

Aus dem Department für Pathobiologie  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

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

**Trypanosomatidae und Filarien in  
Sing- und diversen Raubvögeln in Österreich**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

Vorgelegt von  
Janina Schwarz

Wien, im Oktober 2021

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

Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Herbert Weissenböck, Dipl. ECPHM  
Institut für Pathologie, Department für Pathobiologie,  
Veterinärmedizinische Universität Wien

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Diplomarbeit unterstützt und motiviert haben.

Zunächst gebührt mein Dank Herrn Dr. Hans-Peter Fuehrer, der mir dieses Thema zur Verfügung gestellt und sich immer Zeit genommen hat, meine Fragen zu beantworten. Außerdem möchte ich mich für die hilfreichen Anregungen und die Begutachtung dieser Arbeit bedanken.

Ein großes Dankeschön geht auch an Barbara Eigner. Vielen lieben Dank für die geduldige Einführung in die Laborarbeit und auch ihre Unterstützung im Labor. Auch möchte ich mich bei Herrn Dr. Josef Harl und Tanja Himmel vom Institut der Pathologie bedanken, dass sie die Proben zu Verfügung gestellt haben.

Ein weiterer Dank geht an Sophie Schubert, die sich die Zeit genommen hat die Diplomarbeit Korrektur zu lesen und mir mit viel Geduld und Hilfsbereitschaft zur Seite gestanden ist.

Großer Dank geht auch an meine Freunde, die die Studienzeit unvergesslich machen, wir uns gegenseitig immer wieder aufs Neue motivieren und ohne sie das Studium nur halb so viel Spaß machen würde.

Schlussendlich möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, dass sie mir während des Studiums immer zu Seite stehen, mich bei allem unterstützen und ohne sie das Studium nicht möglich gewesen wäre.

# Inhalt

<b>1. Einleitung und Fragestellung</b> .....	1
<b>1.1 Raubvögel (Raptores)</b> .....	2
1.1.1 Taxonomie .....	2
1.1.2 Morphologie .....	6
1.1.3 Verbreitung und Lebensraum .....	7
1.1.4 Lebensweise .....	8
<b>1.2 Singvögel (Passeri)</b> .....	9
1.2.1 Taxonomie .....	9
1.2.2 Morphologie .....	12
1.2.3 Verbreitung und Lebensraum .....	18
1.2.4 Lebensweise .....	18
<b>1.3 Trypanosomen</b> .....	19
1.3.1 Taxonomie und Bedeutung.....	19
1.3.2 Morphologie .....	21
1.3.3 Übertragung .....	22
1.3.4 Vogeltrypanosomen .....	24
<b>1.4 Filarien</b> .....	26
1.4.1 Allgemeines .....	26
1.4.2 Lebenszyklus .....	27
1.4.3 Vogelfilarien .....	29
<b>2 Material und Methode</b> .....	32
<b>2.1 Material</b> .....	32
2.1.1 Raubvögel .....	32
2.1.2 Singvögel .....	37
<b>2.2 DNA-Extraktion</b> .....	42
<b>2.3 PCR</b> .....	45
2.3.1 Prinzip .....	45
2.3.2 Nested PCR.....	46
2.3.3 Touchdown PCR.....	46
2.3.4 PCR zum Nachweis von Trypanosmatida .....	47
2.3.5 PCR zum Nachweis von Filarioidea.....	48
<b>2.4 Gelelektrophorese</b> .....	51
<b>2.5 Sequenzierung</b> .....	52

<b>2.6</b>	<b>Blutausstriche</b> .....	<b>53</b>
<b>2.6.1</b>	<b>Färbemethoden</b> .....	<b>53</b>
<b>2.6.2</b>	<b>Begutachtung</b> .....	<b>53</b>
<b>2.7</b>	<b>Statistische Methoden</b> .....	<b>53</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>54</b>
<b>3.1</b>	<b>Raubvögel</b> .....	<b>54</b>
<b>3.2</b>	<b>Singvögel</b> .....	<b>55</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>61</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>65</b>
<b>6</b>	<b>Abstract</b> .....	<b>66</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>67</b>
<b>8</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>73</b>
<b>9</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>74</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AGES	Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit
Bp	Basenpaare
COI	Untereinheit I der Cytochrom-c-Oxidase
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleosid-Triphosphat
FIWI	Forschungsinstitut für Wildtierkunde und Ökologie
HAT	Humane Afrikanische Trypanosomiasis
L1-L4	Larvenstadium 1 bis 4
p.i.	post infectionem
PCR	Polymerase Kettenreaktion
RAPD	randomly amplified polymorphic DNA
RNA	Ribonukleinsäure
<i>T.</i>	Gattung <i>Trypanosoma</i>
Tab.	Tabelle
TCS-Projekt	Top Citizen Science Projekt
TBE Puffer	TRIS-Borat-EDTA-Puffer
sp.	Spezies (Singular)
spp.	Spezies (Plural)
SSU rRNA	small subunit ribosomal RNA
U/min	Umdrehungen pro Minute
Vetmeduni Vienna	Veterinärmedizinische Universität Wien



# 1. Einleitung und Fragestellung

Im Rahmen dieser Studie werden die Familie der Trypanosomatidae und die Überfamilie der Filarioidea bei Raub- und Singvögeln behandelt. Die beiden Parasitengruppen führen sowohl beim Menschen als auch bei Tieren zu schweren Erkrankungen. Die aviären Trypanosomen- und Filarienarten wurden im Gegensatz zu den Arten, die bei Menschen bekannt sind, als apathogen und wirtschaftlich irrelevant eingestuft. Daher sind sie weit weniger erforscht, als die Arten, die pathogen für den Menschen sind (Zídková et al. 2012).

In vorangegangenen Studien wurden in Österreich *Trypanosoma avium* und *T. culicavium* in Stechmücken nachgewiesen (Schoener et al. 2018). Des Weiteren hat man aus in Österreich lebenden ornithophilen Stechmücken nicht genauer differenzierte filarioide Helminthen DNA nachgewiesen, wobei es sich vermutlich um aviäre Filarien handelt (Schoener et al. 2019).

Für die Arbeit wurden Blutproben und Blutausstriche von Raub- und Singvögeln aus Österreich verwendet, die auf Infektionen mit Trypanosomen und Filarien untersucht wurden.

Es wurde folgende Hypothese aufgestellt:

- Trypanosomen und nah verwandte Vertreter der Familie Trypanosomatidae, sowie diverse Filarien können in Österreich in Sing- und diversen Greifvögeln nachgewiesen werden
- Trypanosomatidae, die in Vorstudien in Österreich Stechmücken nachgewiesen wurden (z.B. *Trypanosoma avium* und *T. culicavium*) parasitieren in diesen Vögeln
- Insektenfressende Singvögel sind häufiger von Trypanosomen betroffen, als andere Singvögel

Ziel dieser Arbeit war es, mit Hilfe molekularbiologischer Untersuchungen der Blutproben und der Durchmusterung von Blutausstrichen, Trypanosomen- und Filarieninfektionen bei Raub- und Singvögeln in Österreich nachzuweisen und die in Österreich vorhandenen Spezies dieser Parasiten zu erfassen.

## 1.1 Raubvögel (Raptores)

### 1.1.1 Taxonomie

Der Begriff „Raptor“ wird als Raubvogel und Greifvogel austauschbar verwendet, um nacht- und tagaktive fleischfressende Vögel zu definieren. Dazu zählen Falken, Adler, Bussarde, Geier und Eulen (McGraw und Berger 2013). Um jegliche Verwirrung vorweg zu vermeiden, wird in dieser Arbeit stellenweise von Raptoren, Greifvögeln oder Raubvögeln gesprochen, die aber alle dasselbe beschreiben.

Die Raubvögel gehören zu den Vögeln, die ihre Beute jagen und anschließend töten, aber unter ihnen gibt es auch Vertreter, die Aasfresser sind (Adawaren et al. 2020). Die Definition des Begriffes „Raptor“ sorgt stellenweise für Verwirrung. Die ähnlichen morphologischen Merkmale der einzelnen Raubvogelarten hat die Taxonomie die letzten Jahrhunderte verschleiert. Hauptursache waren die Schwierigkeiten die Konvergenz von den wirklichen evolutionären Beziehungen zu differenzieren (McClure et al. 2019). Auch in der Bestimmung über die biologische Systematik der Individuen gab es einige Unstimmigkeiten. Im Folgenden wird kurz auf die verschiedenen Ansichten der taxonomischen Einteilung eingegangen:

So waren die Ordnungen der Passeriformes (Sperlingsvögel), die Familien der Corvidae (Rabenvögel) und die Gattung *Corvus* (Kokkrabe) die Quellen für die Meinungsverschiedenheiten über die Definition und die Qualitäten der Raptoren. Die Passeriformes haben zwar das Greifverhalten und die Morphologie eines Raubvogels, werden aber nicht als diese kategorisiert (Brown 1970). Nichts desto trotz werden sie in Studien aufgrund der räuberischen Ökologie, der Lebensweise der Raubvögel und der daraus resultierenden Äquivalenz als diese eingestuft (Duerr et al. 2015). Auch die Gattung *Corvus* (Kokkrabe) wird häufig in Studien aufgrund ihrer ökologischen Gleichwertigkeit zu den Raubvögeln gezählt (Hardey et al. 2013). Außerdem haben die ökologischen Ähnlichkeiten zur nochmaligen Auseinandersetzung mit der genauen Taxonomie geführt, inwieweit Lebensgeschichte, Nischen- und Arteninteraktionen bisher bei der Kategorisierung bedacht wurden (McClure et al. 2019).

Auch die Zuordnung von Eulen (Strigiformes-Eulenartige) in die Familie der Raubvögel, die laut Bildstein (2017) das „nächtliche Äquivalent“ zu den Raubvögeln sind, fehlt bis heute (Bildstein 2017). Tagaktive Greifvögel galten innerhalb der Ordnung Falconiformes (Falkenartige) als monophyletisch. Dies rechtfertigt die Differenzierung von Strigiformes und Falconiformes in zwei monophyletische Gruppen (McClure et al. 2019).

Die Raptoren sind laut Brown (1971) Vögel, die andere lebende Tiere erbeuten. Er ist zu dem Schluss gekommen, dass in diese Definition die meisten Vogelgruppen miteingeschlossen werden, z.B. auch die Möwen und Grassänger. Eine andere Bezeichnung „raptorial“ bedeutet so viel wie, dass sich die Vögel von Wirbeltieren ernähren. So kam auch Hackett et al. (2008) zu dem Schluss, dass die Strigiformes nicht nahe verwandt zu den Falconidae (Falkenartige) und den Accipitridae (Greifvögelartige) sind. Jedoch ist laut Jarvis et al. (2014) die verwandtschaftliche Nähe eher zu den Accipitriformes (Greifvögelartige) gegeben.

Eine weitere Einschränkung in der Definition gibt die Ernährungsweise. Zu den Raubvögeln zählen Falken bis hin zu Adlern, die oft eine ähnliche Ernährung haben, welche aus kleinen Wirbeltieren und Insekten besteht. Nicht alle von ihnen sind ähnlich jagdlich aktiv. Daher könnten sie nur unter dem Aspekt der Ernährungsweise als Raubvögel eingestuft werden (Brown 1970). Es gibt neuere Studien, die belegen, dass Falken (Falconiformes) eine engere Verwandtschaft mit Papageien (Psittaciformes) und Singvögeln (Passeriformes) vorweisen als mit den meisten anderen Greifvögeln (Accipitriformes) (McClure et al. 2019).

Die Definition der Raubvögel wurde neben der Grundlage der Ernährung auch auf ihre räuberische Ökologie gemacht. Eigentlich wurde der Begriff „Raptor“ auf ein breites Spektrum von Tieren angewendet. Darunter fielen auch die ausgestorbenen gefiederten Theropoden-Dinosaurier der Familie der Dromaeosauridae (Farquhar 2017). Die unterschiedlichen Greifvogelarten sind morphologisch recht ähnlich. Daher ist es in den letzten Jahrhunderten schwierig gewesen die verschiedenen Arten in der Taxonomie einzuteilen, da die evolutionären Beziehungen schwierig zu unterscheiden sind. Jedoch behaupten viele Autoren, dass zwischen den Charakteren der Raubvögel und der, die als Raubvögel gelten, eine konvergente Evolution zurückzuführen ist (McClure et al. 2019). Bildstein (2017) meinte, dass dies wegen der biologischen Ähnlichkeit zwischen den Raubvogelgruppen und nicht wegen der gemeinsamen Evolutionsgeschichte ist (Bildstein 2017). Eine taxonomische Einteilung ist in Abbildung 1 (Abb.) ersichtlich (McClure et al. 2019).

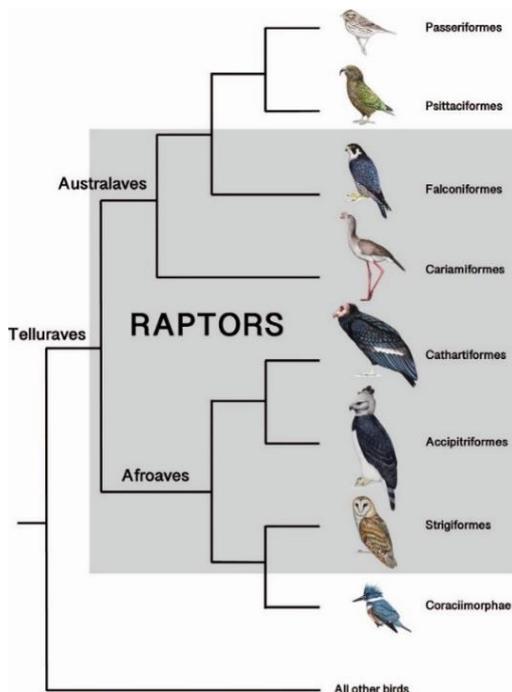
Geier gehören auch zur Ordnung der Greifvögel und damit zu den Raubvögeln. Sie würden aber aufgrund ihrer unbeachteten gelegentlich vorkommenden Jagdbeobachtungen ausgeschlossen werden, wenn das Merkmal eines Raubvogels auf Grundlage der Jagd auf lebende Beute beruhen würde. Außerdem unterscheiden sie sich im Fehlen von scharfen Krallen, in der Ökologie und Morphologie, im Vergleich zu den Greifvögeln wie Adler oder Falken. Brown (1971) nahm sie dennoch in seine Literatur auf. Später kam noch hinzu, dass die Unterscheidung zwischen Neu- und Altweltgeiern ebenfalls eine Rolle spielt. Die Geier der

neuen Welt bekamen ihre eigene Ordnung, Cathartiformes, die eine Schwester der Accipitriformes ist (Chesser et al. 2016; Hackett et al. 2008). Fast alle fleischfressenden Wirbeltiere gehören tatsächlich zu den fakultativen Aasfressern (DeVault et al. 2003). Letztendlich ist die angenommene Ursache für die Unstimmigkeiten, dass nicht alle Raubvögel vollständig jagen und nicht alle jagenden Vögel Raubvögel sind (McClure et al. 2019).

Im „Dictionary of Birds of prey“ setzen sich die Raptoren aus den Ordnungen der Falkenartigen (Falconiformes einschließlich Falken und Caracaras), den Greifvögeln (Accipitriformes einschließlich z.B. Adler, Falken, Altweltgeier), den Eulen (Strigiformes) und Seriemen (Cariamiformes) zusammen (McClure et al. 2019). Die Cariamiformes leben in Südamerika. Der Schnabel der Raubvögel ist hakenförmig, sie besitzen scharfe Krallen, fressen neben Wirbeltieren auch gelegentlich Obst und Gemüse (McClure et al. 2019).

Also entsprechen Raptoren den Greifvögeln, Eulen und Falken. In mancher Literatur wird der Begriff „Greifvogel“ über Ordnungen der Accipitriformes, Falconiformes und Strigiformes definiert (Espín et al. 2021).

Raubvögel sind wichtig für ein funktionierendes Ökosystem. Sie sind stärker vom Aussterben bedroht als andere Vogelarten. Die Raubvögel stellen etwa 550 der weltweit 10.000 Vogelarten, also ca. 5%, dar (McClure et al. 2020) .



**Abb. 1:** Taxonomische Übersicht der Raptoren (McClure et al. 2019)

Die Accipitriformes (Greifvögel) werden in vier Familien gegliedert. Die Accipitridae (Habichtartige), Cathartidae (Neuweltgeier), Sagittariidae (Sekretäre) und die Pandionidae (Fischadler). Diese Ordnung beinhaltet insgesamt 76 Genera mit ca. 260 Arten. Die Falconiformes (Falkenartigen) gehören zur Familie der Falconidae, die elf Genera und 66 Arten beinhaltet. Die Strigiformes (Eulenartigen) werden in zwei Familien unterteilt. Die Tytonidae (Schleiereule) und die Strigidae (eigentliche Eulen), die 28 Genera und über 240 Arten beinhalten (Gill et al. 2020). Eine tabellarische Taxonomie ist in Tabelle 1 (Tab. 1) aufgeführt.

**Tab. 1:** Tabellarische Übersicht der Raubvögel

Klasse	Aves (Vögel)		
<b>Ordnung</b>	Accipitriformes (Greifvögel)	Falconiformes (Falkenartige)	Strigiformes (Eulenartige)
<b>Familie</b>	Accipitridae (Habichtartige)	Falconidae (Falkenartige)	Tytonidae (Schleiereulen)
	Cathartidae (Neuweltgeier)		Strigidae (eigentliche Eulen)
	Sagittariidae (Sekretäre)		
	Pandionidae (Fischadler)		

In dieser Arbeit ist der Mäusebussard (*Buteo buteo*) hervorzuheben, der als Brutvogel in Österreich weit verbreitet ist, vor allem in den Waldregionen. Er ist über fast ganz Europa verbreitet, außer auf Island, in weiten Teilen Norwegens, im nördlichen Schweden, Finnland und Russland. Der Mäusebussard ist sowohl im Tiefland als auch im Gebirge anzutreffen. Er brütet im Baumhorst im Wald und ihr Jagdgebiet erstreckt sich von Waldgebieten in dessen Rand Felder und Wiesen. Oft hält er sich an stark befahrenen Straßen auf, um dort an leicht zu erbeutende Nahrung zu gelangen, die beispielsweise verletzt oder schon tot ist. Er gliedert sich in elf Unterarten (Mebis und Schmidt 2006).

Ebenfalls hervorzuheben sind die Proben des Turmfalken (*Falco tinnunculus*). Er ist unter anderem in ganz Europa verbreitet, außer in Island, und kommt selten im Norden Europas vor.

Es gibt insgesamt elf Unterarten. Der Turmfalke benötigt zum Jagen offene Flächen mit niedriger Vegetation, damit er die potentielle Beute sehen und greifen kann. Da er relativ niedrige Ansprüche an seinen Lebensraum hat, kommt er u.a. oft in Städten (z.B. Kirchtürmen, hohe Bauwerke), im Gebirge an Stellen mit Felsen und Steinbrüchen, wo er dann in Spalten und Höhlen brütet. Am häufigsten ist er jedoch in den Waldregionen zu finden, besonders an dessen Rand, in Feldgehölzern, auf einzelstehenden Bäumen oder auf Leitungsmasten (Mebs und Schmidt 2006).

### 1.1.2 Morphologie

Die morphologischen Kriterien sind oft nur Beschreibungen der Lebensweise der Raubvögel. So sagte Brown L. 1976: "Echte Raubvögel sind die, die starke Füße und Krallen haben, um zu greifen und zu töten, und Schnäbel, um das Fleisch zu zerreißen" (McClure et al. 2019). Er beschrieb Eigenschaften wie scharfe Augen, um Beute zu erkennen, Füße mit scharfen Krallen, die greifen können, und Schnäbel, um Beute zu töten und zu verzehren (McClure et al. 2019). Im Folgenden wird auf die einzelnen Merkmale genauer eingegangen und eingestuft, inwieweit sie für die morphologische Einteilung angewendet werden können.

Man sagt, Raubvögel hätten laut Newton eine „scharfe Vision“, laut Boal und Dykstra „intensive, vorausschauende Augen und nach Bildstein (2017) ein „scharfes Sehvermögen“ als Anpassung an ihre Jagdkünste (McClure et al. 2019). So haben sowohl die Raub- als auch die Singvögel die schärfste Sehkraft aller Vögel. Die Formulierung „Adleraugen“ kommt ihrem Ruf nicht immer nach, denn hier kommt es auf einige Faktoren an. So ist die Sehstärke unter anderem von der Lichtintensität abhängig. Es gibt einige Arten der Raubvögel, die bei besserer Beleuchtung mehr sehen, oder eben besser bei einer geringeren Beleuchtung (Morrison et al. 2018). Auch die Sehschärfe steht in Abhängigkeit der Lichtbedingungen und wird mit sinkendem Tageslicht deutlich vermindert (Martin 2017). Die Augen bzw. die Sehschärfe ist relativ und bei den Raptoren unterschiedlich und somit für eine eindeutige Klassifizierung nicht anzuwenden. So sehen Keilschwanzadler etwa um das 2,5 fache besser als die Menschen (Martin 2017). Damit zählt er mit dem Geier zu den Wirbeltieren mit der höchsten Sehstärke. Dahingegen liegt die Sehschärfe einiger Strigiformes und Falconiformes unter der der Menschen (Gaffney und Hodos 2003; Martin 2017; Mitkus et al. 2018; Potier et al. 2016). Am ehesten trifft die Annahme der guten Sehkraft auf die Accipitriformes zu, wobei diese auch innerhalb der Ordnung variiert (Martin 2017). Die Visualität muss Kompromisse zwischen Sehschärfe (räumliche Auflösung), Empfindlichkeit (Lichtererkennung),

Bewegungserkennungen und Farbsehen machen und sich dementsprechend ihrer Umgebung anpassen (Mitkus et al. 2018; Martin 2017). Das wiederum führt dazu, dass viele Vogelarten in manchen Aspekten oder Situationen besser sehen. Jedoch ist das Kriterium der Sehschärfe als Kategorisierung zu den Raptoren nicht als ausreichend zu betrachten, da sie für die Mehrheit der Vögel entspricht (McClure et al. 2019).

Die Morphologie der Fänge kann ebenfalls zur Charakterisierung der Raubvögel verwendet werden. Sie ist aber aufgrund der artübergreifenden Variationen derer als ungeeignetes morphologisches Merkmal einzustufen. Der Begriff „raptor“ kommt aus dem lateinischen Verb „rapio“ und bedeutet so viel wie „rauben und plündern“ und spielt auf die stereotypische Jagdweise der Raptoren an. So sagten Brown und Mindell (2009), dass beispielsweise die Fänge der Eulen sich an „raubgierige“ Lebensweise angepasst haben. Brown (1971) sagte, dass Raubvögel „kräftige Greiffüße mit langen, scharfen Krallen“ besitzen. Die Fänge der Geier sind im Vergleich zu anderen Raubvögeln schlecht zum Greifen, während beispielsweise Arten, die nicht zu den Raptoren zählen, greifartige Füße besitzen. Die Definition oder Beschreibung der Kriterien für Raubvogelextremitäten ist damit nicht exakt (McClure et al. 2019).

Zur Morphologie des Schnabels ist zu sagen, dass viele davon ausgehen, Raubvögel hätten einen „hakenförmigen“ Schnabel, der ihnen das Fressen des Fleisches erleichtert. Sie besitzen charakteristische Schnäbel, die aus einem Oberschnabel bestehen, der sich über den unteren Schnabel krümmt. Auch bei dieser morphologischen Charakterisierung ist es schwierig eine eindeutige Einteilung zu machen, da mehrere Vogelgruppen, außerhalb der Raubvögel, mit solch einer Schnabelform ausgestattet sind. So haben auch Papageienartige einen Hakenschnabel, gelten aber nicht als Raubvögel (McClure et al. 2019).

### **1.1.3 Verbreitung und Lebensraum**

Die unterschiedlichen Raubvögel sind sowohl in ihren Verhaltensweisen, als auch in den Ansprüchen an ihren Lebensraum sehr divers. Sie besiedeln alle Kontinente mit mehreren Arten, alle Klimazonen, Breiten- und Höhenlagen ebenso wie viele Lebensraumtypen, außer der Antarktis, wo keiner von ihnen brütet. Wichtig für die einzelnen Arten und deren Fortpflanzung sind die Verfügbarkeit über Brutplätze und genügend Nahrung. Weiters stellen die Siedlungsdichte, die Reviergröße oder die Entfernung anderer nistenden Pärchen einen limitierenden Faktor dar (Mebs und Schmidt 2006).

Die Arten der Raptoren, die eine ähnliche Lebensweise aufweisen, haben sich

unterschiedliche ökologische Nischen geschaffen, um eine Konkurrenz zu vermeiden (Mebs und Schmidt 2006). Dies ermöglicht ihnen ein unabhängiges und konkurrenzloses Miteinander. Ein Beispiel ist der Fischadler (*Pandion haliaetus*) mit dem Wespenbussard (*Pernis apivorus*) oder dem Gänsegeier (*Gyps fulvus*) mit dem Baumfalken (*Falco subbuteo*). Es findet eine laufende Veränderung der Verbreitungsgebiete, der ökologischen Nischen und der Ansprüche an deren Lebensraum statt. Dies führt zu einer immerwährenden Entwicklung in ihrer Lebensweise (Mebs und Schmidt 2006). Das Zusammenspiel aus unterschiedlichen Landschaftselementen oder Habitatskomplexen ermöglichen einer Art dort zu leben (Mebs und Schmidt 2006). Österreich hat eine Fläche von ca. 83.855 km<sup>2</sup>. Etwa 62 % davon sind bergig wegen der Lage in den Alpen. Nur 32 % von Österreich liegen unterhalb von 500 m über dem Meeresspiegel. Die geografische Lage in Mitteleuropa und die polymorphe Landschaft (44 % Waldanteil) machen es möglich, dass eine reiche Greifvogelfauna mit 34 erfassten Arten dort lebt. Darunter sind etwas 18-20 Arten Brutarten bekannt (Wilson et al. 1975).

#### **1.1.4 Lebensweise**

Die Lebensweise der Raubvögel wird durch ein herausragendes Sehvermögen und eine ausgeprägte Flugleistung bestimmt. Denkt man beispielsweise an einen Adler, so fällt einem ein am blauen Himmel kreisender Vogel ein. In Wahrheit ist es so, dass die Tiere selbst am Tag viel mit Ruhen beschäftigt sind. Sie verbringen viel Zeit mit Gefiederpflege, denn nur ein ausgeruhter, gepflegter Vogel mit intaktem Gefieder kann ein erfolgreicher Jäger sein. Die Jagd an sich oder auch die Suche der Beute kann faszinieren. Sie erfolgt in Form eines ruhigen Segelfluges, einer Verfolgungsjagd mit spektakulären Sturzflügen, dem Schweben in der Luft an einer Stelle oder auch das Balzverhalten in luftigen Höhen (Parallelfüge, Girlanden Flug, Trudel Flug, Rollen, kurzzeitiges Packen an den Füßen und gemeinsames herumwirbeln). Viele Arten legen im Jahr tausende Kilometer zurück. Dabei sind auch die Tiere, die eher tagsüber aktiv sind, oft auch in der Nacht aktiv. Geier beispielsweise sind am Vormittag unterwegs, da sie eine gute Thermik zum effektiven Fliegen benötigen. Sie sind auch am Boden zu Fuß anzutreffen, um dort ihre Nahrung aufzunehmen. Mäusebussarde befinden sich stellenweise auch ein bis zwei Meter von ihrer Ausblickstelle auf einem Maulwurfhügel auf dem Acker, um an ihre Nahrung zu gelangen. Die Nahrungsfindung erweist sich auch nicht jeden Tag als erfolgreich. Denn die Tarn- und Abwehrmechanismen der Beutetiere stellen eine große Herausforderung dar. So entwickelten sich verschiedene Jagdtechniken. Dieser Faktor ist ein limitierendes Kriterium für das Überleben der Tiere. Eine weitere Notwendigkeit ist das

Schutzverhalten der Vögel, denn von Klein an sind, nicht nur die kleinen Arten, immer wieder verschiedenen Angriffen ausgesetzt. Außerdem sind Streitigkeiten von Nestlingen unter Geschwistern, Revierkämpfe, Kämpfe um knappes Futter oder auch als Beute anderer Fressfeinde zu enden eine ständige Bedrohung für das Überleben. Die Verteidigungsstrategien zeigen sich in Abwehdrohen, Ausweichen und Angriff (Mebs und Schmidt 2006).

Die inner- und zwischenartlichen Beziehungen sind äußerst vielfältig. So sind die eher landläufigen Arten Einzelgänger und unverträglich mit anderen Artgenossen. Während der Brutzeit sind die Raubvögel als Paar unterwegs und es kann zu festen Paarbeziehungen kommen, die aber auch durch „Fremdgehen“ des Partners wieder gelöst werden können. Die Paare leben in einem von ihnen verteidigtem Revier gegenüber Artgenossen oder Arten mit ähnlichen Ansprüchen an einen Lebensraum. Neben der Monogamen Beziehung bei Greifvögeln, wird bei 42 Arten berichtet, dass sie ab und an als Trio zusammenleben und gemeinsam den Nachwuchs großziehen. Andere wiederum brüten in Kolonien. Manchmal werden auch Koexistenten, beispielsweise zwischen Turmfalken in Höhlungen von Horsten, auf welchen zeitgleich die Fischadler ihren Nachwuchs aufziehen, gepflegt. Außerhalb der Paarungszeiten sind die Bindungen der Partner locker. Bei Zugvogelarten trennen sich die Wege bis zum nächsten Jahr. Die Tiere die sich ganzjährig an einem Ort aufhalten, bleiben dann auch zusammen. Ist die Brutsaison beendet, kommt es zur Familienauflösung, d.h. die Eltern verlassen die Jungen oder sie verjagen sie aktiv aus dem Revier. Die Rufe und Laute variieren ebenfalls von Art zu Art. Meist stehen sie im Zusammenhang mit der Balz und dem Brutgeschäft (Mebs und Schmidt 2006).

Neben der aufgeführten Lebensweise, ist das Vorkommen der Raubvögel für das Ökosystem wichtig. Sie sorgen unter anderem für eine Pflanzenvielfalt und eine stabile Krankheitsdynamik. Viele von ihnen haben jedoch auch den Ruf Krankheiten zu verbreiten, Tiere zu töten, u.a. eben auch Haustiere (O'Bryan et al. 2018).

## **1.2 Singvögel (Passeri)**

### **1.2.1 Taxonomie**

Die Sperlingsvögel, Passeriformes, gehören eher den kleinen Vögeln an. Sie sind die vielfältigste Vogelordnung mit rund 6000 Arten. In Europa alleine sind 30 bekannte Familien heimisch (Balzari 2013). Sie umfassen ca. 59 % der vorhandenen Vogelvielfalt (Riamon et al.

2020). Die Singvögel, Passeri (Oscines), sind neben den Tyranni (Suboscines) eine Unterordnung der Passeriformes. Zu ihnen gehören bekannte Gartenvögel, z.B. Meisen, Spatzen, Drosseln, Krähenarten und domestizierte Ziervogelarten, wie Zebrafinken und Kanarienvögel. Die Abstammungslinie der Passeri ist der, der Säugetiere zeitlich ähnlich mit etwa 80 Millionen Jahren. Sie ist morphologisch, ökologisch und verhaltensmäßig sehr vielfältig angelegt (Bateson und Feenders 2010).

Trotz allem haben Singvögel einen schlechten fossilen Bestand. Es ist so, dass eine hohe osteologische Homoplasie der Singvögel die systematische Einordnung erschwert (Riamon et al. 2020). In Europa leben nur Arten der Unterordnung Passeri, deshalb ist die Gleichsetzung der Begriffe Singvögel und Passeriformes verständlicher und auch üblich (Balzari 2013). Zu ihnen gehören Acantisittidae (Grünschlüpfer) und die Eupasseres (echte Sperlingsvögel), die sich wiederum in die Passeri (Singvögel) und Tyranni (Schreibvögel) unterteilen. Die Singvögel (Passeri) sind eine Unterordnung der Sperlingsvögel. Diese wiederum gliedern sich in die Passerida und die Corvidea (Riamon et al. 2020). Die taxonomische Einteilung ist in Tab. 2 aufgeführt.

Das Wintergoldhähnchen (*Regulus regulus*) ist mit einer Länge von 9 cm der kleinste Sperlingsvogel Europas. Der größte Vertreter dieser Ordnung ist der Kolkrabe (*Corvus corax*), der eine Länge von bis zu 67 cm erreichen kann. Die Singvögel entwickelten sich vermutlich in der späten Kreidezeit im austroasiatischen Raum vor ca. 80 Millionen Jahren. In Europa sind die meisten Singvögel den Zugvögeln zugeordnet und alle sind in den ländlichen Lebensraum gebunden (Balzari 2013). In molekularen Studien wurde gezeigt, dass die *Passeriformes* als Schwesterklade von den *Psittaciformes* aus dem frühen Teil des Paläogens kommen, die sich teilten und nun vermutlich ca. 30 Millionen Jahre alt sind (Riamon et al. 2020).

**Tab. 2:** Taxonomie Singvögel (Riamon et al. 2020)

<b>Klasse</b>	Aves (Vögel)				
<b>Ordnung</b>	Passeriformes (Sperlingsvögel)				
<b>Unterordnung</b>	Eupasserres				Acanthisitta
	Passeri (Oscines)		Tyranni (Suboscines)		
<b>Überfamilie</b>	Corvidea	Passerida	Eurylamide	Tyrannides	Acanthisittidae (Stummelschwänze)

In der untenstehenden Tab. 3 sind alle Mitglieder der Überfamilie der Passerida und Corvidea aufgeführt, die in dieser Arbeit von Relevanz sind. Der Großteil der Proben stammt von den Paridae (Meisen), Muscicapidae (Fliegenschnäpper), den Sylviidae (Grasmückenartige) und *Passeridae* (Sperlingen).

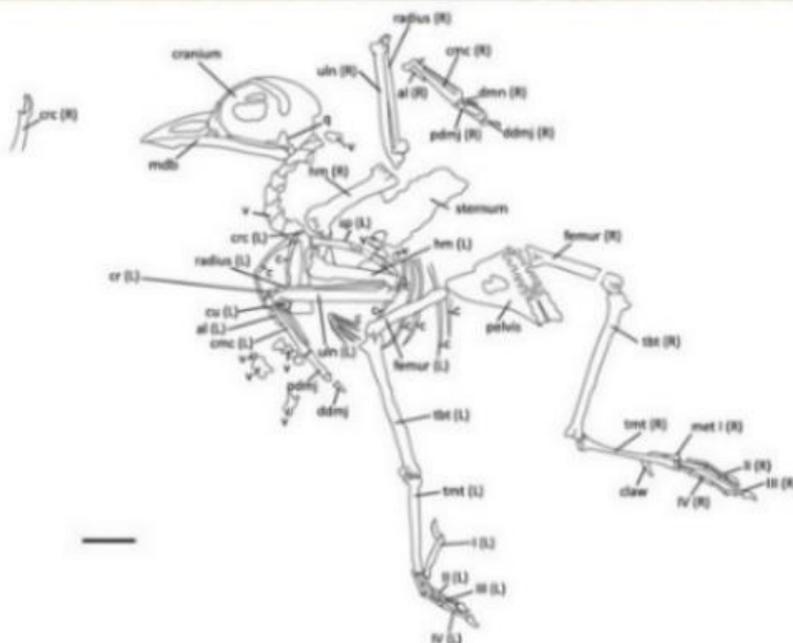
**Tab. 3:** Mitglieder der Überfamilie der Passerida und Corvidea

<b>Überfamilie</b>	Passerida	Paridae-Meisen
		Muscicapidae-Fliegenschnäpper
		Fringillidae-Finken
		Sylviidae- Grasmückenartige
		Passeridae-Sperlinge
		Hirundinide-Schwalben
		Acrocephalidae-Rohrsängerartige
		Phylloscopidae-Laubsäugerartige
		Sturnidae-Stare
		Locustellidae-Grassänger
		Emberizidae-Ammen
		Regulidae-Goldhähnchen
		Troglodytidae-Zaunkönig
		Prunellidae-Braunellen
		Panuridae-Bartmeise
		Turdidae-Drosseln
		Motacillidae-Stelzen und Pieper
		Certhiidae-Baumläufer
	Alaudidae-Lerchen	
	Corvidea	Laniidae-Würger
Coriolidae-Pirole		

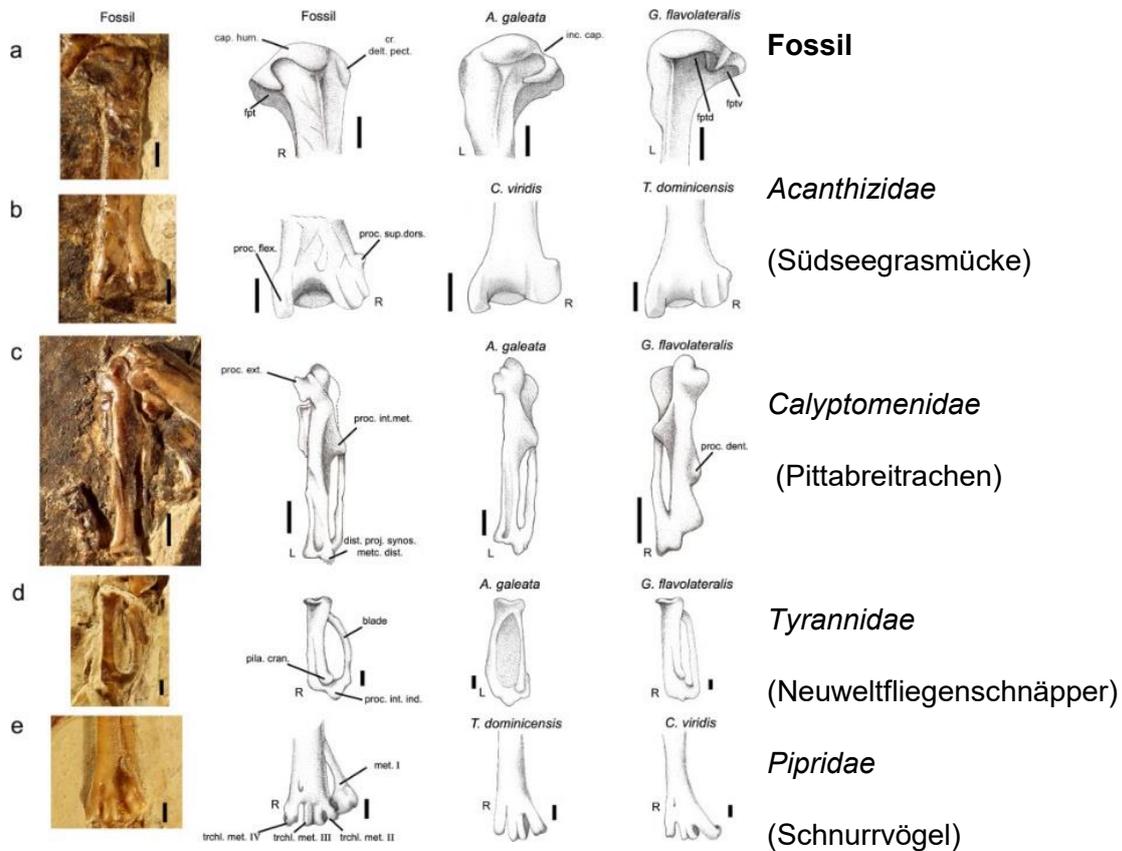
### 1.2.2 Morphologie

Es gibt einige anatomische Merkmale, die auf Passeriformes hindeuten. Dazu gehören die Trochleae II, III und IV des Tarsometatarsus und ein Carpometacarpus mit einem breiten Processus intermetacarpalis. Dies findet man weiters bei Galliformes (Hühnervögel), Piciformes (Spechtvögel), Coliiformes (Mausvögel) und Coraciiformes (Rackenvögel), die sich aber noch durch andere charakteristische Merkmale, wie weiters aufgeführt, von den Passeriformes unterscheiden. Außerdem sind der Processus Intermetacarpalis und des Os Metacarpale minus verschmolzen, dass nur bei den Passeriformes und den Piciformes anatomisch so angelegt ist. Der Piciformes zeichnet sich noch unter anderem durch das

zygodactylous typ tarsometatarsus trochleae aus (Riamon et al. 2020). Desweiteren besitzen die Passeriformes einen Tibiotarsus mit zwei parallelen und gleichgroßen Kondylen. In den untenstehenden Abbildungen (Abb. 2 und Abb. 3) sind das Fossil eines Passeriformes und die anatomischen Differenzen aufgeführt (Riamon et al. 2020).



**Abb. 2:** Fossilienexemplar NT-LBR-014 aus Revest- des- Brousses, Luberon (Frankreich) (Riamon et al. 2020)



**Abb. 3:** ausgewählte Knochen des Luberon- Fossils NT-LBR-014 im Vergleich mit anderen Arten (Riamon et al. 2020)

Bei allen sind drei der vier Zehen nach vorne ausgerichtet und eine nach hinten gestreckt. Die Jungen kommen blind und nackt auf die Welt und werden in einem selbst gebauten Nest der Eltern aufgezogen. Neben der Flügellänge, Schwanzform und der Farben des Gefieders gehört das vokale Repertoire zu den unterscheidenden Merkmalen (Balzari 2013).

Jeder Singvogel weist ähnliche, aber dennoch unterschiedliche morphologische artabhängige Merkmale auf. Aus diesem Grund wird hier nur auf die Singvögel morphologisch kurz eingegangen, die auch häufig in dieser Arbeit vertreten sind.

So haben wir einige Vertreter der Paridae (Meisen). Sie sind kleine, relativ zutrauliche, rundliche, kurzflügelige Singvögel, die in Höhlen brüten. Zu ihrer Nahrung gehören Samen und Insekten. Ihr Lebensraum ist der Wald und sie sind meist auf einem Baum zu finden. Da sie relativ kurze Flügel besitzen gehören sie auch nicht zu den Zugvögeln. Jedoch ziehen die

nordeuropäischen Vertreter bei Kälte nach Südwesten. Sie können laut und kräftig singen, wobei auch immer wiederholbare strukturierte Strophen zu erkennen sind. Sie nisten in Bäumen oder in Erdlöchern. Manche Arten, wie die Weidenmeise, bauen ihre Höhle selbst. Die Blau- und die Kohlmeise sind häufige Vertreter in dieser Arbeit.

In Österreich liegt der Brutbestand der Blaumeisen etwa bei 200 000-400 000 Paaren. Die Blaumeise ist eine kleine blau-gelb gefärbte Meise. Sie sind in Europa mit Ausnahme des nördlichen Skandinaviens und Islands verbreitet. Ihr Lebensraum sind Laubwälder, besonders Eichen-, Hagenbuch-, Auenwälder, Feldgehölzer, Obstgärten und Gärten. Eher seltener in Nadelwäldern. Bei den Blaumeisen hat das Männchen eine blau gefärbte Kopfplatte und blaues Gefieder an den Flügeln und den Schwanzfedern. Der Kopf ist rundlich und die Scheitelfedern sind zu einer kleinen Haube aufgerichtet. Die Wangen sind weiß und der Augestreifen und der Kehlfleck schwarz. Sie haben ein breites blauschwarzes Nackenband, welches durch einen Halsbogen mit dem Kehlfleck verbunden ist. Der Rücken und die Schultern sind olivgrün und die Brust und der Bauch schwefelgelb. Sie besitzen weiters einen schmalen schwarzen Längsstreifen auf der Bauchmitte, eine weiße Flügelbinde und einen dunkelbraunen Schnabel. Die Weibchen sehen den Männchen ähnlich, außer dass der blaue Scheitel und die Flügelfärbung matter und nicht so glänzend sind (Balzari 2013).

Die Kohlmeise gehört zu der größten Meisenart in Europa. Sie ist in ganz Europa anzutreffen bis auf im hohen Norden. Die Kohlmeise ist ebenfalls die meist verbreitete Meisenart. Ihr Lebensraum sind Laub- und Mischwälder, Gärten, Parkanlagen, Obstgärten und Hecken. Kohlmeisen sind anpassungsfähige und auch anspruchslose Vögel, die auch im Stadtzentrum anzutreffen sind. Ihre Höhlen suchen sie in Bäumen, Mauern und Felsspalten. Die Kohlmeise gehört zu den häufigsten und auffälligsten der Meisen in Europa. Sie besitzt einen schwarzen Kopf mit einem weißen Wangenfeld und einen schwarzen Bauchstreifen, der bei den Männchen bis zum Schwanz reicht und sich bis dorthin verbreitert. Im Gegensatz dazu nimmt bei den Weibchen die Farbintensität des Bauchstreifens ab. Der Rücken ist olivgrün, der Hinterrücken und die Bürzel sind bläulich grau. Die Schwungfedern sind grauschwarz mit einer weißen Flügelbinde und der Schwanz ist schwarzgrau mit einer weißen Außenkante. Die Unterseite der Tiere ist gelb, wobei die Farbe bei den weiblichen Tieren weniger kräftig ausgeprägt ist (Balzari 2013).

Die Muscicapidae (Fliegenschnäpper oder auch Schnäpperverwandte) sind eine große, vielgestaltige Familie. Man unterscheidet Erdsänger, wie z.B. die Nachtigall oder auch das Blau- und Rotkehlchen. Sie sind meist am Boden unterwegs und gehören zu den guten Sängern unter den Singvögeln. Außerdem gibt es die Wiesenschmätzer, worunter Braun- und Schwarzkehlchen zählen, die im offenen Gelände anzutreffen sind. Das Rotkehlchen ist ein knapp sperlingsgroßer, rundlicher Vogel und ist auch in Europa weit verbreitet, außer auf Island, im nördlichen Skandinavien und Nordrussland. Sein Lebensraum befindet sich in Gärten, Parks und unterholzreichen Wäldern. Der Brutbestand in Österreich liegt bei 700 000-1,4 Millionen Paaren und sie sind Standvögel und Kurzstreckenflieger. Das Rotkehlchen ist ein häufiger vorkommender Vogel. Er ist ein rundlicher, kompakter Vogel mit relativ langen, dünnen Läufen und großen dunklen Augen. Beide Geschlechter sind gelblich gefärbt. Ihre Stirn, die Zügel (Bereich des Vogelkopfes von Schnabelbasis bis Augen), die Augengegend, die Kehle und die Brust sind orange gefärbt. Vom Kopf bis zu den Brustseiten ist das Gefieder gräulich. Die gesamte Oberseite ist olivbraun. Sie besitzen eine schmale gelbe Flügelbinde, ihr Bauch und die Unterschwanzdecken sind weißlich, die Flanke ist grau-beige und ihr Schnabel und die Füße sind dunkelbraun (Balzari 2013).

Die Rauchschwalbe aus der Familie der Hirundinidae (Schwalben) ist ebenfalls ein häufiger Vertreter der Singvögel. Beim männlichen Tier ist die Oberseite einheitlich metallisch dunkel blauschwarz glänzend gefärbt. Die Flügel sind schwarzbraun mit einem leichten bläulichen Metallglanz. Die Schwanzfedern sind schwarzbraun mit auffälliger weißer Fleckenreihe. Die äußeren Schwanzfedern sind spitz und markant verlängert. Das Kinn, die Kehle und die Stirn sind dunkel rotbraun. Sie haben außerdem ein schwarzblaues Brustband, das die rahmweiße bis leicht rostrote Unterseite von der rotbraunen Kehle abgrenzt. Der Schnabel und die Füße sind schwarz. Das weibliche Tier ist dem Männchen recht ähnlich, hat aber weniger blauen Glanz auf dem Brustband, kleinere weiße Schwanzflecken und kürzere Schwanzspieße (Balzari 2013).

Die Sylviidae (Grasmückenartigen) sind kleine Vögel, die in dicht bewachsenen Wäldern und Gebüsch zu finden sind. Sie fressen Insekten und auch Beeren im Herbst. Manche von ihnen sind sehr gute Sänger, andere haben eher einen rau zwitschernden Gesang. Die Mönchsgrasmücke ist ein knapp sperlingsgroßer Vogel und ist in Europa weit verbreitet, außer auf Island, im nördlichen Skandinavien, in Nordrussland und in Steppen nördlich des Kaspischen Meeres. Ihr Lebensraum ist relativ anspruchslos und sie ist daher in unterschiedlichen Wäldern mit Unterholz, Baumhecken, Feldgehölzer, Jungwuchsflächen,

Parkanlagen und Gärten zu finden. Eher weniger in reinen Nadelwäldern. Ihr Brutbestand beträgt in Österreich 700 000-1,4 Millionen Paare. Sie ist ein Standvogel und auch ein Langstreckenzieher. Ein Großteil der Mönchsgrasmücken überwintert im Mittelmeerraum oder in Westeuropa. Diejenigen, die aus der nördlicheren Gegend kommen, ziehen teilweise bis nach West- und Ostafrika (Balzari 2013). Die Mönchsgrasmücke ist ziemlich kräftig gebaut mit einem schmalen Schnabel. Die Männchen haben eine schwarze Kopfplatte, die von der Stirn bis zum Nacken reicht und bis an den oberen Augenrand verläuft. Der untere Augenring ist auffallend weißlich gefärbt. Der Nacken und die Kopfseiten sind grau, die Kehle, die Brust und die Flanken sind hellgrau gefärbt. Die Oberseite des Tieres, die Flügel und der Schwanz sind oliv-graubraun. Bei den weiblichen Vögeln ist die Kopfplatte rotbraun und das gesamte Gefieder eher bräunlich (Balzari 2013).

Der Haussperling aus der Familie der Passeridae (Sperling) ist ein äußerst kontrastreich gefärbter Vogel. Die Männchen sind von den Zügeln, dem Kinn über die Kehle bis hin zur Brust schwarz gefärbt. Der Scheitel ist grau und die Seiten sind bis in den Nacken kastanienbraun. Die Wangen sind auch gräulich und an den Halsseiten befindet sich ein weißer Streifen, der bis über und hinter das Auge reicht. Die Oberseite des Vogels ist braun und schwarz gestrichelt, er besitzt eine weiße Flügelbinde, die Bürzel und die Oberschwanzdecken sind bräunlich grau und der Schwanz ist dunkelbraun mit hellen Säumen. Die Unterseite ist beige-grau. Das Weibchen ähnelt den Männchen, aber sie sind kontrastärmer und der Schnabel ist hornfarben (Balzari 2013).

Die Fringillidae (Finken) sind durch ihren kegelförmigen Schnabel, mit dem sie gut Körner aufnehmen können, sehr gut von anderen Singvogelfamilien zu unterscheiden. Man trifft sie überall dort, wo auch Samen zur Nahrungsaufnahme zur Verfügung stehen. Im Sommer nehmen sie auch Früchte, Knospen und Insekten auf. Der Grünfink ist ein großer, gedrungener, grünlicher Fink mit einem eher plumpen Körperbau, einem kurzen gekerbten Schwanz und einem kräftigen kegelförmigen Schnabel. Das Männchen ist am Oberkopf und an den Unterseiten dunkel olivgrün gefärbt. Die Kopfseiten und die Bürzel sind gelbgrün. Die Schwanzfedern sind an der Basis gelblich und zur Spitze hin schwarzgräulich mit einem schmalen grauen Saum. Die Brust und der Bauch sind gelbgrün. Die Hand- und Armschwingen sind schwärzlich graubraun und hellgrau gesäumt. Die Schirmfedern sind bräunlich grau ebenso wie Deckfedern am Oberflügel. Die Außenfahne der Handschwingen ist gelblich grün. Auch hier ist das Weibchen eher matter, unscheinbarer und insgesamt brauner und auch

grauer als das Männchen. Der Mantel ist bräunlicher und die Handschwingen sind weniger gelb (Balzari 2013; Lohmann und Roché 2009).

### 1.2.3 Verbreitung und Lebensraum

Die Singvögel besiedeln unterschiedliche Lebensräume. Sie bewohnen landwirtschaftlich genutzte Flächen, Parks, Gärten, Sümpfe, Gewässer, offene oder vegetationsreiche Gelände, Gebirge, Wüsten, Halbwüsten, Küsten oder Steppen. Man findet sie auch in Großstädten, wenn optimale Lebensbedingungen herrschen. Es gibt Arten, die auf Wälder angewiesen sind, z.B. Haubenmeisen. Andere Arten fühlen sich auf offenem Gelände wie Ackerland, Moore und Dünen, wie z.B. Feldlerchen, sehr wohl. Anders wiederum benötigen Nachtigallen unterholzreiche, feuchte Laubwälder oder Gebüsche. Die Singvögel benötigen, wie auch andere Tierarten, als Lebensraum die Biotope. Wie vieles auf dieser Erde sind auch die Arten der Singvögel durch die fortschreitende Umweltzerstörung und -verschmutzung bedroht. Es gibt jedoch sogenannte Kulturformen. So war z.B. die Amsel früher ein reiner Waldvogel und heute sieht man sie meist in den Großstädten. Nicht jede Art konnte solch eine Anpassung vollziehen, da Trockenlegungen von Feuchtgebieten, Einsätze von chemischen Giften und anderes Umweltzerstörendes dies nicht möglich machen (Wendt 2002).

### 1.2.4 Lebensweise

Die Lebensweise ist von Familie zu Familie unterschiedlich. Viele von ihnen sind Zugvögel, leben vorzugsweise auf dem Land und sind daran auch gebunden (Bateson und Feenders 2010). So sind einige Meisen (Paridae) Standvögel und Kurzstreckenzieher, wie z.B. die Blau-, Kohl- und Tannenmeise. Sie vollziehen bei hohem Bruterfolg Zugbewegungen in Richtung Südeuropa. Einige der Drosseln (Turdidae) sind Kurzstreckenzieher und überwintern in West- und Südeuropa und in Nordafrika (Balzari 2013). Manche Vertreter der Singvögel haben ihren Neststandort meist in Bodennähe und möglichst in einer Höhle oder in einer Nische, wie z.B. das Rotkehlchen (*Erithacus rubecula*). Andere nisten in verschiedenen Höhlungen und Spalten, andere in künstlichen von Menschen erschaffenen Höhlen (z.B. der Gartenrotschwanz), manche in kleinen Vertiefungen am Boden (z.B. das Schwarzkehlchen) oder andere Flechten ihr Nest auf Bäumen oder in Büschen (z.B. der Stieglitz). Manche von ihnen suchen ihren Lebensraum in der Nähe der Menschen und in der Stadt, andere wiederum in verschiedenen Wäldern. Die Nahrung variiert von Samen, Früchten, Beeren, Gräser, Kräuter, weichhäutigen Insekten, kleineren Insekten, Larven, Schnecken und Würmern

(Lohmann und Roché 2009). Der Gesang der Singvögel ist eines der wichtigsten Verhaltensmuster. Er dient als Kommunikationsmittel und sorgt für die richtige Partnerwahl. Die Oscines stellen die Mehrheit der Untergruppe dar und können Lieder über akustische Vorgaben von Personen lernen (Bateson und Feenders 2010).

### **1.3 Trypanosomen**

Der ungarische Arzt David Gruby entdeckte vor mehr als 150 Jahren die ersten Vertreter der Trypanosomen (1810-1898). Allerdings hat man die aviären Trypanosomen als apathogen und wirtschaftlich irrelevant eingestuft und sie daher weniger erforscht (Zídková et al. 2012). Im ersten Jahrhundert, in dem Studien zu Trypanosomatiden durchgeführt wurden, hat man lediglich 350 Arten von Insekten als deren Wirte erkannt. Man geht davon aus, dass von mehr als 1.000.000 Insektenarten nicht mehr als 2.000-2.500 Arten untersucht wurden (Podlipaev 2000).

#### **1.3.1 Taxonomie und Bedeutung**

Trypanosomen gehören der Klasse der Kinetoplastea an (griech. Trypano= Bohrer; griech. soma= Körper). Sie sind parasitäre Einzeller und die Wirte sind überwiegend wirbellose Tiere (Kaufer et al. 2017). Viele Trypanosomen werden indirekt durch Insekten oder direkt ohne Vektor übertragen. Sie leben im Wirbeltier in der Blut- und Gewebsflüssigkeit und manche von ihnen nisten sich in Körperzellen des Wirtes ein. Im Vertebraten- oder Insektenwirt durchlaufen bestimmte Arten der Trypanosomen in ihren Entwicklungsstadien einen Formwandel, der sowohl mit physiologischen Veränderungen als auch mit der Anpassung an unterschiedliche Anforderungen der Lebensbedingungen einhergeht (Deplazes et al. 2021). Außerdem gehören sie zu der häufigsten und wichtigsten Gattung (Zídková et al. 2012). Die taxonomische Einordnung ist in Tab. 4 ersichtlich.

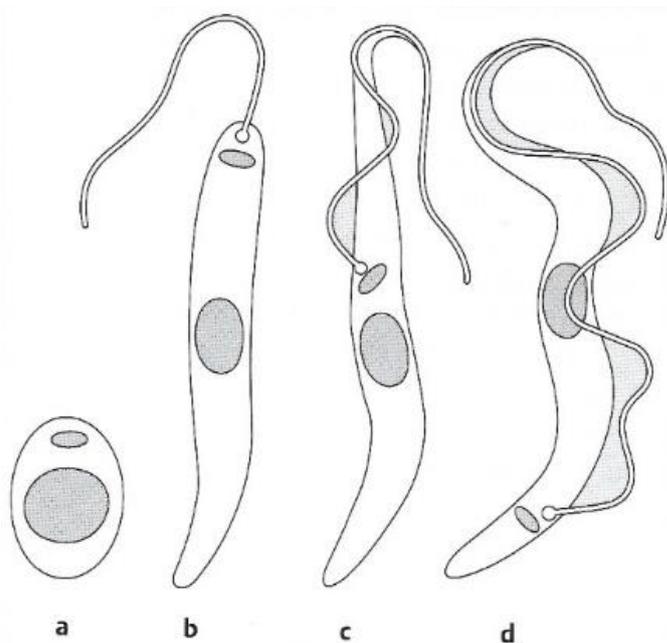
**Tab. 4:** Taxonomie der Trypanosomen

<b>Reich</b>	Eukaryota, Protozoa	
<b>Stamm</b>	Euglenozoa	
<b>Unterstamm</b>	Kinetoplasta	
<b>Klasse</b>	Kinetoplastea	
<b>Ordnung</b>	Trypanosomatida	
<b>Familie</b>	Trypanosomatidae	
<b>Gattung</b>	<i>Trypanosoma</i>	<i>Leishmania</i>

Die Trypanosomen werden in zwei Gattungen eingeteilt, die *Trypanosoma* und die *Leishmania*. Trypanosomatidae sind überwiegend monoxen, d.h. sie haben einen Wirt in ihrem Lebenszyklus. Zu den dixenen Arten gehören u.a. die Gattung *Phytomonas*. Diese werden von phytophagen Insekten übertragen, infizieren und parasitieren in einigen Pflanzen (Kaufer et al. 2017). Die Tsetsefliege, die der Gattung *Glossina* angehört, ist in der Humanmedizin von pathologischer Bedeutung. Sie ist der Vektor von *T. brucei* und *T. cruzi*, die beide obligatorisch dixen sind, d.h. sie haben innerhalb ihres Lebenszyklus zwei Wirte. Die Tsetsefliege ist der Überträger der Schlafkrankheit (Humane Afrikanische Trypanosomiasis; kurz HAT). Der Erreger *T. brucei gambiense* (westafrikanische Trypanosomiasis) ist im Gegensatz zu *T. brucei rhodesiense* (ostafrikanische Trypanosomiasis) eine Zoonose. Die HAT ist in 36 Ländern südlich der Sahara weit verbreitet. Das tierische Reservoir sind Haus- und Wildtiere. Die Arten mit einem zweigeteilten Lebenszyklus haben ihren bevorzugten Entwicklungsort innerhalb der Wirbeltiere, das wiederum Einfluss auf die Schwere und den Phänotyp der Erkrankung hat. Mit Trypanosomen werden Krankheitsbilder assoziiert, die bis auf Infektionen mit *Trypanosoma brucei gambiense*, *Leishmania tropica* und *Leishmania donovani* zoonotisch sind und deren Reservoir ebenfalls einen tierischen Ursprungs hat (Kaufer et al. 2017). Die Gattungen *T. congolense*, *T. vivax* und *T. brucei brucei* verursachen in Afrika die Nagana der Haustiere. Sie machen Symptome wie Fieber, Ödeme, Anämie, Abmagerung, Augenausfluss und Lähmungen (Steverding 2008). Eine weitere bekannte Art sind die *T. brucei equiperdum*, die eine anzeigepflichtige Erkrankung, nämlich die Beschälseuche oder auch Dourine, beim Pferd verursachen (Deplazes et al. 2021). Die Leishmanien parasitieren nicht in Vögeln und daher wird hier nicht weiters auf diese eingegangen.

### 1.3.2 Morphologie

Wie schon erwähnt durchlaufen die Trypanosomen verschiedene Entwicklungsstadien und passen sich morphologisch an ihre Umgebung an. Man unterscheidet zum einen ein spindelförmiges Stadium, in welchem sie mit einer Geißel ausgestattet sind. Sie werden, wie in Abb. 4 ersichtlich, differenziert in eine trypomastigote, epimastigote und promastigote Form. Zum anderen gibt es ein rundliches Stadium ohne freie Geißel (amastigot).

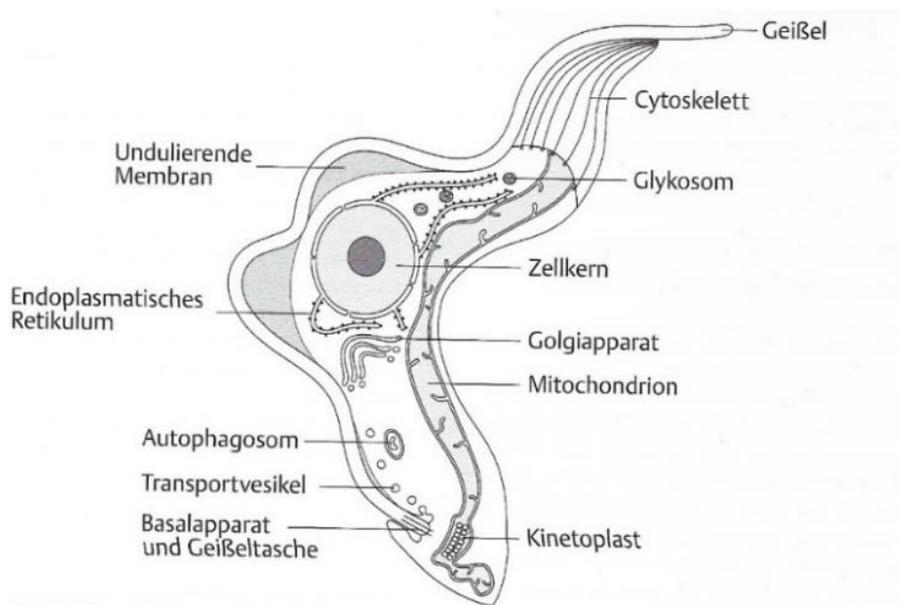


**Abb. 4:** Formen der Trypanosomatidae: a amastigote Form; b promastigote Form; c epimastigote Form; d trypomastigote Form. (Grafik: Marianne Mathys, nach einer Vorlage von Johannes Eckert, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich) (Deplazes et al. 2021)

Abb. 5 zeigt das Schema eines trypomastigoten Stadiums der Gattung *Trypanosoma*. Sie kommen im Blutplasma von Vertebraten vor und haben einen spindelförmigen Körper, der mit einer Zellmembran umgeben ist. Der Zellkörper wird von formgebenden Mikrotubuli durchzogen, die ein Teil des Zytoskeletts darstellen. Weiters enthalten sie einen zentral liegenden Zellkern, ein großes Mitochondrium, welches am Hinterende den Kinetoplasten umschließt. Dieser enthält dicht gelagerte DANN. Mittels Maxicircles und Minicircles kodiert er Enzyme für die Atmungskette und die ribosomale RNA. Außerhalb des Mitochondriums, nahe des Kinetoplasten, tritt eine Geißel aus einer Geißeltasche aus dem Zellkörper aus. Bei der Geißeltasche handelt es sich um eine Plasmamembran, die zum Stoffaustausch des Parasiten dient. Außerdem ist sie als Zuggeißel ausgelegt, da sie zum Vorderende hin ausgerichtet ist.

Der Zellkörper rotiert bei Bewegung um seine eigene Achse, daher auch der Name Trypanon (gr.) = Bohrer. Bei manchen Trypanosomen-Arten übernimmt die Geißel zusätzlich eine Anheftungsfunktion, z.B. heftet sich *T. congolense* an die Endothelzellen der Blutgefäße im Wirbeltierwirt.

In einem Giemsa gefärbten Präparat ist lichtmikroskopisch der Nucleus, der Kinetoplast, die Geißel, die undulierende Membran und einige Granula, z.T der Basalkörper, zu erkennen (Deplazes et al. 2021).



**Abb. 5:** Schema einer trypomastigoten Form von Trypanosomen sp. (Grafik: Marianne Mathys, nach einer Vorlage von Johannes Eckert, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich) (Deplazes et al. 2021)

### 1.3.3 Übertragung

Trypanosomen sind heteroxene Parasiten und entwickeln sich in dem Wirbeltierwirt. Sie werden von verschiedenen Arthropoden zusammen mit Arten der Hippoboscidae (Lausfliege), Simuliidae (Kriebelmücke), Ceratopogonidae (Gnizen) und Dermanyssidae (Rote Vogelmilbe) übertragen (Bernotiené et al. 2020).

Bei den Säugern findet man zwei große Sektionen der Gattung *Trypanosoma*. Zum einen die pathogenen *Salivaria* und die meist apathogenen *Stercoraria*. Die pathogenen *Salivaria* entwickeln sich im vorderen Abschnitt und die apathogenen *Stercoraria* im hinteren Bereich des Verdauungstrakts des Vektors (Deplazes et al. 2021).

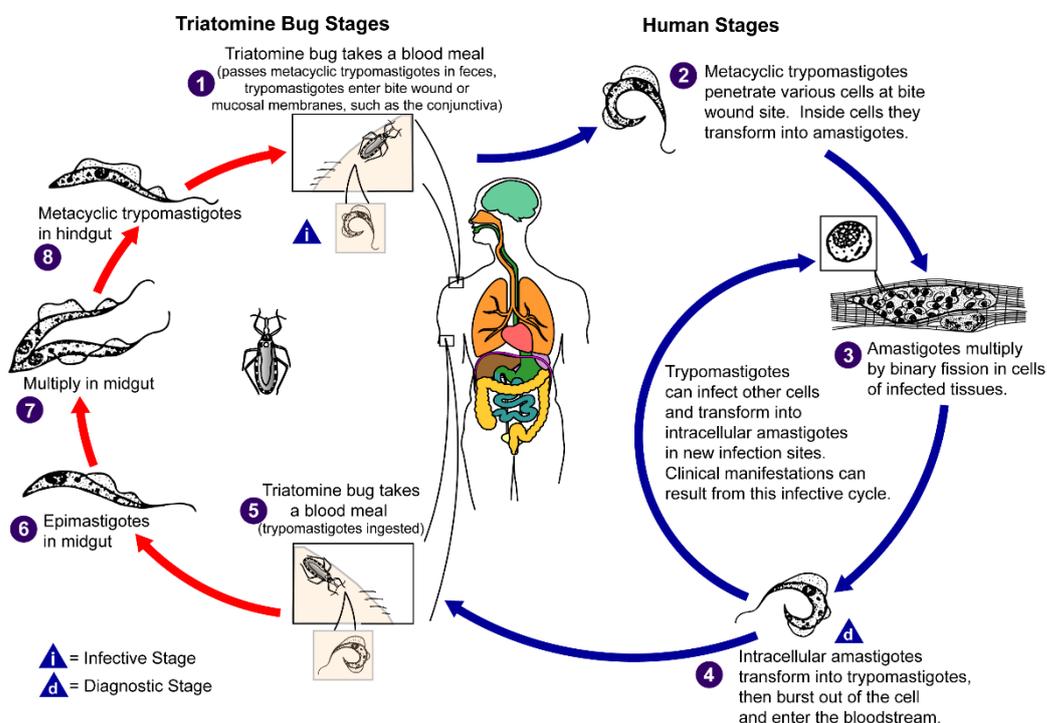
Die Trypanosomen der Sektion *Salivaria* sind spindelförmig, begeißelt und mit einem Kinetoplasten ausgestattet. Die pathogenen Formen haben meist ein stumpfes Hinterende, einen kleinen, terminal oder subterminal gelegenen Kinetoplasten und ein freies Geißelende, welches vorhanden oder auch fehlen kann. Manche Arten verursachen in Afrika die Nagana der Haustiere (*T. congolense*, *T. vivax*, *T. brucei brucei*) und die Schlafkrankheit beim Menschen (*T. brucei gambiense*, *T. brucei rhodesiense*). Die Trypanosomen leben frei im Blut und vermehren sich als trypomastigote Form durch longitudinale Zweiteilung (Deplazes et al. 2021). Die Tsetsefliege nimmt die Erreger durch das Blut eines infizierten Tieres auf, dort wandeln sie sich zur epimastigoten Form um und vermehren sich in den Mundwerkzeugen, in den Speicheldrüsen und im Mitteldarm. Schließlich werden die metazyklischen Stadien gebildet, die wiederum das infektiöse Stadium für die Wirbeltiere bilden und beim Saugakt der Tsetsefliege auf einen neuen Wirt übertragen wird (Deplazes et al. 2021).

Die Trypanosomen der Sektion *Stercoraria* sind meist apathogen oder nur gering pathogen. Zu den Vektoren zählen Insekten und die Übertragung erfolgt mit dem Kot der Vektoren (Stercus lat. = Mist, Kot). Die Merkmale der Blutform sind eine freie Geißel, ein spitzes Hinterende und ein großer nicht terminal gelegener Kinetoplast. Zu den *Stercoraria* zählt die pathogene Trypanosomenart *T. cruzi*, welche die Erreger der Chagas Krankheit beim Menschen sind. Dabei handelt es sich um eine bedeutende zoonotische Erkrankung, die in Mittel- und Südamerika vorkommt. Die Vektoren sind Raubwanzen, die die trypomastigoten Formen über das Blut infizierter Tiere aufnehmen. Diese wandeln sich im Verdauungstrakt des Vektors zu intermediären und epimastigoten Stadien um, um sich dann durch Zweiteilung zu vermehren. Die Trypomastigoten (metazyklische Stadien) werden nach ein bis zwei Wochen über den Kot ausgeschieden. So gelangen die metazyklischen Trypomastigoten während einer Blutmahlzeit am Menschen über den infizierten Kot der Wanze durch Kontamination von Stich- und Kratzwunden oder auch Augen- und Mundschleimhäute in den Körper. Dort befallen sie hauptsächlich Herz-, Skelett- und glatte Muskulatur und Neuroglia. Anschließend kommt es dann zur Umwandlung in die amastigoten Stadien und zur Vermehrung durch Zweiteilung im Zytoplasma und es entstehen trypomastigote Stadien, die ins Blut gelangen. Diese wiederum vermehren sich erst wieder nach Befall neuer Zellen oder in der Raubwanze (Deplazes et al. 2021).

Die Trypanosomen, die bei Vögeln und u. a. Fischen vorkommen, werden eher zu den *Stercoraria* zugeordnet als zu den *Salivaria*. Daher ist in Abb. 6 der Lebenszyklus der *T. cruzi*

ersichtlich (Deplazes et al. 2021). Beim Menschen kann dieser Erreger Herzrhythmusstörungen verursachen (Bertoniené et al. 2020).

Zu den apathogenen oder bedingt pathogenen Arten gehört z.B. *T. theileri*. Sie kommen nur bei Rindern vor. Als Vektoren gelten hier Bremsen (*Tabanus* spp., *Haematopota* spp., u.a.), die vom Rind bei der Abwehr mit der Zunge erfasst und zerquetscht werden, dabei wird der Erreger freigesetzt und gelangt über die Mundschleimhaut in den Körper (Deplazes et al. 2021).



**Abb. 6:** Lebenszyklus von *Trypanosoma cruzi* (CDC/Alexander J. da Silva, PhD; Melanie Moser, <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=3384>, Zugriff 29.09.2021)

### 1.3.4 Vogeltrypanosomen

In Wildtieren, besonders bei Vögeln, sind im Gegensatz zu den Haussäugetieren und Menschen noch nicht viele Arten gründlich untersucht worden. Es sind bisher etwa 100 Arten bei Vögeln bekannt. Aviäre Trypanosomen sind weltweit verbreitet. Laut vergangenen Studien sind sie in den meisten Vogelpopulationen zu finden (Bertoniené et al. 2020). Derzeit sind lediglich drei Typkulturen bekannt (*T. bennetti*, *T. corvi* und *T. culicavium*). Aus den

Gensequenzen (SSU rRNA-small subunit rRNA, glykosomale Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase, Minicircle-Kinetoplast-DNA) konnten sieben Artennamen differenziert werden (*T. anguiformis*, *T. avium*, *T. bennetti*, *T. corvi*, *T. culicavium*, *T. gallinarum* und *T. polygranularis*) (Zídková et al. 2012). Die Trypanosomen, die bei den Vögeln vorkommen werden meist dem *Trypanosoma-avium*-Komplex (*T. avium*, *T. corvi*, *T. bennetti*) zugeordnet. Sie weisen Wirts- und Vektorspezifität auf. Ihre Vektoren sind die Lausfliegen (Hippoboscidae) und Mücken (Simuliidae, Culicidae, Ceratopogonidae). *T. avium* wurde 1885 von Danilewsky in Accipitridae (Habichtartigen), Laniidae (Würgern) und Corvidae (Rabenvögeln) entdeckt. Ein Großteil der Vogeltrypanosomen wurde 1900-1932 auf der Basis der Morphologie der Bluttrypomastigoten beschrieben. Aber dann erwies es sich, dass die Länge der Blutmorphotypen je nach Verlauf der Infektion variabel ist. So kann laut einiger Autoren anhand der Morphologie der Bluttrypomastigoten eine Artdifferenzierung erfolgen. Nach neueren Erkenntnissen ist sie jedoch nur als zusätzlicher Ansatz für phylogenetische Analysen heranzuziehen. Andererseits wurde früher zur Unterscheidung der Trypanosomatiden die Kinetoplastenbreite herangezogen. Heute weiß man, dass die ähnliche Kinetoplastenbreite keine enge Verwandtschaft bedeutet, da Vertreter der verschiedenen Trypanosomen eine Ähnlichkeit aufweisen können. Als Kriterium für die Artenbezeichnung galt weiters die vermutete Wirtsspezifität, obwohl sehr wenig über die Wirt-Parasiten-Beziehung zwischen Vogel und Trypanosomen bekannt ist. So wurden sowohl bei Sing- als auch bei Raubvögeln *T. bennetti*, *T. corvi* und *T. culicavium* gefunden. Zum Beispiel wurden *T. avium* und *T. corvi* bei zwei Arten der Saatkrähen entdeckt. Andererseits sind in jeder einzelnen Linie Isolate einer Vektorart aufgetaucht, sodass man von einer höheren Trypanosomenspezifität gegenüber dem Vektor ausgehen kann. Man denkt, dass jede Linie eine eigene Art der Vogeltrypanosomen darstellt. Die Biodiversität von aviären Trypanosomen basiert auf einer großen Anzahl von Isolaten. Man hat in neueren phylogenetischen Studien mittels zwei molekularer Methoden (RAPD—randomly amplified polymorphic DNA und phylogenetische Analyse des SSU rRNA—Gens) und zwei morphologischer Ansätze (Messung der Kinetoplastenbreite und Zelllänge) gezeigt, dass alle Ergebnisse kongruent waren und man konnte elf Vogeltrypanosomenarten unterscheiden. Die Wirtsspezifität ist nicht nur von der Physiologie und der Immunologie des Wirts abhängig, sondern auch von der Entwicklungsgeschichte und dem Lebensraum der Tiere. Insektenfressende Vögel stecken sich an infizierten Stechmücken an (Zídková et al. 2012; Votýpka et al. 2012). So infizieren sich Greifvögel mit *T. culicavium* durch die Aufnahme von infizierten Stechmücken (Votýpka et al. 2012). Außerdem ist nicht nur die Nahrungsaufnahme sondern auch die Exposition

gegenüber der Insekten, die z. B. durch die Nesthöhe beeinflusst werden kann, ausschlaggebend (Zídková et al. 2012). Singvögel können sich durch die Aufnahme von infizierten schwarzen Fliegen (*Eusimulium* spp.) anstecken. Bei Falken kann gelegentlich das *T. avium*-Komplex Krankheiten verursachen (Deplazes et al. 2021).

Die Vogeltrypanosomen kommen bis auf die Polarregionen auf allen Kontinenten vor. Sing- und Greifvögel gehören zu den am häufigsten Betroffenen, während Enten, Gänse und Spatzen eher selten infiziert werden (Zídková et al. 2012).

## 1.4 Filarien

### 1.4.1 Allgemeines

Die Überfamilie Filarioidea beinhaltet die Familien der Filariidae und Onchocercidae. Die Vertreter werden zur Vereinfachung als Filarien, fadenförmige Nematoden, bezeichnet (Deplazes et al. 2021). Die taxonomische Einteilung ist in der untenstehenden Tab. 5 aufgeführt.

**Tab. 5:** Taxonomische Einteilung der Filarien

<b>Reich</b>	Eukaryota, Metazoa	
<b>Stamm</b>	Nematoda (Fadenwürmer)	
<b>Unterstamm</b>	Secernentea	
<b>Klasse</b>	Spirurida (Rollschwänze)	
<b>Ordnung</b>	Filarioidea (Filarien)	
<b>Familie</b>	Filariidae	Onchocercidae
<b>Gattung</b>	<i>Parafilaria</i> , <i>Stephanofilaria</i> , <i>P. multipapillosa</i>	<i>Dirofilaria immitis</i> , <i>Brugia</i> spp., usw.

Die Filarien parasitieren in allen Klassen der Vertebraten außer bei Fischen. Sie werden durch blutsaugende Arthropoden übertragen und gelangen in Binde- und Sehngewebe, Körperhöhlen oder das Blut- und Lymphsystem (Hotterbeekx et al. 2021; Deplazes et al. 2021). In Europa, v.a. in Südeuropa, sind bei Hunden und Katzen vor allem *Dirofilaria immitis* und

*Dirofilaria repens* von veterinärmedizinischer Bedeutung (Deplazes et al. 2021). *D. immitis* verursacht die kardiovaskuläre Form der Dirofilarose und parasitiert in den Lungenarterien und in der rechten Herzkammer. *D. repens* ist verantwortlich für die kutane Dirofilarose (Baneth et al. 2016).

In der Humanmedizin zählen Filarien in den subtropischen und tropischen Gebieten zu den bedeutsamsten Krankheitserregern (Deplazes et al. 2021). Hierbei spielen die lymphatische Filariose, die Elephantiasis, und die Onchocercose, die Flussblindheit, eine große medizinische Rolle. Von Bedeutung bei der Elephantiasis sind *Wuchereria bancrofti* und *Brugia malayi*. Die abgestorbenen, adulten Filarien blockieren die Lymphgefäße, indem sie den Abfluss der Lymphe stören. Die Folgen sind Lymphödeme, vor allem in Armen und Beinen. Bei der Onchocercose kommt es durch *Onchocerca volvulus* und *Loa loa* zur Erblindung aufgrund wandernder und abgestorbener Mikrofilarien (Hotterbeekx et al. 2021). Man unterteilt die Filarien in Makro- und Mikrofilarien. Die adulten Filarien, auch Makrofilarien genannt, sind meist sehr dünne Nematoden mit einer Körperlänge zwischen wenigen Millimetern bis zu 80 cm bei Weibchen und deutlich kleinere Männchen. Sie besitzen eine kleine Mundkapsel, einen zylindrischen Ösophagus, der in einen muskulösen und drüsigen Abschnitt eingeteilt ist. Am Vorderende befinden sich Kopfpapillen. Die Männchen ohne Bursa haben schmale Caudalflügel, ein spiralg aufgerolltes Hinterende und zwei ungleiche Spicula. Die Weibchen haben eine Vulva, die sich am Hinterende befindet, und sind vivipar oder ovovivipar. Die Mikrofilarien sind schlanke und lange Larven, die als erstes in Körpergewebe, wie Haut, Blut oder Lymphe der Endwirte zu finden sind (Deplazes et al. 2021). Sie werden während einer Blutmahlzeit vom Vektor aufgenommen. Die erwachsenen Filarien parasitieren jahrelang im Wirt und modulieren somit das Immunsystem des Wirtes durch die Ausscheidung löslicher Mediatoren (Moreno und Geary 2008; Taylor et al. 2010). Die Besonderheit der Mikrofilarien ist die Dislokation. Sie befinden sich oft weit von der Lokalisation der Makrofilarien entfernt. Manche Mikrofilarien sind eher tag- oder nachtaktiv, das bedeutet zu diesen Tageszeiten befindet sich ein Maximum der Mikrofilariendichte im peripheren Blut. Dies geschieht oft in Anpassung an die Aktivitätsphasen der Zwischenwirte (oder andererseits sind sie permanent dort vorhanden).

#### **1.4.2 Lebenszyklus**

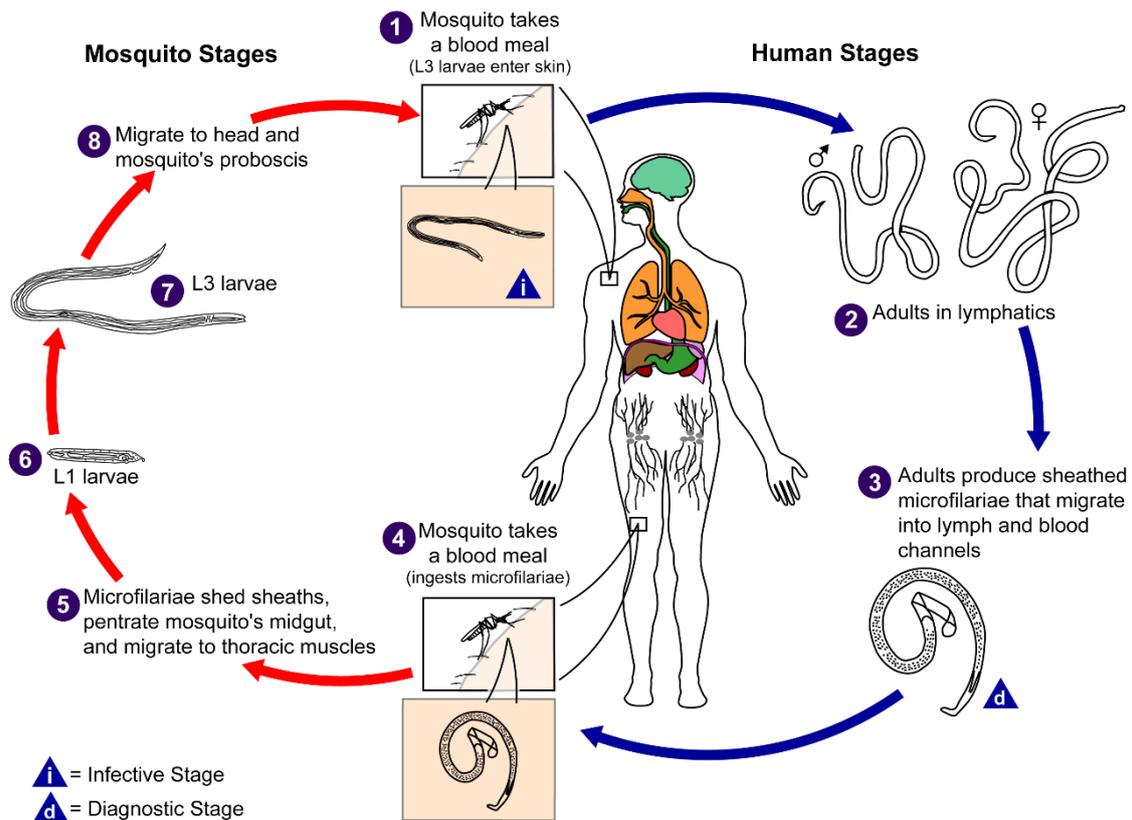
Filarien sind, wie oben schon erwähnt, zweigeschlechtlich und je nach Art vivipar oder ovovivipar. Die adulten Weibchen sind entweder lebendgebärend und scheiden L1-Larven

aus, also Mikrofilarien, oder larvenhaltige Eier (Deplazes et al. 2021). Der Unterschied bei den Filarienfamilien liegt lediglich an dem Weg zur Aufnahme durch die Vektoren.

Die Onchocercidae leben in Gängen und Knoten in Bändern von Bindegewebe umgeben oder in Sehnen oder Knoten in der Haut und Unterhaut. Die adulten Weibchen scheiden unbescheidete Mikrofilarien aus, die sich unabhängig von dem Ansiedlungsort der adulten Weibchen an mehr oder weniger definierten Körperstellen in der Haut ansammeln. Dies wiederum ist artabhängig von der Aufnahme von Simuliiden (Kriebelmücke) oder Ceratopogoniden (Gnitzen) beim Stechakt. Die Körperregionen, in denen sie sich ansammeln, ist von den Zwischenwirten abhängig. In dem Insekt erfolgt die Entwicklung von L1 zu L3 bis sie schließlich durch den Stechakt auf den neuen Wirt übertragen wird. Die Wanderwege im Endwirt zur endgültigen Ansammlungsstelle und auch Einzelheiten zur Entwicklung sind nicht weiter bekannt. Die Weibchen halten sich eher an einer Körperstelle auf, während die Männchen im Wirt auf der Suche nach Weibchen umherwandern. Die Präpatenz hat eine Dauer von mind. sieben Monate und die adulten Individuen können möglicherweise mehr als 20 Jahre leben (Deplazes et al. 2021).

Nach der Verpaarung der Filariidae gelangen die Mikrofilarien in das periphere Blut und werden von dem Zwischenwirt, einer Mücke, während ihrer Blutmahlzeit aufgenommen. Nach der Blutmahlzeit wandern die Mikrofilarien vom Mitteldarm zu den malpighischen Tubuli durch das Hämokoel des Insekts. Im Hämokoel, also in der Leibeshöhle, kommt es auch zur Häutung der L1 in das zweite (L2) und das dritte (L3) Stadium. Das dritte Larvenstadium ist das für den Endwirt infektiöse Stadium (Capelli et al. 2018). Die L3 wandert in die Proboscis (Rüssel) des Insekts und wird beim nächsten Stechakt auf den Wirt übertragen. Nach ca. 1-2 Wochen kommt es zur Häutung im subkutanen Bindegewebe ins Larvenstadium 4. Die L4 wandert zwischen Muskelfasern und nach der letzten Häutung dringt sie in größere Venen ein. Anschließend wächst sie 70-110 Tage post infectionem (p.i.) zu einer Länge von 2-3 cm heran und erreicht die Arteria pulmonalis und das rechte Herz. Die Geschlechtsreife haben die Parasiten nach etwa 180 Tagen p.i., d.h. die adulten Weibchen setzen Mikrofilarien frei. Und damit schließt sich der Zyklus (Capelli et al. 2018; Deplazes et al. 2021). Die Entwicklung der verschiedenen Stadien ist temperaturabhängig. Das bedeutet, dass die Entwicklung z.B. *D. repens* ca. 8–13 Tage bei 27–30 °C, 10–12 Tage bei 24–26 °C und 16–20 Tage bei 22 °C dauert (Capelli et al. 2018).

Die untenstehende Abb. 7 zeigt den Lebenszyklus der Onchocercidae am Beispiel von *Wuchereria bancrofti*.



**Abb. 7:** Lebenszyklus von *Wuchereria bancrofti* (CDC/Alexander J. da Silva, PhD; Melanie Moser, <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=3425>, Zugriff 29.09.2021)

### 1.4.3 Vogelfilarien

Es ist derzeit bekannt, dass es etwa 160 Arten von aviären Filarien gibt und 16 Vogelgattungen befallen. Sie gehören zu der Familie der Onchocercidae (Atkinson 2008).

Man vermutet jedoch, dass es mehr Filarienarten gibt als bisher dokumentiert wurde. Filarien sind bei einer Sektion meist schwer zu identifizieren. Außerdem sind einige Arten nur kurz lebensfähig oder andere apathogen und daher bisher noch nicht entdeckt (Sanchez-Godoy et al. 2020). Tatsächlich wird ein Großteil der Filarien gefunden, indem man gefärbte Blutausschnitte der Vogelwirte untersucht. Außerdem befinden sich auch viele aviäre Filarien in der Haut, die aber wiederum selten mikroskopisch untersucht wird. Man geht davon aus, dass diese weit mehr verbreitet sind als derzeit bekannt. Es gibt auch eine „okkulte Infektion“, wobei adulte Filarien vorhanden sind, die aber keine Mikrofilarien produzieren (Atkinson 2008). Die Vögel beherbergen meist mehr als eine filarioide Gattung (Atkinson 2008). Die Ansteckungsrate ist abhängig von der Wirtsspezifität der Vektoren. Das bedeutet sie ist

schmäler, wenn die Vektoren wirtsspezifisch sind, wie z.B. die meisten Läuse, oder breiter, wenn die Vektoren sich von einem größeren Spektrum von Vogelwirten ernähren, wie z.B. blutsaugende Zweiflügler (Atkinson 2008). Die adulten aviären Filarien sind schlanke, weißliche Nematoden, die eine Länge von 1-5 cm erreichen können. Die weiblichen Filarien sind meist größer als die Männchen (Atkinson 2008). Die adulten Filarien geben nach der Verpaarung Mikrofilarien ab, die entweder ins Blut oder in die Haut wandern. Die meist verbreitete Gattung ist die *Pelecitus*. Diese Gattung ist neben der *Eulimdana* unter anderem dafür bekannt, dass sie hautbewohnende Mikrofilarien produzieren und die, die ins Blut wandern. Beide Gattungen zeichnen sich außerdem in einer frühzeitigen Alterung des Reproduktionstraktes und der adulten Stadien aus. Die *P. fulicaeatrae* wurden bei amerikanischen Blässhühnern gefunden. Sie parasitieren in der Nähe der Fesselgelenke im Gewebe und produzieren für kurze Zeit langlebige Mikrofilarien. Schließlich beenden sie die Reproduktion und verbleiben an ihrem Ansiedlungsort (Atkinson 2008). Die Arten der *Eulimdana* wurden bei Regenpfeiferartigen, den Charadriiformen, gefunden. Sie nisten sich in das Subkutangewebe des Kopfes und Nackens ein. Dort produzieren sie langlebige Mikrofilarien und sterben kurz daraufhin ab. Es kommt zur Resorption durch den Wirt und zur Ausbildung einer Immunität gegenüber den adulten Exemplaren (Atkinson 2008).

#### **1.4.3.1 Pathogenität und klinische Symptome**

Es gibt wenige Berichte über die klinischen Anzeichen einer Infektion mit aviären Filarioiden, da nur wenige pathogen und diese in der Regel eher subklinisch sind (Atkinson 2008). Je nach Art kann es zu Endothelschäden, Stenosen von Gefäßen, Thrombosen, Myokardschäden oder zu Gelenkschwellungen, Lahmheiten, Gewichts- und Federverlust kommen (Deplazes et al. 2021; Atkinson 2008). Im Allgemeinen gelten Mikrofilarien mit Ausnahmen als nicht pathogen. Studien haben in Bezug auf durch Blut übertragenen Mikrofilarien gezeigt, dass es bei Krähen durch *Splendidofilaria caperata* zu chronischen Entzündungen in den Wänden der Lungenarterien gekommen ist. Hierbei handelte es sich um eine okkulte Infektion (Atkinson 2008). Leider liegen bisher wenige Daten zur Therapie vor (Deplazes et al. 2021).

#### **1.4.3.2 Vektoren und Vektorenspezifität**

Es sind 18 Vektoren von etwa 160 Arten der aviären Filarien bekannt (Atkinson 2008). Je nach Art haben sie unterschiedliche Zwischenwirte, wie z.B. Federlinge (Amblycera, Ischnocera) oder Mücken (Culiciden, Ceratopogoniden). Sie kommen häufiger bei Exoten als bei Nutzgeflügel in Europa vor (Deplazes et al. 2021). Die Gattungen der Filarien sind nicht nur

auf einen Vektor beschränkt. Es kann eine Gattung von Insekten in unterschiedlichen Familien und Ordnungen übertragen werden und dort parasitieren (Atkinson 2008). Eher vektorspezifisch sind die Filarienarten, die diptere Vektoren für sich verwenden. Sie beschränken sich auf eine Vektorfamilie, können aber mehr als eine Spezies der Vektorgattung nutzen (Atkinson 2008). Weniger vektorspezifisch sind hingegen Filarienarten, die Federlinge als Vektor bevorzugen. So entwickeln sich *Eulimdana baina*e und *E. wongae* in den Unterordnungen der Phthiraptera wie Ischnocera und Amblycera (Atkinson 2008).

#### **1.4.3.3 Filarien bei Raub- und Singvögeln**

Im Allgemeinen führen Nematoden zu den häufigsten Endoparasitosen bei Raubvögeln. Die Parasiten der Ordnung Spirurida befallen größtenteils die Raubvögel. Man findet sie in fast allen Organen, wobei sie bevorzugt im Magen-Darm-Trakt oder im Atmungssystem parasitieren. Sie infizieren sich meist über ihre Beutetiere. Eine Infektion führt meist zu einer subklinischen Infektion. Nicht alle Nematodenarten sind gleich pathogen. Außerdem hängt der Ausbruch klinischer Symptome von der Stärke des Befalls des jeweiligen Organs, der allgemeinen Konstitution des Wirtes und der Ausbildung des Immunsystems ab, da diese Parasitose, auch eine Faktorenerkrankung ist. Ein Beispiel hierfür, wären ein schlechter Ernährungszustand, Stress oder weitere Infektionskrankheiten. Bei einem geringen Befall von Nematoden im Darm kommt es zu wenigen Schäden des Magen-Darm-Traktes. Jedoch kann es bei starkem Befall zu einer Darmperforation oder auch zu einem Ileus kommen (Cooper 2002).

Singvögel fressen eine große Anzahl an Arthropoden, einschließlich Käfer, Raupen, Schmetterlingen, Motten, Heuschrecken und Spinnen. Neben der tierischen Nahrung nehmen sie auch Samen, Früchte, Gras und Blumen zu sich. Die filarioiden Nematoden können chronische Infektionen bei Vögeln verursachen. So gibt es Filarienarten, die in den Luftsäcken, der Lunge, der Körperhöhle und in der Luftröhre der Singvögel parasitieren (Chandio et al. 2015).

Es gibt weiters einige Filarienarten, die in der Nacht periodisch sind und es daher besser wäre, die Blutproben in der Nacht zu entnehmen. Ein paar hämatophage Arthropoden, wie z.B. die Stechmücken, saugen in der Nacht Blut und können daher nächtlich periodische Mikrofilarien aufnehmen. Es gibt einige Studien, in welchen Blutproben von nachtaktiven Singvögeln entnommen wurden. Von ihnen hat man Lungenblut und direkt entnommenes Blut untersucht, wobei drei Arten von Mikrofilarien identifiziert werden konnten (Vaughan et al. 2012).

## **2 Material und Methode**

### **2.1 Material**

Dem Projekt standen 334 bereits extrahierte DNA-Proben von diversen Raubvögeln und 549 extrahierte Proben verschiedenster Passeriformes zur Verfügung.

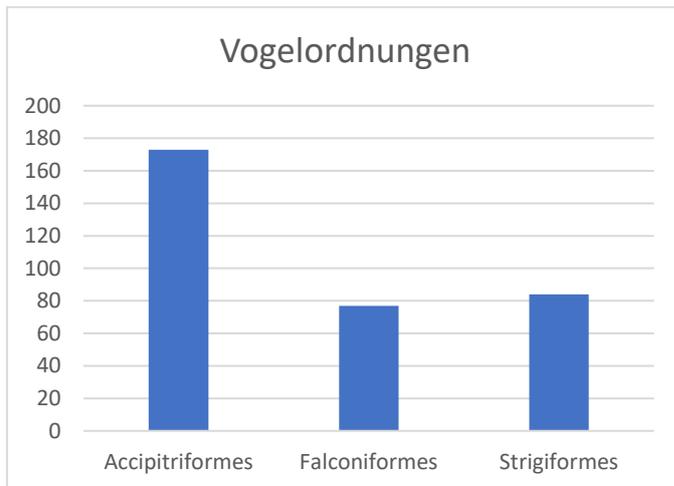
Die ursprünglichen Proben der Raubvögel kamen von verschiedenen Instituten der Veterinärmedizinischen Universität Wien (Vetmeduni Vienna). Dabei handelte es sich um Blutproben, Blutabstriche, Blut in Ethanollösung und Gewebeproben aus der Leber und Milz. Insgesamt kamen 167 Proben von der Vogelklinik, 158 Proben von dem Forschungsinstitut für Wildtierkunde und Ökologie (FIWI) des Departments für Interdisziplinäre Lebenswissenschaften, drei vom Institut für Pathologie, fünf von der Virologie und eine von der AGES (Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit) aus Innsbruck.

Bei den ursprünglichen Proben der Singvögel handelte es sich ebenfalls um Bluttupfer, verschiedenste Gewebeproben. Dies ist genauer definiert, als Gewebeproben aus Gehirn, Leber, Lunge, Muskel und Niere. Von den Proben der Passeriformes kamen 19 von der Vogelklinik, 311 von der Virologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien, 21 Proben von dem Forschungsinstitut für Wildtierkunde und Ökologie (FIWI) des Departments für Interdisziplinäre Lebenswissenschaften, 137 aus Illmitz und 61 aus dem TCS-Projekt (Top Citizen Science Projekt).

#### **2.1.1 Raubvögel**

Insgesamt wurden von 334 Vögeln aus der Gattung der Raptoren 319 DNA-Proben und 105 Blutausstriche auf eine Infektion mit Trypanosomen und Mikrofilarien untersucht.

Den größten Anteil der Proben stellen die Ordnung der Accipitriformes (51,8 %) dar. Außerdem wurden 77 Proben der Falconiformes (23,0 %) und 84 Proben der Strigiformes (25,2 %) zur Verfügung gestellt. Dies ist übersichtlich in Abb. 8 dargestellt.



**Abb. 8:** Vogelordnungen der Raubvögel

Der Mäusebussard, *Buteo buteo*, gehört neben den Turmfalken zu den am häufigsten gesichteten Greifvögeln in Österreich. Der Bestand gilt derzeit als stabil (Génsbøl und Thiede 1997). Von ihm stammen 69 Proben. Der Turmfalke, *Falco tinnunculus*, ist auch in Österreich zu finden und steht unter dem Wiener Naturschutz und den Vogelschutzrichtlinien der Europäischen Union. Von ihnen stammt ebenfalls ein Großteil der Proben dieser Arbeit. In der unten stehenden Tab. 6 sind alle Raubvogelfamilien aufgeführt.

**Tab. 6:** Ordnungen und genaue Anzahl Familien der Raptoren in dieser Arbeit

Ordnung	Familie	Ordnung	Gesamtzahl
<b>Accipitriformes (Greifvögel)</b>	Accipitridae (Habichtartige)	<i>Buteo buteo</i> - Mäusebussard	70
		<i>Circus aeruginosus</i> - Rohrweihe	22
		<i>Accipiter nisus</i> - Sperber	22
		<i>Haliaeetus albicilla</i> - Seeadler	13
		<i>Accipiter gentilis</i> - Habicht	11
		<i>Milvus milvus</i> - Rotmilan	8

		<i>Aquila heliaca</i> - Kaiseradler	8
		<i>Buteo</i> - Bussard	6
		<i>Aquila pomarina</i> - Schreiadler	2
		Adler	2
		<i>Buteo lagopus</i> - Raufußbussard	1
		<i>Pandion haliaetus</i> - Fischadler	1
		<i>Haliaeetus leucocephalus</i> - Weißkopfadler	1
		<i>Gyps fulvus</i> - Gänsegeier	1
		<i>Gypaetus barbatus</i> - Bartgeier	1
		<i>Pernis apivorus</i> - Wespenbussard	1
<b>Falconiformes</b> <b>(Falkenartige)</b>	Falconidae (Falkenartige)	<i>Aquila heliaca</i> - Kaiseradler	1
		<i>Falco tinnunculus</i> - Turmfalke	71
		<i>Falco subbuteo</i> - Baumfalke	2
		<i>Falco cherrug</i> - Sarkerfalke	2
		<i>Falco peregrinus</i> - Wanderfalke	2
		<i>Falco</i> - Falke	1
		<i>Falco columbarius</i> - Merlin	1

<b>Strigiformes (Eulen)</b>	Strigidae (Eulen)	<i>Strix uralensis</i> - Habichtskauz	26
		<i>Asio otus</i> - Waldohreule	24
		<i>Strix aluco</i> Waldkauz	17
		<i>Bubo bubo</i> - Uhu	10
		<i>Athene noctua</i> - Steinkauz	6
		<i>Asio flammeus</i> - Sumpfohreule	1
		<b>Gesamt</b>	<b>334</b>

Die Proben für diese Arbeit stammen aus den Jahren 2005-2019. Die meisten Proben wurden vom Forschungsinstitut für Wildtierkunde und Ökologie (FIWI) zur Verfügung gestellt. Mit 105 Proben stammten ein Großteil aus dem Jahr 2017, mit 71 Proben aus dem Jahr 2018, mit 36 Proben aus dem Jahr 2014, 30 Proben aus dem Jahr 2015 und in den restlichen Jahren waren es immer zwischen einer und 25 Proben, die zur Verfügung gestellt wurden (Tab.7). Die DNA- Proben stammen aus Organmaterial, wie Milz und Leber und aus Blutproben (Abb.9).

Tab. 7: Zeitraum der Probennahmen

Herkunft/ Jahr	2005	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Vetmed Vogelklinik								14		91	62	
Institut Pathologie								3				
Institut Virologie	5											
FIWI		1	23	7	14	25	36	13	16	14	9	
AGES Innsbruck												1
<b>Gesamt</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>23</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>25</b>	<b>36</b>	<b>30</b>	<b>16</b>	<b>105</b>	<b>71</b>	<b>1</b>

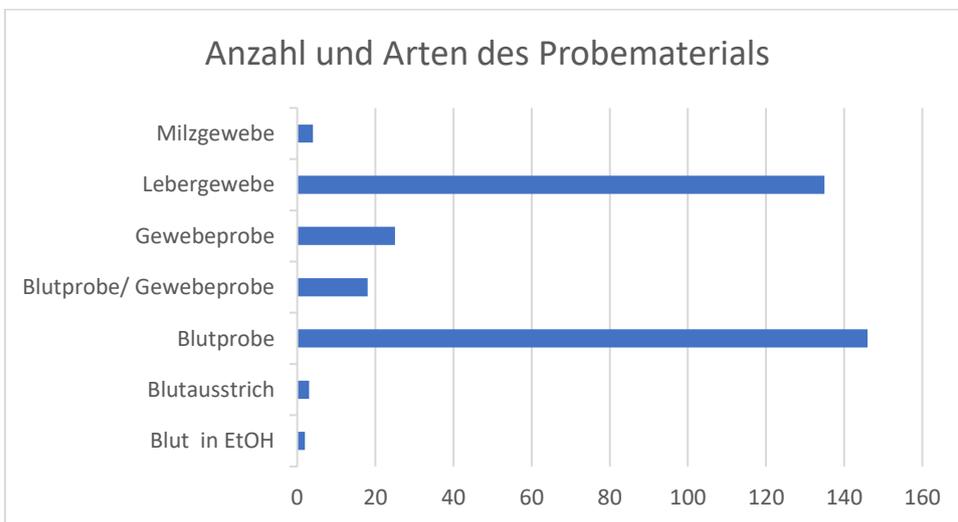


Abb. 9: Anzahl und Arten des Probematerials

### 2.1.2 Singvögel

Von den Passeriformes wurden insgesamt 549 Proben untersucht.

Eine genaue Auflistung der Gattungen der Passeriformes ist in Tab. 8 aufgeführt

**Tab. 8:** Anzahl, Arten und Gattungen der inkludierten Passeriformes

Unterfamilie	Familie		Art	Gesamtzahl
<b>Passerida</b>	Rohrsängerartige	Acrocephalidae	<i>Acrocephalus scirpaceus</i> - Teichrohrsänger	20
		Acrocephalidae	<i>Acrocephalus schoenobaenus</i> - Schilfrohrsänger	8
		Acrocephalidae	<i>Acrocephalus arundinaceus</i> - Drosselrohrsänger	2
		Acrocephalidae	<i>Acrocephalus palustris</i> - Sumpfrohrsänger	2
		Acrocephalidae	<i>Acrocephalus</i> - Rohrsänger	1
	Lerchen	Alaudidae	<i>Calandrella brachydactyla</i> - Kurzzehenlerche	1
	Baumläufer	Certhiidae	<i>Certhia brachydactyla</i> - Gartenbaumläufer	1
	Ammen	Emberizidae	<i>Emberiza schoeniclus</i> - Rohrhammer	7

		Emberizidae	<i>Emberiza citrinella</i> - Goldammer	2
	Finken	Fringillidae	<i>Chloris chloris</i> - Grünfink	29
		Fringillidae	<i>Fringilla coelebs</i> - Buchfink	12
		Fringillidae	<i>Carduelis carduelis</i> - Stieglitz	8
		Fringillidae	<i>Coccothraustes coccothraustes</i> - Kernbeißer	5
		Fringillinae	<i>Pyrrhula pyrrhula</i> - Gimpel	3
		Fringillinae	<i>Fringilla montifringilla</i> - Bergfink	3
		Fringillidae	<i>Serinus canaria forma domestica</i> - Kanarienvogel	2
		Fringillidae	<i>Carduelis citrinella</i> - Zitronenzeisig	1
		Fringillidae	<i>Spinus</i> - Zeisig	1
		Fringillidae	<i>Serinus serinus</i> - Girlitz	1
		Fringillidae	Fink (hier nicht genauer definiert)	1
		Fringillidae	<i>Spinus spinus</i> - Erlenzeisig	1
		Fringillidae	<i>Linaria cannabina</i> - Bluthänfling	1
		Fringillidae	<i>Loxia leucoptera</i> - Binderkreuzschnabel	1

	Schwalben	Hirundinidae	<i>Hirundo rustica</i> - Rauchschwalbe	36
		Hirundinidae	<i>Delichon urbicum</i> - Mehlschwalbe	3
		Hirundinidae	Schwalbe (hier nicht genauer definiert)	2
	Grassänger	Locustellidae	<i>Locustella</i> <i>luscinioides</i> - Rohrschwirl	8
		Locustellidae	<i>Locustella naevia</i> - Feldschwirl	1
	Stelzen und Pieper	Motacillidae	<i>Motacilla alba</i> - Bachstelze	1
	Fliegenschnäpper	Muscicapidae	<i>Erithacus rubecula</i> - Rotkehlchen	62
		Muscicapidae	<i>Ficedula hypoleuca</i> - Trauerschnäpper	19
		Muscicapidae	<i>Phoenicurus</i> <i>ochruros</i> - Hausrotschwanz	7
		Muscicapidae	<i>Phoenicurus</i> <i>phoenicurus</i> - Gartenrotschwanz	3
Muscicapidae		<i>Phoenicurus</i> - Rotschwanz	2	
Muscicapidae		<i>Saxicola rubicola</i> - Schwarzkehlchen	1	
Muscicapidae		<i>Muscicapa striata</i> - Grauschnäpper	1	

	Meisen	Paridae	<i>Parus major</i> - Kohlmeise	47
		Paridae	<i>Cyanistes caeruleus</i> - Blaumeise	47
		Paridae	<i>Panurus biarmicus</i> - Bartmeise	4
		Paridae	<i>Periparus ater</i> - Tannenmeise	1
		Paridae	<i>Aegithalos caudatus</i> - Schwanzmeise	1
		Paridae	Meise (hier nicht genauer definiert)	1
	Sperlinge	Passeridae	<i>Passer domesticus</i> - Haussperling	39
		Passeridae	<i>Passer montanus</i> - Feldsperling	8
		Passeridae	Sperling (hier nicht genauer definiert)	3
	Laubsängerartige	Phylloscopidae	<i>Phylloscopus collybita</i> - Zilpzalp	18
		Phylloscopus	<i>Phylloscopus trochilus</i> - Fitis	5
		Phylloscopidae	<i>Phylloscopus sibilatrix</i> - Waldlaubsänger	2
		Phylloscopidae	<i>Phylloscopus trochiloides</i> - Grünlaubsänger	1
	Braunellen	Prunellidae	<i>Prunella modularis</i> - Heckenbraunelle	4
	Goldhähnchen	Regulidae	<i>Regulus regulus</i> - Wintergoldhähnchen	4
		Regulidae	<i>Regulus ignicapilla</i> - Sommergoldhähnchen	3
	Stare	Sturnidae	<i>Sturnus vulgaris</i> -	19

			Star	
	Grasmückenartige	Sylviidae	<i>Sylvia atricapilla</i> - Mönchsgrasmücke	58
		Sylviidae	<i>Sylvia borin</i> - Gartengrasmücke	5
		Sylviidae	<i>Sylvia curruca</i> - Klappergrasmücke	4
		Sylviidae	<i>Sylvia</i> - Grasmücke	1
		Sylviidae	<i>Sylvia communis</i> - Dorngrasmücke	1
	Zaunkönig	Troglodytidae	<i>Troglodytes troglodytes</i> - Zaunkönig	5
	Drosseln	Turdidae	<i>Turdus philomelos</i> - Singdrossel	2
<b>Corvida</b>	Pirole	Oriolidae	<i>Oriolus oriolus</i> - Pirol	2
	Würger	Laniidae	<i>Lanius collurio</i> - Neuntöter	5
<b>Gesamt</b>				<b>549</b>

Ein Großteil der Proben machten Paridae (Meisen) mit 18,4 %, Muscicapidae (Fliegenschnäpper) mit 17,3 %, Fringillidae (Finken) mit 12,6 % und Sylviidae (Grasmückenartige) mit 12,6 % aus.

Die Proben für diese Arbeit stammen aus den Jahren 2003-2020. Die meisten Proben wurden vom Institut für Virologie zur Verfügung gestellt (Tab. 9). Die DNA-Proben stammen aus Blutproben und Organmaterial, wie Gehirn, Leber, Lunge, Muskel und nicht genauer definiertes Organmaterial.

**Tab. 9:** Zeitraum der Probennahmen

Herkunft/ Jahr	2003	2004	2005	2006	2007	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2020
Vogel- klinik											3		11	5	
Institut Virologie	72	82	42	97	18										
FIWI						1	4	1	3	2	3	1	6		
Illmitz													126	11	
TCS- Projekt															61
<b>Gesamt</b>	<b>72</b>	<b>82</b>	<b>42</b>	<b>97</b>	<b>18</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>143</b>	<b>16</b>	<b>61</b>

## 2.2 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktionen der einzelnen Proben wurden vom Institut für Pathologie durchgeführt. Hierfür wurden das DNeasy Blood-Tissue Kit (QIAGEN, Venlo, Niederlande) verwendet und laut dem Herstellungsprotokoll zur Isolierung vollständiger DNA aus den Blut- und Gewebeproben der Tiere gearbeitet.

Die getrockneten Blutstropfen auf einem Filterpapier wurden zu etwa 0,5 x 1 cm großen Stücken zu geschnitten und in 2 ml Tubes gegeben. Die Lebergewebe-Proben wurden bei -80 °C gefroren, anschließend bei Raumtemperatur leicht angetaut und jeweils 5 mg von der Oberfläche abgeschabt. Das gewonnene Material wurde ebenfalls in 2 ml Tubes gelegt.

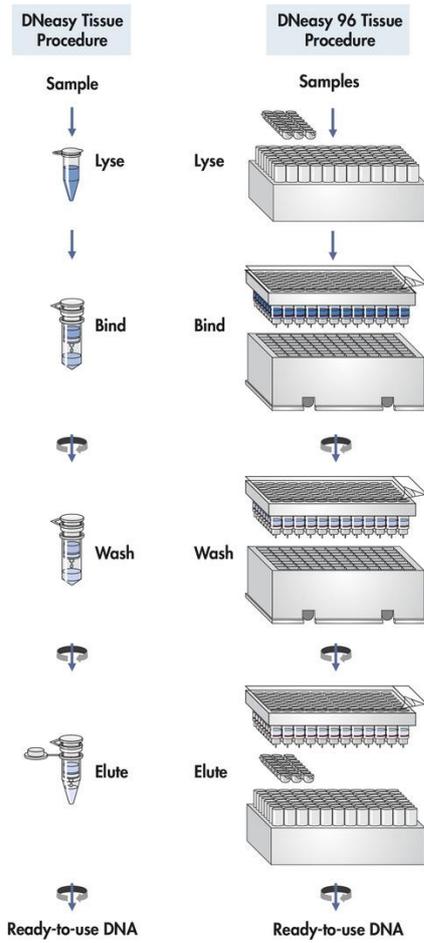
Als erstes wurden bei allen Proben die Zellen enzymatisch aufgelöst. Hierfür hat man speziellen Lyse-Puffer und Proteinase K hinzugefügt. Danach wurden die Proben für ca. zwei Stunden in einem Thermomixer bei 56 °C inkubiert. Anschließend wurden Lysat Ethanol und eine an chaotropen Salzen reiche Pufferlösung hinzugegeben und in die DNeasy Mini Spin Columns pipettiert.

Die Proben wurden in einer Minizentrifuge bei Raumtemperatur für eine Minute bei 8.000 Umdrehungen pro Minute (U/min) zentrifugiert. Die Nukleinsäuren binden selektiv an die Silica-basierte Membran während der Zentrifugation.

In die Mini Spin Columns wurden in zwei Waschschritten je 500 µl Waschpuffer hinzugefügt und anschließend zentrifugiert. Beim ersten Durchlauf wird eine Minute bei 8.000 U/min und beim zweiten drei Minuten bei 14.000 U/min zentrifugiert.

Abschließend wurde die DNA aus der Membran ausgewaschen und in Puffer gelöst. Direkt auf die Membran werden hierfür 100 µl Puffer pipettiert, eine Minute bei Raumtemperatur inkubiert. Die Mini Spin Columns wurden zunächst eine Minute bei 8.000 U/min und abschließend bei 13.000 U/min zentrifugiert. Für die PCR wurden die Eluate aus dem zweiten Schritt verwendet.

Die gelöste DNA wurde bei -20 °C bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt. Ein Schema ist ins Abb. 10 zu sehen.



**Abb. 10:** DNeasy Blood & Tissue Kits ([qiagen.com](http://qiagen.com))

## 2.3 PCR

### 2.3.1 Prinzip

Die Polymerase-Kettenreaktion oder auch Polymerase Chain Reaction (PCR) wurde von Kary B. Mullis im Jahre 1987 entwickelt. Grundsätzlich dient sie zur Vervielfältigung einer bestimmten DNA-Sequenz innerhalb einer vorliegenden DNA-Kette. Um die PCR durchzuführen werden geringe Mengen an DNA benötigt, wie z.B. aus Blut oder Gewebeproben, um ausreichend Kopien zu erzeugen. Des Weiteren braucht man zwei spezifisch hergestellte Primer, Nukleotide und eine DNA-Polymerase. Die Polymerase fungiert als Schlüsselenzym und verbindet die einzelnen Nukleotide, um ein PCR-Produkt zu bilden. In der DNA finden sich die vier Basen Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin. Außerdem werden zur Amplifikation Primer benötigt. Dies sind Oligonukleotide, die an eine definierte DNA-Sequenz binden, die zur Ziel-DNA komplementär ist und die Startpunkte festlegen. Man benötigt sowohl einen Forward- als auch einen Reverse-Primer.

Zunächst wird ein Mastermix hergestellt. Hierfür wird für die jeweilige PCR eine festgelegte Menge an Mastermix erstellt und mit der extrahierten DNA vermischt. Dieser enthält Nukleotide (dNTP's), eine hitzestabile Polymerase (TaqPolymerase), zwei spezifische Primer, einen Puffer und Wasser. Für jeden Mastermix wurde die GoTaq DNA Polymerase und der Green GoTaq Reaction Buffer von der Firma Promega (Fischenburg, USA) verwendet. Ebenso wurde bei jeder PCR eine Positiv- und eine Negativkontrolle mit beprobt.

Die Mastermixe für unsere Arbeit wurden in einer Sterilbank erstellt, ebenso wie das Hinzufügen der DNA in die 96-Well-Platte. Anschließend wurden die Wells in ein Eppendorf Mastercycler Pro (Eppendorf, Hamburg) gegeben.

Bei dem Mastercycler handelt es sich um einen Thermocycler, der ein Thermoblock mit Löchern hat, in die die Wells mit dem PCR-Gemisch eingelegt werden. Er hebt und senkt abwechselnd die Temperatur des Blocks in einem vorher eingestellten und festgelegten Programm.

Zunächst erfolgt die Denaturierung der DNA, indem die Temperatur auf 94 °C erhitzt wird und die DNA-Stränge werden voneinander getrennt. Anschließend folgt das Annealing. Hierbei wird die Temperatur auf 51 °C-64 °C gesenkt und die Primer binden an die Einzelstränge. Danach erfolgt die Elongation. Bei einer Temperatur von 72 °C synthetisiert die Polymerase vom Primer als Startpunkt aus in 5'-3' Richtung den komplementären Strang. Ein Zyklus wird

immer in einer bestimmten Anzahl wiederholt. Bei jeder Wiederholung der letzten drei Schritte verdoppelt sich die Anzahl der kopierten DNA-Moleküle (Garibyan und Avashia 2013).

### **2.3.2 Nested PCR**

Die Nested-PCR oder auch verschachtelte PCR erhöht die Spezifität der gesuchten Zielsequenz. Dabei werden zu dem Produkt der ersten Polymerase-Kettenreaktion eine zweite PCR, die Nested-PCR, mit anderen Primern gestartet. Daher ist sie eine Abwandlung der konventionellen PCR.

Durch das Aufeinanderfolgen der zwei PCR's und mit der Verwendung des ersten PCR Produktes (NEST 1) in der darauffolgenden Probe (NEST 2) wird die Spezifität erhöht. Es kann sein, dass sich multiple Banden in der Gelelektrophorese darstellen, da die Bindungseigenschaften der ausgewählten Primer nicht optimal sind und sie dadurch eventuell noch anders auf dem DNA-Template binden. Dadurch kann die Zielsequenz nicht korrekt dargestellt werden. Daher wird eine zweite Reaktion mit dem aus dem ersten Produkt erstellt. Es wird erwartet, dass die Zielsequenz spezifisch amplifiziert werden kann (Arnemann 2019).

Dafür wird wieder ein Mastermix erstellt. Dieser enthält Nukleotide (dNTP's), eine hitzestabile Polymerase (TaqPolymerase), zwei spezifische Primer, einen Puffer und Wasser. Für jeden Mastermix wurde die GoTaq DNA Polymerase und der Green GoTaq Reaction Buffer von der Firma Promega (Fischenburg, USA) verwendet. Außerdem wurde bei jeder PCR eine Positiv- und eine Negativkontrolle mit beprobt.

Anschließend wurde 1 µl der ersten PCR in das zweite PCR Produkt gegeben. Sie enthält das Primerpaar, das die Zielsequenz weiter innen lokalisiert und somit ein kürzeres Fragment ergibt. Die Wells mit dem PCR-Gemisch werden wieder in den Thermocycler gegeben und genauso wie bei der ersten PCR erfolgt eine Denaturierung bei 94 °C, das Annealing mit einer Temperatur bei 94 °C bis 72 °C mittels 30 Zyklen und schließlich die Elongation bei 72 °C.

### **2.3.3 Touchdown PCR**

Die Touchdown PCR bietet die Möglichkeit der Erhöhung der Spezifität, indem sie die Amplifizierung unspezifischer DNA-Sequenzen vermeidet. Man erwartet sich, dass die weniger spezifischen Sequenzen instabil an den Primern binden, im Gegensatz zu den Spezifischen. Man beginnt beim Annealing mit einer Temperatur, die knapp unterhalb der Denaturierungstemperatur liegt. Dann wird die Temperatur schrittweise in einer bestimmten

Anzahl an Zyklen um 0,5 °C verringert. Sobald die gewünschte Temperatur erreicht ist, die sog. „Touchdown Temperatur“, werden die restlichen ausstehenden Zyklen durchgeführt. Es entstehen somit spezifische DNA-Amplifikationen. Zwar können Primer an unspezifische Sequenzen binden, aber es sind deutlich weniger als bei der konventionellen PCR und man hat eine größere Menge der Amplifikationsmenge (Green und Sambrook 2018).

### 2.3.4 PCR zum Nachweis von Trypanosomatida

Die Trypanosomatida wurden mit zwei verschiedenen Nested PCR's nachgewiesen. In beiden Fällen binden die Primer an das nukleäre 18S Gen und die Produktgröße lag bei etwa 2000 Basenpaaren (bp) (Maslov et al. 1996).

#### Nest 1

Primerpaar im Nest 1:

Forward Primer: S762F 5'- GACTTTTGCTTCCTCTA(A/T)TG-3'

Reverse Primer: S763R 5'-CATATGCTTGTTTCAAGGAC-3'

#### Nest 2

Primerpaar im Nest 2:

Forward Primer: TRnSSU-F2 5'- GARTCTGCGCATGGCTCATTACATCAGA-3'

Reverse Primer: TRnSSU-R2 5'-CRCAGTTTGATGAGCTGCGCCT-3'

Zunächst wurden die Mastermixe, wie unten in Tab. 10 angegeben, in einer Sterilbank hergestellt. Danach wurde 1 µl der extrahierten DNA bzw. bei Nest 2 1 µl des Nest 1 Produktes in das zuvor hergestellte Mastermix-Reagenz pipettiert, ebenfalls in einer Sterilbank.

Schließlich wurden die Wells in ein Eppendorf Mastercycler Pro (Eppendorf Hamburg) gegeben. Bei dem Mastercycler handelt es sich um einen Thermocycler, der ein Thermoblock mit Löchern, in die die Wells mit dem PCR-Gemisch eingelegt werden. Er hebt und senkt abwechselnd die Temperatur des Blocks in einem vorher eingestellten und festgelegten Programm, wie in Tab. 11 aufgeführt.

Als Positivkontrollen wurden „Tryp 126+ K Lausfliege Em“ und „Leishmania. Romm f+K“ verwendet. Als Negativkontrolle wurde Wasser in die Tubes pipettiert.

**Tab. 10:** Pipettierschema der PCR zum Nachweis von Trypanosomatidae

<b>Reagenz</b>	<b>Menge (<math>\mu</math>l)</b> <b>Nest 1 und Nest 2</b>
H <sub>2</sub> O	14,675 $\mu$ l
5X Green Reaction Buffer	5 $\mu$ l
dNTP's (25mM)	0,2 $\mu$ l
Taq Polymerase (GoTaq) 5u/ $\mu$ l	0,125 $\mu$ l
Primer (10pmol/ $\mu$ l)	2 $\mu$ l
Primer (10pmol/ $\mu$ l)	2 $\mu$ l
Template	1 $\mu$ l
<b>Gesamt</b>	<b>25 <math>\mu</math>l</b>

**Tab. 11:** Temperaturkurve des Nest 1 und Nest 2 Produktes

94 °C	5 min		Initiale Denaturierung
94 °C	1 min		Denaturierung
64 °C	1,5 min	30 x	Annealing
72 °C	1,5 min		Elongation
72 °C	5 min		Finale Elongation
15 °C			Lagerung

### 2.3.5 PCR zum Nachweis von Filarioidea

Zum Nachweis der Filarioidea wurden zum einen eine konventionelle und zum anderen eine Touchdown PCR durchgeführt (Hamer et al. 2013).

## 18S PCR

Hierbei wurden Primer verwendet, die an das 18S rRNA Gen der Filarien binden und die Produktgröße liegt bei 580 Basenpaaren (bp).

Primerpaar der konventionellen PCR

Forward Primer: ChandFO 5'-GAGACCGTTCTCTTTGAGGCC-3'

Reverse Primer: ChandRO 5'-GTCAAGGCGTANNTTACCGCCGA-3'

Es wurde ein Mastermix nach Tab. 12 hergestellt und anschließend ein Mikroliter der extrahierten DNA-Probe hinzupipettiert. Schließlich wurde die PCR in den Mastercycler gegeben und wie nach der Temperaturkurve der Tab. 13 durchgeführt. Als Positivkontrolle wurde eine Probe mit der DNA von „*Dirofilaria immitis*“ zur Verfügung gestellt. Als Negativkontrolle wurde Wasser verwendet.

**Tab. 12:** Pipettierschema der PCR zum Nachweis von Filarien

Reagenz	Menge (µl)
H2O	14,675 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl
dNTP's (25mM)	0,2 µl
Taq Polymerase (GoTaq) 5u/µl	0,125 µl
Primer (10pmol/µl)	2 µl
Primer (10pmol/µl)	2 µl
Template	1 µl
<b>Gesamt</b>	<b>25 µl</b>

**Tab. 13:** Temperaturkurve zum Nachweis von Filarien mittels ChandFO/ und -RO Primern

94 °C	2 min		Initiale Denaturierung
94 °C	0,5 min		Denaturierung
57 °C	0,5 min	39 x	Annealing
72 °C	2 min		Elongation
72 °C	7 min		Finale Elongation
15 °C			Lagerung

**COI PCR**

Hierbei wird eine Touchdown PCR mit COI-Primern verwendet. Sie binden an die Untereinheit I des Cytochrom-c-Oxidase Gens. Die erwartete Produktgröße liegt bei 668 Basenpaaren (bp).

Primerpaar:

Forward Primer: COInt-F                    5'-TGATTGGTGGTTTTGGTAA-3'

Reverse Primer: COInt-R                    5'-ATAAGTACGAGTATCAATATC-3'

Der Mastermix wurde, wie in Tab. 14 aufgeführt, hergestellt. Anschließend wurden zwei Mikroliter der DNA-Probe in den Mastermix pipettiert. Da es sich hierbei um eine Touchdown PCR handelt, wird, wie in Tab. 15 dargestellt, die PCR in der ersten Annealing Phase in acht Zyklen um 0,5°C verringert.

**Tab. 14 :** Pipettierschema der PCR zum Nachweis von Filarien

Reagenz	Menge ( $\mu$ l)
H <sub>2</sub> O	13,6755 $\mu$ l
5X Green Reaction Buffer	5 $\mu$ l
dNTP's (25mM)	0,2 $\mu$ l
Taq Polymerase (GoTaq) 5u/ $\mu$ l	0,125 $\mu$ l
Primer (10pmol/ $\mu$ l)	2 $\mu$ l
Primer (10pmol/ $\mu$ l)	2 $\mu$ l
Template	2 $\mu$ l
<b>Gesamt</b>	<b>25 <math>\mu</math>l</b>

**Tab. 15:** Temperaturkurve der Touchdown PCR zum Nachweis von Filarien

94 °C	2 min		Initiale Denaturierung
94 °C	45 sec		Denaturierung
51 °C jeden Zyklus um 0,5°C verringert	45 sec	8x	Annealing
72 °C	1,5 min		Elongation
94 °C	45 sec		Denaturierung
45 °C	45 sec	25x	Annealing
72 °C	4,5 min		Elongation
72 °C	7 min		Finale Elongation
15 °			Lagerung

## 2.4 Gelelektrophorese

Die Proben wurden mit der Gelelektrophorese ausgewertet. Hierfür wurden die PCR-Proben in die Taschen des zuvor hergestellten Gels pipettiert. Anschließend wurde das Gel in Pufferlösung gelegt und an einen elektrischen Gleichstrom angeschlossen. Das Prinzip der Gelelektrophorese ist das Wandern der negativen DNA-Fragmente zur positiv geladenen Anode. Die Geschwindigkeit ist von der Länge und Konformität der Fragmente abhängig. Die DNA-Fragmente mit ähnlich vielen Basenpaaren sammeln sich zusammen und werden unter

UV-Licht als Bande sichtbar. Die zuvor in die Taschen pipettierte DNA-Leiter, gibt die ungefähre Größe der DNA-Fragmente an.

Für die Herstellung des Gels für die Gelelektrophorese wurden zunächst 1,8 g Agarose und 100 ml TBE-Puffer (TRIS-Borat-EDTA-Puffer) vermischt, sodass sich das Agarosepulver auflöst. Hierfür wurden der Puffer und die Agarose kurz bis zum Kochen in der Mikrowelle erhitzt. Anschließend wurden unter dem Abzug 4,2 µl Midori-Green Advance hinzugefügt und gut vermischt. Das Midori Green Advance färbt die DNA/RNA ein, ist nicht toxisch, nicht kanzerogen und ist eine Alternative zu dem ansonsten verwendeten Ethidiumbromid. Es kann mittels UV-Licht die DNA-Banden sichtbar machen.

In unserem Fall wurde ein Gelträger mit drei Kämmen mit je 20 Probenaschen bestückt und das noch flüssige Gel eingegossen. Schließlich kühlte und härtete das Gel für ca. eine Stunde aus. Nach dem Aushärten wurden die Kämmen entfernt und die Gele luftdicht in Frischhaltefolie eingepackt und bis zur weiteren Verwendung in den Kühlschrank gelegt.

Für das weitere Vorgehen wurde zunächst ein sog. Leitemix hergestellt. Dieser bestand aus 9 µl MQ-Wasser, 3 µl Loading Dye und 3 µl Promega Leiter. Für die Trypanosomen PCR wurde ein 1 kb Leiter verwendet, für die Filarien PCR eine 100 bp Leiter (Premix von Promega).

Die Gele wurden in Elektrophorese-Kammern gelegt, die mit TBE Puffer soweit gefüllt waren, sodass die Gele vollständig bedeckt waren. Anschließend wurden 15 µl der Leiter in jede Reihe in die erste Tasche pipettiert und in die restlichen Taschen 5 µl des PCR-Produktes. Außerdem wurde in jede Reihe sowohl die Positiv- als auch die Negativkontrolle gefüllt. Dann wurden die Gele bei ca. 120 Volt für etwa 55-60 min laufen gelassen. Schließlich wurden die Gele aus den Kammern geholt und mittels eines UV-Lichtscanners beurteilt.

## **2.5 Sequenzierung**

Die Proben, die in der Gelelektrophorese positiv beurteilt werden konnten, wurden zur Sequenzierung zu LGC Genomics (Berlin, Deutschland) eingeschickt. Die Sequenzen wurden mit Einträgen in den Gen-Datenbanken verglichen: Die Filarien mit BLAST und BOLD.

## **2.6 Blutausstriche**

### **2.6.1 Färbemethoden**

Es wurden insgesamt 105 Blutausstriche der Raubvögel und 106 Blutausstriche der Singvögel für diese Arbeit ausgewertet. Zur Herstellung wurde ein kleiner Tropfen Blut auf einem Objektträger ausgestrichen und 5-15 Sekunden an der Luft getrocknet. Die Objektträger wurden noch am gleichen Tag zur Fixierung für eine Minute in eine Methanollösung gelegt und wurden anschließend luftgetrocknet. Anschließend wurden sie für eine Stunde in eine 10 %ige Arbeitslösung einer kommerziell erhältlichen Stammlösung bei Zimmertemperatur gelegt. Diese hat einen pH-Wert von 7,0-7,2. Schließlich wurden die fixierten und gefärbten Präparate mit Wasser abgespült und luftgetrocknet.

### **2.6.2 Begutachtung**

Die Blutausstriche wurden mit einem Mikroskop der Marke Nikon (Tokio, Japan) durchmustert. Alle Präparate wurden zunächst mit einer 40-er Vergrößerung auf Filarien durchgeschaut und anschließend auf Trypanosomen bei einer 400-er Vergrößerung. Es wurden jeweils mindestens 200 Gesichtsfelder in der Fahne beurteilt.

## **2.7 Statistische Methoden**

Die Statistischen Methoden sind mit Hilfe von Excel Tabellen prozentual berechnet worden.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Raubvögel

Von den 334 untersuchten Raubvögeln konnten keine Trypanosomen sequenziert werden. Es wurden bei zwei Proben mittels Chand-Primern Onchocercidae sp. und bei einer Probe eine unbekannte Filarienart sequenziert (Tab. 16).

Die Nematoden sind veterinärmedizinisch von großer Bedeutung und parasitieren im Verdauungstrakt aller Wirbeltiere (Deplazes et al. 2021). Bei den differenzierten Ascaridoidea konnte die genaue Gattung nicht festgestellt werden, daher könnte es sich auch um *Toxocara cati* oder *Toxocara canis* handeln.

Bei einem Mäusebussard (*Buteo buteo*; Ind ID AH0244) konnte aus einer Leberprobe eine Filarieninfektion nachgewiesen werden. Durch den Vergleich in den Datenbanken konnte die Sequenz mit 99,79%iger Sequenzidentität als Onchocercidae sp. 10MF1 GLH-2012 (Onchocercidae sp. 10MF1 GLH-2012 18S ribosomal RNA gene, partial sequence) zugeordnet werden. Sein Wirt ist der *Turdus migratorius* (Wanderdrossel), der in den USA zu finden ist und dort isoliert wurde.

Die aus der Leberprobe eines Habichtskauzes (*Strix uralensis*; Ind ID AH 0361) isolierte Filarien-DNA konnte nach der Sequenzierung und dem Vergleich in der DNA-Datenbank mit 95,83 %iger Übereinstimmung den *Setaria digitata* (Setaria digitata small ribosomal RNA gene, partial sequence) zugeordnet werden und es dürfte sich daher um einen weiteren Vertreter der Onchocercidae handeln.

Die isolierte Filarien DNA aus einer Leberprobe eines Waldkauzes (*Strix aluco*; Ind ID AH 0410) konnte nach der Sequenzierung und dem Vergleich in der Datenbank mit 99,79%iger Sequenzidentität den Onchocercidae sp. MI1 GLH-2012 (Onchocercidae sp. MI1 GLH-2012 18S ribosomal RNA gene, partial sequence) zugeordnet werden. Die Sequenz konnte einer *Quiscalus quiscula* (Purpur-Grackel) aus den USA zugeordnet werden.

**Tab. 16:** Positiv getestete Vögel mit Angabe der Vogel- und Parasitenart-Raptoren

Ind ID	Vogelart	Blutausstrich	PCR+ Gelelektrophorese	Sequenzierung/ Übereinstimmung in %
AH 0244	<i>Buteo buteo</i> (Mäusebussard)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Onchocercidae sp 99,79%.
AH 0361	<i>Strix uralensis</i> (Habichtskauz)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	unbekannte Filarienart 95,83 %
AH 0410	<i>Strix aluco</i> (Waldkauz)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Onchocercidae sp. 99,79%

### 3.2 Singvögel

Von den 549 untersuchten Proben der Singvögel wurden lediglich Nematoden, verschiedene Vertreter der Gattung Onchocercidae, Diplostriaenidae und unbekannte Arten der Filarioidea identifiziert. Bei der Gelelektrophorese wiesen zwei Proben ein positive Trypanosomenbande auf, wovon bei der Sequenzierung beide Proben negativ ausfielen.

Beim Nachweis von Filarien mittels der konventionellen PCR und dem Chand-Primer wiesen 14 Proben eine positive und 19 Proben eine fragliche Bande auf. Beim Nachweis mittels der Touchdown PCR mittels dem COI-Primer-Set wiesen neun Proben eine positive und 21 eine fragliche Bande in der Gelelektrophorese auf. Die Ergebnisse der Sequenzierung sind in der untenstehenden Tab. 17 aufgeführt.

So konnte bei einem Kernbeißer (*Coccothraustes coccothraustes*; Ind ID AH 0391) eine Filarieninfektion entdeckt werden. Nach dem Vergleich mit den Sequenzen in Datenbanken konnte sie mit 99,79%iger Sequenzidentität als Onchocercidae sp. MI1 GLH-2012 (Onchocercidae sp. MI GLH-2012 18 S ribosomal RNA gene, partial sequence) nachgewiesen werden. Es ergab eine Übereinstimmung mit einer in den USA lebenden Purpur-Grackel (*Quiscalus quiscula*).

Bei einem Star (*Sturnus vulgaris*; Ind ID AH 0908) konnte ebenfalls eine Filarieninfektion entdeckt werden. Nach dem Vergleich mit den Sequenzen in Datenbanken konnte sie mit

99,16%iger Sequenzidentität als *Onchocercidae* sp. 10MF1 GLH-2012 identifiziert werden. Es ergab ebenfalls eine Übereinstimmung mit einem *Turdus migratorius* (Wanderdrossel) der in den USA zu finden ist.

Bei einer Mönchsgrasmücke (*Sylvia atricapilla*; Ind ID AH 1070) konnte eine Filarieninfektion nachgewiesen werden. Mittels des Vergleiches mit Sequenzen in Datenbanken konnte die gewonnene Sequenz mit 99,58%iger Sequenzidentität als *Onchocercidae* sp. MI1 GLH-2012 (*Onchocercidae* sp. 10MI1 GLH-2012 ribosomal RNA gene, partial sequence) bestimmt werden. Es ergab ebenfalls eine Übereinstimmung mit einer in den USA lebenden Purpur-Grackel (*Quiscalus quiscula*).

Bei einem Rothkehlchen (*Erithacus rubecula*; Ind ID AH 0662) wurde auch eine Filarieninfektion festgestellt. Beim Vergleich der Sequenz in der Datenbank konnte mit 99,78%iger Sequenzidentität *Onchocerca* sp. 18-51 (*Onchocerca* sp. 18-51 18S ribosomal RNA gene, partial sequence) festgestellt werden. Es ergab außerdem eine Übereinstimmung mit einer in Südkorea lebenden Sichelente (*Mareca falcata*).

Bei einem anderen Star (*Sturnus vulgaris*; Ind ID AH 0187) wurde ebenfalls eine Filarieninfektion festgestellt. Beim Vergleich der Sequenz in der Datenbank konnte sie mit 98,55%iger Sequenzidentität zu *Diplotriaena anthreptis* (*Diplotriaena anthreptis* strain CNU small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence) der Gattung *Diplotriaena* zugeordnet werden. Es ergab außerdem eine Übereinstimmung mit einem Eichelhäher (*Garrulus glandarius*).

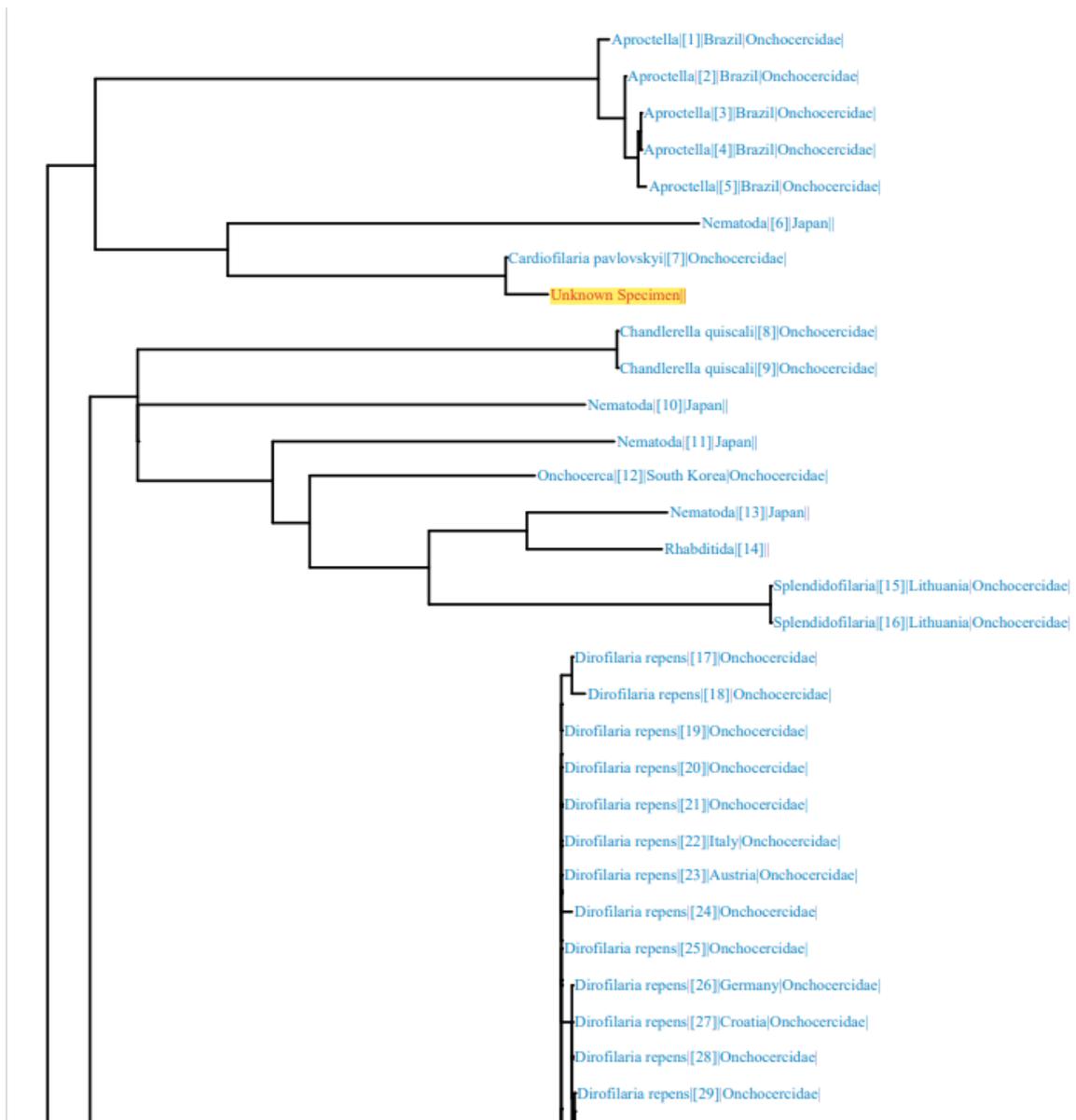
**Tab. 17:** Positiv getestete Vögel mit Angabe der Vogel- und Parasitenart-Passeriformes

Ind ID	Vogelart	Blutausstrich	PCR+ Gelelektrophorese	Sequenzierung/ Übereinstimmung in %
AH 0187	<i>Sturnus vulgaris</i> (Star)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Diplotriaenidae 98,55%
AH 0241	<i>Parus major</i> (Kohlmeise)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	<i>Onchocercidae</i> sp. 10MF1 GLH-2012

AH 0241	<i>Parus major</i> (Kohlmeise)	Kein Ausstrich zur Verfügung	COI positiv	Onchocercidae sp. Cardiofilaria like
AH 0243	<i>Carduelis spinus</i> (Erlenzeisig)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Onchocercidae sp.
AH 0243	<i>Carduelis spinus</i> (Erlenzeisig)	Kein Ausstrich zur Verfügung	COI positiv	unknown filarioid helminth
AH 0371	<i>Hirundo rustica</i> (Rauchschwalbe)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Onchocercidae sp. MI1 GLH-2012
AH 0391	<i>Coccothraustes coccothraustes</i> (Kernbeißer)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Onchocerca sp. 18-51 99,79%
AH 0662	<i>Erithacus rubecula</i> (Rotkehlchen)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Onchocercidae (Teilsequenz) 99,78%
AH 0908	<i>Sturnus vulgaris</i> (Star)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Onchocercidae Typ908 99,16%
AH 1070	<i>Sylvia atricapilla</i> (Mönchsgrasmücke)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Onchocercidae sp 1070 Strain 99,58%
AH 1116	<i>Sylvia atricapilla</i> (Mönchsgrasmücke)	Kein Ausstrich zur Verfügung	Chand positiv	Onchocercidae sp. MI1 GLH-2012-like

Eine Probe, die aus Lungengewebe (Ind ID AH 0241) stammte, zeigte nach der konventionellen Chand PCR eine positive Bande in der Gelelektrophorese auf. Die DNA-Sequenz wurde als Onchocercidae sp. 10MF1 GLH-2012. bestimmt. Nach der Touchdown COI PCR konnten in dieser Probe Onchocercidae sp. Cardiofilaria like identifiziert werden. Zu der Probe dieser Kohlmeise vom FIWI aus dem Jahr 2013 gab es keinen Blutausstrich.

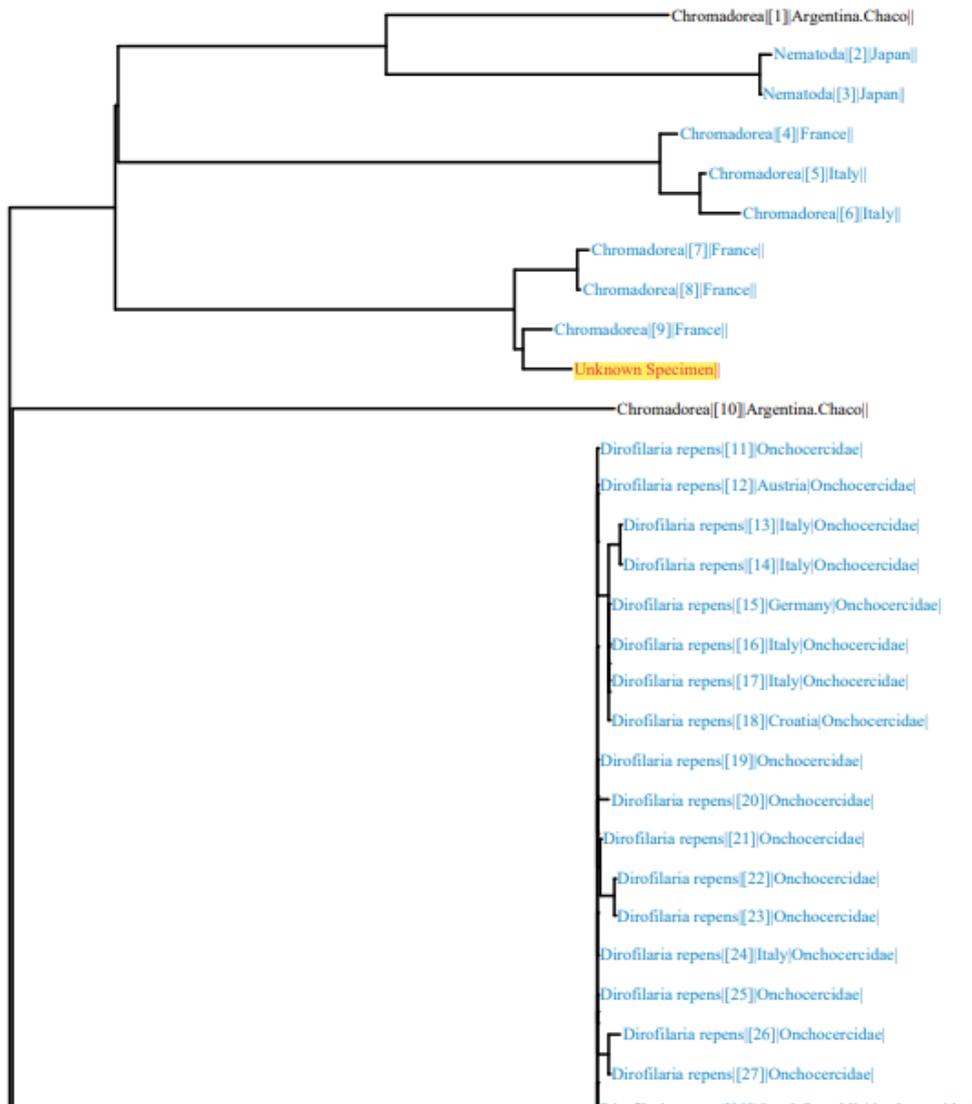
Die phylogenetische Einordnung der isolierten Sequenzen ist in Abb. 11 zu sehen (gelb markiert).



**Abb. 11:** Phylogenetische Einordnung der Probe Ind ID AH 0241

Eine Lungengewebsprobe (Ind ID AH 0243) und Blutprobe mit der Ind ID AH 1666 zeigten nach der konventionellen Chand PCR eine positive Bande in der Gelelektrophorese. Die DNA-Sequenz wurde als Onchocercidae sp. bestimmt. Zu dieser Probe eines Erlenzeisigs vom FIWI aus dem Jahr 2013 gab es keinen Blutausschlag. Daher beruht das Ergebnis allein auf der molekularbiologischen Analyse, da die Mikroskopie kein Ergebnis liefert. Bei der Probe des Drosselrohrsängers (Ind ID AH 1666) aus Illmitz aus dem Jahr 2018 war der Blutausschlag negativ. Nach der Touchdown COI PCR wurde die DNA-Sequenz des Erlenzeisigs als unknown filarioid helminth bestimmt.

Die phylogenetische Einordnung der isolierten Sequenz (Ind ID AH 0243) ist in Abb. 12 zu sehen (gelb markiert).



**Abb. 12:** Phylogenetische Einordnung der Probe Ind ID AH 0243

## 4 Diskussion

Derzeit gibt es in Bezug auf die Prävalenz von Trypanosomatiden und Filarien in Raub- und Singvögeln nur wenig Literatur. Auch in Österreich gibt es kaum Daten, die als Vergleich herangezogen werden können. Das Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien versucht in verschiedenen Studien neue Erkenntnisse zu bekommen. In diesem Rahmen ist auch diese Diplomarbeit entstanden.

Wie bereits vorangegangene Studien zeigten, wurden aus in Österreich lebenden Stechmücken, des Artenkomplexes *Culex pipiens*, *T. avium* und *T. culicavium* und bisher nicht differenzierte aviäre Filarien identifiziert (Schoener et al. 2019; Schoener et al. 2018). Bis zu diesem Zeitpunkt ist noch wenig über die Biologie, die Vektoren, den Lebenszyklus, den Wirt und die genaue Vektorspezifität der aviären Trypanosomen bekannt. Schließlich ist auch die Übertragung der Trypanosomen durch die Stechmücken in der Natur noch nicht eindeutig geklärt (Votýpka et al. 2012). In dieser Arbeit konnte die Hypothese, dass Trypanosomatidae, die bereits in Vorstudien in Österreich in Stechmücken nachgewiesen wurden, in Raub- und Singvögeln parasitieren nicht belegt werden, da in den Proben keine Trypanosomen identifiziert werden konnten. Vermutlich liegt es, wie schon erwähnt, an der Art des Probenmaterials, da zum Großteil Gewebeproben vorlagen und Trypanosomen dort nicht parasitieren.

Aus diesem Grund nahm man an, dass diese Parasiten in verschiedenen Vogelarten Österreichs parasitieren. Das Ziel dieser Diplomarbeit war es, Trypanosomen- und Filarieninfektionen in Raub- und Singvögeln in Österreich nachzuweisen und deren Artenniveau mittels molekularbiologischer Analysen und der Begutachtung von Blutaussstrichen zu bestimmen. Eine reine morphologische Identifizierung von Trypanosomen ist nicht möglich und daher werden, wie auch in dieser Arbeit, molekularbiologische Methoden verwendet. Dabei sollten die Morphologie und die Genetik gleichermaßen untersucht und zur Artenbestimmung herangezogen werden. Durch die wenigen Informationen in den Datenbanken, ist, wie bereits erwähnt, die Artbestimmung schwierig (Votýpka et al. 2012).

In dieser Arbeit wurden bei einem Großteil der Proben Onchocercidae sp identifiziert. Derzeit sind etwa 150 Arten der aviären Onchocercidae bekannt. Wie schon erwähnt sind sie weniger wirtsspezifisch als ihre Vertreter bei den Säugern (Deplazes et al. 2021). Es wurden in den vergangenen zwanzig Jahren mittels molekularer Analysen die evolutionären Beziehungen

der Onchocercidae analysiert. Eine Studie bestimmte die Taxa der analysierten Onchocercidae und es ergaben sich drei Klade (ONC3, ONC4 und ONC5). In diese Klade fallen Vertreter der Dirofilarinae, Onchocercinae und Splendidofilarinae. Wie in Abb. 12 ersichtlich, ist die Probe Ind IND 0243 in die erste Klade (ONC3) einzuordnen. Die darin enthaltenen Vertreter sind u.a. die Gattung der *Dirofilaria* (*Dirofilarinae*). Die erste Klade gehört zur der häufigsten abgeleiteten Gruppe der Onchocercidae. Sie ist eine Schwestergruppe der Klade ONC4 und ONC5, die aber evolutionär unabhängig ist. In Abb. 11 kann man sehen, dass die Probe der Ind ID 0241 der dritten Klade (ONC5) einzuordnen ist. Hier sind die Gattungen der Dirofilarinae, Onchocercinae und Splendidofilarinae, worunter die Gattung *Cardiofilaria* enthalten ist. Bis zu diesem Zeitpunkt sind die Gattungen *Cardiofilaria* der *Splendidofilaria* wenig untersucht (Lefoulon et al. 2015). Die Beziehung zwischen den unterschiedlichen Taxa der Klade ONC3 und ONC5 werden durch morphologische und biologische Merkmale bestärkt, obwohl sie nicht der gleichen Unterfamilie angehören. Wegen des mangelnden versteinerten Materials kann keine exakte evolutionäre Hypothese aufgestellt werden, welche sich lediglich auf bisher durchgeführten morphologischen Studien stützt. So basieren die molekularbiologischen Ergebnisse entweder auf der geringen Menge an bekannten Filarienarten oder man hat für die Rückverfolgung der Geschichte der Filarien nicht geeignete genetische Marker verwendet. Aus diesem Grund fehlt ein evolutionärer Rahmen für die Filarien, um eine anständige Artendifferenzierung durchzuführen. Außerdem gibt es eine Studie, die belegt, dass die COI PCR für die Artendifferenzierung zwar geeignet ist, aber ungeeignet für die alleinige phylogenetische Hypothese sie auf die Taxonomie übertragen zu können (Lefoulon et al. 2015).

Je nach Art haben die Onchocercidae Federlinge oder Mücken als Zwischenwirt. Und je nach Gattung befallen sie Körperhöhlen, Bindegewebe um Sehnen, das Myokard, Gefäßwände und führen somit zu Endothelschäden, Myokardschäden, Stenosen und Lahmheiten (Deplazes et al. 2021).

Die Infektion mit Nematoden erfolgt über die Aufnahme von Beutetieren. Die Ernährungsweise und somit auch das Nahrungsspektrum der Raubvögel und der Zwischenwirte spielt hier eine Rolle (Honisch 2008). Hier wurde in den meisten Raubvogelproben Ascariden gefunden. Die Proben stammten größtenteils von Bussarden, genauer von Mäusebussarden, Sperbern und Käuzen. Es waren mehr Tiere der Accipitriformes infiziert. Mäusebussarde sind Nahrungsgeneralisten, d. h sie können sich mit mehr Nematodenspezies infizieren, als

beispielsweise ein Fischadler, der hauptsächlich Fische zu sich nimmt. Aber auch hier konnten aviären Filarien nicht weiter spezifiziert werden.

In vorangegangenen Studien fand man beim *Turdus migratorius* (Wanderdrossel) eine Mikrofilariämie. Von insgesamt 70 getesteten Tieren hatte man eine Prävalenz von 1,5 % am Tag und in der Nacht von 63 schlafenden Tieren eine Prävalenz von 11,1 %. Auch die Trypanosomeninfektionen wurden mit einer Prävalenz von 18,0% bei insgesamt 133 Tieren nachgewiesen. Somit wurden deutlich mehr infizierte Tiere nachts nachgewiesen als tagsüber. Des Weiteren gab es Studien, die mittels Nekropsie Filarieninfektionen nachgewiesen haben. Hierbei hat man die mikrofilariämischen Vögel euthanasiert, um die Wahrscheinlichkeit adulte Filarien zu finden zu erhöhen. Neben den mikrofilariämischen Tieren wurden auch nicht mikrofilariämische Vögel euthanasiert, da adulte Filarien während der Präpatenzzeit vorhanden sind und eine Periodizität haben können. Damit hat man 2010 die Rate der Filarieninfektionen bei den *Turdus migratorius* auf 8,5 % und die Trypanosomeninfektionen auf 23,7 % erhöht (Hamer et al. 2013).

Zu der Hypothese, dass insektenfressende Singvögel häufiger von Trypanosomen betroffen sind, als andere Singvögel ist leider kein aussagekräftiges Ergebnis erlangt worden. So wurden in vorangegangenen Studien *T. culicavium* als erste bekannte Trypanosomenart in insektenfressenden Singvögeln, wie z.B. dem Halsbandschnäpper (*Ficedula albicollis*) identifiziert und auch in Kanarienvögeln konnten *T. culicavium* nachgewiesen werden. Diese beiden Tatsachen und die, dass es eine Ähnlichkeit auf Isolate aus Stechmücken der Gattung *Culex* gibt, liefern Hinweise auf insektenfressende Singvögel als Wirte von *T. culicavium*. Des Weiteren hat man aus Saatkrähen und Lausfliegen *T. corvi* isoliert, die eine enge Artenverwandtschaft mit *T. culicavium* aufweist (Votýpka et al. 2012). Aber wie schon erwähnt, bestand der Großteil der Proben aus Gewebe und dort sind eher keine Trypanosomen lokalisiert.

Die beiden positiven Proben in dieser Arbeit, die in der Gelelektrophorese aufgefallen sind, waren ergebnislos bei der Sequenzierung. Sie stammten zum einen von der Schwanzmeise und zum anderen von der Mönchsgrasmücke. Die Schwanzmeise ernährt sich von kleinen Insekten und Spinnen, neben Knospen und verschiedenen Früchten (Lohmann und Roché 2009). Die Mönchsgrasmücke frisst zur Brutzeit bevorzugt kleine Schmetterlingsraupen, Käfer, Libellen, Haut- und Zweiflügler, Spinnen, Asseln, kleine Weichtiere und ab und an Regenwürmer. Im Sommer gehören Beeren, Früchte, u.a. Holunder zu ihrer bevorzugten

Nahrungsquelle (Balzari 2013). Bei den anderen Proben wurden keine Trypanosomeninfektionen festgestellt.

In zukünftigen Studien sollte man Änderungen in den diagnostischen Methoden machen. In beiden Parasitengruppen ist eine niedrige bis keine Prävalenz auffällig. Eine mögliche Ursache ist die geringe Parasitämie und die andere, das nicht optimal gewählte Probenmaterial. Obwohl ein Großteil der Filarien in gefärbten Blutaussstrichen gefunden werden konnte, war in den Proben dieser Arbeit nichts zu finden. Aber da sich auch viele aviäre Filarien in der Haut befinden, wäre eine logische Konsequenz daraus, zukünftige Hautproben zu entnehmen, um die Trefferquote zu erhöhen (Atkinson 2008). Diese Vorliebe in Hautgewebe der Wirte zu parasitieren macht es schwierig eine adäquate Menge zu sammeln und ihre Vielfalt zu untersuchen (Lefoulon et al. 2015). Außerdem haben andere Studien gezeigt, dass auch die Tageszeit der Blutabnahme die Prävalenz für das Vorhandensein von Filarien beeinflussen kann. So empfiehlt es sich Blutproben in der Nacht zu nehmen (Vaughan et al. 2012). Außerdem könnte man ebenfalls Nekropsien durchführen, um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, in den euthanasierten Tieren Filarien- und Trypanosomeinfektionen nachzuweisen.

Abschließend ist zu sagen, dass laut bisheriger Studien Trypanosomen- und Filarieninfektionen in österreichischen Raub- und Singvögeln vorliegen. Aber nicht nur in Österreich, sondern europaweit sind noch weitere Studien nötig, um eine adäquate Datensammlung zu erhalten und dementsprechend die Artendifferenzierung zu erweitern und zu verfeinern. Schließlich ist es bei weiteren Studien wichtig, dass man sowohl die Morphologie als auch die Sequenzierung zur genauen Differenzierung analysiert und vergleicht.

## 5 Zusammenfassung

Es ist bekannt, dass Trypanosomen und Filarieninfektion beim Menschen und anderen Säugetieren schwerwiegende Symptome hervorrufen können, aber bei Vögeln apathogen sind. In Österreich wurden in Vorstudien in Stechmücken aviäre Filarien und Trypanosomen identifiziert. Das Ziel dieser Diplomarbeit war es, Trypanosomen- und Filarieninfektionen in Raub- und Singvögeln in Österreich nachzuweisen und deren Artspektrum mittels molekularbiologischer Analysen und der Begutachtung von Blutausstrichen zu bestimmen. Dafür wurden insgesamt von 334 Raubvögeln 319 DNA-Proben und 105 Blutausstriche auf eine Filarien- und Trypanosomeninfektion untersucht. Dafür wurden die Proben, die in einem Zeitraum von 2005-2019 gesammelt wurden, analysiert.

Außerdem wurden insgesamt von 549 Singvögeln die DNA und von 106 die Blutausstriche auf eine Filarien- und Trypanosomeninfektion untersucht. Die Proben wurden aus dem Zeitraum von den Jahren aus 2003-2020 gesammelt und zur Verfügung gestellt.

Zum Nachweis der Trypanosomen DNA wurden nested PCRs mit TRnSSU-Primern und S762/763-Primern durchgeführt. Der Nachweis der Filarien-DNA erfolgte mit ChandFO-Primer in der konventionellen PCR und mit COI Primer zur Touchdown PCR. Die Proben, die in der Gelelektrophorese positiv auffielen, wurden schließlich sequenziert. Die Ergebnisse sind in phylogenetischen Bäumen dargestellt. Die Blutausstriche wurden in der Giemsa-Färbung angefärbt und bewertet.

Bei drei Raubvögeln wurden Filarieninfektionen mittels PCR nachgewiesen. Der Blutausstrich stand jedoch nicht zur Verfügung und eine Trypanosomeninfektion konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei neun der Singvögel konnte ebenfalls eine Filarieninfektion mit Hilfe der PCR nachgewiesen werden. Auch hier standen keine Blutausstriche zur Verfügung und es konnte auch keine Trypanosomeninfektion festgestellt werden.

Die Ergebnisse bestätigen das Vorhandensein von Filarien sowohl in Sing- als auch in Raubvögeln. Das Fehlen der Trypanosomen könnte auf der Nachweisteknik aus dem peripheren Blut beruhen.

## 6 Abstract

It is known that trypanosomes and filarioid helminths can cause diseases with serious symptoms in humans and other mammals, but are non-pathogenic in birds. In Austria, avian filarioids and trypanosomes have been identified in mosquitoes previously. The aim of this present work was to analyse the presence of trypanosomes and filarioid infections in birds of prey and songbirds in Austria and to determine their species level by molecular analysis and the assessment of blood smears.

For this purpose, a total of 319 DNA samples and 105 blood smears from 334 birds of prey were examined for filarial and trypanosomal infections. The samples were collected in a period from 2005-2019.

In addition, the DNA of 549 songbirds and the blood smear of 106 were examined for filarial and trypanosomal infections. The samples were collected and made available for the period from 2003-2020. To detect trypanosomatid DNA, nested PCRs were carried out with TRnSSU primers and S762 / 763 primers. The filarial DNA was detected with ChandFO primer in conventional PCR and with COI primer at a touchdown PCR. The samples that were positive in gel electrophoresis were finally sequenced.

The blood smears were Giemsa stain and rated. In three birds of prey, a filarioid infection was detected using PCR. However, the blood smear was not available and a trypanosomal infection could not be found. In nine of songbirds, a filarioid infection could also be detected by PCR. Again, no blood smears were available and no trypanosomal infection could be detected. The results confirm the presence of filarioid helminths in both songbirds and birds of prey. The absence of trypanosomes could be limited due to the detection technique from peripheral blood.

## 7 Literaturverzeichnis

- Adawaren EO, Du Plessis M, Suleman E, Kindler D, Oosthuizen, AO, Mukandiwa L, Naidoo V. 2020. The complete mitochondrial genome of gyps coprotheres (Aves, Accipitridae, Accipitriformes): phylogenetic analysis of mitogenome among raptors. PeerJ- Life & Environment Journals 8, e10034. DOI: 10.7717/peerj.10034.
- Arnemann, J. 2019: Nested-PCR. In: Axel M. Gressner und Torsten Arndt. Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Springer Reference Medizin), S. 1736.
- Atkinson CT. 2008. Parasitic diseases of wild birds. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.
- Balzari CA 2013. Vogelarten Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Bern: Haupt.
- Baneth G, Thamsborg SM, Otranto D, Guillot, J, Blaga R, Deplazes P, Solano-Gallego L. 2016. Major parasitic zoonoses associated with dogs and cats in Europe. Journal of Comparative Pathology 155 (1 Suppl 1), S54-74. DOI: 10.1016/j.jcpa.2015.10.179.
- Bateson M, Feenders, G. 2010. The use of passerine bird species in laboratory research: implications of basic biology for husbandry and welfare. Institute für Laboratory Animal Research Journal 51 (4), S. 394–408. DOI: 10.1093/ilar.51.4.394.
- Bernotienė R, Iezhova TA, Bukauskaitė D, Chagas CRF, Kazak M, Valkiūnas G. 2020. Development of trypanosoma everetti in culicoides biting midges. Acta tropica 210, S. 105555. DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105555.
- Bildstein KL. 2017. Raptors. The curious nature of diurnal birds of prey. Ithaca, London: Comstock Publishing Associates a division of Cornell University Press .  
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&AN=1516726>.
- Brown L. 1970. African birds of prey. London: Collins.
- Capelli G, Genchi C, Baneth G, Bourdeau P, Brianti E, Cardoso L, Danesi P, Fuehrer H-P, Giannelli A, Ionca AM, Maia C, Mondrý D, Montarsi F, Krücken J, Papadopoulos E, Petric D, Pfeffer M, Savic S, Otranto D, Poppert S, Silaghei C. 2018. Recent advances on *Dirofilaria repens* in dogs and humans in Europe. Parasites Vectors 11 (1). DOI: 10.1186/s13071-018-3205-x.
- Chandio I, Dharejo AM, Naz S, Khan MM. 2015. New species of Genus *Diplotrriaena* Railliet and Henry, 1909 (Filariidae: Nematoda) from passer domesticus Linnaeus and *P. pyrhoneotus*

- Blyth (Passeridae: Passeriformes) in Jamshoro, Sindh, Pakistan. *Turkiye parazitolojii dergisi* 39 (4), S. 265–269. DOI: 10.5152/tpd.2015.4231.
- Chesser RT, Burns KJ, Cicero C, Dunn JL, Kratter AW, Lovette IJ, Rasmussen PC, Remsen JV, Risung JD, Stotz DF, Winkler K. 2016. Fifty-seventh Supplement to the American Ornithologists' Union Check-list of North American Birds. *The Auk* 133 (3), S. 544–560. DOI: 10.1642/AUK-16-77.1.
- Cooper JE. 2002. *Birds of Prey. Health & Disease*. 3rd ed. Oxford, Malden, MA: Blackwell Science. <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10158627>.
- Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, von Samson-Himmelstjerna G. 2021. *Parasitologie für Tiermedizin // Parasitologie für die Tiermedizin*. 4., überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag. 59–72. 362–372.
- DeVault TL, Rhodes JOE, Shivik JA. 2003. Scavenging by vertebrates: behavioral, ecological, and evolutionary perspectives on an important energy transfer pathway in terrestrial ecosystems. *Oikos* 102 (2), S. 225–234. DOI: 10.1034/j.1600-0706.2003.12378.x.102 (2), S. 225–234. DOI: 10.1034/j.1600-0706.2003.12378.x.
- Duerr AE, Miller TA, Cornell Duerr KL, Lanzone MJ, Fesnock A, Katzner TE. 2015. Landscape-scale distribution and density of raptor populations wintering in anthropogenic-dominated desert landscapes. *Biodiversity and Conservation* 24 (10), S. 2365–2381. DOI: 10.1007/s10531-015-0916-6.
- Espín S, Andevski J, Duke G, Eulaers I, Gómez-Ramírez P, Hallgrímsson GT, Helander B, Herzke D, Jaspers VLB, Krone O, Lourenco R, María-Mojica P, Martínez-López E, Mateo R, Movalli P, Sánchez-Virosta P, Shore RF, Sonne C, van den Brink NW, van Hattum B, Vrezec A, Wernham C, Gracia-Fernández AJ. 2021. A schematic sampling protocol for contaminant monitoring in raptors. *Ambio* 50 (1), S. 95–100. DOI: 10.1007/s13280-020-01341-9.
- Farquhar CC. 2017. Commentary: Raptor—Evolution of the term. *Journal of Raptor Research* 51 (2), S. 172–179. DOI: 10.3356/JRR-16-37.1.
- Gaffney MF, Hodos W. 2003. The visual acuity and refractive state of the American kestrel (*Falco sparverius*). *Vision Research* 43 (19), S. 2053–2059. DOI:10.1016/S0042-6989(03)00304-3.
- Garibyan L, Avashia N. 2013. Polymerase chain reaction. *The Journal of Investigative Dermatology* 133 (3), S. 1–4. DOI: 10.1038/jid.2013.1.

Génsbøl B, Thiede W. 1997. Greifvögel. Alle europäischen Arten, Bestimmungsmerkmale, Flugbilder, Biologie, Verbreitung, Gefährdung, Bestandsentwicklung. Unter Mitarbeit von Bjarne Bertel. 3., überarb. u. erw. Aufl. München: BLV Verl.-Ges.

Gill F, Donsker D, Rasmussen P. 2020: IOC World Bird List Datasets. DOI: 10.14344/IOC.ML.11.1

Green MR, Sambrook J. 2018. Touchdown Polymerase Chain Reaction (PCR). Cold Spring Harbor protocols 2018 (5). DOI: 10.1101/pdb.prot095133.

Hackett SJ, Kimball RT, Reddy S, Bowie RCK, Braun EL, Braun MJ, Chojnowski JL, Cox, WA, Han K-L, Harshman J, Huddleston CJ, Marks BD, Miglia KJ, Moore WS, Sheldon FH, Steadman DW, Witt CC, Juri T. 2008. A phylogenomic study of birds reveals their evolutionary history. *Science (New York, N.Y.)* 320 (5884), S. 1763–1768.

DOI: 10.1126/science.1157704.

Hamer GL, Anderson TK, Berry GE, Makohon-Moore AP, Crafton JC, Brawn JD, Dolinski AC, Krebs BL, Ruiz MO, Muzzall PM, Goldberg TL, Walker ED. 2013. Prevalence of filarioid nematodes and trypanosomes in American robins and house sparrows, Chicago USA. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife* 2, S. 42–49.

DOI: 10.1016/j.ijppaw.2012.11.005.

Hardey J, Crick HQP, Wernham C, Riley H, Etheridge B, Thompson, DBA. 2013. *Raptors. A field guide for surveys and monitoring*. Third edition. Edinburgh: The Stationery Office.

Honisch M. 2008. *Phylogenie von Nematoden einheimischer Greifvögel*. Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2009. Berlin: Mensch und Buch-Verl.

an Hotterbeekx, Perneel J, Vieri MK, Colebunders R, Kumar-Singh S. 2021. The Secretome of filarial nematodes and its role in host-parasite interactions and pathogenicity in Onchocerciasis-associated epilepsy. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 11, S. 662766. DOI: 10.3389/fcimb.2021.662766.

Kaufer A, Ellis J, Stark D, Barratt J. 2017. The evolution of trypanosomatid taxonomy. *Parasites & vectors* 10 (1), S. 287. DOI: 10.1186/s13071-017-2204-7.

Lefoulon E, Bain O, Bourret J, Junker K, Guerrero R, Cañizales I, Kuzmin Y, Satoto TBT, Cardenas-Callirgos JM, Souza Lima S de, Raccurt C, Mutafchiev Y, Gavotte L, Martin C. 2015. Shaking the tree: Multi-locus sequence typing usurps current Onchocercid (Filarial Nematode)

phylogeny. *Plos Neglected Tropical Diseases* 9 (11), e0004233 .

DOI: 10.1371/journal.pntd.0004233.

Lohmann M, Roché JC. 2009. *Singvögel*. 3. Aufl., Neuausg. München, Zürich: BLV-Verlagsgesellschaft.

Martin GR. 2017. *The sensory ecology of birds*. First edition. Oxford, New York: Oxford University Press (Oxford avian biology series, volume 3).

Maslov DA, Lukeš J, Jirku M, Simpson L. 1996. Phylogeny of trypanosomes as inferred from the small and large subunit rRNAs: implications for the evolution of parasitism in the trypanosomatid protozoa. *Molecular and Biochemical Parasitology* 75 (2), S. 197–205.

DOI: 10.1016/0166-6851(95)02526-X.

McClure CW, Lepage D, Dunn L, Anderson DL, Schulwitz SE, Camacho L, Robinson BW, Christidis L, Schulenberg TS, Iliff MJ, Rasmussen PC, Johnson J. 2020. Towards reconciliation of the four world bird lists: hotspots of disagreement in taxonomy of raptors. *Proceedings of the royal Society B. Biological sciences* 287 (1929), S. 20200683. DOI: 10.1098/rspb.2020.0683.

McClure CJW, Schulwitz SE.; Anderson DL.; Robinson BW, Mojica EK, Therrien J-F, Oleyar MD, Johnson J. 2019. Commentary: Defining raptors and birds of prey. *Journal of Raptor Research* 53 (4), S. 419. DOI: 10.3356/0892-1016-53.4.419.

Mebis T, Schmidt D. 2006. *Die Greifvögel Europas, Nordafrikas und Vorderasiens*. Biologie, Kennzeichen, Bestände. Stuttgart: Kosmos (Kosmos-Naturführer).

Mitkus M, Potier S, Martin GR, Duriez O, Kelber A. 2018: *Oxford Research Encyclopedia of Neuroscience*: Oxford University Press.

Moreno Y, Geary TG. (2008). Stage- and gender-specific proteomic analysis of *Brugia malayi* excretory-secretory products. *Plos neglected tropical diseases* 2 (10), e326.

DOI: 10.1371/journal.pntd.0000326.

Morrison ML, Rodewald AD, Voelker G, Colón MR, Prather JF. 2018. *Ornithology*. Foundation, analysis, and application. Baltimore: Johns Hopkins University Press.

O'Bryan CJ, Braczkowski AR, Beyer HL, Carter NH, Watson JEM, McDonald-Madden E. 2018. The contribution of predators and scavengers to human well-being. *Nature ecology & evolution* 2 (2), S. 229–236. DOI: 10.1038/s41559-017-0421-2.

- Podlipaev SA. 2000. Insect trypanosomatids: the need to know more. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 95 (4), S. 517–522. DOI: 10.1590/s0074-02762000000400013.
- Potier S, Bonadonna F, Kelber A, Duriez O. 2016. Visual acuity in an opportunistic raptor, the chimango caracara (*Milvago chimango*). *Physiology & behavior* 157, S. 125–128. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.01.032.
- Riamon S, Tourment N, Louchart A. 2020. The earliest Tyrannida (Aves, Passeriformes), from the Oligocene of France. *Scientific reports* 10 (1), S. 9776. DOI: 10.1038/s41598-020-66149-9.
- Sanchez-Godoy FD, Juarez-Murguia A, Hernandez-Castro R, Xicohtencatl-Cortes J, Martinez-Hernandez F, Hernandez-Velasco X. 2020. Characterization of aortic and brachiocephalic filariasis by *Filarioidea* sp (Nematoda:Spirurida:Filarioidea) in Mexican ramphastids. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife* 11, S. 282–286. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2020.03.003.
- Schoener E, Uebleis SS, Cuk C, Nawratil M, Obwaller AG, Zechmeister T, Lebl K, Rádová J, Zitra C, Votýpka J, Fuehrer H-P. 2018. Trypanosomatid parasites in austrian mosquitoes. *Plos one* 13 (4), e0196052. DOI: 10.1371/journal.pone.0196052.
- Schoener ER., Harl J, Himmel T, Fragner K, Weissenböck H, Fuehrer H-P. 2019. Protozoan parasites in *Culex pipiens* mosquitoes in Vienna. *Parasitology research* 118 (4), S. 1261–1269. DOI: 10.1007/s00436-019-06219-8.
- Steverding D. 2008. The history of African trypanosomiasis. *Parasites & vectors* 1 (1), S. 3. DOI: 10.1186/1756-3305-1-3.
- Taylor MJ, Hoerauf A, Bockarie M. 2010. Lymphatic filariasis and onchocerciasis. *The Lancet* 376 (9747), S. 1175–1185. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60586-7.
- Vaughan JA, Mehus JO, Brewer CM, Kvasager DK, Bauer S, Vaughan JL, Hassan HK, Unnasch TR, Bell JA. 2012. Theoretical potential of passerine filariasis to enhance the enzootic transmission of West Nile virus. *Journal of Medical Entomology* 49 (6), S. 1430–1441. DOI: 10.1603/me12103.
- Votýpka J, Szabová J, Rádová J, Zídková L, Svobodová M. 2012. *Trypanosoma culicavium* sp. nov., an avian trypanosome transmitted by *Culex* mosquitoes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62 (Pt 3), S. 745–754. DOI: 10.1099/ijs.0.032110-0.

Wendt T. 2002. Einheimische Singvögel halten und züchten. Stuttgart (Hohenheim): Ulmer (Heimtiere).

Wilson JR, Bartley EE, Anthony HD, Brent BE, Sapienza DA, Chapman TE, Dayton AD, Milleret RJ, Frey RA, Meyer RM. 1975. Analyses of rumen fluid from "sudden death", lactic acidotic and healthy cattle fed high concentrate ration. *Journal of Animal Science* 41 (5), S. 1249–1255. DOI: 10.2527/jas1975.4151249x.

Zidková L, Cepicka I, Szabová J, Svobodová M. 2012. Biodiversity of avian trypanosomes. Infection, genetics and evolution: *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 12 (1), S. 102–112. DOI: 10.1016/j.meegid.2011.10.022.

Turmfalken in Wien - Merkmale sowie Brutplätze melden

Mäusebussard | Blühendes Österreich ([bluehendesoesterreich.at](http://bluehendesoesterreich.at))

## 8 Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b> Taxonomische Übersicht der Raptoren (McClure et al. 2019) .....	4
<b>Abb. 2:</b> Fossilienexemplar NT-LBR-014 aus Revest- des- Brousses, Luberon (Frankreich) (Riamon et al. 2020) .....	13
<b>Abb. 3:</b> ausgewählte Knochen des Luberon- Fossils NT-LBR-014 im Vergleich mit anderen Arten (Riamon et al. 2020).....	14
<b>Abb. 4:</b> Formen der Trypanosomatidae: a amastigote Form; b promastigote Form; c epimastigote Form; d trypomastigote Form. (Grafik: Marianne Mathys, nach einer Vorlage von Johannes Eckert, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich) (Deplazes et al. 2021) .....	21
<b>Abb. 5:</b> Schema einer trypomastigoten Form von Trypanosomen sp. (Grafik: Marianne Mathys, nach einer Vorlage von Johannes Eckert, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich) (Deplazes et al. 2021).....	22
<b>Abb. 6:</b> Lebenszyklus von Trypanosoma cruzi (CDC/Alexander J. da Silva, PhD; Melanie Moser, <a href="https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=3384">https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=3384</a> , Zugriff 29.09.20221) .....	24
<b>Abb. 7:</b> Lebenszyklus von Wuchereria bancrofti (CDC/Alexander J. da Silva, PhD; Melanie Moser, <a href="https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=3425">https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=3425</a> , Zugriff 29.09.2021).....	29
<b>Abb. 8:</b> Vogelordnungen der Raubvögel.....	33
<b>Abb. 9:</b> Anzahl und Arten des Probematerials .....	36
<b>Abb. 10:</b> DNeasy Blood & Tissue Kits (qiagen.com).....	44
<b>Abb. 11:</b> Phylogenetische Einordnung der Probe Ind ID AH 0241 .....	59
<b>Abb. 12:</b> Phylogenetische Einordnung der Probe Ind ID AH 0243 .....	60

## 9 Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1:</b> Tabellarische Übersicht der Raubvögel .....	5
<b>Tab. 2:</b> Taxonomie Singvögel (Riamon et al. 2020) .....	11
<b>Tab. 3:</b> Mitglieder der Überfamilie der Passerida und Corvidea .....	12
<b>Tab. 4:</b> Taxonomie der Trypanosomen .....	20
<b>Tab. 5:</b> Taxonomische Einteilung der Filarien .....	26
<b>Tab. 6:</b> Ordnungen und genaue Anzahl Familien der Raptoren in dieser Arbeit.....	33
<b>Tab. 7:</b> Zeitraum der Probennahmen .....	36
<b>Tab. 8:</b> Anzahl, Arten und Gattungen der inkludierten Passeriformes .....	37
<b>Tab. 9:</b> Zeitraum der Probennahmen .....	42
<b>Tab. 10:</b> Pipettierschema der PCR zum Nachweis von Trypanosomatidae .....	48
<b>Tab. 11:</b> Temperaturkurve des Nest 1 und Nest 2 Produktes .....	48
<b>Tab. 12:</b> Pipettierschema der PCR zum Nachweis von Filarien .....	49
<b>Tab. 13:</b> Temperaturkurve zum Nachweis von Filarien mittels ChandFO/ und -RO Primern	50
<b>Tab. 14 :</b> Pipettierschema der PCR zum Nachweis von Filarien .....	51
<b>Tab. 15:</b> Temperaturkurve der Touchdown PCR zum Nachweis von Filarien .....	51
<b>Tab. 16:</b> Positiv getestete Vögel mit Angabe der Vogel- und Parasitenart-Raptoren .....	55
<b>Tab. 17:</b> Positiv getestete Vögel mit Angabe der Vogel- und Parasitenart-Passeriformes....	56