der Türkei und Österreich, die ich vorbereitet habe. Sie unterliegen auch der Einordnung und Codierung, was Anfang Januar zustande kommt. Also können wir mit den Ergebnissen Anfang Februar rechnen.

### **Diskussion:**

Bis Ende Dezember habe ich mir wichtige neue Arbeitsverfahren angeeignet. Das größte Verdienst dafür gehört der Leitung des Alexander- König-Museums und meinem wissenschaftlichen Leiter Herrn Björn Rulik. Besonders viel verdanke ich auch meinen Kollegen aus dem Projekt GBOL. Der Zeitraum reicht aber nicht aus, um von Molekularforschungen in der Tat reden zu können.

Ich habe Erfahrung in der grundsetzlichen Arbeitsmethode betreffs des Auslesens und des Vorbereitens von Mustern erworben, bevor sie dem eigentlichen Arbeitsvorgang unterstellt werden. Es bleiben immer noch zwei Aufgaben übrig, die ich erfüllen soll. Die erste betrifft meine Praxis im Labor und das DNA Herausziehen. Die zweite Aufgabe geht die Barcode Kennzeichnung der Beispiele aus Bulgarien an. Diese Ergebnisse können sich als günstig auch für meine Doktorarbeit erweisen, denn das Thema hängt mit dem Territorium Bulgariens zusammen. Die Angaben zu den Mustern aus Bulgarien, sowie das Erwerben von neuen Fertigkeiten und Arbeitsverfahren wäre die beste Leistung, die ich mir von meiner Beteiligung am Projekt wünschen könnte.

Zu Weihnachten war ich in Bulgarien und habe neuere Probestücke mitgebracht. Sie stammen aus den Malaisefallensammlungen des Plovdiver Naturmuseums. Das bedeutet, dass ich in den kommenden zwei Monaten diese Probestücke einzuordnen und zu bestimmen habe. Nachher sollte man diese Mustern auf den Pipeline Vorgang vorbereiten. Bis zum entgültigen Ergebnis kann es aber mehr als zwei Monate dauern.

Während des Stipendiantenprogramms will ich die schon beherrschte Technik dazu gebrauchen, wissenschaftliche Studien aus dem Katalog der Bibliothek herauszusuchen. Das ist für mich als Anfänger äußerst wichtig, da ich sonst entweder keinen oder nur einen bezahlten Zutritt zu solchen Quellen habe. In meiner Datenbank gibt es bereits Referenzen von 2715 Veröffentlichungen. Wenn ich dazu noch mehrere hinzufügen könnte, wäre es vom großen Nutzen für die weitere Forschung der Pilmücken.

Bedauerweise habe ich im bisherigen Studium an der Plovdiver Universität keine bioinformatische Ausbildung durchgemacht. Deshalb schätze ich die hier erworbenen Kenntnisse und Fertigkeiten in der 3D Werkstatt hoch ein. Ich will mich auch in der Zukunft mit der Datenbank Diversity Work Bench befassen. Anfang Januar bekomme ich von der Universität ein Schlüsselwort, dann mache ich unter der Leitung von Herrn Rulik eine Schulung betreffs der Anwendung von R scripts und Perl scripts durch. Dieses kostenlose Programm hilft bei statistischen Berechnungen,

insbesondere wenn es um zahlreiche Reihenfolgen geht. (Astrin et al., 2016; Rulik et al., 2017).

Im Laufe meiner Tätigkeit am Museum habe ich mich mit bioinformatischen und Molekülmethoden vertraut machen können. Die genetischen und die ökologischen Forschungen bedürfen allerdings wesentlich mehr Information und Materialien. Das lässt sich in den kommenden Jahren meiner Ausbildung vollziehen. Was die genetischen Forschungen betrifft, sind zahlreiche Mustern einer und derselben Art erforderlich, die jedoch aus verschiedenen Regionen herkommen. Nur dann kann ich vergleichen. Daraus folgt, dass ich mindestens zwei Jahre benötigen werde, um die Malaisefallen in verschiedenen Regionen aufzustellen. Was die ökologischen Forschungen anbelangt, werde ich zusätzliche Information betreffs der Fundstelle (biogeographische Region, Klimabedingungen, Jahr der Probeentnahme, Wohnstätte, abiotische und biotische Bedingungen usw.) gebrauchen. Das soll für mindestens zwei Jahre lang gemacht werden, indem Malaisefallen an verschiedenen Wohnstätten in den UTM Zonen Bulgariens aufgebaut werden. Erst nach dieser Feldforschung und im Einklang mit den erworbenen bioinformatischen und Molekülmethoden lässt es sich schließen, welche Arten von Pilzmücken als Bioindikator und für Bulgarien von Bedeutung eingeschätzt werden können.

### **Arbeitsplan und Begründung:**

Es gibt noch einige grundsätzliche Ergebnisse, welche ich erzielen soll.

- Erfahrung mit der Entziehung von DNA und der Laborbehandlung. Meine bisherige Erfahrung in dieser Hinsicht besteht in dem Entnehmen von Gewebeprobe und im Vorgehen unter Laborumständen laut eines gewissen Arbeitsprotokolls. Um meiner Fertigkeiten sicher sein zu können, brauche ich mindestens 2 Tage wöchentlich im Laufe von 4 bis 5 Monaten, d. h. von Januar bis Mai, im Labor zu verbringen.
- Erlangen von Barcoding Ergebnissen für das Pilzmückenprobematerial aus Bulgarien. Das bedeutet, dass die Probestücke zunächst bestimmt, weiter fotografiert und dann auf das DNA Herausziehen und das DNA Identifizieren vorbereitet werden sollen. Auf diese Weise habe ich bis jetzt 300 Probestücke bearbeiten können, was mir länger als einen Monat in Anspruch genommen hat. Falls ich an die neuen Probestücke, die ich aus Bulgarien nach den Weihnachtsferien mitgebracht habe, zurück denke, kann die gesamte Prozedur ungefähr 4-5 Monate andauern, also von Januar bis Mai 2018.
- Erlangen von Fertigkeiten im R-Programmieren. Das ist erforderlich, damit man die Angaben richtig organisieren kann. Heutzutage geschieht es mithilfe bioinformatischer Software Programme. Das kann für jederlei zusätzliche Forschungen von Nutzen sein, allerdings nimmt die Schulung darin mindestens eine Woche in Anspruch und die Praxis noch viel länger, meiner Einschätzung nach bis Februar 2018.
- Veröffentlichung der Ergebnisse. Wir wollen zwei Artikel zur Veröffentlichung fertig stellen. Einer befasst sich mit den Ergebnissen von den Probestücken aus Österreich, der zweite ist den Ergebnissen von den Balkanprobestücken gewidmet. Das Konzept der beiden Artikel soll bis Ende meines Stipendiantenprogramms angefertigt werden. Doch die Veröffentlichung in der wissenschaftlichen Presse kann manchmal ziemlich lange dauern. Mai – Juni 2018
- Scannen von Kopien wissenschaftlicher Studien, die ich in meiner Datenbank vermisste. Zur Zeit habe ich in meiner Datenbank EndNote etwa 2700 Referenzbriefe über wissenschaftliche Studien auf Lager. Nicht alle verfügen aber über den vollständigen Inhalt. Ich habe mir vorgenommen, von Februar bis Mai je einen Tag pro Woche in der Bibliothek zu verweilen, um durch die Suchmethoden meine Datenbank mit den vermissten Texten zu ergänzen.

### **Veröffentlichungen:**

Wir planen eine Teilnahme am 35 Deutschen Dipteratreffen im Juni 2018. Da wollen wir unsere bisherigen Ergebnisse jeweils von den Mustern aus Österreich und aus den Balkanländern in zwei selbstständigen Studien präsentieren.

### Quellenverzeichnis:

- Astrin, J.J., Höfer, H., Spelda, J., Holstein, J., Bayer, S., Hendrich, L., Huber, B.A., Kielhorn, K., Krammer, H., Lemke, M., Monje J.C., Morinière, J., Rulik, B., Petersen, M., Janssen, H. & Muster, C. 2016. Towards a DNA Barcode reference database for spiders and harvestmen of Germany. – PLoS ONE - 11(9): e0162624. [DOI](#)
- Bechev, D. 2006. The fungus gnats of the families Bolitophilidae, Diadocidiidae, Ditomyiidae and Keroplatidae (Diptera: Sciaroidea ) of Bulgaria. – Scientific Studies of the University of Plovdiv, Biology, Animalia - 42: 21 – 83. [Full text](#)
- Bechev, D. 2010. On the family Mycetophilidae (Insecta: Diptera) in Bulgaria. – ZooNotes - Supplement 1, 72 pp. [Full text](#)
- Eiseman, C.S., Heller, K. & Rulik, B. 2016. A new leaf-mining dark-winged fungus gnat (Diptera: Sciaridae), with notes on other insect associates of marsh marigold (Ranunculaceae: *Caltha palustris* L.) - Proceedings Washington Entomological Society - 118(4), 2016, pp. 519–532. [DOI](#)
- Geiger, M., Moriniere, J., Hausmann, A., Haszprunar, G., Wägele, W., Hebert, P. & Rulik, B. 2016. Testing the Global Malaise Trap Program – How well does the current barcode reference library identify flying insects in Germany? - Biodiversity Data Journal - 4. [DOI](#)
- Heidari Latibari, M., Moravvej, G., Heller, K., Rulik, B. & Sadeghi Namaghi, H. 2015. New records of Black Fungus Gnats (Diptera: Sciaridae) from Iran, including the reinstatement of *Bradysia cellarum* Frey. - Studia dipterologica - 22 (1) 2015: 39–44 [Abstract](#)
- Heller, K. & Rulik, B. 2016. *Ctenosciara alexanderkoenigi* sp. n. (Diptera: Sciaridae), an exotic invader in Germany? – Biodiversity Data Journal – Sofia, 4: e6460. [DOI](#)
- Kallweit, U., & Plassmann, E. 2001. Family Ditomyiidae. On: Beuk, P.L.Th. (Ed.): Fauna Germanica - Diptera: [http://\(www.diptera-info.nl/germany\(news.php?fam=Ditomyiidae\)](http://(www.diptera-info.nl/germany(news.php?fam=Ditomyiidae)). (Visited: 14(12(2017.))
- Kallweit, U., & Plassmann, E. 2015. Family Bolitophilidae. On: Beuk, P.L.Th. (Ed.): Fauna Germanica - Diptera: [http://\(www.diptera-info.nl/germany\(news.php?fam=Bolitophilidae\)](http://(www.diptera-info.nl/germany(news.php?fam=Bolitophilidae)). (Visited: 14(12(2017.))
- Kallweit, U., & Plassmann, E. 2015. Family Diadocidiidae. On: Beuk, P.L.Th. (Ed.): Fauna Germanica - Diptera: [http://\(www.diptera-info.nl/germany\(news.php?fam=Diadocidiidae\)](http://(www.diptera-info.nl/germany(news.php?fam=Diadocidiidae)). (Visited: 14(12(2017.))
- Kallweit, U., & Plassmann, E. 2016. Family Keroplatidae. On: Beuk, P.L.Th. (Ed.): Fauna Germanica - Diptera: [http://\(www.diptera-info.nl/germany\(news.php?fam=Keroplatidae\)](http://(www.diptera-info.nl/germany(news.php?fam=Keroplatidae)). (Visited: 14(12(2017.))
- Kallweit, U., & Plassmann, E. 2016. Family Mycetophilidae. On: Beuk, P.L.Th. (Ed.): Fauna Germanica - Diptera: [http://\(www.diptera-info.nl/germany\(news.php?fam=Mycetophilidae\)](http://(www.diptera-info.nl/germany(news.php?fam=Mycetophilidae)). (Visited: 14(12(2017.))
- Kjærandsen, J. & Jordal, J.B. 2007. Fungus gnats (Diptera: Bolitophilidae, Diadocidiidae, Ditomyiidae, Keroplatidae and Mycetophilidae) from Møre og Romsdal. - Norwegian Journal of Entomology - 54(2): 147-171. [Abstract](#)
- Rulik, B., Eberle, J., von der Mark, L., Thormann, J., Jung, M., Köhler, F., Apfel, W., Weigel, A., Kopetz, A., Köhler, J., Fritzl, F., Hartmann, M., Hadulla, K., Schmidt, J., Hörren, T., Krebs, D., Theves, F., Eulitz, U., Skale, A., Rohwedder, D., Kleeberg, A., Astrin, J. J., Geiger, M. F., Wägele, W. J., Grobe, P. & Ahrens, D. 2017: Using taxonomic consistency with semi-automated data pre-processing for high quality DNA barcodes. - Methods in Ecology and Evolution – Oxford, [DOI](#)
- Ševčík, J., Kaspřák, D. & Rulik, B. 2016. A new species of *Docosia* Winnertz from Central Europe, with DNA barcoding based on four gene markers (Diptera,

Mycetophilidae). – Zookeys - 549: 127-143. [DOI](#)  
Weber, D., Frantz, A. C., Hippa, H., Vilkkamaa, P., Rulik, B., & Heller, K. (in press).  
*Camptochaeta luxemburgensis* Heller, Hippa & Vilkkamaa spec. nov. (Diptera:  
Sciaridae), a new cavernicolous species from Luxembourg. - Studia dipterologica –  
23.

Websites:

GBOL project: <https://www.bolgermany.de/wp/>

Forschungsmuseum Koenig: <https://www.zfmk.de/de>

3D-Rekonstruktion einer Trauermücke. ©: "Rühr & Rulik [CC BY-SA 4.0]" -  
<https://www.youtube.com/watch?v=j7xd3BUEzoA>