



Aus dem Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Phylogenie von Nematoden einheimischer Greifvögel

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Michaela Honisch
Tierärztin
aus Würzburg

Berlin 2008

Journal-Nr.: 3193

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Prof. Dr. Heribert Hofer
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Eberhard Schein
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Walter Sudhaus

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

predatory birds, nematodes, host parasite relationships, evolution, adaption,
phylogeny, ribosomal RNA

Tag der Promotion: 27.03.2009

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-564-6

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© mensch und buch verlag 2009

choriner str. 85 - 10119 berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

*Diese Arbeit
ist meinem Großvater Ernst Honisch gewidmet*



E. Honisch

Kurzfassung

Nematoden gehören zu den häufigsten Endoparasiten einheimischer Greifvögel. Sie parasitieren in fast allen Organen der Greifvögel, überwiegend jedoch im Magen-Darm-Trakt oder im Atmungssystem. Wegen ihrer geringen Größe und eines sehr einheitlichen Körperbaus ist eine sichere Artidentifizierung vor allem bei eng verwandten Spezies auf der Basis morphologischer Merkmale schwierig, bei Larvenstadien meist unmöglich. Die aktuelle Phylogenie greifvogelspezifischer Nematoden, die hauptsächlich auf morphologischen und ökologischen Merkmalen beruht, wurde in dieser Studie mit Hilfe genetischer Marker überprüft.

Insgesamt wurden 153 einheimische Greifvögel aus 15 Arten seziert, dabei wurden vierzehn verschiedene Nematodenspezies im Magendarm- und im Respirationstrakt gefunden. Bei 52% aller untersuchten Greifvögel wurde ein Befall mit Nematoden diagnostiziert. Aus den Nematoden wurde DNA extrahiert und die kleine Untereinheit (SSU, 18S) sowie die internal transcribed spacer II (ITS-2) Region der rDNA und ein Teilstück der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase amplifiziert und sequenziert.

Zusätzlich zu diesen Nematoden wurden Larven untersucht, die im Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR, Berlin) aus der Brustmuskulatur verschiedener Greifvögel isoliert wurden. Insgesamt wurden in 22% aller untersuchten Brustmuskelpollen morphologisch nicht zu differenzierende Nematodenlarven gefunden. Durch SSCP Analyse der ITS-2 PCR Produkte konnten Larven der Nematoden *Porrocaecum angusticolle*, *Synhimantus laticeps* und *Cyrnea mansioni* identifiziert werden.

Mit den Gensequenzen wurden hypothetische Stammbäume der Nematoden konstruiert und diese mit den morphologischen Stammbäumen verglichen. Beide Stammbäume stimmten überein mit Ausnahme der Familie Acuariidae, die sich im 18S Stammbaum als eng verwandt mit der Familie der Physalopteridae darstellte. Beim Vergleich der Stammbäume von Nematoden und Greifvögeln konnten keine Cospeziationsereignisse detektiert werden.

Ziel dieser Studie war die Identifikation greifvogelparasitierender Nematoden mit Hilfe genetischer Marker, die Überprüfung ihrer phylogenetischen Beziehungen und eine cophylogenetische Analyse der Nematoden und ihrer Wirte.

Schlagwörter: Greifvögel, Nematoden, Phylogenie, rDNA, SSU (18S), ITS-2, Cytochrom Oxidase Untereinheit I, Cospeziation

Abstract

Phylogeny of nematodes from birds of prey

Birds of prey host a wide variety of endoparasites. The majority of these endoparasites are nematodes. They can be found mainly in the digestive and respiratory system. The current accepted phylogeny of nematodes found in birds of prey is based on morphological traits. In this study molecular data were used to assess phylogenetic relationships in this group of parasitic nematodes. The aim of the study was to evaluate a method for rapid species identification, to construct a phylogeny of parasitic nematodes from birds of prey and to investigate cospeciation events between hosts and their parasites.

A total of 153 birds of prey of 15 species were examined for nematodes in their digestive and respiratory tract. In 52 % of them parasitic nematodes of 14 species were found. The DNA of all nematode species was extracted. Two segments of the rDNA, the small subunit (SSU, 18S) and the intertranscribed spacer region II (ITS-2) and a part of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I were amplified by polymerase chain reaction and sequenced.

In addition breast muscle samples of birds of prey were examined for nematode larvae. In 22% of the breast muscle samples morphological undistinguishable nematode larvae were found. Using the SSCP analysis of the ITS-2 rDNA region larvae of *Porrocaecum angusticolle*, *Synhimantus laticeps* and *Cyrnea mansioni* could be identified. Therefore the SSCP based method is a useful molecular tool for rapid identification of ascarid and spirurid nematodes.

Phylogenetic trees based on 18S and ITS-2 rDNA regions of all parasitic nematodes of birds of prey were constructed with neighbor-joining and maximum parsimony analysis. A good correlation between the molecular data and the morphology based systematic was observed, except that the spirurid family Acuariidae is closely related to the Phyllopteridae as suggested by the genetic results. By comparing the phylogenetic trees of the parasitic nematodes with the phylogenetic tree of the raptors, we have demonstrated that there is no strong cospeciation of the parasites with their hosts.

Keywords: birds of prey, parasitic nematodes, phylogeny, rDNA, small subunit (18S), intertranscript spacer II (ITS-2), cytochrom c oxidase subunit I, cospeciation

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung.....	5
Abstract.....	6
Inhaltsverzeichnis	7
Abbildungsverzeichnis.....	11
Tabellenverzeichnis	12
Tabellenverzeichnis	12
Abkürzungsverzeichnis	14
1 Einleitung	17
1.1 Nematoden.....	17
1.1.1 Allgemeines zur Biologie der Nematoden	17
1.1.2 Nematoden der Greifvögel	18
1.2 Greifvögel.....	21
1.3 Artkonzepte	24
1.4 Molekulare Marker	25
1.4.1 Mitochondriale DNA.....	25
1.4.2 Ribosomale DNA	26
1.5 Kryptische Spezies	27
1.6 Cospeziation	27
1.7 Phylogenie der Nematoden.....	29
1.7.1 Revision der klassischen Nematodenphylogenie durch Analyse ribosomaler 18S Sequenzen.....	29
1.7.2 18S Phylogenie der Greifvogelnematoden.....	32
1.8 Zielstellung dieser Arbeit	33
2 Material und Methoden	34
2.1 Tiermaterial	34
2.2 Sektion der Greifvögel	35
2.2.1 Äußere Begutachtung.....	35
2.2.2 Sektion.....	35
2.2.3 Parasitologische Untersuchung	35
2.3 Künstliche Verdauung der Brustmuskulatur nach dem Magnetrührverfahren....	35
2.4 Morphologische Analyse.....	36

2.5	DNA Isolierung	36
2.5.1	Greifvögel.....	36
2.5.2	Nematoden.....	37
2.6	PCR.....	39
2.6.1	Primer	39
2.6.2	Durchführung der PCR.....	40
2.6.3	Gelelektrophorese.....	42
2.6.4	Aufreinigung der PCR Produkte	42
2.7	Klonierung.....	42
2.7.1	Ligation.....	43
2.7.2	Transformation	43
2.7.3	Kolonie PCR.....	43
2.8	Sequenzierung	44
2.9	Single-strand conformation polymorphism.....	45
2.10	Phylogenetische Analyse.....	46
2.10.1	Nachbearbeitung der Sequenzen und Überprüfung der Sequenzidentität.....	46
2.10.2	Alinierung.....	46
2.10.3	Konstruktion der phylogenetischen Bäume.....	46
3	Ergebnisse	48
3.1	Sektionsergebnisse	48
3.2	Morphologische Analyse der Nematoden	48
3.3	Prävalenzen.....	49
3.3.1	Nematodenspektrum der Greifvögel	49
3.3.2	Wirtsspektrum der Nematoden.....	51
3.3.3	Erstnachweise	53
3.4	Nematodenspektrum in Abhängigkeit von der Nahrungspräferenz der Greifvögel.....	53
3.5	Nematodenspektrum in Abhängigkeit von der regionalen Herkunft der Greifvögel.....	55
3.6	Künstlicher Verdau der Brustmuskulatur nach dem Magnetrührverfahren	56
3.7	PCR.....	59
3.7.1	Greifvögel.....	59
3.7.2	Nematoden.....	60
3.8	Single-strand conformation polymorphism.....	63
3.9	Sequenzanalyse.....	66
3.9.1	Sequenzanalyse der partiellen mt COI Genregion der Greifvögel.....	66
3.9.2	Sequenzanalyse der molekularen Marker der Nematoden	67
3.10	Phylogenetische Analyse.....	71
3.10.1	Phylogenetische Analyse der mt COI Sequenzen der Greifvögel.....	71

3.10.2 Phylogenetische Analyse der 18S Sequenzen der Nematoden.....	73
3.10.3 Phylogenetische Analyse der ITS-2 Sequenzen der Nematoden	79
3.10.4 Phylogenetische Analyse der partiellen mt COI Sequenzen der Nematoden.....	83
4 Diskussion.....	84
4.1 Methodenkritik	84
4.1.1 Auswahl der Greifvögel	84
4.1.2 Parasitologische Untersuchung	84
4.1.3 Künstlicher Verdau der Brustmuskulatur nach dem Magnetrührverfahren	84
4.1.4 Morphologische Untersuchung	85
4.1.5 PCR.....	85
4.1.6 Sequenzierung	85
4.1.7 Single-strand conformation polymorphism.....	85
4.1.8 Phylogenetische Analyse.....	86
4.2 Sektionsergebnisse	88
4.3 Morphologische Analyse.....	88
4.4 Prävalenzen.....	89
4.4.1 Nematodenspektrum der Greifvögel	89
4.4.2 Wirtsspektrum der Nematoden.....	89
4.4.3 Erstdnachweise	90
4.5 Nematodenspektrum in Abhängigkeit vom Nahrungsspektrum der Greifvögel.....	90
4.6 Nematodenspektrum in Abhängigkeit von der regionalen Herkunft der Greifvögel.....	91
4.7 Künstlicher Verdau der Brustmuskulatur nach dem Magnetrührverfahren	92
4.8 PCR.....	93
4.8.1 PCR der partiellen mt COI Genregion Greifvögel.....	93
4.8.2 PCR der molekularen Marker der Nematoden	94
4.8.3 PCR der partiellen mt COI Genregion der Nematoden.....	94
4.9 Single-strand conformation polymorphism.....	94
4.10 Sequenzanalyse.....	96
4.10.1 Sequenzanalyse des mt COI Genabschnittes der Greifvögel	96
4.10.2 Sequenzanalyse der molekularen Marker der Nematoden	96
4.11 Phylogenetische Analyse.....	99
4.11.1 Phylogenetische Analyse der partiellen mt COI Sequenzen der Greifvögel.....	100
4.11.2 Phylogenetische Analyse der molekularen Marker der Nematoden	100
4.12 Cospeziation zwischen Greifvögeln und Nematoden.....	106
4.12.1 Voraussetzungen für Cospeziation.....	106
4.12.2 Verteilungsmuster der spiruriden Nematoden innerhalb der Greifvogelfamilie der Accipitridae.....	108
4.12.3 Vergleich der mt COI Evolutionsraten von Wirt und Parasit.....	110

4.13	Charakterisierung der Filarien	111
4.13.1	Morphologische Analyse	111
4.13.2	Genetische Analyse	111
4.13.3	Literaturübersicht	111
4.13.4	Zusammenfassung der Befunde	112
5	Zusammenfassung	113
6	Literaturverzeichnis	115
7	Anhang	123
	Danksagung	174
	Selbstständigkeitserklärung	175

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Systematik der untersuchten Greifvögel.....	22
Abbildung 2: Struktur des rDNA Operons	26
Abbildung 3: Mechanismen der Cospeziation.....	28
Abbildung 4: Systematik der Nematoden	31
Abbildung 5: weiblicher Nematode aus dem Wespenbussard BW 197/2001	49
Abbildung 6: Pool 4, Nematodenlarve aus einem Seeadler.....	57
Abbildung 7: Nematodenlarven aus Pool 24, ebenfalls aus Seeadlern.....	58
Abbildung 8: Nematodenlarve aus Pool 35 aus einer Rohrweihe.	58
Abbildung 9: Nematodenlarve aus Pool 39 aus einem Mäusebussard.	58
Abbildung 10: Pool 54, Nematodenlarve aus einem Wespenbussard.	59
Abbildung 11: Amplifikation des partiellen mt COI Gens der Greifvögel.	60
Abbildung 12: Amplifikation des 18S Markers der Probe PO5	61
Abbildung 13: Ergebnis der Amplifikation des ITS-2 Markers.	62
Abbildung 14: Ergebnis der Amplifikation der mt COI Genregion	63
Abbildung 15: SSCP Analyse der Probenpools P48, P4 und P47.	64
Abbildung 16: SSCP Banden des ITS-2 PCR Produktes aus dem Probenpool P36.....	65
Abbildung 17: SSCP Bandenmuster der Proben N? und P31	66
Abbildung 18: Maximum-Parsimony Analyse der partiellen mt COI Sequenzen der Greifvögel.	72
Abbildung 19: Neighbor-Joining Analyse der 18S Sequenzen der Nematoden.....	75
Abbildung 20: Parasitenspektrum der Greifvögel.	78
Abbildung 21: Neighbor-Joining Analyse der ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha....	80
Abbildung 22: Neighbor-Joining Analyse der ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha	82
Abbildung 23: Neighbor-Joining Analyse des partiellen mt COI Fragments der Nematoden	83
Abbildung 24: Vergleich der 18S Phylogenie der Spiruromorpha.....	103
Abbildung 25: Verteilungsmuster der spiruriden Nematoden innerhalb der Greifvogelfamilie der Accipitridae.	109

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Überblick über greifvogelspezifische Nematodenarten.....	19
Tabelle 2: Übersicht über das Nematodenspektrum der einheimischen Greifvögel.....	23
Tabelle 3: Art und Anzahl der sezierten Greifvögel.....	34
Tabelle 4: Greifvögel, aus denen DNA extrahiert wurde	36
Tabelle 5: Übersicht über die Nematoden, die zur genetischen Untersuchung verwendet wurden.....	37
Tabelle 6: Primersequenzen zur Amplifikation der mt COI der Greifvögel	39
Tabelle 7: Primer zur Amplifikation der molekularen Marker der Nematoden	40
Tabelle 8: PCR-Ansatz für die Amplifikation der molekularen Marker	40
Tabelle 9: PCR Programm für die Amplifikation der ribosomalen ITS-2 und 18S Genabschnitte der Nematoden	41
Tabelle 10: PCR Programm für die Amplifikation des partiellen COI Gens der Nematoden.....	41
Tabelle 11: PCR Programm für die Amplifikation des partiellen COI Gens der Greifvögel	42
Tabelle 12: Ansatz zur Ligation der PCR Amplifikate.....	43
Tabelle 13: PCR Programm für die Kolonie PCR.....	44
Tabelle 14: Temperatur-Zeit-Programm für die Sequenzierungs PCR	44
Tabelle 15: Nematodenspektrum der Greifvögel.....	49
Tabelle 16: Übersicht über das Wirtsspektrum.....	52
Tabelle 17: Einteilung der Greifvögel anhand ihres Beutespektrums.	53
Tabelle 18: Nematodenspektrum in Abhängigkeit von der Nahrungspräferenz der Greifvögel.	54
Tabelle 19: Übersicht über die Herkunft der untersuchten Greifvögel	55
Tabelle 20: Vergleich des Nematodenspektrums der Greifvögel aus Berlin/Brandenburg, Baden-Württemberg und Niedersachsen	56
Tabelle 21: Probenpools, in denen Nematodenlarven gefunden wurden	57
Tabelle 22: Primerkombinationen zur Amplifikation der partiellen mt COI Genregion der Greifvögel.....	59
Tabelle 23: Ergebnis der SSCP Analyse.....	64
Tabelle 24: Länge in bp und G+C Gehalt in Prozent der partiellen mt COI Gensequenzen der Greifvögel	66
Tabelle 25: Länge in bp und G+C Gehalt in Prozent der 18S, ITS-2 und mt COI Gensequenzen der Nematoden.....	68
Tabelle 26: Intraspezifische und intraindividuelle ITS-2 Sequenzunterschiede der spiruriden Nematoden.....	71
Tabelle 27: Vergleich der intra- und interspezifischen Sequenzunterschiede in Prozent der ITS-2 Genregionen der Nematoden.....	97
Tabelle 28: Vergleich der intra- und interspezifischen Sequenzunterschiede in Prozent der mt COI Sequenzen der Nematoden	99
Tabelle 29: Bezugsquellen der Verbrauchsmaterialien	125

Tabelle 30: Puffer und Lösungen.....	126
Tabelle 31: Sektionsergebnisse.....	127
Tabelle 32: Ergebnisse der parasitologischen Untersuchung von Greifvogelorganen .	133
Tabelle 33: Übersicht über alle Brustmuskelproben, die auf Nematodenlarven untersucht wurden.....	134
Tabelle 34: Nematodenbelastung der Greifvögel	136
Tabelle 35: NCBI Datenbank Zugangsnummern aller für die phylogenetische Analyse verwendeten Arten	137
Tabelle 36: Sequenzunterschiede in Prozent der mt COI Genregion der Greifvögel...	139
Tabelle 37: Sequenzunterschiede der 18S Sequenzen der Nematoden	140
Tabelle 38: Sequenzunterschiede der ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha	144
Tabelle 39: Sequenzunterschiede in Prozent der ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha.....	146
Tabelle 40: Sequenzunterschiede in Prozent der mt COI Sequenzen der Nematoden .	147
Tabelle 41: Alignment der ITS- 2 Sequenzen der Nematodenlarven.....	148
Tabelle 42: Alignment für die mt COI Sequenzen der Greifvögel.....	151
Tabelle 43: Alignment für die 18S Sequenzen der Nematoden.....	152
Tabelle 44: Alignment für die ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha.....	167
Tabelle 45: Alignment für die ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha	171
Tabelle 46: Alignment für die mt COI Sequenzen der Nematoden.....	173

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
ACGE	<i>Accipiter gentilis</i>
ACNI	<i>Accipiter nisus</i>
ad	adult
B	Berlin
bp	Basenpaare
Bra	Brandenburg
BUBT	<i>Buteo buteo</i>
BULA	<i>Buteo lagopus</i>
BW	Baden-Württemberg
C	Cytosin
CIAE	<i>Circus aeruginosus</i>
CIPY	<i>Circus pygargus</i>
CL	<i>Cyrnea leptoptera</i>
CM	<i>Cyrnea mansioni</i>
CN	<i>Contracecum microcephalus</i>
COI	Cytochrom C Oxidase Untereinheit I
COII	Cytochrom C Oxidase Untereinheit II
CS	<i>Cyrnea seurati</i>
CT	<i>Capillaria tenuissima</i>
dest.	destilliert
dNTP	2'-Desoxy-Nucleosid-5'-Triphosphat
ED	<i>Eucoleus dispar</i>
FACO	<i>Falco columbarius</i>
FAPE	<i>Falco peregrinus</i>
FASU	<i>Falco subbuteo</i>
FATI	<i>Falco tinnunculus</i>
F	Filarie
G	Guanin
g	Gramm
HAAL	<i>Haliaeetus albicilla</i>
HV	<i>Hovorkonema variegatum</i>
IPTG	Isopropyl-beta-D-thiogalactopyranosid

ITS-2	Internal transcribed spacer II
IZW	Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung
juv	juvenil
K2P	Kimura-2-Parameter
LB	Luria-Bertani
m	männlich
M	molar
mA	Milliampere
MC	<i>Microtetrameres cloacitectus</i>
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
MIMG	<i>Milvus migrans</i>
MIML	<i>Milvus milvus</i>
min	Minute
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mM	Millimolar
µM	Mikromolar
mt	mitochondrial
MV	Mecklenburg-Vorpommern
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NRW	Nordrhein-Westfalen
NS	Niedersachsen
PA	<i>Physaloptera alata</i>
PAHA	<i>Pandion haliaetus</i>
PCR	Polymerase Chain Reaktion
PEAP	<i>Pernis apivorus</i>
pH	negativ dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PO	<i>Porrocaecum</i> sp.
PP	<i>Physaloptera apivori</i>
rpm	rounds per minute
SA	Sachsen-Anhalt
SH	Schleswig-Holstein
SH	<i>Synhimantus hamatus</i>
SL	<i>Synhimantus laticeps</i>

ss	single-strand
SSCP	single-strand conformation polymorphism
ST	<i>Serratospiculum tendo</i>
T	Thymin
TAE	Tris-Acetat-EDTA-Puffer
TBE	Tris-Borsäure-EDTA-Puffer
TH	Thüringen
Tris	Tri (hydroxyl)-aminomethan
UV	Ultraviolett
V	Volt
w	weiblich
W	Watt
x-Gal	5-Bromo-4-chloro-3-indolyl b-D-galactopyranosid

1 Einleitung

Parasitismus ist eine extrem erfolgreiche Lebensform, die sich in vielen Tierstämmen unabhängig voneinander entwickelt hat. Nahezu jedes Tier wird parasitiert. Die Anzahl parasitischer Lebensformen übersteigt vermutlich die freilebender Arten (HUYSE et al., 2005).

Parasiten unterscheiden sich von freilebenden Organismen durch ihre hochspezialisierte Ernährung und durch eine Lebensweise, die eng mit der des Wirtes verbunden ist. Typische parasitäre Eigenschaften sind Hermaphroditismus, Parthenogenese, asexuelle Vermehrungsstadien, eine kurze Generationszeit und eine stark fragmentierte Populationsstruktur (HUYSE et al., 2005). Phänotypische Merkmale des Parasiten, wie z. B. seine Virulenz (LAMBRECHTS et al., 2006) oder Resistenzmechanismen des Wirtes, (ANDERSON et al., 1982) entstehen durch Interaktion der Genome von Parasit und Wirt.

1.1 Nematoden

1.1.1 Allgemeines zur Biologie der Nematoden

Die Nematoden (Rundwürmer, Fadenwürmer) bilden eine der artenreichsten Gruppen im Tierreich. Wie viele Nematodenarten insgesamt existieren, ist unbekannt. Schätzungen der Artzahl bewegen sich jedoch zwischen 40.000 und 100 Millionen Nematoden (DORRIS & BLAXTER, 1999). Neben freilebenden Nematoden, die in nahezu jedem Ökosystem der Erde leben, parasitieren Nematoden in unüberschaubarer Vielfalt Menschen, Tiere und Pflanzen (BLAXTER et al., 1998). Nematoden werden in beinahe allen Körperorganen gefunden und spielen als Krankheitserreger bei Menschen, Tieren und Pflanzen eine große Rolle (MEHLHORN & PIEKARSKI, 2002). Innerhalb der Nematoden ist die Lebensform des Parasitismus mehrmals unabhängig voneinander entstanden (BLAXTER et al., 1998).

Im starken Gegensatz zu dieser ökologischen Diversität steht die bei allen Nematoden sehr einheitliche Morphologie. Nematoden sind fadenförmige, nicht segmentierte Helminthen, die anhand buccaler und pharyngealer Strukturen, anhand ihrer Reproduktions- und Sinnesorgane, ihres Lebenszyklus und ihrer Wirte unterschieden werden können.

Die Entwicklung der getrenntgeschlechtlichen Würmer erfolgt in den meisten Fällen indirekt über einen Intermediärwirt, aber ohne Generationswechsel. Einige Arten entwickeln sich auch direkt oder über paratenische Wirte. Die weiblichen Nematoden legen Eier, aus denen Larven schlüpfen, die sich über vier Larvenstadien zum Adultus entwickeln. Die dritte Larve stellt dabei typischerweise das invasionsfähige Stadium dar, welches den Endwirt infiziert. Typisch für viele Nematodenspezies ist die Wanderung der Larven durch den Körper des Endwirtes (MEHLHORN & PIEKARSKI, 2002).

1.1.2 Nematoden der Greifvögel

1.1.2.1 Überblick über greifvogelparasitierende Nematoden

Nematoden gehören zu den häufigsten Endoparasiten wildlebender Greifvögel (KRONE, 2000). Sie können in allen Körperorganen gefunden werden, parasitieren jedoch hauptsächlich im Magen-Darm-Trakt und im Respirationssystem. Meist infizieren sich Greifvögel über ihre Beutetiere mit Nematoden (KRONE & COOPER, 2002).

Ein Befall der Greifvögel mit Nematoden führt in den meisten Fällen nicht zur Ausbildung klinischer Symptome. Die Pathogenität der verschiedenen Nematodenarten ist jedoch unterschiedlich und hängt von der Befallsintensität, dem jeweils befallenen Organ und der Konstitution des Wirtes ab. Die Ausbildung einer Parasitose ist eine typische Faktorenkrankheit, d. h. Faktoren, die das Immunsystem des Wirtes schwächen, begünstigen eine Infektion mit Nematoden. Typische Voraussetzungen für Parasitosen sind Infektionskrankheiten, schlechter Ernährungszustand oder Stress (KRONE & COOPER, 2002).

Auf Populationsebene der Wirte können Nematoden deren Populationsgröße, ihre demographische Struktur oder ihre geographische Verteilung beeinflussen (HUDSON et al., 1998).

Einen Überblick über greifvogelparasitierende Nematodenarten gibt Tabelle 1. Die systematische Zuordnung in dieser Tabelle erfolgt anhand morphologischer und biologischer Merkmale nach ANDERSON et al. (1974-1983), ANDERSON (2000) und SKRJABIN (1953-1968).

Tabelle 1: Überblick über greifvogelspezifische Nematodenarten. Die systematische Zuordnung erfolgt anhand morphologischer und biologischer Merkmale nach ANDERSON et al. (1974-1983), ANDERSON (2000) und SKRJABIN (1953-1968). Hinter dem Artnamen sind die Beschreiber aufgeführt.

Ordnung	Unterordnung	Überfamilie	Familie	Unterfamilie	Art
Ascaridida		Ascaridoidea	Ascarididae	Toxocarinae	<i>Porrocaecum angusticolle</i> (MOLIN, 1860) HARTWICH, 1959
					<i>Porrocaecum depressum</i> (ZEDER, 1809) BAYLIS, 1912
			Anisakidae	Anisakinae	<i>Contraecum microcephalum</i> RUDOLPHI, 1809
					<i>Contraecum pandioni</i> SOBOLEV & SUDARIKOV, 1939
Spirurida	Spirurina	Physalopteroidea	Physalopteridae	Physalopterinae	<i>Physaloptera alata</i> RUDOLPHI, 1819
					<i>Physaloptera apivori</i> RUDOLPHI, 1819
		Acuarioidea	Acuariidae	Acuariinae	<i>Synhimantus laticeps</i> RUDOLPHI, 1819
					<i>Synhimantus hamatus</i> RAILLIET, HENRY & SISOFF, 1912
		Habronematoidea	Habronematidae		<i>Cyrnea spinosa</i> GENDRE, 1922
					<i>Cyrnea leptoptera</i> (RUDOLPHI, 1819) CHABAUD, 1958
					<i>Cyrnea seurati</i> (SKRJABIN, 1917) CHABAUD, 1958
					<i>Cyrnea mansioni</i> SEURAT, 1914
				Tetrameridae	<i>Microtetrameres cloacitectus</i> OSCHMARIN, 1956
		Diplotriaenoidea	Diplotriaenidae	Diplotriaeninae	<i>Serratospiculum tendo</i> (NITSCH, 1819) SKRJABIN, 1915
Filarioidea	Onchocercidae	Splendofilariinae	<i>Cardiofilaria pavlovskyi</i> STROM, 1937		
Strongylida		Strongyloidea	Syngamidae	Syngaminae	<i>Hovorkonema variegatum</i> (CREPLIN, 1849) TUREMURATOV, 1963
					<i>Syngamus trachea</i> MONTAGU, 1811
Enoplida	Trichinellina	Trichinelloidea	Trichuridae	Capillariinae	<i>Capillaria tenuissima</i> (RUDOLPHI, 1809) YAMAGUTI, 1941
					<i>Eucoleus dispar</i> DUJARDIN, 1845

1.1.2.2 Kurzcharakterisierung der greifvogelspezifischen Nematodenarten

Die Beschreibung der greifvogelparasitierenden Nematoden erfolgt nach ANDERSON et al. (1974-1983), ANDERSON (2000) und KRONE (1998).

- **Ordnung Ascaridida**

In einheimischen Greifvögeln parasitieren die Spulwürmer *Porrocaecum angusticolle* und *Porrocaecum depressum* aus der Familie Ascarididae und *Contracaecum microcephalum* und *Contracaecum pandioni* aus der Familie Anisakidae. Diese bis zu mehreren Zentimeter großen Helminthen leben im Darmsystem der Wirte. Während die Gattung *Porrocaecum* bei einheimischen Greifvogelarten weit verbreitet ist, parasitieren die Spulwürmer *Contracaecum microcephalum* und *Contracaecum pandioni*, deren Zwischenwirte Fische sind, ausschließlich in fischfressenden Vögeln.

Als Zwischenwirte für *Porrocaecum angusticolle* wurden experimentell Insektivoren nachgewiesen. Der Lebenszyklus von *Porrocaecum depressum* ist bis jetzt noch unbekannt.

In geringer Zahl verursachen Askariden im Darm des Wirtes wenig Schaden. Bei Massenbefall können sie jedoch eine Darmperforation oder bei vollständiger Verlegung des Darmlumens einen Ileus verursachen (KRONE & COOPER, 2002).

- **Ordnung Spirurida**

Die meisten Nematoden, die in Greifvögeln parasitieren, gehören zur Ordnung Spirurida. Im Proventriculus der Greifvögel, z. t. auch in Ösophagus und Pharynx, leben Nematoden der Gattungen *Physaloptera*, *Synhimantus* und *Cyrnea*.

Die rundlich geformten Weibchen der Gattung *Microtetrameres* parasitieren im Lumen der Proventriculusdrüsen, während die kleineren, fadenförmigen Männchen frei im Magenlumen leben.

Die Nematoden *Synhimantus laticeps* und *Synhimantus hamatus* der Familie Acuariidae besitzen an ihrem cranialen Ende spezielle Halteorgane, sog. Cords, mit denen sie sich in der Schleimhaut des Muskel- und Drüsenmagens verankern. Starker Befall mit *Synhimantus laticeps* kann zu Ulcera der Magenschleimhaut führen (KRONE, 2000). Die Besiedelung des oberen Verdauungstraktes mit Spiruriden kann bei sehr starkem Befall lokale Entzündungen der betroffenen Mucosapartien verursachen (KRONE & COOPER, 2002).

Der Lebenszyklus der Spiruriden des oberen Verdauungstraktes ist nicht bekannt. Als Zwischenwirte wurden experimentell bei der Gattung *Synhimantus* Isopoden und bei *Cyrnea* sp. Insekten nachgewiesen (KRONE, 1998).

Der Luftsackwurm *Serratospiculum tendo* lebt in den Luftsäcken verschiedener Falkenarten. Die embryonierten Eier werden vom Wirt in den Pharynx hochgehustet, wieder verschluckt und mit dem Kot ausgeschieden. Insekten als Intermediärwirte nehmen die Eier mit der Nahrung auf. Die Larven schlüpfen im Intermediärwirt und kapseln sich im Körperfettgewebe ein. Ob die Insekten direkt von den Greifvögeln aufgenommen werden oder zuvor von Beutetieren gefressen werden, über die sich dann die Greifvögel infizieren, ist nicht bekannt (KRONE & COOPER, 2002).

Die Infektion mit *Serratospiculum tendo* kann zu Entzündungen, Hämorrhagien und Hyperplasie des Luftsack- und Lungengewebes führen (WARD & FAIRCHILD, 1972).

Filarien der Gattung *Cardiofilaria* werden in Form von Mikrofilarien über blutsaugende Insekten als Intermediärwirte übertragen. Die Nematoden können im Perikard oder in der Körperhöhle von Greifvögeln nachgewiesen werden (ANDERSON, 2000).

- **Ordnung Strongylida**

In den Bronchien und Luftsäcken einheimischer Greifvögel parasitieren Strongyliden der Gattungen *Syngamus*, *Hovorkonema* und *Cyathostoma*. Der Lebenszyklus von *Syngamus trachea* verläuft entweder direkt oder über Insekten bzw. Regenwürmer als paratenische Wirte, *Hovorkonema variegatum* entwickelt sich indirekt über Regenwürmer als Intermediärwirte (HARTWICH, 1994).

Die klinischen Symptome, die durch Strongylidenbefall verursacht werden, sind abhängig von der Befallsintensität. Sie reichen von Entzündung und Verdickung der Luftsackwände bis zu Dyspnoe, Schnabelatmung, Obstruktion der Trachea und Pneumonie (LAVOIE et al., 1999).

- **Ordnung Enoplida**

Aus der Ordnung der Enoplida parasitieren die Fadenwürmer *Eucoleus dispar* und *Capillaria tenuissima* in einheimischen Greifvögeln. *Eucoleus dispar* lebt in der Schleimhaut des oberen Verdauungstraktes der Greifvögel. Sein Entwicklungszyklus verläuft entweder direkt oder über Regenwürmer als paratenische Wirte. Der Befall mit *Eucoleus dispar* kann zu Entzündung der befallenen Schleimhautpartien und zur Ausbildung diphteroider Beläge in Ösophagus, Kropf, Pharynx und in der Schnabelhöhle führen. *Capillaria tenuissima* lebt im Dünndarm der Greifvögel, sein Lebenszyklus ist unbekannt. Infizierte Vögel zeigen in der Regel keine klinischen Symptome, nur in Ausnahmefällen führt schwerer Befall zu Diarrhoe und Gewichtsverlust (KRONE & COOPER, 2002).

1.2 Greifvögel

Greifvögel gehören zur Ordnung der Falconiformes. In dieser Studie werden 15 einheimische Greifvogelarten untersucht, die den drei Familien Falconidae, Accipitridae und Pandionidae angehören. Rauhußbussard und Merlin sind Wintergäste, die anderen Greifvögel brüten regelmäßig in Deutschland (MEBS & SCHMIDT, 2006). Die aktuelle Systematik der Greifvögel beruht auf morphologischen und molekulargenetischen Merkmalen. Die Abbildung 1 zeigt die systematische Stellung der in dieser Studie untersuchten Greifvögel nach WINK & SAUER-GÜRTH (2004). Der Stammbaum beruht auf Sequenzunterschieden des mitochondrialen Gens Cytochrom b.

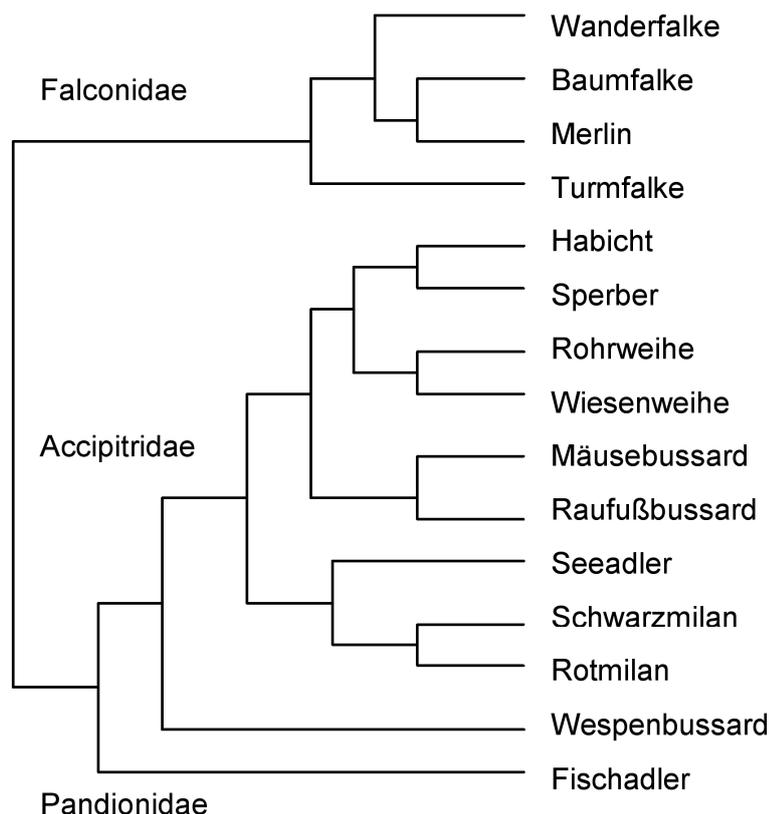


Abbildung 1: Systematik der untersuchten Greifvögel nach WINK & SAUER-GÜRTH (2004). Der Stammbaum beruht auf Sequenzunterschieden der Cytochrom b Genregion. Schematische Zeichnung der Stammbaumtopologie, die Astlängen entsprechen nicht den Sequenzunterschieden.

Die Übertragung der Nematoden auf die Greifvögel erfolgt im Allgemeinen über die Beutetiere. Je breiter das Nahrungsspektrum der Greifvögel und somit das Spektrum der möglichen Zwischenwirte, desto breiter auch das Spektrum unterschiedlicher Nematoden, die in diesem Wirt parasitieren. So werden Nahrungsgeneralisten wie z. B. der Mäusebussard von einer größeren Anzahl verschiedener Nematodenspezies parasitiert als Fischadler, deren Hauptnahrung aus Fischen besteht (LIERZ et al., 2002).

Auch das Wirtsspektrum der einzelnen Nematodenspezies ist unterschiedlich. Sowohl die Spulwürmer der Gattung *Porrocaecum* als auch der Fadenwurm *Eucoleus dispar* parasitieren in fast allen einheimischen Greifvogelarten, während sich der Spiruride *Physaloptera apivori* auf Wespenbussarde als Wirte spezialisiert hat. Die meisten Nematodenarten parasitieren jedoch in mehreren Greifvogelwirten.

Die Tabelle 2 zeigt einen Überblick über das Nematodenspektrum einheimischer Greifvögel nach KRONE (2000).

Tabelle 2: Übersicht über das Nematodenspektrum der einheimischen Greifvögel nach KRONE (2000); x = Nematode wurde in jeweiliger Wirtsart in der Literatur beschrieben.

	Wanderfalke	Baumfalke	Merlin	Turmfalke	Habicht	Sperber	Rohrweihe	Wiesenweihe	Mäusebussard	Rauhfußbussard	Seeadler	Schwarzmilan	Rotmilan	Wespenbussard	Fischadler
<i>Porrocaecum angusticolle</i>	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X
<i>Porrocaecum depressum</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-
<i>Contracaecum microcephalum</i>	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-
<i>Contracaecum pandioni</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	X
<i>Physaloptera alata</i>	X	X	-	X	X	X	X	X	X	-	-	X	-	X	X
<i>Physaloptera apivori</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-
<i>Synhimantus laticeps</i>	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-
<i>Synhimantus hamatus</i>	-	-	-	-	-	X	X	-	X	-	-	-	-	-	-
<i>Cyrnea spinosa</i>	-	X	-	X	X	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>Cyrnea leptoptera</i>	X	X	-	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X	-
<i>Cyrnea seurati</i>	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cyrnea mansioni</i>	-	X	-	X	-	X	X	-	X	-	-	X	-	-	-
<i>Microtetrameres cloacitectus</i>	-	-	-	-	-	-	X	-	X	-	-	-	-	-	-
<i>Serratospiculum tendo</i>	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cardiofilaria pavlovskyi</i>	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hovorkonema variegatum</i>	X	-	-	-	X	X	-	-	X	-	X	-	-	-	-
<i>Syngamus trachea</i>	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Capillaria tenuissima</i>	-	X	X	-	X	X	X	-	X	X	-	-	X	-	-
<i>Eucoleus dispar</i>	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	-	x	X	X	-

1.3 Artkonzepte

Die Charakterisierung und korrekte Identifizierung einer Art ist Basis für systematische Fragestellungen wie z. B. Taxonomie und Phylogenie. Darüber hinaus ist eine korrekte Speziesidentifizierung Grundlage sowohl für populationsgenetische, ökologische oder epidemiologische Studien als auch für die Diagnose und Therapie von Krankheiten (ENNOS, 1998; GASSER, 2001). Nematoden sind eine morphologisch sehr merkmalsarme Gruppe mit ähnlichen Lebensweisen. Eine klassische Speziesidentifizierung anhand morphologischer Merkmale, ökologischer Faktoren, Wirtsspezifität oder Übertragungsweg ist bei Nematoden in vielen Fällen nicht ausreichend. Immunologische, biochemische oder genetische Merkmale sind deshalb eine wichtige Ergänzung zur Charakterisierung einzelner Nematodenarten (ANDREWS & CHILTON, 1999).

Zur Definition von Arten gibt es kein allgemeingültiges Konzept. So ist Notwendigkeit und Herangehensweise bei der Beschreibung einer Art abhängig von der zu lösenden Fragestellung und kann sich deshalb z. B. in den Bereichen grundlegender evolutionsbiologischer Fragestellungen oder angewandter biomedizinischer Forschung unterscheiden (TIBAYRENC, 2006). Deshalb wurde eine Vielzahl unterschiedlicher Artkonzepte entwickelt (AVISE & WOLLENBERG, 1997; AYALA & FITCH, 1997).

HEY (2006) beschreibt 24 verschiedene Konzepte zur Definition einer Art. Zur Speziesidentifizierung von Parasiten werden nach TIBAYRENC (2006) hauptsächlich folgende vier Artkonzepte herangezogen:

- **das Biologische Artkonzept**

definiert eine Art als eine Gemeinschaft sich unter natürlichen Bedingungen miteinander fortpflanzender Lebewesen (MALLET, 1995),

- **das Phenetische Artkonzept**

definiert eine Art als Gruppe von Organismen, die eine große Anzahl gemeinsamer Merkmale besitzt,

- **das Phänotypische Artkonzept**

definiert eine Art als Organismen mit gleichen phänotypischen Merkmalen,

- **das Phylogenetische Artkonzept**

definiert eine Art als monophyletische Abstammungsgemeinschaft. In der Kladistik wird eine monophyletische Gruppe durch gemeinsame abgeleitete Merkmale, sogenannte Synapomorphien, definiert. Beim kladistischen Artkonzept können sowohl morphologische als auch biochemische oder genetische Merkmale verglichen werden.

Die klassische Herangehensweise zur Beschreibung einer Parasitenspezies besteht in der Analyse des Lebenszyklus inklusive Wirtsspezifität und vor allem einer Beschreibung morphologischer Merkmale. Zur Abgrenzung einer Parasitenart wurde also vor allem das biologische, phenetische und phänotypische Artkonzept herangezogen (CHABAUD & BAIN, 1994). Seitdem die Analyse molekularer Marker die Rekonstruktion genetischer Stammbäume ermöglicht, ist das phylogenetische Artkonzept als wichtiger Bestandteil zur Definition einer Parasitenart hinzugekommen (MCDONNELL et al., 2000).

In der vorliegenden Studie sollen phylogenetische Analysen auf der Grundlage molekularer Marker zur Charakterisierung bisher nur morphologisch beschriebener Nematodenarten durchgeführt werden.

1.4 Molekulare Marker

Die Methode, phylogenetische Beziehungen zwischen Organismen mit Hilfe von Sequenzunterschieden orthologer Gene zu ermitteln, wurde erstmals in größerem Maßstab von WOESE et al. (1977) angewandt. Dabei sind langsam evolvierende Gene geeignet zur Aufklärung weit entfernter Verwandtschaften (WOESE, 2000), während sich schnell evolvierende Gene zur Unterscheidung eng verwandter Arten eignen. Meist evolviere kodierende Genregionen langsamer als nichtkodierende, da schon Punktmutationen zu einem Funktionsverlust führen können, der für das Überleben des Organismus essentiell sein kann (GASSER, 2001). Da die Evolutionsrate der Gene in verschiedenen Arten unterschiedlich sein kann, muss die Phylogenie eines Gens nicht zwangsläufig die Phylogenie der entsprechenden Arten widerspiegeln. Deshalb sollten bei phylogenetischen Fragestellungen stets mehrere voneinander unabhängige Genloci analysiert werden (DORRIS & BLAXTER, 1999).

Verschiedene Gene wurde seitdem als molekulare Marker zur Untersuchung evolutionärer Beziehungen herangezogen. Molekulare Marker werden nicht nur für phylogenetische Analysen, sondern auch zur Charakterisierung neuer Arten eingesetzt. Die Sequenzierung standardisierter Genregionen ermöglicht eine schnelle Artidentifizierung, auch wenn morphologische Analysen nicht möglich sind, z.B bei Larven oder Eiern (GASSER, 2001). Für die Unterscheidung nahe verwandter Arten aufgrund von Sequenzunterschieden gibt es keine allgemein gültigen Werte, da die Bereiche inter- und intraspezifischer Sequenzunterschiede nicht nur von der Funktion und der Länge des sequenzierten Genabschnittes abhängt, sondern auch von jeweils untersuchten Organismus. Die Evolutionsrate molekularer Marker kann in den verschiedenen Spezies unterschiedlich sein. HEBERT et al. (2004) postulierten zum Beispiel eine ca. zehnfache Differenz zwischen inter- und intraspezifischen Nukleotidunterschieden der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase als geeignet zur Abgrenzung von Arten.

1.4.1 Mitochondriale DNA

Da mitochondriale DNA bei Säugetieren und Vögeln schneller evolviert als nukleäre DNA (BROWN et al., 1979), gehören mitochondriale Gene zu den am häufigsten verwendeten molekularen Markern. Die mitochondriale DNA ist im Gegensatz zu nukleären Genen haploid und wird maternal vererbt. Das mitochondriale Genom evolviert schneller und unabhängig von nukleärer DNA (GASSER, 2001). Durch die daraus resultierende höhere Variabilität ist mitochondriale DNA gut geeignet, mikroheterogene Strukturen aufzuzeigen, z. B. bei populationsgenetischen Studien.

Die mitochondriale DNA der Nematoden ist ca. 14-20 kb groß (BLAXTER, 2003). Im Gegensatz zur mitochondrialen DNA anderer Taxa weist sie eine geringere Transitions- und Transversionrate und einen extrem hohen A+T Gehalt von bis zu 80% auf (THOMAS & WILSON, 1991). Sie ist hochvariabel und wird deshalb für die Identifizierung eng verwandter Arten und kryptischer Spezies sowie für populationsgenetische Studien verwendet (BLOUIN et al., 1998). Bis jetzt gibt es aber nur wenige Studien, in denen mitochondriale DNA von Nematoden analysiert wurde. Weniger als 2% aller in die NCBI Genbank eingetragenen mitochondrialen Gensequenzen stammen von Nematoden. Die komplette Sequenz mitochondrialer DNA ist bis jetzt nur von zwölf Nematodenarten bekannt (HU & GASSER, 2006).

1.4.2 Ribosomale DNA

Die bei Nematoden am häufigsten als molekulare Marker verwendete Genregion ist die ribosomale DNA. Sie ist Teil einer Multigenfamilie und liegt im Genom in langen Reihen tandemartiger Wiederholungen vor (ANDERSON et al., 1998). Bei *Caenorhabditis elegans* existieren zum Beispiel bis zu 55 Kopien pro Zelle (DORRIS & BLAXTER, 1999). Durch den Mechanismus der konzertierten Evolution, d.h. einer gemeinsamen Evolution paraloger Gene, kommt es zur Homogenisierung der einzelnen rDNA Varianten eines Individuums, die innerhalb der ITS-2 Genregionen jedoch nicht immer vollständig ist (MES & CORNELISSEN, 2004). Der Effekt der konzertierten Evolution kommt durch Mechanismen des DNA turnover, z.B. Transpositionen oder crossing over zustande (GASSER & NEWTON, 2000)

Das ribosomale Operon wird in mehrere Abschnitte unterteilt. Die drei stark konservierten Abschnitte large subunit (LSU), small subunit (SSU oder 18S) und 5.8S, die für die Untereinheiten der Ribosomen kodieren, sind durch die nichtkodierenden, hochvariablen spacer Regionen internal transcribed spacer 1 und 2 (ITS-1, ITS-2) getrennt. Die Cistrone sind jeweils durch eine in Länge und Nukleotidzusammensetzung hochvariable externe Region (external nontranscribed spacer NTS) abgetrennt (DORRIS & BLAXTER, 1999).

Der ca. 1700 bp lange SSU Abschnitt enthält stark konservierte Domänen und kann daher für die Analyse weit entfernter Taxa verwendet werden. Auch der relativ stark konservierte 5.8 Abschnitt kann für Stammbaumrekonstruktionen verwendet werden (CHILTON et al., 1997b; LIU et al., 1996), allerdings enthält er mit nur ca. 150 bp wenig phylogenetische Informationen (DORRIS & BLAXTER, 1999).

Die nichtcodierenden spacer Regionen ITS-1 und ITS-2 sind hingegen hochvariabel und damit gut geeignet für die phylogenetische Analyse eng verwandter Arten. (OTRANTO et al., 2001; BLOUIN, 2002). Die Abbildung 2 zeigt die schematische Struktur des rDNA Operons.

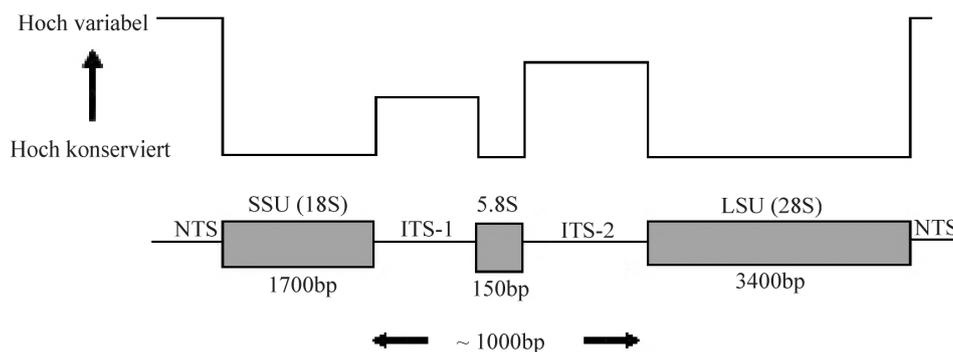


Abbildung 2: Struktur des rDNA Operons nach DORRIS & BLAXTER (1999). Das ribosomale Operon besteht aus der externen, nichtkodierenden spacer Region nontranscribed spacer (NTS), der für die Untereinheiten der Ribosomen kodierenden Abschnitte large subunit (LSU), small subunit (SSU, 18S) und 5.8S, sowie den nichtkodierenden Abschnitten internal transcribed spacer 1 und 2 (ITS-1, ITS-2). Die unterschiedliche Sequenzvariabilität der einzelnen Abschnitte ist schematisch dargestellt.

1.5 Kryptische Spezies

Der Einsatz molekularer Marker zur Charakterisierung von Parasiten führte zur Beschreibung einer großen Anzahl kryptischer Spezies, d. h. morphologisch identischer Arten, die sich aber genetisch unterscheiden (BENSCH et al. 2004).

Das Auftreten einer Vielzahl genetischer Variationen innerhalb der morphologisch merkmalsarmen Nematoden kann durch konvergente Evolution erklärt werden. Konvergente Evolution bedeutet, dass die Anpassung an ähnliche Umweltbedingungen der überwiegend parasitär lebenden Nematoden zu einer einheitlichen Grundanatomie auch bei miteinander nicht nahe verwandten Arten führte. Die genetische Diversität blieb jedoch erhalten.

Die große Anzahl bisher beschriebener kryptischer Arten führte zu der Annahme, dass kryptische Arten innerhalb der Nematoden ubiquitär zu sein scheinen (CHILTON et al., 1995). Dies bedeutet, dass die tatsächliche Anzahl an Nematodenarten weit unterschätzt wurde, da in die Schätzung der Gesamtzahl bisher nur morphologisch unterscheidbare Individuen einbezogen wurden (ANDERSON et al., 1998).

1.6 Cospeziation

Die Evolution obligater Parasiten ist eng mit der Evolution ihrer Wirte verbunden (KLASSEN, 1992). Erfolgt die Artbildung eines Parasiten analog zur Speziation des Wirtes, so wird dieser Vorgang als Cospeziation bezeichnet (BANKS et al., 2006) (Abb. 3a). Das Ziel cophylogenetischer Studien ist die Aufklärung der evolutionären Ereignisse, die zum heutigen Verteilungsmuster der jeweiligen Parasitenspezies in ihren Wirten geführt haben.

Bestehende Assoziationen von Wirt und Parasit können durch zwei Hypothesen erklärt werden (PATERSON & BANKS, 2001). Entweder werden Parasiten vertikal übertragen, d.h. von den Vorfahren übernommen, oder neue Wirte werden durch „host switch“ besiedelt (HOBERG, 1998). „Host switch“ bedeutet, dass Parasiten durch zufällige Ereignisse von einer Wirtsart auf eine neue überwechseln können. Dabei muss die neue Wirtsart nicht zwangsläufig eng mit der neuen verwandt sein. Bei Vögeln kann ein „host switch“ durch gemeinsame Beutetiere, durch gemeinsame Brut- oder Mauserplätze erfolgen (BANKS et al., 2006), so dass eine enge Verwandtschaft der Wirtsarten nicht immer Voraussetzung für „host switch“ ist.

Bleibt die Gründerkolonie anschließend von der ursprünglichen Population isoliert, erfolgt eine Speziation der Parasiten. Die erste Hypothese wird als „association by descent“, die zweite als „association by colonization“ bezeichnet (BANKS et al., 2006).

Bei ausschließlich vertikaler Übertragung der Parasiten gilt die Hypothese von Fahrenholz (HOBERG et al., 1998). Diese postuliert, dass aufgrund der engen Verbindung von Wirt und Parasit beide synchron speziieren. Dies führt zu identischen Stammbäumen beider beteiligten Taxa (HAFNER & NADLER, 1988), die Phylogenie der Parasiten spiegelt die der Wirte wieder.

Viele Studien haben jedoch gezeigt, dass die Stammbäume von Wirt und Parasit nur teilweise kongruent sind (JOHNSON et al., 2003). Inkongruenzen lassen sich auf verschiedene coevolutionäre Ereignisse zurückführen (FAVRET & VOEGTLIN, 2004). Bei „failure to speciate“ erfolgt die Speziation des Wirtes ohne Speziation des Parasiten (Abb. 3b). Der Genfluss zwischen den Parasitenpopulationen bleibt bei diesem Mechanismus erhalten. „duplication“ bedeutet Speziation der Parasiten ohne Wirtswechsel und ohne Speziation des Wirtes (Abb. 3c). Als „sorting“ oder „extinction“ wird ein coevo-

lutionäres Ereignis bezeichnet, bei dem die Parasitenspezies eines Wirtes verloren geht (Abb.3d). Wird während des Speziationsprozesses des Wirtes die ursprüngliche Parasitenpopulation nur auf eine neue Wirtsart übertragen, so wird dieser Vorgang „missing the boat“ genannt (Abb. 3e). Beim „host switch“ wechseln Parasiten entweder teilweise oder vollständig auf einen neuen Wirt, dabei kann auch Speziation der Parasiten erfolgen (Abb. 3f, g, h, i). Die verschiedenen cophylogenetischen Mechanismen sind in Abbildung 3 dargestellt.

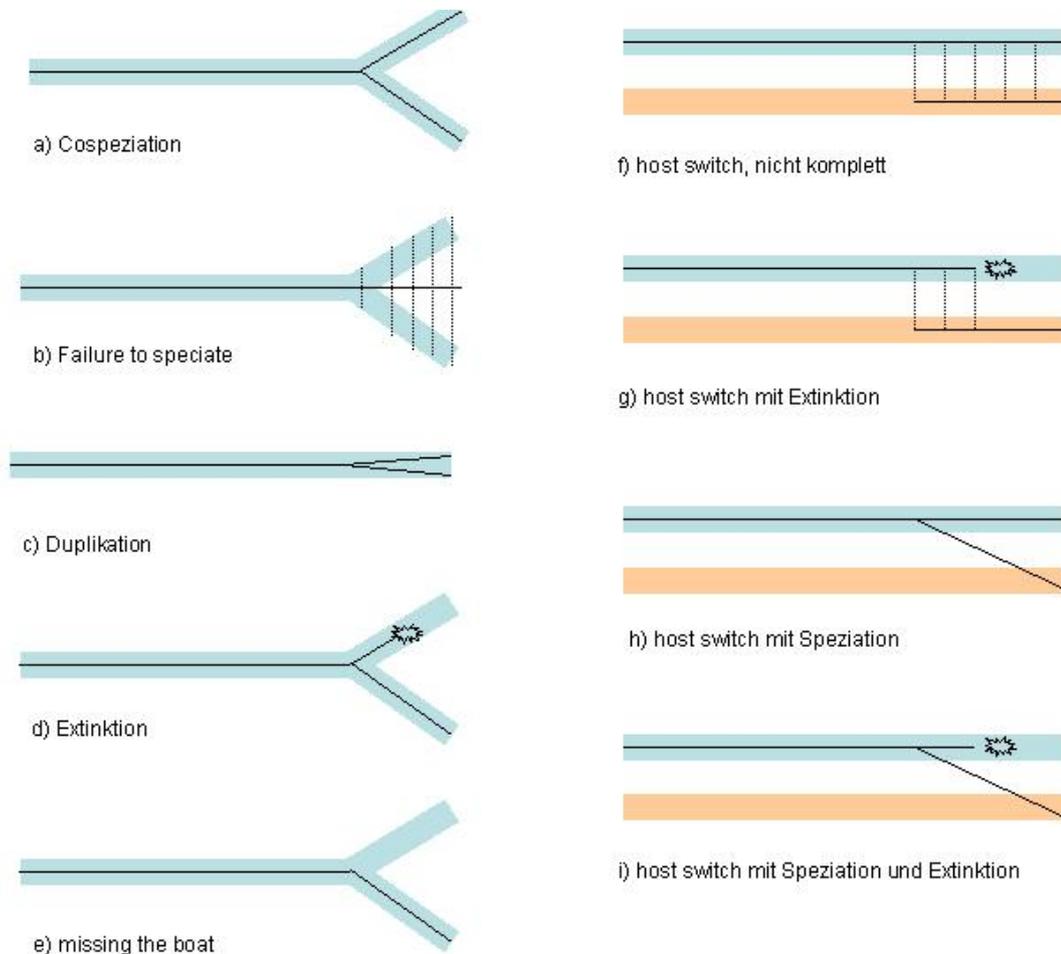


Abbildung 3: Mechanismen der Cospeziation nach JOHNSON et al. (2003). Schwarze Linie = Parasit; Balken = Wirt; Gestrichelte Linie = Genfluss zwischen Parasitenpopulationen; Stern = Extinktion der Parasitenpopulation

Kongruente Stammbäume zwischen Wirt und Parasit müssen jedoch nicht immer auf Cospeziation zurückzuführen sein, sondern können auch durch verschiedene, sich überlagernde cophylogenetische Mechanismen entstehen. So kann z. B. falsche Kongruenz durch eine Serie von „host switches“ vorgetäuscht werden (BANKS & PATERSON, 2005).

HAFNER & NADLER (1988) nennen als Beispiel für kongruente Phylogenien Taschenratten (Familie Geomyidae) und ihre Haarlinge (Familie Trichodectidae). Die solitäre Lebensweise der Wirte, die geringe Mobilität und die ohne ihre Wirte nur kurze Überlebensdauer der obligaten Parasiten, die keine Zwischenwirte besitzen, verringern die Möglichkeiten zum host switch und ermöglichen so Cospeziation. Sowohl die Analyse von Proteinelektrophoresedaten (HAFNER & NADLER, 1988) als auch die phylogentische

Analyse der mitochondrialen COI Genregionen (HAFNER et al., 1994) ergaben sich spiegelnde Phylogenien von Taschenratten und ihren hoch wirtsspezifischen Haarlingen. HAFNER et al. (1994) konnten jedoch zeigen, dass die Nukleotidsubstitutionsrate der mitochondrialen COI Gene bei den Haarlingen ca. elfmal höher war als bei den Taschenratten.

Ökologische Faktoren spielen bei cophylogenetischen Mechanismen eine wichtige Rolle. Verhalten, Lebenszyklus, geographische Verteilung oder Dispersalverhalten der beteiligten Arten beeinflussen den Grad der Cospeziation (CLAYTON et al., 2004; HOBERG, 2005).

1.7 Phylogenie der Nematoden

1.7.1 Revision der klassischen Nematodenphylogenie durch Analyse ribosomaler 18S Sequenzen

Die traditionelle Systematik teilt den Stamm der Nematoden in zwei monophyletische Klassen ein, in die terrestrisch lebenden Secernentea und die überwiegend marin lebenden Adenophorea (MEHLHORN & PIEKARSKI, 2002). Die Secernentea werden in neun Ordnungen unterteilt, von denen fünf ausschließlich Tierparasiten enthalten (BLAXTER et al., 1998).

Diese klassische Systematik der Nematoden beruht hauptsächlich auf morphologischen Merkmalen und ökologischen Faktoren wie z. B. Lebenszyklus und Wirtsspezifität (WIJOVÁ et al., 2006). Der Mangel an Homologien in diesem speziesreichen, aber morphologisch sehr merkmalsarmen Tierstamm, ein hoher Anteil an Konvergenz und das Fehlen informativer Fossilien erschwerte bisher jedoch die Erstellung einer allgemein akzeptierten Systematik (DORRIS & BLAXTER, 1999). Die Analyse molekularer Marker soll deshalb dazu beitragen, die Systematik der Nematoden neu zu überarbeiten. Mit phylogenetischen Analysen, die auf Sequenzunterschieden orthologer Gene beruhen, kann das Problem der Homoplasië umgangen werden und statistische Methoden werden damit anwendbar (DORRIS & BLAXTER, 1999).

BLAXTER et al. (1998) analysierten 53 18S Sequenzen parasitärer und freilebender Nematodenarten und erstellten mit diesen Daten erstmals einen Überblick über die Systematik der Nematoden auf genetischer Basis. In dieser phylogenetischen Analyse ist die Klasse der Adenophorea im Gegensatz zur klassischen Systematik paraphyletisch. Sie wird in zwei Hauptgruppierungen unterteilt und clustert mit der Vorläufergruppe der Secernentea zusammen. Auch die klassische Einteilung der Secernentea in neun Ordnungen wird in der Analyse der ribosomalen 18S Sequenzen nicht unterstützt. BLAXTER et al. (1998) postulieren aufgrund ihrer phylogenetischen Analyse, dass sich innerhalb der Nematoden die Lebensweise des Parasitismus mehrmals unabhängig voneinander entwickelt hat, wobei mindestens vier unabhängige Ursprünge der Wirbeltierparasiten identifiziert werden konnten.

Aktuell sind ca. 250 weitere 18S Sequenzen verschiedener Nematodentaxa in die Analyse mit hinzugekommen, die grundlegende Topologie des phylogenetischen Baums blieb jedoch unverändert (MELDAL et al., 2007). Hauptsächlich wurden Nematodenspezies analysiert, die als Krankheitserreger bei Menschen, Tieren oder Pflanzen eine große Rolle spielen, so dass einige artenreiche Nematodenordnungen wie z. B. die Spiruromorpha oder Oxyuridomorpha noch immer unterrepräsentiert sind (LUKES et al., 2005; WIJOVÁ et al., 2006).

Die 18S Analyse postuliert eine Einteilung der Nematoden in drei Hauptgruppen:

1. **Dorylaimia** (Clade I)
2. **Enoplia** (Clade II)
3. **Chromadoria** (Clade III-V), entstand aus einer Fusion der ehemaligen Gruppen Secernentea und Chromadorida

Deren phylogenetische Beziehungen untereinander konnten jedoch durch die 18S Analyse nicht weiter aufgelöst werden. Alle drei Gruppen sind heterogen und enthalten marine, terrestrische und parasitische Arten. Die revidierte Systematik der Nematoden nach BLAXTER (2003) ist in der Abbildung 4 dargestellt.

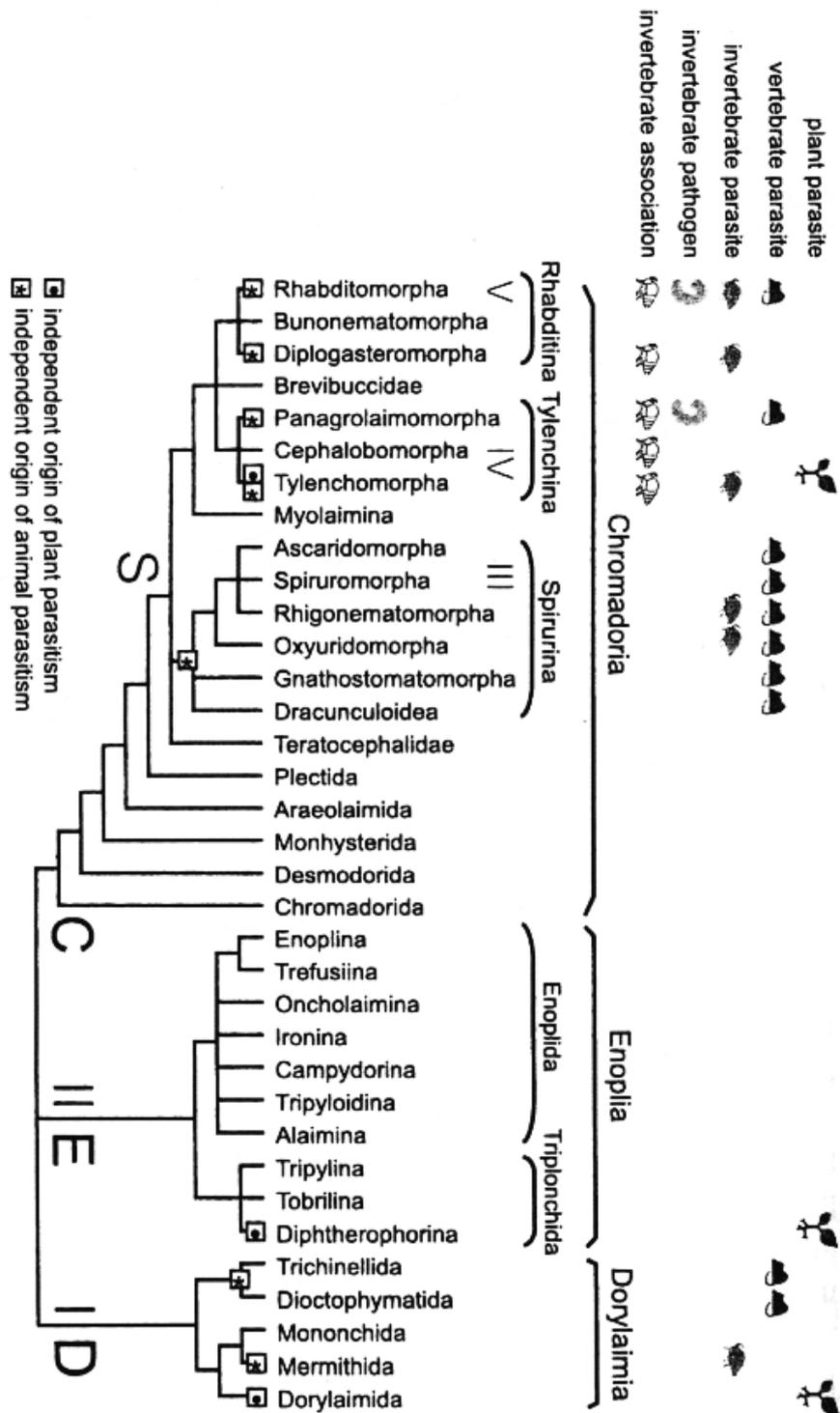


Abbildung 4: Systematik der Nematoden nach BLAXTER (2003). Die Analyse der 18S Sequenzen ergibt eine Einteilung der Nematoden in drei Hauptgruppen: **D** (I) = Dorylaimia, **E** (II) = Enoplia und **C** = Chromadorida (Secernentea und Chromadorida); **S** = Secernentea, I bis V = Einteilung der Nematoden in fünf Gruppen nach BLAXTER et al., 1998, III = Spirurina, IV = Tylenchina, V = Rhabditina

1.7.2 18S Phylogenie der Greifvogelnematoden

Die Revision der Nematodenphylogenie anhand der Analyse der 18S Sequenzen brachte auch eine Umklassifizierung der greifvogelspezifischen Nematoden mit sich.

- **Ordnung Spirurida**

Ein Großteil der in Greifvögeln parasitierenden Nematoden gehört zur Ordnung der Spirurida, die in der traditionellen Systematik zur Klasse der Secernentea gehört und sich in die Unterordnungen Camallanina und Spirurina aufspaltet. Nach Analyse der ribosomalen 18S Sequenzen (BLAXTER et al., 1998) wird die Ordnung Spirurida nun als Infraordnung neu klassifiziert und in die neu definierte Unterordnung Spirurina eingeordnet, die zur großen Gruppierung der Chromadoria gehört.

- **Ordnung Ascaridida**

Die Ordnung Ascaridida, zu der die Greifvogelspulwürmer *Porrocaecum* sp. und *Contracecum* sp. gehören, erwies sich in der genetischen Analyse als eng verwandt mit den traditionellen Ordnungen Oxyurida, Rhigonematida und Spirurida. Wegen der engen genetischen Verwandtschaft wurden nun die ehemaligen Ordnungen neu klassifiziert als Infraordnungen Ascaridomorpha, Gnathostomatomorpha, Oxyuridomorpha, und Rhigonematomorpha, die nun in der Unterordnung Spirurina zusammengefasst wurden.

- **Ordnung Strongylida**

Die Greifvogelparasiten *Hovorkonema variegatum* und *Syngamus trachea* gehören zur Familie Syngamidae, die bisher in die klassische Ordnung Strongylida eingeordnet wurde. Nach Analyse der 18S Sequenzen wird die bisherige Ordnung Strongylida nun zusammen mit den Rhabditida in der Infraordnung Rhabditomorpha zusammengefasst, die der Unterordnung Rhabditina innerhalb der Gruppe der Chromadoria zugeordnet wird.

- **Ordnung Enoplida**

Die greifvogelparasitierenden Fadenwürmer *Eucoleus dispar* und *Capillaria tenuissima*, die nach alter Systematik der Ordnung der Enoplida zugeordnet wurden, gehören nach BLAXTER (2003) in die Ordnung Trichinellida, die der neuen Übergruppe Dorylaima angehört.

In der folgenden Arbeit wird die neue Einteilung der Nematodensystematik nach BLAXTER (2003) verwendet.

1.8 Zielstellung dieser Arbeit

Eine Vielzahl an Studien über unterschiedliche Nematodengruppen haben gezeigt, dass die Morphologie der merkmalsarmen Nematoden zur Klärung systematischer Fragestellungen allein nicht ausreicht, sondern eine Ergänzung mit genetischen oder biochemischen Untersuchungen sinnvoll ist (HUNG et al., 1997; DORRIS & BLAXTER, 2000; CHILTON & GASSER, 1999; EPE et al., 1996, NEWTON et al., 1998; SUBBOTIN et al., 2001). Genetische Untersuchungen führten nicht nur zu einer Revision großer Teile der Nematodenphylogenie (BLAXTER, 2003), sondern brachten auch die Erkenntnis, dass die genetische Vielfalt der Nematoden wesentlich größer ist als ihre morphologische Diversität (CHILTON et al., 1995; GASSER & NEWTON, 2000; LEIGNEL et al., 2002; LI et al., 2005). Die Abgrenzung von Arten allein aufgrund von Sequenzunterschieden ist jedoch nicht sinnvoll, da die Evolution genetischer Marker nicht zwangsläufig der Evolution eines Individuums entspricht (NEI & KUMAR, 2000). Die Kombination genetischer mit morphologischer, biochemischer o.ä. Methoden ist deshalb nötig zur Klärung systematischer Fragestellungen.

Die systematische Einordnung greifvogelspezifischer Nematoden beruht aktuell ausschließlich auf morphologischen und ökologischen Merkmalen. Morphologie und Lebensweise im Endwirt sind zwar gut beschrieben, Lebenszyklus und Zwischenwirte aber meist nur fragmentarisch bekannt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist deshalb, auf Grundlage genetischer Marker eine Phylogenie der greifvogelparasitierenden Nematoden zu erstellen, um ihre bisherige systematische Stellung zu überprüfen. Dabei soll nicht nur ihre Stellung innerhalb der Gesamtsystematik der Nematoden geklärt werden, sondern es werden auch innerartliche Unterschiede in Abhängigkeit von verschiedenen Wirten und der regionalen Herkunft der Wirte untersucht. Darüber hinaus werden die Phylogenien von Greifvögeln und Nematoden verglichen und auf Cospeziationsereignisse geprüft.

Außerdem soll auf Grundlage genetischer Marker eine möglichst schnelle, effiziente Methode zur Artdiagnose greifvogelparasitierender Nematoden entwickelt werden.

Folgende zentrale Fragen werden in dieser Studie beantwortet:

1. Stimmt die mit molekularen Markern konstruierte Phylogenie greifvogelparasitierender Nematoden mit der klassischen morphologischen Phylogenie überein?
2. Hat Cospeziation zwischen Greifvögeln und Nematoden stattgefunden?
3. Bieten molekulare Marker eine Möglichkeit zur schnellen, zuverlässigen Artdiagnose?

2 Material und Methoden

2.1 Tiermaterial

Untersucht wurden einheimische Greifvögel, die dem Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung in Berlin von Naturschutzstationen aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands zur Sektion überlassen wurden. Die Vögel wurden entweder tot aufgefunden oder aufgrund schwerwiegender Verletzungen oder Krankheiten in den Naturschutzstationen euthanasiert. Keiner der Greifvögel wurde vor der Untersuchung mit einem Anthelminthikum behandelt. Bis zur Sektion wurden die Tierkörper bei -20°C aufbewahrt.

Insgesamt wurden 153 Greifvögel aus 15 Arten untersucht. Die Tabelle 3 gibt einen Überblick über Art und Anzahl der seziierten Vögel.

Tabelle 3: Art und Anzahl der seziierten Greifvögel

Art	Anzahl	Abkürzung
Seeadler (<i>Haliaeetus albicilla</i>)	28	HAAL
Sperber (<i>Accipiter nisus</i>)	18	ACNI
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	15	BUBT
Turmfalke (<i>Falco tinnunculus</i>)	15	FATI
Wanderfalke (<i>Falco peregrinus</i>)	15	FAPE
Habicht (<i>Accipiter gentilis</i>)	13	ACGE
Rotmilan (<i>Milvus milvus</i>)	12	MIML
Fischadler (<i>Pandion haliaetus</i>)	8	PAHA
Baumfalke (<i>Falco subbuteo</i>)	7	FASU
Rohrweihe (<i>Circus aeruginosus</i>)	7	CIAE
Schwarzmilan (<i>Milvus migrans</i>)	5	MIMG
Wespenbussard (<i>Pernis apivorus</i>)	4	PEAP
Wiesenweihe (<i>Circus pygargus</i>)	3	CIPY
Merlin (<i>Falco columbarius</i>)	2	FACO
Rauhfußbussard (<i>Buteo lagopus</i>)	1	BULA

2.2 Sektion der Greifvögel

2.2.1 Äußere Begutachtung

Zu jedem Tierkörper wurden vor der Sektion Daten zur Herkunft des Tieres, gegebenenfalls bekanntem Krankheitsverlauf oder erfolgter Behandlung erhoben. Vor der Sektion wurde der äußere Zustand des Tierkörpers untersucht und die äußeren Körperöffnungen kontrolliert.

2.2.2 Sektion

Der Tierkörper wurde durch einen medianen Hautschnitt entlang des Sternums eröffnet und die Haut seitlich abgezogen. Die Brustmuskulatur wurde abgetrennt und das Sternum nach Exartikulation entfernt. Aus der nun eröffneten Körperhöhle wurden die Organe exentriert.

2.2.3 Parasitologische Untersuchung

Trachea, Ösophagus und Magen-Darmtrakt bis zur Kloake wurden mit einem Längsschnitt eröffnet und anschließend wurde der Magen- und Kropfinhalt entfernt. Das Darmkonvolut wurde in Duodenum, Ileojejunum und Colon/Rektum getrennt. Zur weiteren Untersuchung wurde das nicht näher differenzierte Ileojejunum in drei Abschnitte unterteilt.

Mit Hilfe eines Binokulars (Zeiss, Stemi SV6, Vergrößerung 0,8x – 5x) wurden die eröffneten Organe, der Magen- und der Kropfinhalt durchgemustert. Nematoden wurden vorsichtig mit Uhrmacherpinzetten entfernt und in isotoner Kochsalzlösung gewaschen. Für die morphologische Analyse wurden die Nematoden in Ethanol/Glycerin-Lösung aufbewahrt und für die genetischen Untersuchungen in isotonischer Kochsalzlösung bei -20°C eingefroren.

2.3 Künstliche Verdauung der Brustmuskulatur nach dem Magnetührverfahren

Zusätzlich zu den parasitologischen Sektionen wurden insgesamt 562 Brustmuskelproben von Greifvögeln auf Nematodenlarven untersucht.

Für diese Untersuchung standen außer den 153 in dieser Studie seziierten Greifvögeln die Brustmuskulatur von 409 weiteren, am IZW seziierten Greifvögeln zur Verfügung. Neben einheimischen Greifvögeln wurden 12 Muskelproben von grönländischen, 24 von schwedischen und 11 Muskelproben von finnischen Seeadlern untersucht.

Dabei wurde jedem Greifvogel eine Probe von ca. 5.0 g Muskelfleisch aus der Brustmuskulatur entnommen und bei -20°C eingefroren. Die weitere Untersuchung wurde im Bundesinstitut für Risikobewertung in Berlin von Herrn Dr. Nöckler vorgenommen. Je zehn Muskelproben wurden gepoolt und nach der Methode der künstlichen Verdauung nach dem Magnetührverfahren mit Pepsin verdaut (WEBSTER et al., 2006). Der Verdau wurde abfiltriert und das verbleibende Sediment unter dem Lichtmikroskop (Zeiss Axioskop, Vergrößerung 50x – 200x) nach Nematoden durchgemustert. Die Nematodenlarven wurden aus dem Sediment isoliert, fotografiert (CCD Color Camera KP-D20AP, Hitachi, Software Easy Measure, Inteq) und bis zur genetischen Untersuchung bei einer Temperatur von -20°C eingefroren.

Eine Auflistung aller untersuchten Probenpools findet sich in Tabelle 33 im Anhang.

2.4 Morphologische Analyse

Größere Nematoden wurden zunächst einige Minuten zur Aufhellung und besseren Darstellung der Strukturen in Lactophenol inkubiert. Anschließend erfolgte die Bestimmung der adulten Nematoden nach morphologischen Merkmalen mit Hilfe eines Lichtmikroskopes (Zeiss Axioskop, Vergrößerung 25x – 1000x) mit dem Bestimmungsschlüssel nach ANDERSON et al. (1974-1983) und SKRJABIN (1953-1968), wobei Larven meist nur bis auf Gattungsebene bestimmt werden konnten.

2.5 DNA Isolierung

2.5.1 Greifvögel

Für die Konstruktion eines phylogenetischen Baumes der Greifvögel wurde aus Muskelproben folgender Greifvögel DNA extrahiert:

Tabelle 4: Greifvögel, aus denen DNA extrahiert wurde

Art	Sektionsnummer	Herkunft
Wanderfalke	BW 256/04	Baden-Württemberg
Baumfalke	NS 23	Niedersachsen
Merlin	NS 20	Niedersachsen
Turmfalke	NS 36	Niedersachsen
Habicht	Bra 328	Brandenburg
Sperber	NS 22	Niedersachsen
Rohrweihe	NS 16	Niedersachsen
Wiesenweihe	BW T 154/06	Baden-Württemberg
Mäusebussard	NS 25	Niedersachsen
Rauhfußbussard	Bra 349	Brandenburg
Seeadler	MV 137	Mecklenburg-Vorpommern
Schwarzmilan	BW T244/04	Baden-Württemberg
Rotmilan	NRW 12	Nordrhein-Westfalen
Wespenbussard	BW 459/03	Baden-Württemberg
Fischadler	MV 176	Mecklenburg-Vorpommern

Aus der Brustmuskulatur der Greifvögel wurde ein ca. 0,5 x 0,5 cm großes Stück Muskelfleisch herausgeschnitten und von Fett und Bindegewebe befreit. Das Muskelfleisch wurde zerkleinert, über Nacht mit Proteinase K inkubiert und die DNA mit dem DNeasy Tissue Kit (Qiagen, Hilden) extrahiert.

2.5.2 Nematoden

In Tabelle 5 sind alle Nematoden mit Probenbezeichnung, ihren Wirten und Herkunft des Wirtes aufgeführt, die für die genetische Analyse verwendet wurden. Insgesamt wurden molekulare Marker aus 51 Nematodenproben untersucht.

Tabelle 5: Übersicht über die Nematoden, die zur genetischen Untersuchung verwendet wurden, mit Probenbezeichnung, ihrem jeweiligen Wirt und Herkunft des Wirtes

Art	Probenbezeichnung	Wirt	Herkunft
<i>Cyrtus leptoptera</i>	CL1	Schwarzmilan	Sachsen-Anhalt
<i>Cyrtus mansioni</i>	CM1	Sperber	Berlin
<i>Cyrtus mansioni</i>	CM2	Rotmilan	Brandenburg
<i>Cyrtus mansioni</i>	CM3	Wanderfalke	Nordrhein-Westfalen
<i>Cyrtus mansioni</i>	CM4	Schwarzmilan	Baden-Württemberg
<i>Cyrtus mansioni</i>	CM5	Mäusebussard	Niedersachsen
<i>Cyrtus mansioni</i>	CM6	Mäusebussard	Niedersachsen
<i>Cyrtus mansioni</i>	CM7	Sperber	Niedersachsen
<i>Cyrtus mansioni</i>	CM8	Mäusebussard	Brandenburg
<i>Cyrtus seurati</i>	CS1	Baumfalke	Brandenburg
<i>Cyrtus seurati</i>	CS2	Baumfalke	Sachsen-Anhalt
<i>Cyrtus seurati</i>	CS3	Baumfalke	Baden-Württemberg
<i>Capillaria tenuissima</i>	CT2	Mäusebussard	Niedersachsen
<i>Eucolus dispar</i>	ED1	Seeadler	Mecklenburg-Vorpommern
<i>Eucolus dispar</i>	ED3	Seeadler	Mecklenburg-Vorpommern
<i>Eucolus dispar</i>	ED4	Merlin	Brandenburg
<i>Eucolus dispar</i>	ED5	Rauhfußbussard	Brandenburg
<i>Hovorkonema variegatum</i>	HV1	Seeadler	Mecklenburg-Vorpommern
<i>Hovorkonema variegatum</i>	HV2	Habicht	Brandenburg
<i>Microtetrameres cloacitectus</i>	MC1	Habicht	Brandenburg
<i>Physaloptera alata</i>	PA1	Sperber	Berlin
<i>Physaloptera alata</i>	PA2	Wanderfalke	Nordrhein-Westfalen
<i>Physaloptera apivori</i>	PP1	Wespenbussard	Baden-Württemberg
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO1	Sperber	Berlin
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO2	Rohrweihe	Niedersachsen
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO3	Rotmilan	Niedersachsen
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO4	Schwarzmilan	Sachsen-Anhalt
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO5	Rauhfußbussard	Brandenburg

<i>Porrocaecum</i> sp.	PO6	Fischadler	Mecklenburg-Vorpommern
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO7	Wanderfalke	Baden-Württemberg
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO8	Mäusebussard	Niedersachsen
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO9	Habicht	Baden-Württemberg
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO10	Baumfalke	Sachsen-Anhalt
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO11	Seeadler	Mecklenburg-Vorpommern
<i>Porrocaecum</i> sp.	PO12	Fischadler	Mecklenburg-Vorpommern
<i>Synhimantus hamatus</i>	SH1	Sperber	Baden-Württemberg
<i>Synhimantus laticeps</i>	SH2	Turmfalke	Berlin
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL1	Seeadler	Mecklenburg-Vorpommern
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL2	Habicht	Brandenburg
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL3	Baumfalke	Sachsen-Anhalt
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL4	Sperber	Niedersachsen
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL5	Wanderfalke	Brandenburg
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL6	Rauhfußbussard	Brandenburg
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL7	Sperber	Niedersachsen
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL8	Fischadler	Mecklenburg-Vorpommern
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL9	Turmfalke	Baden-Württemberg
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL10	Sperber	Niedersachsen
<i>Synhimantus laticeps</i>	SL11	Wiesenweihe	Baden-Württemberg
<i>Serratospiculum tendo</i>	ST1	Wanderfalke	Nordrhein-Westfalen
Spiruridenlarven	SP1	Habicht	Baden-Württemberg
unbekannter Spiruride	N?	Wespenbussard	Baden-Württemberg

Für die genetische Analyse wurde angestrebt, von jeder Nematodenart jeweils ein Individuum aus allen Wirten zu untersuchen, in denen dieser Nematode gefunden wurde. Dabei wurde jeweils ein einzelner, adulter Wurm verwendet, der morphologisch gut bestimmt werden konnte, mit folgenden Ausnahmen:

- Spiruridenlarven (Probennummer SP1): diese nur wenige mm großen Larven wurden eingekapselt an der Wand des Muskelmagens eines Habichts gefunden, eine Bestimmung anhand morphologischer Kriterien war nicht möglich.
- zwei adulte Nematodenweibchen (Probennummer N?) aus dem Muskelmagen eines Wespenbussards die morphologisch zur Infraordnung Spiruromorpha zugeordnet wurden, aber nicht bis auf Artebene bestimmt werden konnten.
- die Nematodenlarven aus den Probenpools der Brustmuskulatur. Da die Larven morphologisch nicht zu differenzieren waren, wurde jeweils die gesamte DNA aus allen Larven eines Probenpools isoliert. Die Larven, die zur genetischen Analyse verwendet wurden, sind in Tabelle 33 gekennzeichnet.

Bei adulten Nematoden wurde je ein einzelnes Individuum zur DNA Extraktion verwendet, bei größeren Würmern nur ein Teilstück. Die gefrorenen Nematoden wurden mit einem Glasstab oder einer Pipettenspitze zerkleinert und über Nacht bei 55°C in Pufferlösung mit Proteinase K inkubiert. Anschließend wurde die DNA mit dem DNeasy Tissue Kit der Firma Qiagen (Hilden) nach Anweisung des Herstellers isoliert.

Die genetische Analyse der Nematodenlarven erfolgte bei denjenigen Probenpools, die Muskulatur aus nur einer Greifvogelart enthielten.

2.6 PCR

2.6.1 Primer

2.6.1.1 Primer zur Amplifikation des partiellen mt COI Gens der Greifvögel

Für die molekulare Analyse der Greifvögel wurde ein Teilstück der Untereinheit I der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase amplifiziert. Die Primersequenzen nach HEBERT et al. (2004) sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6: Primersequenzen zur Amplifikation eines Teilstücks der Untereinheit I der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase der Greifvögel nach HEBERT et al. (2004)

Primer	Primersequenz
BirdF1	5'TTCTCC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC 3'
BirdR1	5'ACG TGG GAG ATA ATT CCA AAT CCT G 3'
BirdR2	5'ACT ACA TGT GAG ATG ATT CCG AAT CCA G 3'
BirdR3	5'AGG AGT TTG CTA GTA CGA TGC C 3'

2.6.1.2 Primer zur Amplifikation der molekularen Marker der Nematoden

Aus der DNA der Nematoden wurden drei verschiedene molekulare Marker amplifiziert:

- die ribosomale 18S Untereinheit (18S)
- die ribosomale internal transcribed spacer 2 Region (ITS-2)
- ein Teilstück der Untereinheit I der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase (COI)

Die mit ca. 1700 bp sehr lange ribosomale 18S Untereinheit wurde mit Hilfe interner Primer in drei bis vier Teilstücken amplifiziert.

Die jeweilige Position der Primer, ihre Sequenzen und jeweilige Herkunft sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7: Primer zur Amplifikation der molekularen Marker der Nematoden mit ihrer jeweiligen Position, Sequenz und Herkunft. Blaxter lab: online Adresse siehe Anhang

Primer	Amplifizierte Gensequenz	Position	Primersequenz	Referenz
2b	ITS-2	3' Terminus von 5.8S	5' TCG ATG AAG AAC GCA GCT 3'	Blaxter lab, modifiziert
2rD3	ITS-2	5' Terminus von 28S	5' GAT ATG CTT AAG TTC AGC GGG 3'	FRIEDRICH, 2004
UNI5'	18S	5' Terminus	5' GCT TGT CTC AAA GAT TAA GCC 3'	Blaxter lab
R9	18S	ca. 580-560	5' AGC TGG AAT TAC CGC GGC TG 3'	Blaxter lab
R26	18S	ca. 920-900	5' CAT TCT TGG CAA ATG CTT TCG 3'	Blaxter lab
F11	18S	ca. 530-550	5' AAG TCT GGT GCC AGC AGC CGC 3'	Blaxter lab
R23	18S	ca. 1290-1280	5' TCT CGC TCG TTA TCG GAA T 3'	Blaxter lab
F24	18S	860-890	5' AGR GGT GAA ATY CGT GGA C 3'	Blaxter lab
R13	18S	1440-1410	5' GGG CAT CAC AGA CCT GTT A 3'	Blaxter lab
F23	18S	1280-1300	5' ATT CCG ATA ACG AGC GAG A 3'	Blaxter lab
UNI3'	18S	3' Terminus	5' TGA TCC TTC TGC AGG TTC AC 3'	Blaxter lab
COX1F	COI		5' TGA TCC TTC TGC AGG TTC AC 3'	VAN DER VEER, 2001
COX1R	COI		5' TTA CGA TCA GTT AAC AAC ATA GTA ATAGCC C 3'	VAN DER VEER, 2001

2.6.2 Durchführung der PCR

Die PCR wurde als 50 µl Ansatz mit 1,0 µl DNA als Template im Thermocycler Mastercycler® ep gradient S (Eppendorf, Hamburg) durchgeführt. Bei jeder PCR wurde eine Negativkontrolle ohne Template mit angesetzt. Zusätzlich wurde bei den PCRs der Nematodenproben eine Kontrollprobe mit DNA des Wirtes mitamplifiziert. Das Reaktionsgemisch für alle PCRs wurde nach den Angaben in Tabelle 8 angesetzt.

Tabelle 8: PCR-Ansatz für die Amplifikation der molekularen Marker

Reagenz	Arbeitskonzentration	Endkonzentration
Puffer	10x	1x
MgCl ₂	50 mM	1,5 mM
dNTP-Mix	10 mM	200 µM
Primer 1	10 pm/µl	0,2 pm/µl
Primer 2	10 pm/µl	0,2 pm/µl
DNA-Polymerase	5 Units/µl	0,02 Units/µl

Die PCR für die ribosomalen ITS-2 und 18S Genabschnitte der Nematoden erfolgte nach dem Programm in Tabelle 9 in je 30 Zyklen.

Tabelle 9: PCR Programm für die Amplifikation der ribosomalen ITS-2 und 18S Genabschnitte der Nematoden

Schritt	Temperatur	Zeit
Initiale Denaturierung	96 °C	120 sec
Denaturierung	96 °C	45 sec
Annealing	50 °C	60 sec
Elongation	72 °C	60 sec
Finale Extension	72 °C	120 sec
Kühlung 4°C		

Die Amplifikation des partiellen mt COI Gens von Nematoden (VAN DER VEER, 2001) und Greifvögeln (HEBERT et al., 2004) wurde nach den Programmen in Tabelle 10 und Tabelle 11 durchgeführt.

Tabelle 10: PCR Programm für die Amplifikation des partiellen COI Gens der Nematoden

Schritt	Temperatur	Zeit
Initiale Denaturierung	96 °C	120 sec
Denaturierung	96 °C	45 sec
Annealing	52 °C	60 sec
Elongation	72 °C	60 sec
Finale Extension	72 °C	120 sec
Kühlung 4°C		

Tabelle 11: PCR Programm für die Amplifikation des partiellen COI Gens der Greifvögel

Schritt	Temperatur	Zeit
Initiale Denaturierung	96 °C	120 sec
Denaturierung	96 °C	45 sec
Annealing	45 °C	60 sec
Elongation	72 °C	60 sec
Denaturierung	96 °C	45 sec
Annealing	51 °C	60 sec
Elongation	72 °C	60 sec
Finale Extension	72 °C	120 sec
Kühlung 4°C		

Die PCR zur Amplifikation des partiellen COI Gens der Nematoden erfolgte in 40 Zyklen. Die PCR der Greifvögel erfolgte in 5 Zyklen bei einer Annealingtemperatur von 45°C, daran anschließend in 30 Zyklen bei einer Annealingtemperatur von 51°C.

2.6.3 Gelelektrophorese

Jeweils 5,0 µl der PCR Produkte wurden mit 1,0 µl 6x Ladepuffer vermischt und auf ein 1,5% Agarosegel aufgetragen, das zur Visualisierung der PCR Produkte 0,1 µg/ml Ethidiumbromid enthielt. Die Elektrophorese wurde in horizontalen Flachbettkammern (Cleaver Scientific, multisub MSMINIDUO) bei 80 V durchgeführt. Zur Bestimmung der Größe und Konzentration der Proben wurde zusätzlich eine Geltasche mit einer DNA Leiter (GeneRuler 100 bp DNA Ladder plus, Fermentas, St. Leon-Rot) beladen. Die DNA Banden wurden mit UV-Licht (UV-Transilluminator, Bio-View) detektiert und mit einer Digitalkamera (Nikon Coolpix 5600) dokumentiert.

2.6.4 Aufreinigung der PCR Produkte

Die PCR Produkte wurden mit dem E.Z.N.A. Cycle-Pure Kit der Firma Peqlab (Erlangen) nach den Angaben des Herstellers aufgereinigt. Beim Auftreten mehrerer unspezifischer Banden wurde eine Gelelektrophorese mit dem gesamten PCR Ansatz durchgeführt. Anschließend wurde die Bande innerhalb des entsprechenden Größenbereichs aus dem Agarosegel ausgeschnitten und das PCR Produkt mit dem QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Hilden) extrahiert.

2.7 Klonierung

Wegen eventueller intraindividuelle Heterogenität der ITS-2 Marker (MES & CORNELISSEN, 2004) bei direkter Sequenzierung wurden alle untersuchten ITS-2 Amplifikate in den Vektor pGEM[®]-T Easy (Promega, Mannheim) ligiert und anschließend in JM109 Zellen kloniert.

2.7.1 Ligation

Zur Ligation der PCR Amplifikate mit dem Vektor pGEM[®]-T Easy wurde folgender Ligationsansatz durchgeführt:

Tabelle 12: Ansatz zur Ligation der PCR Amplifikate mit dem Vektor pGEM[®]-T Easy

Reagenz	Volumen
Rapid Ligation Buffer (2x)	5 µl
PRC Produkt	3 µl
pGEM [®] -T Easy	1 µl
T4 DNA Ligase	1 µl

Der Reaktionsansatz wurde in einem Gesamtvolumen von 10 µl zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.

2.7.2 Transformation

2.7.2.1 Herstellung der transformationskompetenten Zellen

5,0 ml LB-Medium wurde mit Zellen einer JM109 Kolonie angeimpft und über Nacht bei 37°C inkubiert. 1,0 ml dieser Vorkultur wurde in 100 ml SOB-Medium überführt und im Schüttelinkubator bei 37°C bis zu einer optischen Dichte von 0,5-0,6 OD₆₀₀ kultiviert. Nach 10 min Inkubation auf Eis wurden die Bakterien bei 2500 rpm 10 min bei 4°C abzentrifugiert. Nach Resuspension des Pellets in 80 ml TB-Puffer folgte erneut eine zehnjminütige Inkubation auf Eis, anschließend wurde der Zentrifugationsschritt wiederholt. Das Pellet wurde in 20 ml TB-Puffer resuspendiert, mit 7% Dimethylsulfoxid (DMSO) versetzt, aliquotiert, und die Aliquots bei -80°C eingefroren.

2.7.2.2 Transformation

100 µl der kompetenten Zellen wurden auf Eis aufgetaut, mit 4,0 µl Ligationsansatz vermischt und 20 min auf Eis inkubiert. Danach wurden die Zellen 45 sec auf 42°C erhitzt und anschließend 2 min auf Eis abgekühlt. Die Zellsuspension wurde in 900 µl SOC-Medium aufgenommen und 1,5 h bei 37°C unter Schütteln inkubiert. Pro Transformationsansatz wurde 200 µl der Zellsuspension auf LB/Ampicillin/X-Gal-Agarplatten ausplattiert und über Nacht bei 37°C inkubiert. Da das Insert in die für die β-Galaktosidase kodierende Region des Vektors ligiert wird, kann der Farbstoff X-Gal der Agarplatten von den rekombinanten Zellen nicht mehr in den blauen Farbstoff 5,5'-Dibrom-4,4'-dichlor-Indigo umgewandelt werden. Dadurch können rekombinante Klone über die weiße Farbe der Kolonien identifiziert werden.

2.7.3 Kolonie PCR

Zur Isolierung der klonierten PCR Produkte wurde Zellmaterial der weißen Kolonien als Template für eine Kolonie PCR eingesetzt. Der Ansatz erfolgte wie in Tabelle 6 beschrieben. Als Primer wurden die vektorspezifischen Primer T7 (5'TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG 3') und SP6 (5'TAT TTA GGT GAC ACT ATA G 3') eingesetzt und folgendes PCR Programm mit 30 Zyklen verwendet:

Tabelle 13: PCR Programm für die Kolonie PCR

Schritt	Temperatur	Zeit
Initiale Denaturierung	96 °C	120 sec
Denaturierung	96 °C	30 sec
Annealing	47 °C	45 sec
Elongation	72 °C	45 sec
Finale Extension	72 °C	120 sec
Kühlung 4°C		

Das Ergebnis der Kolonie PCR wurde mittels Gelelektrophorese überprüft und die positiven PCR Amplifikate mit dem E.Z.N.A. Cycle–Pure Kit (Peqlab) aufgereinigt. Die aufgereinigten PCR Produkte wurden zur Konzentrationsbestimmung nochmals auf ein 1,5% Agarosegel aufgetragen.

2.8 Sequenzierung

Die Sequenzierung der 18S, ITS-2 und COI Amplifikate erfolgte durch „Cycle-Sequencing“ (Kettenabbruchmethode nach Sanger, 1981).

Für die Sequenzierungs-PCR mit dem BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 3.1 (Applied Biosystems, Weiterstadt) wurde je nach Konzentration 4,0 bis 6,0 µl aufgereinigtes PCR Produkt als Template eingesetzt. Zur DNA wurden je 2,0 µl Sequenzierungspuffer, 1,0 µl Primer und 1,0 µl Big Dye zugegeben und mit sterilem Wasser auf 10 µl Reaktionsvolumen aufgefüllt.

Die Sequenzierungs-PCR wurde mit den jeweiligen Amplifizierungsprimern durchgeführt. Jede Probe wurde vorwärts und rückwärts sequenziert.

Das PCR Programm erfolgte in 35 Zyklen.

Tabelle 14: Temperatur-Zeit-Programm für die Sequenzierungs PCR

Schritt	Temperatur	Zeit
Denaturierung	94°C	30 sec
Annealing	50°C	1 min
Elongation	72°C	1 min
Finale Elongation	72°C	10 min

Zur Fällung der DNA wurden die Proben nach der PCR mit 2,2% SDS versetzt und 5 min bei 98°C erhitzt. Nach Zugabe von 30 µl 0,5 M Natriumacetat wurden die Proben in 125 µl 96% Ethanol überführt und 20 min bei 13.000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde abgezogen, das Pellet mit 180 µl 70% Ethanol gewaschen und erneut 5 min bei 13.000 rpm zentrifugiert. Nach Abziehen des Ethanols wurde die DNA 5 min bei 37°C getrocknet und in 20 µl H₂O bidest. aufgenommen.

Die Sequenzanalyse wurde mit dem 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Weiterstadt) durchgeführt.

2.9 Single-strand conformation polymorphism

Zur Identifizierung der Nematodenlarven wurde eine SSCP Analyse (single-strand conformation polymorphism) durchgeführt. Die SSCP Analyse ist eine sensitive Methode zur Detektion von Nukleotidsubstitutionen in PCR Produkten gleicher Länge (SUNNUCKS et al., 2000). Dabei werden ITS-2 PCR Produkte in Einzelstränge getrennt und auf ein nichtdenaturierendes Polyacrylamidgel aufgetragen. Die DNA Einzelstränge lagern sich aufgrund unterschiedlicher Basenabfolge im Polyacrylamidgel zu unterschiedlichen räumlichen Konformationen zusammen. Da die Laufgeschwindigkeit der DNA Einzelstränge bei anschließender Gelelektrophorese von ihrer räumlichen Konformation abhängt, werden die PCR Produkte in unterschiedliche Allele getrennt. So können PCR Fragmente derselben Größe, aber unterschiedlicher Basenzusammensetzung getrennt werden (ZHU & GASSER, 1998). Dabei bildet jede Nematodenspezies ein charakteristisches Bandenmuster. Durch Zuordnung der jeweiligen Bandenmuster zu dem Bandenmuster der bekannten Referenzproben kann eine Artidentifizierung der Nematodenlarven erfolgen.

Dazu wurden zwischen 1,0 und 4,0 μl der ITS-2 PCR Produkte der Nematodenlarven und von jeder Nematodenart je eine Referenzprobe mit frisch zubereitetem NaOH-SSCP-loading dye versetzt und 10 min bei 50°C erhitzt. Durch den basischen pH-Wert des Puffers wurden die PCR Produkte in Einzelstränge aufgespalten. Insgesamt 6,0 μl der Proben wurde anschließend auf ein 15% nichtdenaturierendes Polyacrylamidgel (Clean Gel DNA-HP 15%, ETC, Kirchentellinfurt) aufgetragen und eine Gelelektrophorese (Multiphor II, Amersham, Pharmacia Biotech, München) bei 12°C und folgenden Laufbedingungen durchgeführt: zunächst 20 min Vorlauf bei 200V, 20 mA und 10W, dann 4,5 h Hauptlauf bei 450V, 30mA und 20 W.

Die Visualisierung der DNA Banden im SSCP Gel nach der Gelelektrophorese erfolgte durch Silberfärbung. Die Färbung der Polyacrylamidgele erfolgte in einem Automated Gel Stainer der Firma Hoefer[®]. Zur Fixierung der DNA im Polyacrylamidgel wurde das Gel zunächst 40 min mit 24% Ethanollösung (Fixing solution) auf einem Horizontal-Wipptisch geschüttelt. Nach dreimaligem Waschen für je 10 min mit Benzolsulfonsäurelösung (Washing solution) wurde das Gel 40 min mit Silbernitratlösung (Silvering solution) gefärbt. Dabei lagern sich die Silberionen der Lösung an die DNA Einzelstränge im Gel an. Nach zwei Waschschritten mit H₂O dest. (1 x 2 min, 1 x 1 min) wurde das Gel mit Natriumthiosulfatlösung (Developing solution) solange inkubiert, bis die DNA Banden sichtbar wurden. Bei diesem Entwicklungsvorgang werden die an die DNA angelagerten Silberionen (Ag⁺) zu metallischem Silber (Ag⁰) reduziert, das schwarz gefärbt ist. Zum Abstoppen des Entwicklungsvorgangs wurde das Gel 30 min in Essigsäure/Glycerinlösung (Stopping solution) inkubiert und anschließend getrocknet.

Die DNA Banden der Nematodenlarven wurden aus dem Polyacrylamidgel ausgeschnitten und vier Stunden in 1x TBE Puffer resuspendiert. 1,0 μl dieser Suspension wurde als Template für eine Reamplifizierung der ITS-2 Region verwendet und das aufgereinigte PCR Produkt zur Kontrolle der SSCP Ergebnisse erneut sequenziert.

2.10 Phylogenetische Analyse

2.10.1 Nachbearbeitung der Sequenzen und Überprüfung der Sequenzidentität

Die bei der Sequenzierung erhaltenen Chromatogramme wurden mit dem Programm Bioedit Version 7.0.0 (Hall, T., 1997-2004) zu einem Datensatz zusammengestellt. Dabei wurden bei klonierten Proben die Vektorsequenzen entfernt und jede Sequenz wurde durch Vorwärts- und Rückwärtslesen überprüft.

Die sehr lange ribosomale 18S Region wurde in drei bis vier überlappenden Teilstücken sequenziert. Die Teilstücke wurden im Programm Bioedit zu vollständigen Sequenzen zusammengefügt.

Die so erhaltenen Sequenzen wurden in die NCBI Taxonomy-Datenbank (National Center for Biotechnology Information) eingegeben und ihre Identität wurde mit einer Blast Funktion überprüft. Für die phylogenetische Analyse wurden die in der vorliegenden Arbeit erhaltenen Sequenzen mit Sequenzen nahe verwandter Arten aus der NCBI Datenbank ergänzt. Die Zugangsnummern aller aus der NCBI Genbank entnommenen Sequenzen sind im Anhang in Tabelle 35 aufgeführt.

2.10.2 Alinierung

Die so entstandenen Datensätze wurden mit dem Programm Clustal X 1.83 (Thompson et al., 1997) aliniert. Das multiple Alignment wurde unter Verwendung der Standardeinstellungen durchgeführt.

2.10.3 Konstruktion der phylogenetischen Bäume

Mit dem phylogenetischen Programm Mega 3.1 (KUMAR et al. 2004) wurden anschließend auf Grundlage der alinierten Sequenzen hypothetische Stammbäume berechnet. Dazu wurde die distanzbasierte Methode Neighbor-Joining und die charakterbasierte Methode Maximum Parsimony eingesetzt. Die nachfolgende Beschreibung der phylogenetischen Verfahren erfolgt nach NEI & KUMAR (2000).

2.10.3.1 Neighbor-Joining

Beim Neighbor-Joining Verfahren werden die Sequenzen zunächst paarweise verglichen und auf Grundlage der jeweiligen Nukleotidunterschiede für jedes Sequenzpaar ein Distanzwert berechnet. Anschließend wird aus den Werten aller Sequenzpaare eine Distanzmatrix gebildet. Die berechneten genetischen Distanzen werden mit einem Evolutionsmodell korrigiert. In dieser Studie wurde das Kimura Zwei-Parameter-Modell (KIMURA, 1988) angewandt, das Rückmutationen und das unterschiedliche Auftreten von Transitionen und Transversionen berücksichtigt. Die Berechnung erfolgt im Modus „pairwise deletion“, was bedeutet, dass beim paarweisen Vergleich der Sequenzen die Stellen, an denen gaps eingefügt wurden, nicht in die phylogenetische Analyse mit einbezogen werden.

Die Konstruktion des phylogenetischen Baumes erfolgt nach dem „Minimum Evolution“ Prinzip, d. h. derjenige Baum wird konstruiert, der die kleinste Astlängensumme besitzt. Dabei repräsentiert die Länge der Äste die genetische Distanz zwischen zwei Akzessionen.

2.10.3.2 Maximum Parsimony

Die Rekonstruktion eines phylogenetischen Baumes nach dem Maximum Parsimony Verfahren beruht auf dem Prinzip der Sparsamkeit, d. h. aus einer Vielzahl möglicher Baumtopologien wird derjenige Stammbaum gesucht, der die genetischen Unterschiede der verschiedenen Spezies mit der geringsten Zahl an Evolutionsschritten wiedergibt. Bei kleineren Datensätzen bis zu ca. 12 Sequenzen werden nach dem „exhaustive search“ Prinzip alle möglichen Baumtopologien berechnet, bei größeren Datensätzen werden nach dem „ heuristic search“ Verfahren stichprobenartig Baumtopologien konstruiert.

2.10.3.3 Bootstrap Analyse

Mit dem Bootstrap Verfahren wird die Robustheit phylogenetischer Hypothesen überprüft (GRANT & KLUGE, 2003). Durch die wiederholte Neuordnung des alinierten Datensatzes werden Pseudomatrizes erstellt, die die Größe des Originaldatensatzes haben. Eine Pseudomatrix enthält eine zufällig ausgewählte Teilmenge des Originaldatensatzes mit Wiederholung einzelner Merkmale. Aus allen Pseudomatrizes wird eine Topologie konstruiert und anschließend berechnet, in wie vielen Bootstraphäumen jede Verzweigung des ursprünglichen Baumes vorhanden war. In der vorliegenden Arbeit wurden für jeden phylogenetischen Baum 1000 Bootstrap Replikationen berechnet. Der Bootstrapwert gibt an, wie gut einzelne Verzweigungen des phylogenetischen Baums aufgrund des Datensatzes abgesichert sind, wobei Akzessionen mit einer Bootstrapunterstützung von über 95% als statistisch signifikant gelten. Ein Bootstrapkonsensusbaum löst Verzweigungen mit Bootstrapwerten unter 50 nicht auf, sondern stellt sie als Multifurkationen dar.

3 Ergebnisse

3.1 Sektionsergebnisse

Bei der Sektion der Greifvögel wurden folgende Untersuchungsergebnisse erfasst:

- Krankheiten und Todesursache,
- Art und Intensität des gesamten Parasitenbefalls,
- Art und Anzahl der Nematoden.

Ein Befall mit Nematoden konnte bei 51,7% der Greifvögel, d.h. 79 von 153 untersuchten Tieren festgestellt werden. Insgesamt wurde in 137 Fällen ein Nematodenbefall diagnostiziert. Dabei wurden bei 45 der 153 Greifvögel (29,4%) eine Nematodenart gefunden, 18 Greifvögel waren mit zwei Nematodenspezies (11,8%) und 15 Greifvögel mit drei Nematodenarten (9,8%) befallen. In einem Mäusebussard (Sektionsnummer NS 040) konnten vier verschiedene Nematodenarten nachgewiesen werden.

Der Nematodenbefall war bei allen Vögeln gering, im Durchschnitt wurden zwischen einem und drei Nematoden einer Art in den Wirten gefunden. Die höchste Wurmbürde wurde bei fünf Baumfalken festgestellt, bei denen jeweils zwischen 30 und 50 Individuen von *Cyrnea seurati* im Drüsen- und im Muskelmagen gefunden wurden.

Bei keinem der seziierten Greifvögel konnten Anzeichen für eine Parasitose aufgrund Nematodenbefall oder ein durch Nematoden bedingter Tod festgestellt werden.

Die weiteren Ergebnisse der Greifvogelsektionen sind in Tabelle 31 im Anhang zusammengefasst.

3.2 Morphologische Analyse der Nematoden

Nach morphologischen Kriterien konnten insgesamt 14 Nematodenspezies aus vier Infraordnungen identifiziert werden:

1. Infraordnung Ascaridomorpha: *Porrocaecum* sp., *Contraecum microcephalum*
2. Infraordnung Spiruromorpha: *Physaloptera alata*, *Physaloptera apivori*, *Cyrnea mansioni*, *Cyrnea leptoptera*, *Cyrnea seurati*, *Microtetrameres cloacitectus*, *Serratospiculum tendo*, *Synhimantus hamatus*, *Synhimantus laticeps*
3. Infraordnung Rhabditomorpha: *Hovorkonema variegatum*
4. Infraordnung Trichinellida: *Eucoleus dispar*, *Capillaria tenuissima*

Eine systematische Zuordnung dieser Nematoden nach morphologischen Kriterien befindet sich in Tabelle 1.

Folgende Nematoden konnten anhand morphologischer Merkmale nicht sicher identifiziert werden:

a) Aus dem Muskelmagen eines Wespenbussards (Sektionsnummer BW 197/2001) wurden zwei adulte, ca. 1,5 cm lange, weibliche Nematoden isoliert, die morphologisch der Infraordnung Spiruromorpha zugeordnet werden konnten. Ein Exemplar mit der vorläufigen Probenbezeichnung N? wurde für die genetische Analyse verwendet. Die

morphologischen Strukturen dieser beiden Nematoden sind in der Abbildung 5 dargestellt:

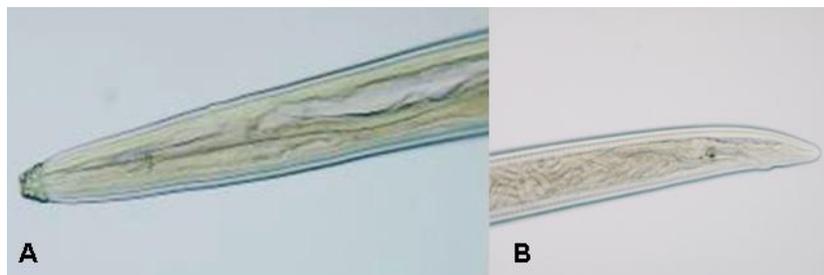


Abbildung 5: weiblicher Nematode aus dem Wespenbussard BW 197/2001. A: Vorderende, B: Hinterende, 400fache Vergrößerung

b) An der Darmwand von vier Greifvögeln (Seeadler, Sperber, Wanderfalke, Habicht) anhaftend wurden wenige Millimeter große, eingekapselte Larven gefunden, die der Infraordnung Spiruromorpha zugeordnet wurden. Eine weitere Artidentifikation anhand morphologischer Merkmale war nicht möglich.

c) Die Spulwürmer *Porrocaecum angusticolle* und *Porrocaecum depressum* lassen sich morphologisch anhand unterschiedlicher Mundregionen (ANDERSON et al., 1974-1983) unterscheiden. Eine sichere Zuordnung gelingt jedoch nur bei adulten, großen und unbeschädigten Exemplaren. Da eine sichere Artdiagnose nicht bei allen Spulwürmern dieser Studie möglich war, wurden diese anhand der morphologischen Merkmale nur bis auf Gattungsebene bestimmt.

3.3 Prävalenzen

3.3.1 Nematodenspektrum der Greifvögel

In der Tabelle 15 ist das Nematodenspektrum der Greifvögel aufgeführt. Angegeben ist die Anzahl der Nematodenfunde in den jeweiligen Wirten und die Prävalenz der Nematoden in Prozent.

Tabelle 15: Nematodenspektrum der Greifvögel mit Anzahl der Nematodenfunde und Prävalenz der Nematodenart in Prozent

Wirt	Anzahl der Wirte	Nematoden	Anzahl	Prävalenz(%)
Seeadler	28	<i>Eucoleus dispar</i>	14	50
		<i>Contraecum microcephalum</i>	1	4
		<i>Hovorkonema variegatum</i>	1	4
		<i>Porrocaecum</i> sp.	1	4
		<i>Synhimantus laticeps</i>	1	4
		Spiruridenlarven	1	4
Sperber	18	<i>Porrocaecum</i> sp.	6	33
		<i>Synhimantus laticeps</i>	5	28
		<i>Cyrnea mansioni</i>	3	17

		<i>Physaloptera alata</i>	2	12
		<i>Synhimantus hamatus</i>	1	6
		<i>Capillaria tenuissima</i>	1	6
		<i>Eucoleus dispar</i>	1	6
		<i>Microtetrimeres cloacitectus</i>	1	6
		Spiruridenlarven	1	6
Mäusebussard	15	<i>Porrocaecum</i> sp.	8	54
		<i>Eucoleus dispar</i>	7	47
		<i>Capillaria tenuissima</i>	6	40
		<i>Cyrnea mansioni</i>	2	13
		<i>Synhimantus laticeps</i>	1	7
Turmfalke	15	<i>Synhimantus laticeps</i>	2	13
		<i>Synhimantus hamatus</i>	1	7
		<i>Eucoleus dispar</i>	1	7
Wanderfalke	15	<i>Serratospiculum tendo</i>	5	33
		<i>Eucoleus dispar</i>	3	20
		<i>Synhimantus laticeps</i>	2	13
		<i>Physaloptera alata</i>	2	13
		<i>Cyrnea mansioni</i>	1	7
		<i>Porrocaecum</i> sp.	1	7
		Spiruridenlarven	1	7
Habicht	13	<i>Porrocaecum</i> sp.	5	28
		<i>Synhimantus laticeps</i>	2	15
		<i>Eucoleus dispar</i>	1	8
		<i>Hovorkonema variegatum</i>	1	8
		<i>Microtetrimeres cloacitectus</i>	1	8
		Spiruridenlarven	1	8
Rotmilan	12	<i>Porrocaecum</i> sp.	7	58
		<i>Eucoleus dispar</i>	2	18
		<i>Capillaria tenuissima</i>	1	9
		<i>Cyrnea mansioni</i>	1	9
Fischadler	8	<i>Porrocaecum</i> sp.	1	13
		<i>Synhimantus laticeps</i>	1	13
Baumfalke	7	<i>Cyrnea seurati</i>	6	86
		<i>Synhimantus laticeps</i>	2	29
		<i>Porrocaecum</i> sp.	1	14
		<i>Eucoleus dispar</i>	1	14
Rohrweihe	7	<i>Porrocaecum</i> sp.	2	29
		<i>Eucoleus dispar</i>	1	14
Schwarzmilan	5	<i>Porrocaecum</i> sp.	2	50

		<i>Cyrnea leptoptera</i>	1	25
		<i>Cyrnea mansioni</i>	1	25
		<i>Eucoleus dispar</i>	1	25
		<i>Synhimantus laticeps</i>	1	13
Wespenbussard	4	<i>Physaloptera apivori</i>	2	50
		Nematode?	1	25
Wiesenweihe	3	<i>Porrocaecum</i> sp.	1	33
		<i>Synhimantus laticeps</i>	1	33
Merlin	2	<i>Eucoleus dispar</i>	1	50
Rauhfußbussard	1	<i>Eucoleus dispar</i>	1	100
		<i>Porrocaecum</i> sp.	1	100
		<i>Synhimantus laticeps</i>	1	100

Beim Sperber konnten acht verschiedene Nematodenarten nachgewiesen werden. Damit besitzt der Sperber in dieser Studie das breiteste Parasitenspektrum aller untersuchten Greifvögel. Aus dem Merlin wurde nur der Haarwurm *Eucoleus dispar* isoliert, jedoch konnten nur zwei Exemplare dieser Greifvogelart seziiert werden.

Mit einem Chi-Quadratstest wurde der Nematodenbefall der einzelnen Greifvogelarten verglichen. Dabei wurden alle Greifvögel untersucht, von denen mehr als fünf Individuen für eine parasitologische Untersuchung zur Verfügung standen. Wegen der geringen Häufigkeiten der einzelnen Nematodenarten wurde die gesamte Nematodenbelastung der Greifvögel verglichen. Der Nematodenbefall der einzelnen Greifvogelarten unterschied sich signifikant ($p = 0,00231$, $FG = 9$), wobei die Baumfalken am stärksten von Nematoden parasitiert wurden. Der Nematodenbefall nahm bei den Greifvögeln in folgender Reihenfolge ab (Chi-Quadratwerte siehe Anhang Tabelle 34):

Baumfalke, Mäusebussard, Rotmilan, Wanderfalke, Seeadler, Sperber, Habicht, Rohrweihe, Fischadler und Turmfalke.

3.3.2 Wirtsspektrum der Nematoden

Fast alle der greifvogelparasitierenden Nematoden wurden in mehreren Wirten nachgewiesen. Die folgende Tabelle 16 zeigt einen Überblick über das Wirtsspektrum der einzelnen Nematodenarten:

Tabelle 16: Übersicht über das Wirtsspektrum der Nematoden. Die Zahlen geben die Anzahl der Greifvögel an, in denen die jeweiligen Nematoden in dieser Studie nachgewiesen wurde

	Wanderfalke	Baumfalke	Merlin	Turmfalke	Habicht	Sperber	Rohrwehe	Wiesenwehe	Mäusebussard	Rauhfußbussard	Seeadler	Schwarzmilan	Rotmilan	Wespenbussard	Fischadler
<i>Porrocaecum</i> sp.	1	1	-	-	5	6	2	1	8	1	1	2	7	-	1
<i>Contraecum microcephalum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>Physaloptera alata</i>	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Physaloptera apivori</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
<i>Synhimantus laticeps</i>	2	2	-	2	2	5	-	1	1	1	1	-	-	-	1
<i>Synhimantus hamatus</i>	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cyrnea leptoptera</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
<i>Cyrnea seurati</i>	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cyrnea mansioni</i>	1	-	-	-	-	3	-	-	2	-	-	1	1	-	-
<i>Microtetrimeres cloacitectus</i>	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Serratospiculum tendo</i>	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hovorkonema variegatum</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>Capillaria tenuissima</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	6	-	-	-	1	-	-
<i>Eucoleus dispar</i>	3	1	1	1	1	1	1	-	7	1	14	1	2	-	-

Der Haarwurm *Eucoleus dispar* wurde bei den meisten Wirten nachgewiesen, und zwar bei 12 von 15 Greifvogelarten. Insgesamt wurde bei 34 Greifvögeln *Eucoleus dispar* gefunden, was einer Gesamtprävalenz von 22,3% entspricht. Bei 10 von 15 Wirten wurde ein Spulwurmbefall mit *Porrocaecum* sp. bzw. der Spiruride *Synhimantus laticeps* diagnostiziert. Die Gesamtprävalenz liegt bei *Porrocaecum* sp. jedoch höher als bei *Eucoleus dispar*. Bei 24,2% aller untersuchten Greifvögel, d. h. in 37 von 153 Wirten wurde *Porrocaecum* sp. nachgewiesen. Die Wirtsspezifität der Spiruromorpha ist höher als die der Nematoden aus anderen Infraordnungen. Im Durchschnitt besitzen die Spiruriden in dieser Studie zwischen zwei und sieben verschiedene Wirtsarten. *Physaloptera apivori*, *Cyrnea leptoptera*, *C. seurati* und *Serratospiculum tendo* aus dieser Infraordnung wurden nur bei einem Wirt nachgewiesen.

3.3.3 Erstnachweise

Folgende Nematoden wurden in dieser Studie zum erstenmal in Greifvögeln in Europa nachgewiesen:

- *Synhimantus laticeps*: in Habicht, Rotmilan, Turmfalke und Fischadler
- *Microtetrameres cloacitectus*: im Habicht.

Berücksichtigt wurden bei dieser Analyse die Parasitenlisten von KRONE (1998), der eine Übersicht über alle Helminthen gibt, die aus europäischen Greifvögeln isoliert wurden.

3.4 Nematodenspektrum in Abhängigkeit von der Nahrungspräferenz der Greifvögel

Greifvögel nehmen Nematoden über ihre Beutetiere auf. Das durchschnittliche Beutespektrum der Greifvögel kann qualitativ in fünf Kategorien eingeteilt werden: Vögel, Kleinsäuger, Fische, Insekten und Regenwürmer (GLUTZ VON BLOTZHEIM et al., 1971). Die Einordnung der Greifvögel anhand ihres Nahrungsspektrums ist in Tabelle 17 aufgeführt, wobei Nahrungsgeneralisten, wie z.B. der Schwarzmilan, in mehreren Kategorien aufgeführt sind.

Tabelle 17: Einteilung der Greifvögel anhand ihres Beutespektrums. Nahrungsgeneralisten werden in mehreren Kategorien aufgeführt. Die Artnamen der Greifvögel sind in der Kategorie fettgedruckt, die ihren hauptsächlichen Nahrungsanteil ausmacht.

Beutespektrum der Greifvögel:				
Vögel	Kleinsäuger	Fische	Insekten	Regenwürmer
Wanderfalke	-	-	-	-
Baumfalke	-	-	Baumfalke	-
Merlin	-	-	-	-
Turmfalke	Turmfalke	-	Turmfalke	Turmfalke
Habicht	Habicht	-	-	-
Sperber	-	-	-	-
Rohrweihe	Rohrweihe	Rohrweihe	-	-
Wiesenweihe	Wiesenweihe	-	Wiesenweihe	-
Mäusebussard	Mäusebussard	-	Mäusebussard	Mäusebussard
Rauhfußbussard	Rauhfußbussard	-	-	-
Seeadler	Seeadler	Seeadler	-	-
Schwarzmilan	Schwarzmilan	Schwarzmilan	-	Schwarzmilan
Rotmilan	Rotmilan	Rotmilan	-	Rotmilan
-	-	-	Wespenbussard	-
-	-	Fischadler	-	-

Werden alle Nematoden zusammengefasst, die in den jeweiligen Greifvögeln der einzelnen Kategorien gefunden wurden, so ergibt sich bei den unterschiedlichen Nahrungspräferenzen der Greifvögel folgendes Nematodenspektrum (Tabelle 18):

Tabelle 18: Nematodenspektrum in Abhängigkeit von der Nahrungspräferenz der Greifvögel. Werden die Greifvögel nur in ihrer Hauptnahrungskategorie berücksichtigt (fettgedruckte Artnamen in Tabelle 17), so können nur die in dieser Tabelle fettgedruckten Nematodenarten den verschiedenen Beutetierkategorien zugeordnet werden. Wird hingegen das gesamte durchschnittliche Beutetierspektrum der Greifvögel berücksichtigt, so ergibt sich aus der vollständigen Tabelle das Nematodenspektrum der Greifvögel in Abhängigkeit von ihren Nahrungspräferenzen.

Nematodenspektrum der Greifvögel mit				
Vögel als Beutetiere	Kleinsäuger als Beutetiere	Fische als Beutetiere	Insekten als Beutetiere	Regenwürmer als Beutetiere
<i>Capillaria tenuissima</i>	<i>Capillaria tenuissima</i>	<i>Capillaria tenuissima</i>	<i>Capillaria tenuissima</i>	<i>Capillaria tenuissima</i>
<i>Contraeaecum microcephalum</i>	<i>Contraeaecum microcephalum</i>	<i>Contraeaecum microcephalum</i>	-	-
<i>Cyrnea leptoptera</i>	<i>Cyrnea leptoptera</i>	<i>Cyrnea leptoptera</i>	-	<i>Cyrnea leptoptera</i>
<i>Cyrnea mansioni</i>	<i>Cyrnea mansioni</i>	<i>Cyrnea mansioni</i>	<i>Cyrnea mansioni</i>	<i>Cyrnea mansioni</i>
<i>Cyrnea seurati</i>	-	-	<i>Cyrnea seurati</i>	-
<i>Eucoleus dispar</i>	<i>Eucoleus dispar</i>	<i>Eucoleus dispar</i>	<i>Eucoleus dispar</i>	<i>Eucoleus dispar</i>
<i>Hovorkonema variegatum</i>	<i>Hovorkonema variegatum</i>	<i>Hovorkonema variegatum</i>	-	-
<i>Microtetrameres cloacitectus</i>	<i>Microtetrameres cloacitectus</i>	-	-	-
<i>Physaloptera alata</i>	<i>Physaloptera alata</i>	-	-	-
-	-	-	<i>Physaloptera apivori</i>	-
<i>Porrocaecum sp.</i>	<i>Porrocaecum sp.</i>	<i>Porrocaecum sp.</i>	<i>Porrocaecum sp.</i>	<i>Porrocaecum sp.</i>
<i>Serratospiculum tendo</i>	-	-	-	-
<i>Synhimantus hamatus</i>	<i>Synhimantus hamatus</i>	-	<i>Synhimantus hamatus</i>	<i>Synhimantus hamatus</i>
<i>Synhimantus laticeps</i>	<i>Synhimantus laticeps</i>	<i>Synhimantus laticeps</i>	<i>Synhimantus laticeps</i>	<i>Synhimantus laticeps</i>

Berücksichtigt man nur die jeweiligen Hauptnahrungskategorien, so wurden bei Greifvögeln, die überwiegend Vögel erbeuten, zwölf von vierzehn Nematodenarten nachgewiesen.

In der Kategorie der fischfressenden Greifvögel konnten acht Nematodenarten isoliert werden und in der Kategorie der kleinsäugerfressenden Greifvögel sieben. Den Greifvögeln, die regelmäßig Regenwürmer erbeuten, wurden sechs Nematodenarten zugeordnet.

Nur zwei Nematoden konnten ausschließlich einer Beutetierkategorie zugeordnet werden: *Physaloptera apivori* bei insektenfressenden Greifvögeln und *Contraeaecum microcephalum* bei den fischfressenden Greifvögeln.

Wird jedoch das gesamte durchschnittliche Nahrungsspektrum der Greifvögel betrachtet, so wurden bei Greifvögeln, die hauptsächlich Vögel erbeuten, alle Nematodenarten mit Ausnahme von *Physaloptera apivori* nachgewiesen.

In der Kategorie Greifvögel mit Kleinsäugetern als Beutetiere wurden ebenfalls alle Nematoden mit Ausnahme der Spiruriden *Cyrnea seurati*, *Serratospiculum tendo* und *Physaloptera apivori* nachgewiesen.

Aus fischfressenden und aus insektenfressenden Greifvögeln wurden jeweils acht von vierzehn Nematodenarten isoliert, und aus Greifvögeln, die Regenwürmer als Nahrung aufnehmen, sieben Nematodenarten.

3.5 Nematodenspektrum in Abhängigkeit von der regionalen Herkunft der Greifvögel

Die Greifvögel, die für die parasitologische Untersuchung zur Verfügung standen, stammten aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands. Die Tabelle 19 zeigt einen Überblick über die Herkunft der Greifvögel, wobei die Bundesländer Berlin und Brandenburg zu einer Untersuchungsregion zusammengefasst wurden:

Tabelle 19: Übersicht über die Herkunft der untersuchten Greifvögel. Angegeben ist die Anzahl der Greifvögel, die aus dem jeweiligen Bundesland untersucht wurden, dabei wurden die Bundesländer Berlin und Brandenburg zu einer Untersuchungsregion zusammengefasst; B = Berlin, Bra = Brandenburg, BW = Baden-Württemberg, MV = Mecklenburg-Vorpommern, S = Sachsen, SA = Sachsen-Anhalt, SH = Schleswig-Holstein, TH = Thüringen.

Greifvögel	B/Bra	BW	MV	NRW	NS	S	SA	SH	TH
Baumfalke	1	3	-	-	1	-	2	-	-
Fischadler	2	-	5	-	-	1	-	-	-
Habicht	10	1	-	-	2	-	-	-	-
Mäusebussard	-	-	2	-	13	-	-	-	-
Merlin	1	-	-	-	1	-	-	-	-
Rauhfußbussard	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Rohrweihe	-	2	1	1	2	-	1	-	-
Rotmilan	12	-	1	1	1	-	-	-	-
Schwarzmilan	2	2	-	-	-	-	1	-	-
Seeadler	7	-	18	-	-	-	-	2	1
Sperber	8	1	-	-	9	-	-	-	-
Turmfalke	8	1	-	-	6	-	-	-	-
Wanderfalke	7	3	-	5	-	-	-	-	-
Wespenbussard	-	4	-	-	-	-	-	-	-
Wiesenweihe	-	1	-	2	-	-	-	-	-

Aus der Region Berlin/Brandenburg konnten elf von fünfzehn Greifvogelarten untersucht werden, aus den Bundesländern Baden-Württemberg und Niedersachsen jeweils neun Arten. Da aus den anderen Bundesländern nur eine deutlich geringere Artenanzahl zur Sektion zur Verfügung stand, beschränkt sich der folgende Vergleich des Nematodenspektrums auf die drei Untersuchungsgebiete mit der größten Vielfalt an Greifvo-

gelarten. In der Tabelle 20 wird das Nematodenspektrum der Greifvögel aus dem nordöstlich gelegenen Untersuchungsgebiet Berlin/Brandenburg und aus den den südwestlich bzw. nördlich gelegenen Bundesländern Baden-Württemberg und Niedersachsen dargestellt:

Tabelle 20: Vergleich des Nematodenspektrums der Greifvögel aus Berlin/Brandenburg, Baden-Württemberg und Niedersachsen

Nematoden	Nematodenspektrum der Greifvögel aus dem Untersuchungsgebiet		
	Berlin/Brandenburg	Baden-Württemberg	Niedersachsen
<i>Capillaria tenuissima</i>	1	-	6
<i>Cyrnea mansioni</i>	2	2	3
<i>Cyrnea seurati</i>	1	3	1
<i>Eucoleus dispar</i>	8	4	7
<i>Hovorkonema variegatum</i>	1	-	-
<i>Microtetrameres cloacitectus</i>	1	-	-
<i>Physaloptera alata</i>	1	1	1
<i>Physaloptera apivori</i>	-	2	-
<i>Porrocaecum</i> sp.	8	3	14
<i>Serratospiculum tendo</i>	2	1	-
<i>Synhimantus hamatus</i>	1	1	-
<i>Synhimantus laticeps</i>	4	5	6

In Berlin/Brandenburg wurden elf von zwölf Nematodenarten gefunden, in Baden-Württemberg neun verschiedene Arten und in Niedersachsen sieben. Die Nematoden *Hovorkonema variegatum*, *Microtetrameres cloacitectus* und *Physaloptera apivori* konnten nur in einem Untersuchungsgebiet nachgewiesen werden, alle anderen Nematoden aus mindestens zwei unterschiedlichen Regionen.

3.6 Künstlicher Verdau der Brustmuskulatur nach dem Magnetrührverfahren

Beim Verdau der Brustmuskulatur der Greifvögel mit Pepsin wurden in 19 von insgesamt 55 Probenpools Nematodenlarven gefunden. Die Nematodenlarven wurden im Bundesinstitut für Risikobewertung fotografiert, dabei wurden von denjenigen Larven Fotos angefertigt, bei denen man unter dem Lichtmikroskop morphologische Unterschiede erkennen konnte. Ausgeprägte morphologische Merkmale sind jedoch bei den Larvenstadien der Nematoden noch nicht vorhanden, so dass eine Artbestimmung anhand morphologischer Charakteristika nicht durchgeführt werden kann. Die 19 Probenpools mit den Wirten, der jeweiligen Anzahl an Larven im Pool und dem Verweis auf die entsprechende Abbildung der Larven sind in Tabelle 21 aufgeführt.

Tabelle 21: Probenpools, in denen Nematodenlarven gefunden wurden, mit jeweiligem Wirt, der Anzahl an Larven im Pool und dem Verweis auf die entsprechende Abbildung der Larven

Probennummer	Wirt	Anzahl der Larven	Foto
Pool 4	HAAL	1	Abbildung 6
Pool 5	HAAL	1	Larventyp wie Abbildung 6
Pool 24	HAAL	1	Abbildung 7
Pool 31	ACNI	2	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 32	ACNI	1	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 33	ACNI	4	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 35	CIAE, CIPY	1	Abbildung 8
Pool 36	BUBT	2	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 37	BUBT	4	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 39	BUBT	3	Abbildung 9
Pool 40	BUBT	5	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 47	ACGE	2	1 Larve wie Abbildung 7, 1 Larve wie Abbildung 8
Pool 48	ACGE	2	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 49	ACGE	1	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 50	FAPE	1	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 51	FAPE, FASU	2	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 52	FAPE, FASU, FATI	13	Larventyp wie Abbildung 7
Pool 53	FATI	8	7 Larven wie Abbildung 7, 1 Larve wie Abbildung 8
Pool 54	PEAP	1	Abbildung 10

Die folgenden Abbildungen zeigen Fotos der Nematodenlarven aus verschiedenen Probenpools:



Abbildung 6: Pool 4, Nematodenlarve aus einem Seeadler. A: Vorderende, B: Hinterende. 100fache Vergrößerung.

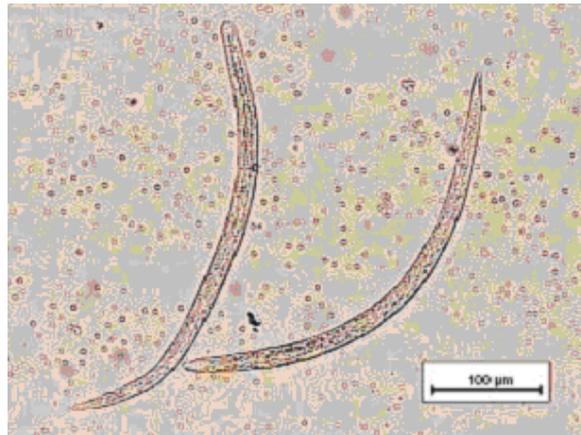


Abbildung 7: Nematodenlarven aus Pool 24, ebenfalls aus Seeadlern. 50fache Vergrößerung.

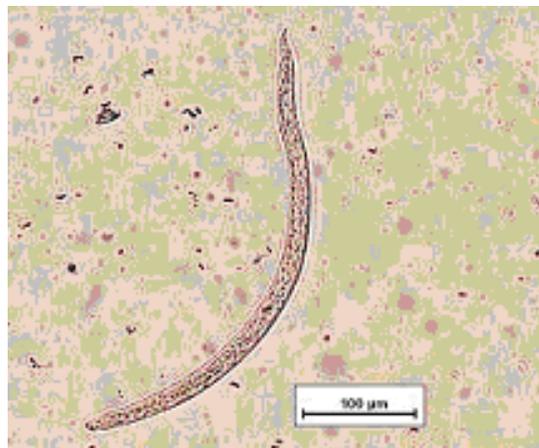


Abbildung 8: Nematodenlarve aus Pool 35 aus einer Rohrweihe. 50fache Vergrößerung.



Abbildung 9: Nematodenlarve aus Pool 39 aus einem Mäusebussard, A: Gesamtansicht, 100fache Vergrößerung, B: Vorderende, 200fache Vergrößerung.

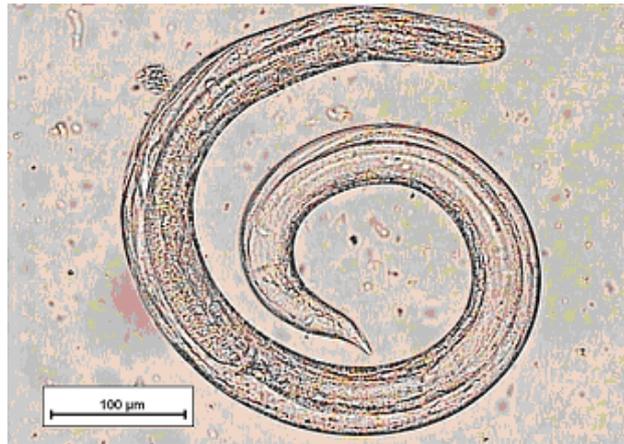


Abbildung 10: Pool 54, Nematodenlarve aus einem Wespenbussard, 100fache Vergrößerung.

Alle Nematodenlarven sind ca. 500 bis 600 µm lang. Anhand der Abbildungen lassen sich zwei verschiedene Larventypen unterscheiden. Die Larve aus Pool 4 (Abbildung 6) hat ein lang ausgezogenes, spitz zulaufendes Hinterende, während das Hinterende der anderen Larven stumpfer ist. Weitere morphologische Strukturen zur Artidentifikation lassen sich nicht sicher erkennen. Die seitlichen, cordonartigen Strukturen der Larve aus Pool 39 sind ein Artefakt, das durch Auflösung und damit Abheben des Teguments des Nematoden entsteht.

3.7 PCR

3.7.1 Greifvögel

Mit folgenden Primerkombinationen konnte die partielle mitochondriale COI Genregion der Greifvögel amplifiziert werden:

Tabelle 22: Primerkombinationen zur Amplifikation der partiellen mt COI Genregion der Greifvögel

Art	Forwärtsprimer	Rückwärtsprimer
Wanderfalke	BirdF1	BirdR1
Baumfalke	BirdF1	BirdR3
Merlin	BirdF1	BirdR3
Turmfalke	-	-
Habicht	BirdF1	BirdR1
Sperber	BirdF1	BirdR1
Rohrweihe	BirdF1	BirdR2
Wiesenweihe	BirdF1	BirdR1
Mäusebussard	BirdF1	BirdR1
Rauhfußbussard	BirdF1	BirdR1
Seeadler	BirdF1	BirdR1

Schwarzmilan	BirdF1	BirdR2
Rotmilan	BirdF1	BirdR2
Wespenbussard	BirdF1	BirdR1
Fischadler	BirdF1	BirdR2

Nur beim Turmfalken konnte mit keiner dieser Primerkombinationen ein positives PCR Amplifikat erhalten werden.

Das Ergebnis der PCR ist in Abbildung 11 dargestellt. Die Länge der PCR Produkte lag für die Primerkombinationen BirdF1/BirdR1 bei ca. 660 bis 700 bp, für BirdF1/BirdR2 bei ca. 660 bis 680 bp und für BirdF1/BirdR3 bei ca. 770 bp.

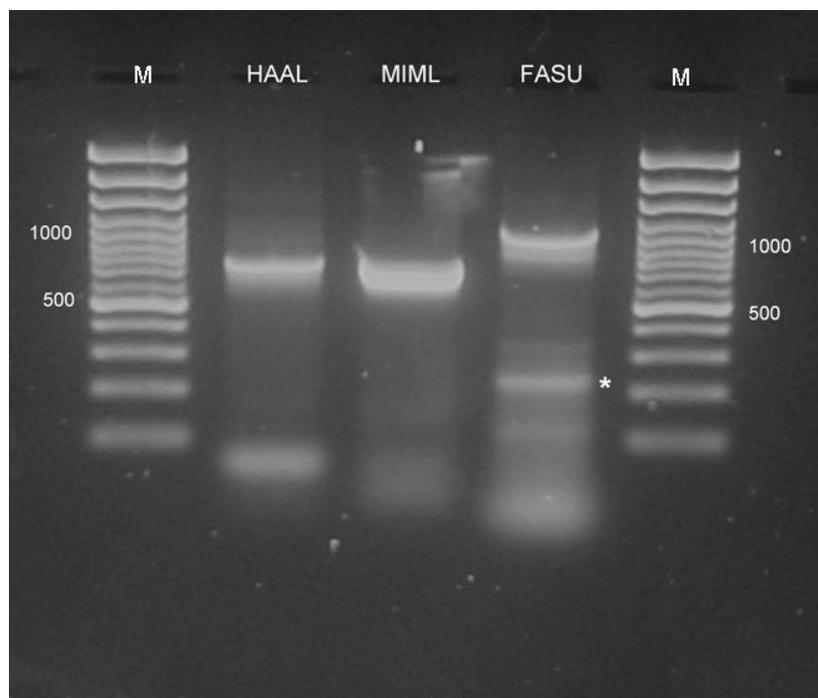


Abbildung 11: Ergebnis der Amplifikation des partiellen mt COI Gens der Greifvögel mit den Primerkombinationen BirdF1/BirdR1 (HAAL), BirdF1/BirdR2 (MIML) und BirdF1/BirdR3 (FASU). Die seitlichen Zahlen geben die Größe des Längenstandards in Basenpaaren an. M = Marker (GeneRuler 100 bp DNA Ladder plus, Fermentas, St. Leon-Rot), * = unspezifische Bande.

3.7.2 Nematoden

3.7.2.1 Amplifikation des 18S Markers

Die ca. 1700 bp lange 18S Genregion wurde in drei Teilstücken amplifiziert. Vom 5' Ende beginnend wurden die beiden Primerkombinationen UNI5'/R26 und F24/R13 oder UNI5'/R09 und F11/R23 verwendet. Das 3' Ende wurde mit der Primerkombination F23/UNI3' amplifiziert. Die Länge der PCR Produkte betrug für

- UNI5'/R26: ca. 900 bp,
- UNI5'/R09: ca. 550 bp,
- F24/R13: ca. 700 bp,
- F11/R23: ca. 550 bp,
- F23/UNI3': ca. 500 bp.

Das Ergebnis der PCR für die einzelnen Teilstücke der 18S Genregion ist in Abbildung 12 exemplarisch für die Probe PO5 dargestellt:

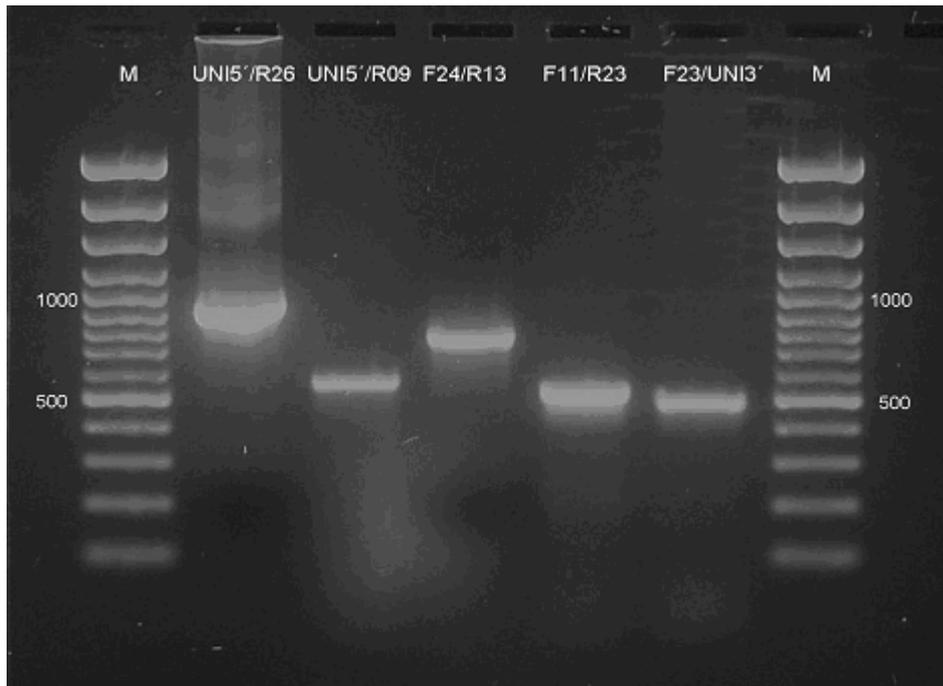


Abbildung 12: Amplifikation des 18S Markers der Probe PO5 in fünf Teilstücken. Die 18S Genregion wurde vom 5'Ende beginnend mit den beiden Primerkombinationen UNI5'/R26 und F24/R13 oder UNI5'/R09 und F11/R23, sowie F23/UNI3' amplifiziert. Die seitlichen Zahlen geben die Größe des Längenstandards in Basenpaaren an. M = Marker (GeneRuler 100 bp DNA Ladder plus, Fermentas, St. Leon-Rot)

3.7.2.2 Amplifikation des ITS-2 Markers

Die Amplifikation des ITS-2 Markers erfolgte mit der Primerkombination 2b/2rD3. Die Länge der PCR Produkte lag zwischen 400 und 600 Basenpaaren. Der Forwärtsprimer 2b liegt 20 Basenpaare vom 3'Ende entfernt im 5.8S Genbereich und der Rückwärtsprimer 2rD3 66 Basenpaare im 28S Genbereich. Die Nettolänge des ITS-2 Fragmentes beträgt also 86 Basenpaare weniger als das amplifizierte Teilstück. Das Ergebnis der Amplifikation der ITS-2 Marker ist am Beispiel der vier Proben PO3, PA1, CM1 und N? in Abbildung 13 dargestellt. Bei Proben aus der Infraordnung Trichinellida konnte mit dieser Primerkombination kein PCR Produkt amplifiziert werden.

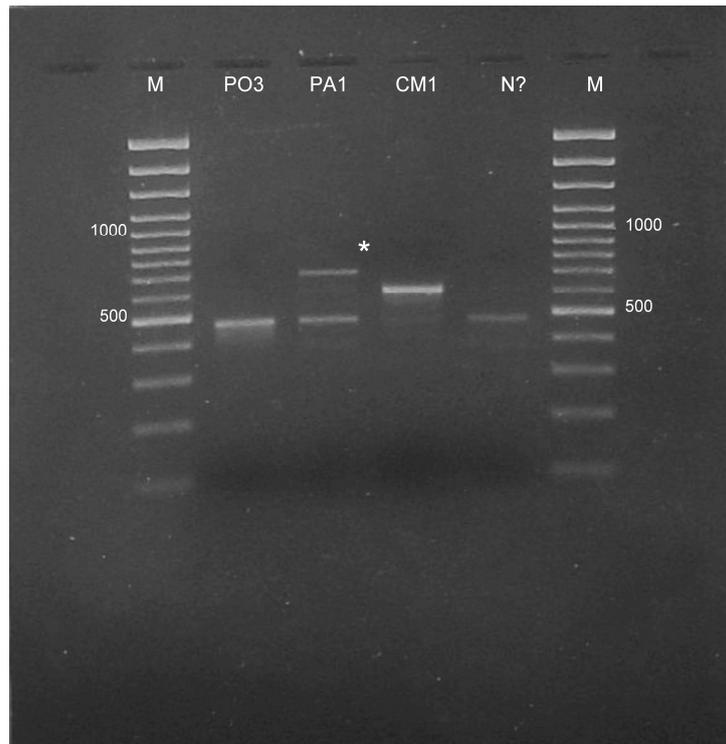


Abbildung 13: Ergebnis der Amplifikation des ITS-2 Markers mit der Primerkombination 2b/2rD3. Die seitlichen Zahlen geben die Größe des Längenstandards in Basenpaaren an. M = Marker (GeneRuler 100 bp DNA Ladder plus, Fermentas, St. Leon-Rot), * = unspezifische Bande.

3.7.2.3 Amplifikation des mt COI Markers

Mit der Primerkombination COX1F und COX1R konnte bei Proben aus den Infraordnungen Ascaridomorpha und Rhabditomorpha ein ca. 450 bp langes Teilstück der Untereinheit I der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase amplifiziert werden. Bei Proben aus den Infraordnungen Spiruromorpha und Trichinellida konnte keine geeignete Primerkombination zur Amplifikation der mt COI Genregion gefunden werden.

Die Abbildung 14 zeigt das Ergebnis der Amplifikation der mt COI Genregion der Proben HV1, PO3, PO4 und PO5.

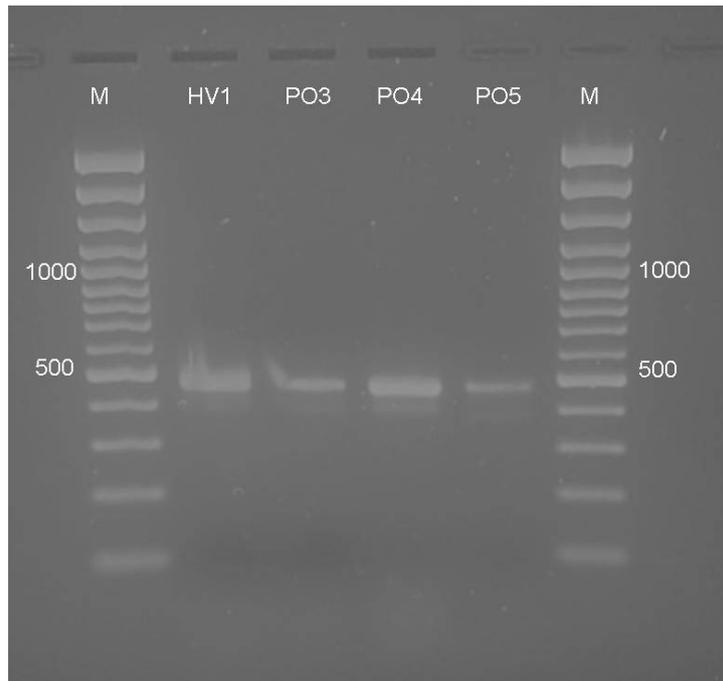


Abbildung 14: Ergebnis der Amplifikation der mt COI Genregion mit der Primerkombination COX1F/COX1R. Die seitlichen Zahlen geben die Größe des Längenstandards in Basenpaaren an. M = Marker (GeneRuler 100 bp DNA Ladder plus, Fermentas, St. Leon-Rot)

3.8 Single-strand conformation polymorphism

Mit den ITS-2 PCR Produkten folgender Proben wurde zur Artidentifizierung eine SSCP Analyse durchgeführt:

- 13 Probenpools mit Nematodenlarven aus der Brustmuskulatur verschiedener Greifvögel,
- Probe SP1: eine eingekapselte Nematodenlarve, die an der Darmwand eines Habichts (Sektionsnummer BW 9587) gefunden wurde,
- Probe N?: ein morphologisch nicht identifizierbarer Nematode aus einem Wespenbussard (Sektionsnummer BW 197/2001).

Die ITS-2 PCR Fragmente spalteten sich im SSCP Gel in zwei bis sieben einzelsträngige DNA Banden auf. Die Referenzproben bildeten charakteristische und reproduzierbare Bandenmuster. Nur die SSCP Banden der beiden Spulwurmarten *Porrocaecum angusticolle* und *P. depressum* waren identisch. Intraspezifische Unterschiede im SSCP Bandenmuster der Referenzproben konnten nicht festgestellt werden.

Bei der SSCP Analyse konnten übereinstimmende Bandenmuster von Nematodenlarven und Referenzproben identifiziert werden. Die Abbildung 15 zeigt als Beispiel das Bandenmuster der SSCP Analyse der Probenpools P48, P4 und P47. Pool 48 und Pool 4 bilden das gleiche Bandenmuster wie die Referenzprobe SL, während die SSCP Banden von Pool 47 mit der Referenzprobe PO übereinstimmen. Die Nematodenlarven aus Pool 48 und 4 wurden deshalb als *Synhimantus laticeps* und die Nematodenlarven aus Pool 47 als *Porrocaecum* sp. identifiziert.

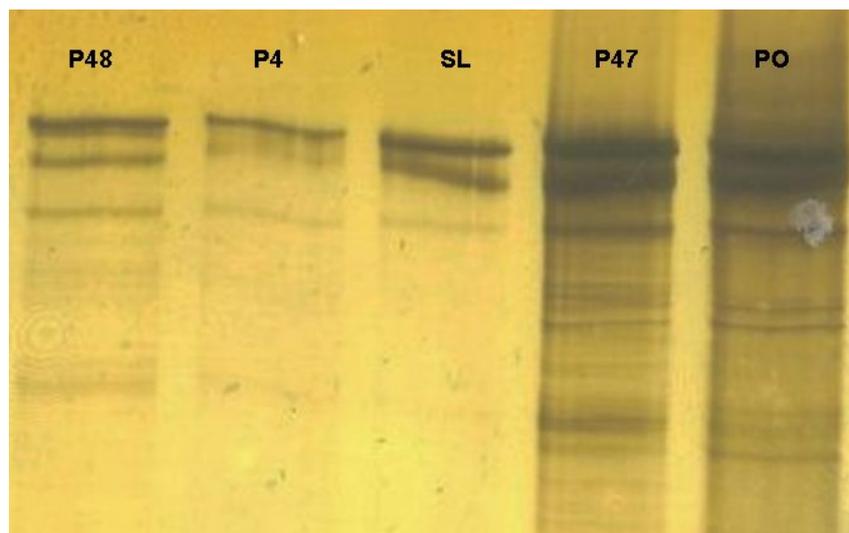


Abbildung 15: SSCP Analyse der Probenpools P48, P4 und P47. Pool P48 und P4 zeigen übereinstimmende Bandenmuster mit der Referenzprobe SL (*Synhimantus laticeps*), Pool 47 mit der Referenzprobe PO (*Porrocaecum* sp.).

Zur Kontrolle der SSCP Analyse wurden die Banden der Nematodenlarven aus dem Polyacrylamidgel ausgeschnitten, mit den Primern 2b/2rD3 reamplifiziert und sequenziert. Die so erhaltenen Sequenzen wurden mit den ITS-2 Sequenzen der Referenzproben verglichen. Das Ergebnis der SSCP Analyse sowie die Übereinstimmung der ITS-2 Sequenzen von Larven und Referenzproben in Prozent ist in Tabelle 23 aufgeführt. Das Alignment der ITS-2 Sequenzen von Nematodenlarven und Referenzproben befindet sich in Tabelle 41 im Anhang. Aufgrund der 94,2% Übereinstimmung der Sequenzen wurde die Larven aus Pool 37 und 47 als *Porrocaecum angusticolle* identifiziert.

Tabelle 23: Ergebnis der SSCP Analyse: übereinstimmende Bandenmuster von Probenpools und Referenzproben sowie Übereinstimmung in Prozent der ITS-2 Sequenzen von Nematodenlarven und Referenzproben. Die SSCP Banden aus Pool 35 und Pool 49 konnten nicht reamplifiziert werden.

Probennummer	Wirt	entspricht dem SSCP Bandenmuster von	Übereinstimmung der Sequenzen mit	Sequenzübereinstimmung in Prozent
Pool 4	Seeadler	SL	SL10 (Sperber)	65,2
Pool 31	Sperber	SL	SL4 (Sperber)	96,9
Pool 32	Sperber	SL	SL8 (Fischadler)	90,1
Pool 33	Sperber	SL	SL4 (Sperber)	100
Pool 35	Rohrweihe, Wiesenweihe	SL	-	-
Pool 36	Mäusebussard	SL/CM	Bande A: CM2 (Rotmilan) Bande B und C: SL5 (Wanderfalke)	Bande A: 79,5 Bande B: 99,8 Bande C: 100
Pool 37	Mäusebussard	PO	PO5 (Rauhfußbussard)	94,2
Pool 40	Mäusebussard	SL	SL4 (Sperber)	99,7

Pool 47	Habicht	PO	PO1 (Sperber)	99,1
Pool 48	Habicht	SL	SL10 (Sperber)	96,6
Pool 49	Habicht	SL	-	-
Pool 50	Wanderfalke	SL	SL4 (Sperber)	99,8
Pool 53	Turmfalke	SL	SL6 (Rauhfußbussard)	89,5
SP1	Habicht	SL	SL2 (Habicht)	81,1
N?	Wespenbussard ?		<i>Onchocerca volvulus</i> (NCBI Sequenz DQ317666)	59,6

Die SSCP Banden des Probenpools 36 bildeten eine Mischung von Banden der Referenzproben *Cyrtia mansioni* und *Synhimantus laticeps* (Abbildung 16). Die Sequenzanalyse der aus dem Gel ausgeschnittenen reamplifizierten Banden bestätigt dieses Ergebnis. Die obere SSCP Bande (Bande A) stimmt zu 79,5% mit der Sequenz von CM überein, die unteren Banden (Banden B und C) zu 99,8 bzw. 100% mit der Sequenz von SL. Im Probenpool 36 befanden sich ursprünglich zwei Nematodenlarven, bei denen es sich nach dem Ergebnis der SSCP Analyse um Larven der Art *Cyrtia mansioni* und *Synhimantus laticeps* handelt. Beide Nematodenlarven konnten im SSCP Gel detektiert werden.

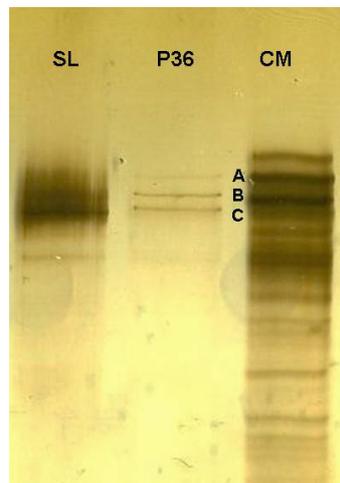


Abbildung 16: SSCP Banden des ITS-2 PCR Produktes aus dem Probenpool P36. Die Banden bilden eine Mischung der Referenzbanden von *Synhimantus laticeps* (SL) und *Cyrtia mansioni* (CM). Reamplifizierung und Sequenzierung der Banden ergab übereinstimmende Sequenzen der Bande A mit der Sequenz von CM und der Banden B und C mit der Sequenz von SL.

Das Bandenmuster der Probe N? ist in Abbildung 17 dargestellt. Es stimmt mit keinem Bandenmuster der Referenzproben überein.

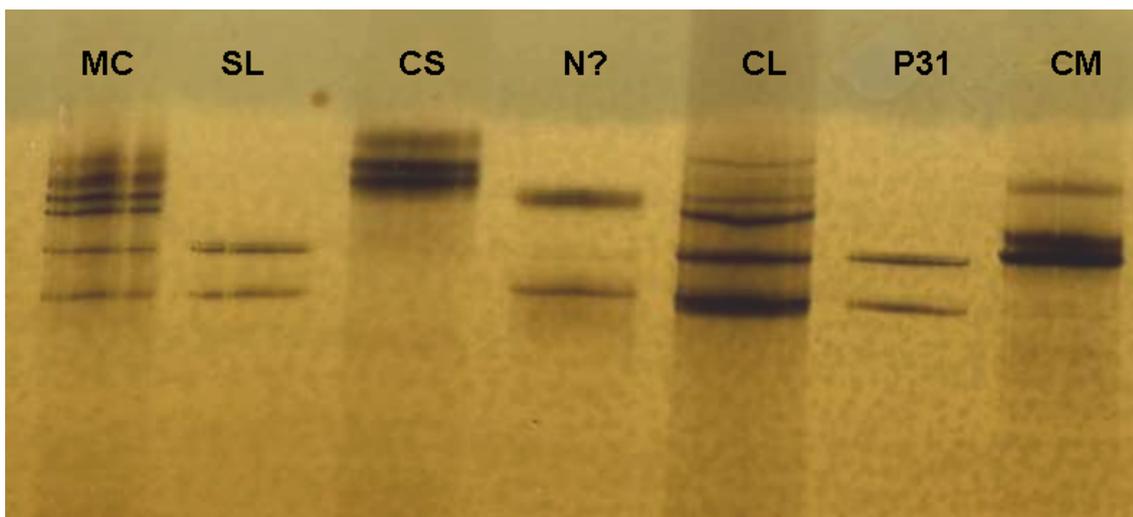


Abbildung 17: SSCP Bandenmuster der Proben N? und P31. Das Bandenmuster von N? stimmt mit keiner Referenzprobe überein, das Bandenmuster von P31 ist identisch mit der Referenzprobe SL. Zum Vergleich sind auf der Abbildung die Bandenmuster der Referenzproben *Microtetrameres cloacitectus* (MC), *Synhimantus laticeps* (SL), *Cyrnea seurati* (CS), *C. leptoptera* (CL) und *C. mansioni* (CM) dargestellt.

Die Reamplifizierung und Sequenzierung der ausgeschnittenen Banden der Probe N? erbrachte ebenfalls keine Übereinstimmung mit den Referenzsequenzen. Die ITS-2 Sequenz von N? wurde deshalb mit Sequenzen aus der NCBI Genbank verglichen.

Aus der NCBI Datenbank wurde als nächster Verwandter mit 59,6% Sequenzübereinstimmung die ITS-2 Sequenz von *Onchocerca volvulus* aus der Familie der Onchocercidae ermittelt. Die Familie der Onchocercidae gehört in die Überfamilie der Filarioidea innerhalb der Infraordnung Spiruromorpha. Die Probe N? kann also aufgrund der SSCP Analyse und Sequenzierung der ITS-2 Sequenz der Gruppe der Filarien zugeordnet werden und wird deshalb in der weiteren Arbeit als Probe F bezeichnet.

3.9 Sequenzanalyse

3.9.1 Sequenzanalyse der partiellen mt COI Genregion der Greifvögel

3.9.1.1 Sequenzlängen und Basenzusammensetzung

In Tabelle 24 sind die Sequenzlängen in Basenpaaren und der G+C Gehalt in Prozent der partiellen mt COI Genregion der Greifvögel aufgeführt. Die Sequenzen von Habicht, Wespenbussard, Merlin und Rohrweihe wurden von der NCBI Datenbank übernommen.

Tabelle 24: Länge in bp und G+C Gehalt in Prozent der partiellen mt COI Gensequenzen der Greifvögel

Art	Länge (bp)	G+C(%)
Wanderfalke	648	46,6
Baumfalke	769	50,7
Sperber	678	45,0

Wiesenweihe	703	47,9
Mäusebussard	701	50,4
Rauhfußbussard	702	50,3
Seeadler	660	50,8
Schwarzmilan	665	48,4
Rotmilan	678	50,4
Fischadler	630	47,0

Die durchschnittliche Länge aller partiellen mt COI Sequenzen beträgt 683 bp, wobei der Baumfalke mit 769 bp die längste Gensequenz besitzt. Die kürzeste partielle mt COI Sequenz findet sich beim Fischadler mit 630 bp. Innerhalb der Familie der Accipitridae sind die Sequenzlängen etwas konstanter, sie betragen zwischen 660 Basenpaare beim Seeadler und 703 Basenpaare bei der Wiesenweihe.

Der durchschnittliche G+C Gehalt der Sequenzen beträgt 48,75%. Den niedrigsten G+C Gehalt von 45,0% hat die Sequenz des Sperbers, den höchsten G+C Gehalt von 50,8% der Seeadler.

3.9.1.2 Interspezifische Variabilität

Die Sequenzunterschiede in Prozent des partiellen mt COI Gens der Greifvögel sind in Tabelle 36 im Anhang aufgeführt. Die genetischen Distanzen wurden auf Grundlage des Kimura-2-Parameters mit dem Modus pairwise deletion berechnet.

Der durchschnittliche Unterschied aller Sequenzen liegt bei 16,9%. Nach dieser Analyse sind Rotmilan und Schwarzmilan sowie Mäusebussard und Rauhfußbussard am engsten miteinander verwandt. Bei beiden Paaren wurde eine genetische Distanz von 1,7% ermittelt. Die höchsten genetischen Distanzen wurden zwischen Sperber und Baumfalke mit 26,6% Unterschied errechnet.

Innerhalb der Familie der Falconidae beträgt die durchschnittliche genetische Distanz 7,2%, wobei Merlin und Baumfalke den geringsten Sequenzunterschied von 4,4% aufweisen. Der größte Sequenzunterschied mit 10,7% besteht zwischen Merlin und Wanderfalke.

Die Sequenzen der Familie der Accipitridae weichen im Durchschnitt 12,8% voneinander ab. Die geringste genetische Distanz mit 1,7% besitzen Schwarz- und Rotmilan, während Wespenbussard und Sperber mit 21,8% am weitesten voneinander entfernt sind.

Der Fischadler, der einzige Vertreter der Familie der Pandionidae, ist in dieser Analyse mit 15,2% Sequenzunterschied am engsten mit dem Wespenbussard verwandt. Die weiteste genetische Distanz besteht zwischen Fischadler und Sperber mit 24,4%.

3.9.2 Sequenzanalyse der molekularen Marker der Nematoden

3.9.2.1 Sequenzlängen und Basenzusammensetzung

Die Tabelle 25 gibt eine Übersicht über die Länge in Basenpaaren und die Basenzusammensetzung in Prozent der 18S, ITS-2 und mt COI Sequenzen der Nematoden. Insgesamt wurden 38 18S Sequenzen, 38 ITS-2 Sequenzen und sechs partielle mt COI Sequenzen analysiert.

Tabelle 25: Länge in bp und G+C Gehalt in Prozent der 18S, ITS-2 und mt COI Gensequenzen der Nematoden

Art	18S		ITS-2		mt COI	
	Länge (bp)	G+C(%)	Länge (bp)	G+C (%)	Länge (bp)	G+C (%)
CL1	1716	49,2	597	38,5	-	-
CM1	-	-	618	38,7	-	-
CM2	1716	49,2	540	41,3	-	-
CM3	1720	49,2	625	37,4	-	-
CM4	1716	49,1	601	38,8	-	-
CM5	1716	49,2	-	-	-	-
CM6	1716	49,4	-	-	-	-
CM7	1716	49,5	-	-	-	-
CM8	1716	49,2	-	-	-	-
CS1	1720	49,3	492	39,0	-	-
CS2	1720	49,3	493	37,9	-	-
CS3	1720	49,6	493	37,9	-	-
CT1	1767	50,2	-	-	-	-
ED1	1767	49,9	-	-	-	-
ED3	1767	49,9	-	-	-	-
ED4	1766	50,0	-	-	-	-
ED5	1767	50,0	-	-	-	-
Filarie	1724	48,1	487	36,3	-	-
HV1	1682	47,2	313	42,5	405	34,3
HV2	-	-	-	-	410	36,8
MC1	1724	49,4	669	39,8	-	-
PA1	1716	49,4	714	40,8	-	-
PA2	1717	49,2	-	-	-	-
PO1	1715	49,3	490	42,9	-	-
PO2	1715	49,4	454	43,6	-	-
PO3	1715	49,4	448	42,9	409	37,2
PO4	1715	49,4	489	42,7	414	37,4
PO5	1715	49,6	469	42,9	413	37,5
PO6	1715	49,4	470	43,0	414	37,0
PO7	-	-	435	43,0	-	-
PO8	-	-	445	43,4	-	-
PO9	-	-	470	43,4	-	-
PO10	-	-	470	43,0	-	-
PO11	-	-	431	44,8	-	-
PO12	-	-	489	42,7	-	-
PP1	1717	49,3	720	37,2	-	-
SH1	1721	49,8	453	44,4	-	-
SH2	1718	49,8	-	-	-	-

SL1	1718	49,6	500	42,4	-	-
SL2	1718	49,8	483	43,1	-	-
SL3	1718	49,9	496	42,3	-	-
SL4	1718	50,1	484	42,9	-	-
SL5	1718	49,8	481	42,6	-	-
SL6	1718	49,7	494	42,7	-	-
SL7	-	-	485	42,3	-	-
SL8	-	-	485	43,3	-	-
SL9	-	-	470	43,6	-	-
SL10	-	-	490	42,6	-	-
SL11	1721	49,8	435	44,1	-	-
ST1	1728	47,7	409	42,1	-	-

Die Sequenzlängen und der G+C Gehalt der stark konservierten 18S Sequenzen sind sehr konstant, die durchschnittliche Sequenzlänge liegt bei 1724 bp. Die Sequenzlängen reichen von 1682 bp bei *Hovorkonema variegatum* (HV1) bis 1767 bp bei *Eucoleus dispar* (ED5, ED3) und *Capillaria tenuissima* (CT1). Die intraspezifischen Längenunterschiede betragen maximal eine Base, mit Ausnahme der 18S Sequenzen von *Cyrnea mansioni*. Die 18S Sequenzen der Proben CM2, CM4, CM5, CM6, CM7 und CM8 von *C. mansioni* sind alle 1716 bp lang. Nur die Sequenz der Probe CM3 besitzt 1720 Basenpaare.

Der G+C Gehalt der 18S Sequenzen liegt zwischen 47,2% bei HV1 und 50,2% bei CT1, der durchschnittliche Gehalt beträgt 49,4%.

Länge und G+C Gehalt der ITS-2 Sequenzen sind wesentlich stärker variabel als die der 18S Sequenzen. Die Länge der ITS-2 Genregion liegt zwischen 431 bp bei PO11 und 720 bp bei PP1. Auch innerhalb der Arten existieren unterschiedliche Sequenzlängen. Die ITS-2 Sequenz der Proben von *C. mansioni* besitzen zwischen 540 und 625 Basenpaare, die ITS-2 Sequenzen von *Synhimantus laticeps* zwischen 435 bis 500 bp. Konstanter sind die Sequenzlängen von *C. seurati* mit 492 bzw. 493 bp.

Der durchschnittliche G+C Gehalt der ITS-2 Marker ist niedriger als der der 18S Sequenzen. Die Sequenz der Filarie besitzt den niedrigsten G+C Gehalt von 36,3%. Der höchste G+C Gehalt von 44,8% wurde bei der Probe PO11 gefunden. Der durchschnittliche G+C Gehalt liegt bei *Cyrnea mansioni* bei 39,1%, bei *C. seurati* bei 38,3% und bei *Synhimantus laticeps* bei 42,9%. *S. laticeps* weist die konstantesten innerartlichen G+C Gehalte mit einer Schwankungsbreite von 1,8% auf. Am variabelsten sind die innerartlichen G+C Werte bei *C. mansioni* mit 3,9% Unterschied.

Innerhalb der Gattung *Porrocaecum* betragen die Sequenzlängen zwischen 431 (PO11) und 490 bp (PO1), der G+C Gehalt liegt zwischen 42,7% (PO12, PO4) und 44,8% (PO11).

Die partielle mt COI Genregion ist bei den Ascaridomorpha und Rhabditomorpha relativ konstant. Sie ist zwischen 405 (HV1) und 414 (PO4, PO6) bp lang. Den niedrigsten G+C Gehalt besitzt die Probe HV1, den höchsten G+C Gehalt von 37,5% die Probe PO5.

3.9.2.2 Interspezifische Variabilität der 18S Sequenzen

Die genetischen Distanzen der molekularen Marker der Nematoden wurden mit den Parametern K2P und pairwise deletion berechnet. Die Sequenzunterschiede der 18S Genregionen in Prozent befinden sich in Tabelle 37 im Anhang.

Die Sequenzen der 18S Marker aller greifvogelparasitierenden Nematoden unterscheiden sich durchschnittlich um 12,9%. Mit diesen relativ geringen genetischen Distanzen ist der stark konservierte genetische Marker in der Lage, weit entfernte Verwandtschaftsverhältnisse aufzulösen.

Die geringsten genetischen Distanzen finden sich innerhalb der Infraordnung Ascaridomorpha. Sie betragen im Durchschnitt 1,0%. Die Sequenzvariabilität innerhalb der Infraordnungen Spiruromorpha und Rhabditomorpha ist mit 3,0% bzw. 3,1% ebenfalls gering, während die Nematoden der Infraordnung Trichinellida Sequenzunterschiede von 15,6% aufweisen.

Die innerartlichen Sequenzunterschiede sind sehr gering. Zur Untersuchung intraspezifischer Sequenzunterschiede wurde deshalb der ITS-2 Marker eingesetzt.

3.9.2.3 Intraspezifische Variabilität der ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha

In der Tabelle 38 im Anhang sind die genetischen Distanzen der ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha berechnet. Die durchschnittliche genetische Distanz in dieser Gruppe beträgt 47,9%. Dieser hohe Wert zeigt, dass die hochvariablen ITS-2 Sequenzen nur zur Analyse enger Verwandtschaftsverhältnisse geeignet sind. Die ITS-2 Sequenzen in der Infraordnung Spiruromorpha sind zu variabel, um Verwandtschaftsverhältnisse auf Familienebene aufzulösen. Deshalb werden mit den ITS-2 Markern in dieser Studie nur intraspezifische Unterschiede analysiert.

Am homogensten stellt sich hier die Art *Cyrnea seurati* mit durchschnittlich nur 1,0% Sequenzunterschieden dar. Geringe genetische Distanzen von 4,8%, bzw. 4,4% besitzen die analysierten Nematoden *Synhimantus laticeps* und *Physaloptera alata*. Deutlicher unterscheiden sich die innerartlichen Sequenzen von *Serratospiculum tendo* mit 18,5%, *Microtetrameres cloacitectus* mit 19,5% und *C. mansioni* mit 20,2%.

3.9.2.4 Intra- und interspezifische Variabilität der ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha

Die Sequenzunterschiede der ITS-2 Marker der Ascaridomorpha sind in Tabelle 39 im Anhang aufgeführt. Die durchschnittliche genetische Distanz der analysierten Ascaridomorpha beträgt 13,8%. Innerhalb der Gattung *Porrocaecum* wurde ein durchschnittlicher Sequenzunterschied von 5,8% berechnet. Der intraindividuelle Sequenzunterschied beträgt bei *P. angusticolle* 2,4%, bei *P. depressum* 4,5%. Die Sequenz der Probe PO12 ist identisch mit der ITS-2 Sequenz von *P. angusticolle*, die der NCBI Datenbank entnommen wurde. Der größte Sequenzunterschied innerhalb der Gattung *Porrocaecum* befindet sich zwischen den Proben *P. depressum* PO8 und *P. angusticolle* PO10, er beträgt 13,0%.

3.9.2.5 Intraindividuelle Variabilität der ITS-2 Sequenzen

Um die intraspezifischen Unterschiede der hochvariablen ITS-2 Sequenzen interpretieren zu können, sollten diese deutlich größer sein als eventuell vorhandene Unterschiede der verschiedenen ITS-2 Kopien innerhalb eines Individuums. Zur Überprüfung der intraindividuellen Sequenzunterschiede wurde deshalb von jeder Spezies aus der Gruppe der spiruriden Nematoden ein ITS-2 Amplifikat kloniert und je fünf Klone

analysiert. Die ITS-2 Sequenzunterschiede innerhalb eines Individuums sind in der Tabelle 26 jeweils den intraspezifischen Sequenzunterschieden gegenübergestellt. Von *Cyrnea leptoptera* und der Filarie wurde jeweils nur ein Nematode analysiert, deshalb können keine intraspezifischen Sequenzunterschiede angegeben werden. Die intraindividuellen Sequenzunterschiede betragen bei *C. leptoptera* 2,0% und bei der Filarie 6,9%.

Tabelle 26: Intraspezifische und intraindividuelle ITS-2 Sequenzunterschiede der spiruriden Nematoden in Prozent. Es wurden je fünf Klone des ITS-2 Amplifikates eines Individuums analysiert. In Klammern hinter dem intraindividuellen Sequenzunterschied ist jeweils die klonierte Probe angegeben.

Art	Intraspezifischer ITS-2 Sequenzunterschied in %	Intraindividueller ITS-2 Sequenzunterschied in %
<i>Cyrnea mansioni</i>	20,2	0,8 (CM1)
<i>Cyrnea seurati</i>	1,0	1,8 (CS1)
<i>Microtetrameres cloacitectus</i>	19,5	0,4 (MC1)
<i>Physaloptera alata</i>	4,4	3,3 (PA1)
<i>Serratospiculum tendo</i>	18,5	1,6 (ST1)
<i>Synhimantus laticeps</i>	4,8	0,2 (SL7)

Die intraspezifischen Sequenzunterschiede sind bei den meisten Nematoden um mehr als den zehnfachen Wert größer als die intraindividuellen Sequenzunterschiede. Bei *Physaloptera alata* sind die intraindividuellen Sequenzunterschiede zwar niedriger als die intraspezifischen, liegen aber im gleichen Größenbereich. Bei *Cyrnea seurati* hingegen sind die intraindividuellen Sequenzunterschiede sogar größer als die interspezifischen. Beide sind jedoch mit 1,8% bzw. 1,0% sehr gering. Bei diesen zwei Nematodenarten kann also bei der phylogenetischen Analyse nicht klar zwischen interspezifischen und intraindividuellen Sequenzunterschieden differenziert werden.

3.9.2.6 Intra- und interspezifische Variabilität der mt COI Sequenzen

In der Tabelle 40 im Anhang sind die genetischen Distanzen der partiellen mt COI Genregionen der Ascaridomorpha und Rhabditomorpha berechnet. Der durchschnittliche Sequenzunterschied aller Sequenzen beträgt bei dieser Analyse 12,4%, wobei der geringste genetische Unterschied mit 0,6% zwischen den Proben der zwei Arten PO3 und HV2 zu finden ist. Anhand der variablen partiellen mt COI Genregion kann nicht klar zwischen den unterschiedlichen Nematodenarten differenziert werden. Im Durchschnitt betragen die Sequenzunterschiede zwischen Sequenzen der Gattung *Porrocaecum* 3,2%, und zwischen den zwei Sequenzen der Art *Hovorkonema variegatum* 9,0%.

3.10 Phylogenetische Analyse

3.10.1 Phylogenetische Analyse der mt COI Sequenzen der Greifvögel

Für die phylogenetische Analyse der Greifvögel wurden die sequenzierten partiellen mt COI Genregionen verwendet. Zusätzlich wurden die Sequenzen von Habicht, Rohrweihe, Merlin und Wespenbussard der NCBI Genbank entnommen. Die Zugangs-

nummern aller aus der Genbank verwendeten Sequenzen befinden sich im Anhang in Tabelle 35. Da die Amplifikation der partiellen mt COI Region beim Turmfalke kein Ergebnis brachte und auch keine entsprechende Sequenz in der Datenbank zu finden war, konnte der Turmfalke nicht in diese Analyse mit aufgenommen werden. Als Außengruppe wurde die Sequenz des Haussperlings (*Passer domesticus*) verwendet. Um einen einheitlichen Datensatz mit den aus der Datenbank entnommenen Sequenzen zu erstellen, wurden die eigenen Sequenzen auf 350 Basenpaare gekürzt. Das der Berechnung zugrunde liegende Alignment befindet sich im Anhang in Tabelle 42. Die Abbildung 18 zeigt das mit der Maximum Parsimony Methode berechnete Phylogramm der Greifvögel. An den Ästen des Phylogramms sind jeweils die Bootstrapwerte angegeben.

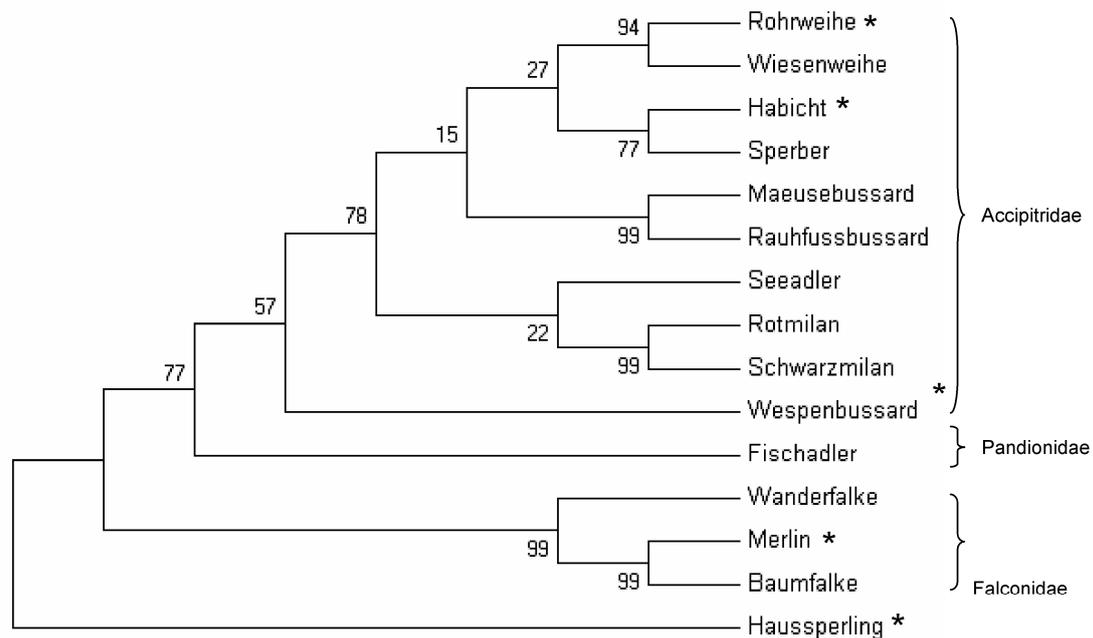


Abbildung 18: Maximum-Parsimony Analyse der partiellen mt COI Sequenzen der Greifvögel, 1000 Bootstrapwiederholungen. Als Außengruppe wurde die Sequenz des Haussperlings verwendet. * = NCBI Sequenz.

Die höheren Aufzweigungen werden nur schwach durch niedrige Bootstrapwerte unterstützt. Die partiellen mit COI Sequenzen sind zu variabel, um entfernte Verwandtschaftsverhältnisse darstellen zu können. Dennoch stimmt die Analyse mit der aktuell anerkannten Systematik der Greifvögel überein, die auf morphologischen und genetischen Untersuchungen beruht (WINK & SAUER-GÜRTH, 2004).

3.10.2 Phylogenetische Analyse der 18S Sequenzen der Nematoden

Die Abbildung 19 zeigt die Neighbor-Joining Analyse der 18S Sequenzen der Nematoden. Bootstrapwerte unter 50 werden in dieser Abbildung nicht angegeben. Das der Analyse zugrunde liegende Alignment befindet sich in Tabelle 43 im Anhang. Für die Analyse standen 38 Sequenzen zur Verfügung. Um die systematische Zuordnung dieser Sequenzen zu überprüfen, wurden aus der NCBI Datenbank die Sequenzen nahe verwandter Arten mit in die Analyse hinzugenommen. Die Sequenzen sind jeweils mit der Abkürzung des Artnamens des Nematoden, der Probennummer, Abkürzung des Wirtes und der Herkunftsregion des Wirtes gekennzeichnet.

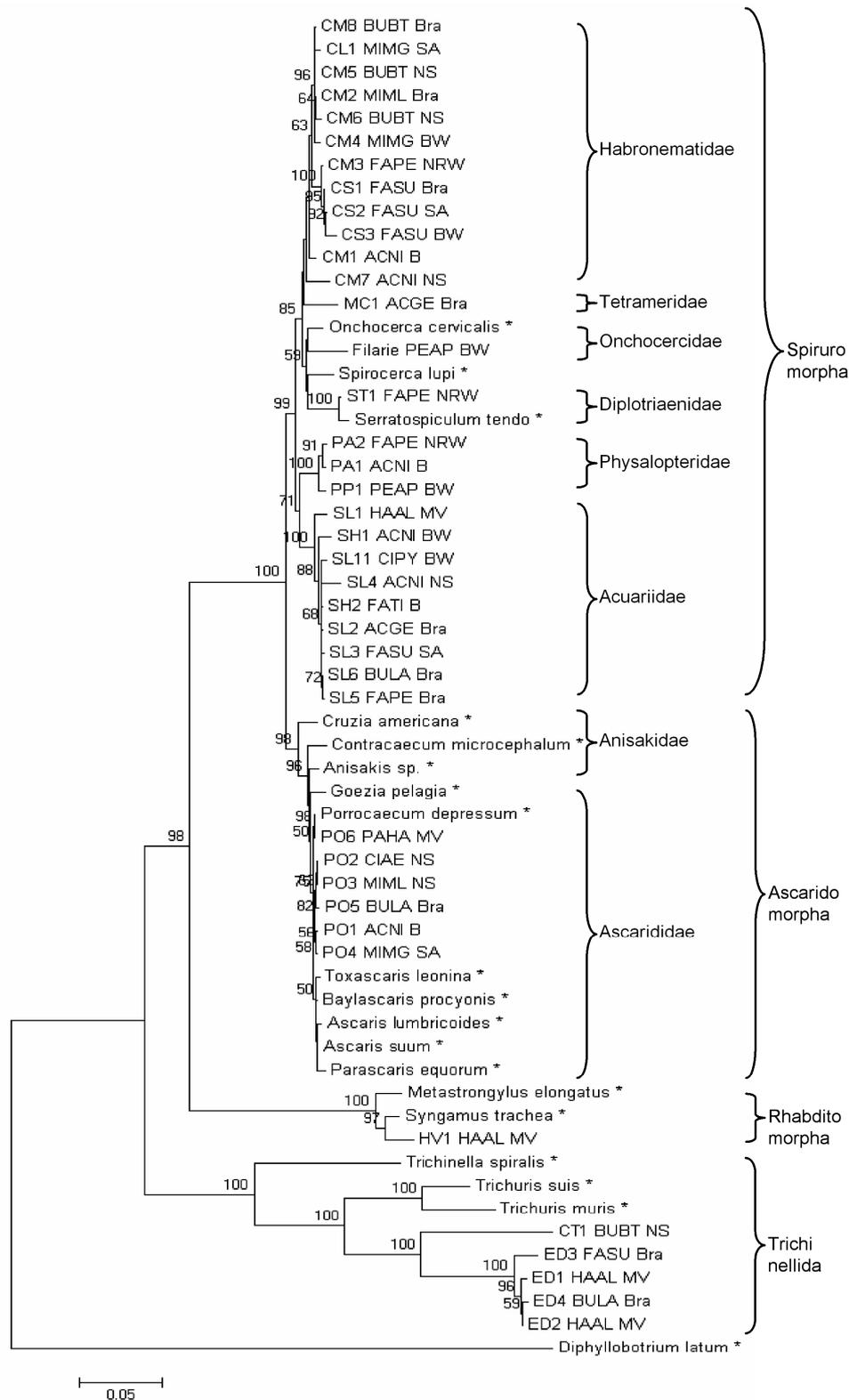


Abbildung 19: Neighbor-Joining Analyse der 18S Sequenzen der Nematoden, K2P-Parameter, 1000 Bootstrapwiederholungen. Bootstrapwerte unter 50 sind nicht angegeben. Die Sequenzen sind jeweils mit Abkürzung des Artnamens des Nematoden, der Probennummer, Abkürzung des Wirtes und der Herkunftsregion des Wirtes gekennzeichnet. Als Außengruppe wurde der Bandwurm *Diphyllobotrium latum* verwendet. * = NCBI Sequenz.

Die Einordnung der Nematoden in die vier Infraordnungen Spiruromorpha, Ascaridomorpha, Rhabditomorpha und Trichinellida ist klar zu erkennen und wird mit hohen Bootstrapwerten unterstützt. Die beiden Infraordnungen Spiruromorpha und Ascaridomorpha sind nur durch geringe genetische Distanzen getrennt, ebenso die unterschiedlichen Familien innerhalb dieser Ordnungen.

Die verschiedenen Individuen der Spezies *Cyrnea mansioni* bilden eine inhomogene Gruppe. Die zwei Individuen CM1 und CM7, die beide aus Sperbern isoliert wurden, stehen innerhalb der Gattung *Cyrnea* ancestral, während das Individuum CM3, das aus einem Wanderfalken stammt, mit den Proben der Spezies *C. seurati* zusammenclustert. Die Stellung von *C. leptoptera* (CL1) als eigene Spezies wird in dieser Analyse nicht unterstützt. CL1 bildet mit den Proben CM8, CM5, CM2, CM6 und CM4 der Art *C. mansioni* ein Cluster.

Der Vergleich der 18S Sequenz der Filarie mit den publizierten Sequenzen aus der NCBI Datenbank ergab ebenso wie der Sequenzvergleich der ITS-2 Sequenzen *Onchocerca cervicalis* aus der Familie der Onchocercidae, Superfamilie Filarioidea, Infraordnung Spiruromorpha als nächsten Verwandten. Die Übereinstimmung der beiden 18S Sequenzen beträgt 95,1%, d.h. der Sequenzunterschied beträgt 4,9%. Auch in der phylogenetischen Analyse der 18S Sequenzen gruppiert sich die Filarie mit *O. cervicalis*, einem Fadenwurm, der in Pferden parasitiert, als nächsten Verwandten zusammen.

Innerhalb der Gattung *Synhimantus* steht SL1 ancestral. Die beiden Arten *Synhimantus hamatus* und *Synhimantus laticeps* können wegen der geringen genetischen Distanzen nicht voneinander abgegrenzt werden.

Die nur auf Gattungsebene bestimmten Exemplare des Spulwurms *Porrocaecum* spalten sich in zwei Gruppen auf, deren genetischer Abstand jedoch sehr gering ist. Das Individuum PO6 ist in dieser Analyse genetisch näher verwandt mit *Porrocaecum depressum* als die anderen Exemplare. Eine Vergleichssequenz von *P. angusticolle* konnte in der Datenbank nicht gefunden werden.

Innerhalb der Spezies *Eucoleus dispar* steht das Individuum ED3, das aus einem Mäusebussard isoliert wurden, ancestral zu den anderen drei Exemplaren, die ein Cluster mit nur geringen innerartlichen Unterschieden bilden.

Die genetischen Distanzen innerhalb der Infraordnungen Spiruromorpha und Ascaridomorpha sind zu gering, um die Verwandtschaftsverhältnisse auf Gattungs- oder Artenebene auflösen zu können. Die Aufzweigungen innerhalb der Familienebene werden zum Teil nur mit geringen Bootstrapwerten unterstützt. Für die Analyse enger Verwandtschaftsverhältnisse auf Gattungs- oder Artebene ist die 18S Sequenz nicht variabel genug. Dies wird deutlich bei der Stellung von CL1 innerhalb des Clusters der *C. mansioni* Isolate und der Eingruppierung von SH2 innerhalb der SL Sequenzen.

3.10.2.1 Cospeziation zwischen Greifvögeln und Nematoden

Die Abbildung 20 zeigt eine Zusammenfassung des in dieser Studie ermittelten Nematodenspektrums der Greifvögel. Im linken Teil der Abbildung ist der Maximum Parsimony Stammbaum der Greifvögel abgebildet, im rechten Teil die Topologie des 18S Neighbor-Joining Stammbaums der Nematoden. Um die Abbildung übersichtlicher zu gestalten, sind die Astlängen des Neighbor-Joining Stammbaumes nicht proportional zum Nukleotidsubstitutionsmuster dargestellt. Die Verbindungslinien zwischen den Greifvögeln und den Parasiten symbolisieren Assoziationen zwischen Wirt und dem jeweiligen Nematoden, wie sie bei den Sektionen gefunden wurden.

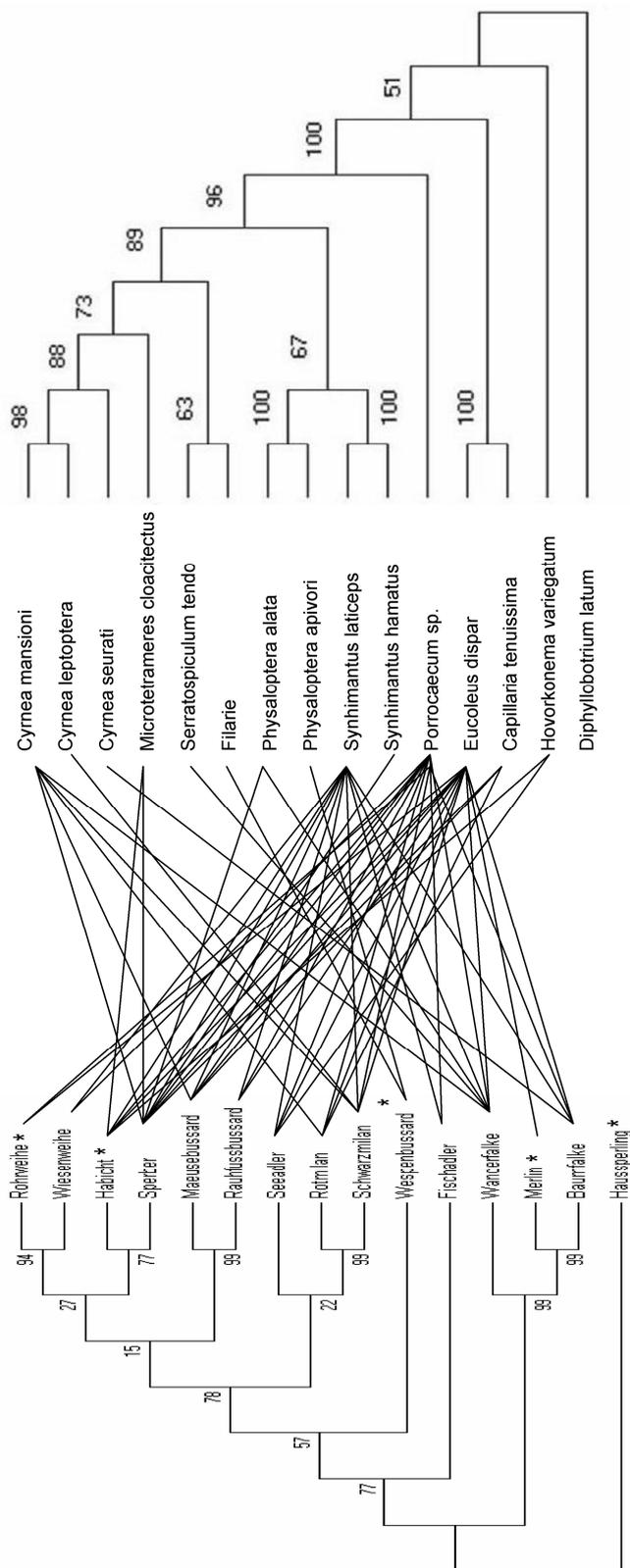


Abbildung 20: Parasitenspektrum der Greifvögel. Links der Maximum Parsimony Stammbaum der Greifvögel. Im rechten Teil der Abbildung die Topologie des Neighbor-Joining Stammbaums (K2P Parameter) der greifvogelspezifischen Nematoden. Die Astlängen des Neighbor-Joining Stammbaumes entsprechen nicht dem Nukleotidsubstitutionsmuster. Beide Stammbäume wurden mit 1000 Bootstrapwiederholungen getestet. Die Verbindungslinien symbolisieren Assoziationen zwischen Wirt und Parasit. Als Außengruppen wurden bei den Greifvögeln der Haussperling *Passer domesticus* und bei den Nematoden der Bandwurm *Diphyllobotrium latum* verwendet.

Zu erkennen ist die geringe Wirtsspezifität der Nematoden. Die Generalisten *Porrocaceum* sp. und *Eucoleus dispar* parasitieren fast jede der unterschiedlichen Greifvogelarten. Aus der Gruppe der greifvogelparasitierenden Nematoden sind die Parasiten der Infraordnung Spiruromorpha am wirtsspezifischsten. Die Nematoden *Cyrnea leptoptera*, *C. seurati*, *Serratospiculum tendo*, *Physaloptera apivori* und die Filarie wurden in dieser Studie jeweils nur in einem Wirt nachgewiesen. *C. leptoptera* z. B. wurde in einem Schwarzmilan nachgewiesen, *C. seurati* hingegen in Baumfalken. Die beiden eng verwandten Nematodenarten aus der Gattung *Cyrnea* besitzen relativ weit entfernt verwandte Wirte aus verschiedenen Familien.

3.10.3 Phylogenetische Analyse der ITS-2 Sequenzen der Nematoden

Aufgrund der hohen Variabilität der ITS-2 Sequenzen ist das Alignment und eine nachfolgende phylogenetische Analyse, die die gesamte Gruppe der greifvogelspezifischen Nematoden umfasst, nicht sinnvoll. Deshalb wurden die Infraordnungen Spiruromorpha und Ascaridomorpha jeweils getrennt analysiert.

3.10.3.1 Phylogenetische Analyse der ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha

26 ITS-2 Sequenzen von Nematoden der Infraordnung Spiruromorpha wurden zusammen mit nahe verwandten Sequenzen aus der NCBI Datenbank für eine phylogenetische Analyse verwendet. Das Alignment der ITS-2 Sequenzen ist in Tabelle 44 im Anhang abgebildet, der daraus berechnete phylogenetische Baum in Abbildung 21.

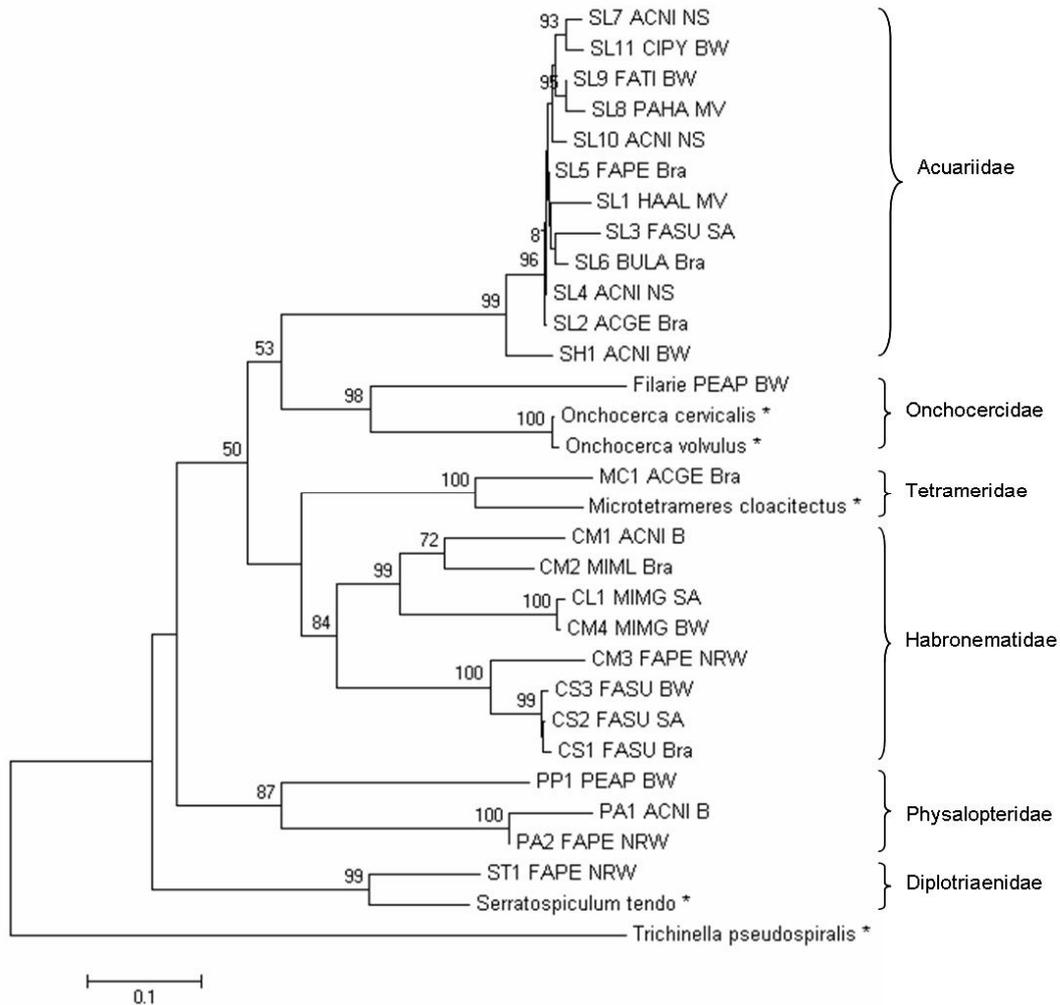


Abbildung 21: Neighbor-Joining Analyse der ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha, K2P-Parameter, 1000 Bootstrapwiederholungen. Bootstrapwerte unter 50 sind nicht angegeben. Die Sequenzen sind jeweils mit Abkürzung des Artnamens des Nematoden, der Probennummer, Abkürzung des Wirtes und der Herkunftsregion des Wirtes gekennzeichnet. Als Außengruppe wurde *Trichinella pseudospiralis* aus der Infraordnung Trichinellida verwendet. * = NCBI Sequenz

Entfernte Verwandtschaftsverhältnisse werden wegen der großen Variabilität der Sequenzen nur durch schwache Bootstrapwerte unterstützt. Auch die interfamiliären genetischen Distanzen sind sehr groß, so dass die ITS-2 Analyse die phylogenetischen Beziehungen auf Familienebene nicht auflösen kann. Die hohe Variabilität erlaubt jedoch eine Analyse der Verwandtschaftsverhältnisse auf Gattungs- und Artebene sowie eine Analyse intraspezifischer Unterschiede. Diese Ebenen des Stammbaums werden durch hohe Bootstrapwerte unterstützt.

Innerhalb der Familie der Acuariidae lassen sich die beiden Nematodenarten *Synhimantus hamatus* und *S. laticeps* voneinander abgrenzen, wobei *S. hamatus* innerhalb der Familie der Acuariidae ancestral steht. Das zweite Individuum SH2 konnte nicht analysiert werden, da die Amplifikation des ITS-2 Gens nicht erfolgreich war.

Ebenso wie die 18S Sequenz clustert die ITS-2 Sequenz der morphologisch nicht bestimmbar Filarie aus einem Wespenbussard zusammen mit Vertretern der Oncho-

cerciden. Auch die Analyse der ITS-2 Sequenz bestätigt also die Einordnung dieses Nematoden in die Überfamilie der Filarien.

Die beiden Sequenzen von *Microtetrameres cloacitectus* aus der Familie der Tetrameridae gruppieren sich zusammen mit den Sequenzen der Gattung *Cyrnea* aus der Familie der Habronematidae. In Übereinstimmung mit der morphologischen Systematik können die Familien Tetrameridae und Habronematidae in die Überfamilie der Habronematoidea eingeordnet werden.

Klar getrennt von den anderen Vertretern der Gattung *Cyrnea* stehen in dieser Analyse die Sequenzen von *Cyrnea seurati*. Ebenso wie in der 18S Analyse gruppiert sich das Exemplar CM3 (*C. mansioni*) aus einem Wanderfalken eng mit den Sequenzen von *C. seurati* zusammen.

Cyrnea leptoptera clustert ebenso wie in der 18S Analyse, aber gegensätzlich zur SSCP PCR, mit der *C. mansioni* Gruppe zusammen. Die Sequenzen von *C. mansioni* bilden zwei klar getrennte Untergruppierungen.

Physaloptera apivori ist deutlich von *P. alata* abgegrenzt. Dies stimmt mit der morphologischen Systematik überein, in der *P. apivori* als eigene Art definiert ist.

Die Betrachtung der innerartlichen Unterschiede lässt keine Rückschlüsse auf cophylogenetische Ereignisse oder phylogeographische Beziehungen zu. Die beiden Individuen CM2 und CM4, die aus den eng miteinander verwandten Wirten Rot- und Schwarzmilan isoliert wurden, stehen in zwei getrennten Untergruppierungen innerhalb der Gattung *Cyrnea*. Auch innerhalb der Gattung *Synhimantus* stammen nah verwandte Nematoden nicht aus eng miteinander verwandten Wirten. Die drei Individuen von *Cyrnea seurati*, welche aus Baumfalken isoliert wurden, die aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands stammen, lassen keine innerartlichen Unterschiede erkennen.

3.10.3.2 Phylogenetische Analyse der ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha

Aus der Gattung *Porrocaecum* wurden die ITS-2 Sequenzen von zwölf Nematoden sequenziert, die alle in unterschiedlichen Wirten gefunden wurden. Morphologisch konnten die Nematoden nur bis auf Gattungsebene bestimmt werden. Für die phylogenetische Analyse der ITS-2 Sequenzen der Spulwürmer *Porrocaecum* wurden aus der NCBI Datenbank die Sequenzen von *Porrocaecum angusticolle* und *P. depressum* mit hinzugenommen. Die phylogenetische Analyse wurde als Neighbor-Joining Verfahren durchgeführt. Das der Analyse zugrunde liegende Alignment befindet sich in Tabelle 45 im Anhang, das Phylogramm ist in Abbildung 22 dargestellt.

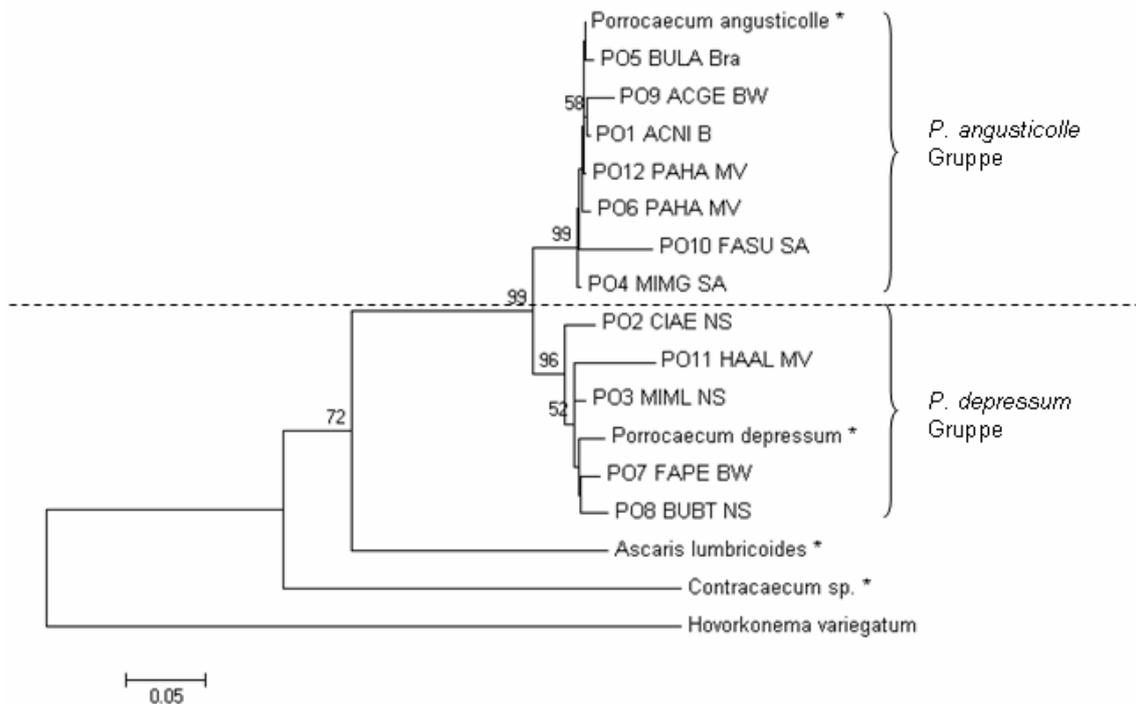


Abbildung 22: Neighbor-Joining Analyse der ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha, K2P-Parameter, 1000 Bootstrapwiederholungen. Bootstrapwerte unter 50 sind nicht angegeben. Die Sequenzen sind jeweils mit Abkürzung des Artnamens der Nematoden, der Probennummer, Abkürzung des Wirtes und der Herkunftsregion des Wirtes gekennzeichnet. Als Außengruppe wurde *Hovorkonema variegatum* aus der Infraordnung Rhabditomorpha verwendet. Die Trennlinie verdeutlicht die Unterteilung der Nematoden der Gattung *Porrocaecum* in die zwei Arten *P. angusticolle* und *P. depressum*. * = NCBI Sequenz

Zur systematischen Einordnung in die Gruppe der Ascaridomorpha wurden die Genbanksequenzen von *Ascaris lumbricoides* und *Contracaecum* sp. mit in die Analyse aufgenommen. Nematoden der Gattung *Porrocaecum* werden in die Familie der Ascariidae eingeordnet, zu der auch der Spulwurm *A. lumbricoides* gehört. Alle zwölf Proben gruppieren sich auch in dieser Analyse mit *A. lumbricoides* zusammen. Diese Gruppierung wird aufgrund der hohen Variabilität der ITS-2 Sequenzen allerdings nur mit einem Bootstrapwert von 72 unterstützt.

Innerhalb der Gattung *Porrocaecum* sind zwei Cluster zu erkennen. Die Proben PO5, PO9, PO1, PO12, PO6, PO10 und PO4 gruppieren sich zusammen mit *Porrocaecum angusticolle*, die Proben PO2, PO11, PO3, PO7 und PO8 mit *P. depressum*. Diese Aufteilung wird mit einem hohen Bootstrap Wert von 99 unterstützt. Aufgrund der Analyse der ITS-2 Sequenzen können also die Nematoden der ersten Gruppe als *P. angusticolle* und die der zweiten Gruppe als *P. depressum* identifiziert werden.

Alle Individuen der Art *P. angusticolle*, die aus unterschiedlichen Wirten stammen, sind genetisch kaum zu unterscheiden. Nur die Proben PO9 mit einem Habicht als Wirt und die Probe PO10 aus einem Baumfalken haben eine weitere genetische Distanz. Die genetischen Unterschiede innerhalb der Individuen von *P. depressum* sind etwas größer als bei *P. angusticolle*. Die Probe PO2 aus einer Rohrweihe steht bei dieser Gruppierung ancestral.

Die beiden Individuen PO9 und PO1, die aus den eng verwandten Wirten Habicht und Sperber isoliert wurden, clustern im ITS-2 Stammbaum zusammen. Weitere Hinweise

auf Cospeziation zwischen Wirt und Nematode oder ein phylogeographisches Muster konnten bei der Analyse der ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha nicht gefunden werden.

3.10.4 Phylogenetische Analyse der partiellen mt COI Sequenzen der Nematoden

Insgesamt wurde das partielle mt COI Gen bei vier Sequenzen der Gattung *Porrocaecum* sp. aus der Infraordnung Ascaridomorpha und zwei Sequenzen der Art *Hovorkonema variegatum* aus der Infraordnung Rhabditomorpha analysiert. Um eine systematische Zuordnung zu ermöglichen, wurden in die phylogenetische Analyse aus der NCBI Datenbank weitere Vertreter der Infraordnungen Ascaridomorpha und Rhabditomorpha mit hinzugenommen. Für die Analyse wurden die ursprünglich zwischen 405 und 414 bp langen Sequenzen auf 330 Basenpaare gekürzt. Das Alignment befindet sich in Tabelle 46. Die Abbildung 23 zeigt das Phylogramm der Neighbor-Joining Analyse. Bootstrapwerte unter 50 sind nicht angegeben.

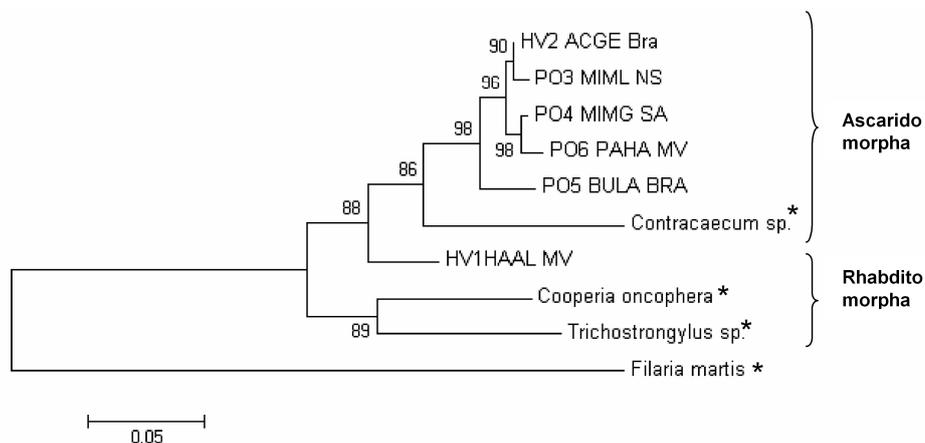


Abbildung 23: Neighbor-Joining Analyse des partiellen mt COI Fragments der Nematoden, K2P Parameter, 1000 Bootstrapwiederholungen, Bootstrapwerte unter 50 sind nicht angegeben. Die Sequenzen sind jeweils mit Abkürzung des Artnamens des Nematoden, der Probennummer, Abkürzung des Wirtes und der Herkunftsregion des Wirtes gekennzeichnet. Als Außengruppe wurde *Filaria martis* aus der Infraordnung Spiruromorpha verwendet. * = NCBI Sequenz

Die vier Vertreter der Gattung *Porrocaecum* sp. bilden zusammen mit *Hovorkonema variegatum* 2 ein Cluster, dessen nächster Verwandter der Spulwurm *Contraecaecum* sp. aus der Infraordnung der Ascaridomorpha ist. Die vier Sequenzen PO3 bis PO6 zeigen innerartliche Unterschiede mit PO5 als ancestralen Vertreter. Die innerartlichen genetischen Distanzen sind gering, werden jedoch durch hohe Bootstrapwerte unterstützt.

Weder die Sequenzen HV1 noch HV2 lassen sich der Infraordnung Rhabditomorpha zuordnen. Beide sind in diesem Phylogramm näher mit Vertretern der Infraordnung Ascaridomorpha verwandt, wobei jedoch die Aufteilung in Ascaridomorpha und Rhabditomorpha nur durch geringe Bootstrapwerte unterstützt wird. Auch die bei Nematoden hochvariable mt COI Sequenz ist zur Auflösung entfernter Verwandtschaftsverhältnisse nicht geeignet. Die verschiedenen Individuen der unterschiedlichen Arten können nicht klar getrennt werden.

4 Diskussion

4.1 Methodenkritik

4.1.1 Auswahl der Greifvögel

Die Greifvögel für die parasitologische Untersuchung wurden von Naturschutzstationen aus verschiedenen Regionen Deutschlands zur Verfügung gestellt. Auf die Artzusammensetzung des Sektionsgutes konnte dabei nur wenig Einfluss genommen werden, weshalb von den seltenen Greifvogelarten nur wenige Exemplare untersucht werden konnten. Wegen der nur geringen Anzahl an untersuchten Tieren ist das Parasitenspektrum bei den selteneren Greifvogelarten nicht repräsentativ, sondern stellt nur eine Stichprobe dar.

Obwohl die Beschaffung einer genügend hohen Anzahl an Untersuchungstieren bei parasitologischen Studien an Wildtieren meist Schwierigkeiten bereitet, bieten Wildtierstudien jedoch den Vorteil, natürliche Wirt-Parasiten-Systeme untersuchen zu können. Durch menschlichen Einfluß, z.B. zunehmende Vermischung der Haustierpopulationen durch globale Tiertransporte, werden ursprüngliche Parasitenpopulationen verändert und durchmischt (ANDERSON et al., 1998). Da sich die meisten parasitologischen Arbeiten mit human- oder tierpathogenen Parasiten im Bereich der Haus- oder Nutztiere beschäftigen, gibt es nur wenige Studien über Wirt-Parasiten Assoziationen, die vom Menschen unbeeinflusst sind (HUYSE et al., 2005).

4.1.2 Parasitologische Untersuchung

Die Prävalenzen bei einem Nematodenbefall sind abhängig von der jeweiligen Untersuchungsmethode. Die Sektion der Wirtstiere zum Nachweis von Endoparasiten ist aufwendiger als die Untersuchung von Kotproben, die bei den meisten Untersuchungen als Standardverfahren eingesetzt wird. Bei Wildtieren ist es außerdem wesentlich schwieriger, die Tierkörper der Wirte zu beschaffen, anstatt Kotproben zu sammeln. Die Prävalenzen bei Endoparasitenbefall sind bei Kotuntersuchungen jedoch stets niedriger als bei Sektionen (BOCH & SUPPERER, 2006), da die Eiproduktion und Ausscheidung von Eiern mit dem Kot nicht kontinuierlich erfolgt. Außerdem können bei Sektionen auch immature Larvenstadien entdeckt werden, die noch keine Eier ausscheiden. Ein weiterer Vorteil der Sektion liegt darin, dass viele zusätzliche Informationen erhalten werden, z.B. über die Zielorgane der Nematoden, über durch Nematodenbefall hervorgerufene pathologische Veränderungen oder über die Ausbildung einer Parasitose.

4.1.3 Künstlicher Verdau der Brustmuskulatur nach dem Magnetührverfahren

Insgesamt wurden 562 Muskelproben von im IZW sezierten Greifvögeln untersucht. Der Pepsinverdau der Proben aus der Brustmuskulatur der Greifvögel erfolgte nach einem Standardprotokoll für Trichinenuntersuchungen. Dabei wurden je zehn 5,0 g schwere Brustmuskelproben in einem Probenpool vereinigt und mit Pepsin verdaut. So konnte am Bundesinstitut für Risikobewertung eine große Probenanzahl in kurzer Zeit untersucht werden, allerdings konnten die Nematodenlarven durch das Pooling der Proben nicht mehr einem einzelnen Wirt zugeordnet werden.

Die Probenpools P35, P51 und P52 enthielten Muskelproben von mehreren nahe verwandten Greifvogelarten, da bei diesen Wirten nicht genug Proben für einen eigenen Pool vorhanden waren. Somit konnte die Nematodenlarve aus Pool 35 der Gattung *Circus* und die Larven aus den Pools 51 und 52 der Gattung *Falco*, aber nicht einer einzelnen Greifvogelart zugeordnet werden. Alle weiteren positiven Pools enthielten jedoch nur Muskelproben einer Greifvogelart.

4.1.4 Morphologische Untersuchung

Die morphologische Untersuchung der Nematoden ist sehr zeitaufwendig und erfordert für jede taxonomische Gruppe Spezialkenntnisse, da lichtmikroskopisch kleine Strukturen beurteilt und unterschieden werden müssen. In vielen Fällen können weibliche Nematoden nicht anhand ihrer Morphologie bestimmt werden, da zur Artdiagnose häufiger die Strukturen der Spicula, die nur bei Männchen ausgebildet sind, herangezogen werden. Bei seltenen Nematodenarten sind die morphologischen Merkmale in der Literatur oft nicht ausreichend beschrieben.

4.1.5 PCR

Die Methode der PCR bietet die Möglichkeit, extrem geringe DNA Mengen zu vervielfältigen. Durch hochspezifische Primer kann selektiv eine bestimmte Zielsequenz aus einem komplexen DNA Pool amplifiziert werden. Die hohe Sensitivität der PCR bedingt jedoch eine hohe Kontaminationsgefahr durch Amplifikation von Fremd DNA. Deshalb wurde in dieser Studie jeder PCR Ansatz durch Negativkontrollen auf Kontaminationen geprüft. Obwohl die Nematoden nach der Isolierung aus dem Greifvogelkörper gewaschen wurden, kann nicht ausgeschlossen werden, dass sie mit DNA der Greifvögel kontaminiert waren. Deshalb wurde zusätzlich getestet, ob die nematodenspezifischen Primer DNA Fragmente der Greifvögel amplifizieren können. Das Ergebnis dieser PCR Ansätze war jedoch in allen Fällen negativ.

4.1.6 Sequenzierung

Die Sequenzierung der konservierten 18S Gene erfolgte direkt. Die hochvariablen ITS-2 Amplifikate wurden jedoch sowohl direkt als auch nach Klonierung sequenziert. Der Vorteil der direkten Sequenzierung liegt darin, dass sie wesentlich schneller durchzuführen ist (GASSER et al., 1993). Existieren verschiedene Allele innerhalb eines Amplikons, so können diese bei direkter Sequenzierung durch Polymorphismus innerhalb der Sequenzen entdeckt werden (GASSER, 2001). Bei einem höheren Grad an Sequenzpolymorphismus können die Chromatogramme aber nicht mehr exakt ausgewertet werden. Um dieses Problem zu umgehen, werden die Amplifikate kloniert und eine bestimmte Anzahl an Klonen wird anschließend analysiert. Der Nachteil der Klonierung liegt jedoch darin, dass seltene Allele verloren gehen können. Eine Alternative zur Klonierung besteht in der SSCP Analyse.

4.1.7 Single-strand conformation polymorphism

Die SSCP Analyse ermöglicht durch Vergleich artspezifischer Bandenmuster eine schnelle Artdiagnostik von Individuen, die morphologisch nur schwer oder gar nicht zu bestimmen sind. Als Voraussetzung für eine SSCP Analyse unbekannter Nematodenarten werden jedoch Referenzproben benötigt, deren Art bekannt ist. Die Methode der SSCP ist schneller durchzuführen als Sequenzierungen. Die Auswertung der artspezifischen Bandenmuster wurde in dieser Studie allerdings dadurch erschwert, dass die Ban-

den der askariden und spiruriden Nematoden dicht zusammen im oberen Drittel des Polyacrylamidgels lagen. Nur die Referenzbanden des Strongyliden *Hovorkonema variegatum* liefen während der Gelelektrophorese über ca. Zweidrittel des Gels. Um die SSCP Banden besser aufzutrennen, wurden zwei verschiedene Elektrophoresebedingungen getestet. Neben der bereits beschriebenen 4,5 h dauernden Elektrophorese wurde ein fünfzehnstündiger SSCP Lauf durchgeführt, der von ZHU & GASSER (1998) zur Identifikation von Askariden entwickelt wurde. Beide Elektrophoresebedingungen lieferten die gleichen DNA Bandenmuster, deshalb wurden für diese Studie die kürzeren Elektrophoresebedingungen gewählt.

In dieser Studie konnten anhand des SSCP Bandenmusters zwei verschiedene Nematodenarten in einer DNA Probe identifiziert werden. Um dies mit Sequenzierungen zu überprüfen, muss das PCR Produkt vor der Sequenzierung kloniert werden und eine größere Anzahl an Klonen untersucht werden. Dabei kann nicht ausgeschlossen werden, dass seltene Sequenzvarianten in den Klonen nicht gefunden werden.

Die Visualisierung der SSCP Banden erfolgte in dieser Studie mit einer AgNO₃ Färbung (MEYER-LUCHT & SOMMER, 2005). Damit lässt sich die Arbeit mit radioaktiv markierten Primern vermeiden, die in den Studien von ZHU & GASSER (1998), GASSER & MONTI (1997), ZHU et al. (2000) und LI et al. (2005) verwendet wurden.

Im Gegensatz zur Sequenzierung können bei der SSCP Analyse keine phylogenetischen Informationen erhalten werden. Da jedoch die DNA Banden aus dem SSCP Gel ausgeschnitten und reamplifiziert werden können, ist eine Kombination aus SSCP Analyse und anschließender Sequenzierung ausgewählter Banden am vorteilhaftesten.

4.1.8 Phylogenetische Analyse

4.1.8.1 Alinierung

Voraussetzung für phylogenetische Analysen ist die korrekte Alinierung der Sequenzen, d. h. die Nukleotidpositionen werden homologisiert. Unterschiedliche Alignments können zu unterschiedlichen hypothetischen Stammbäumen führen (MORRISON & ELLIS, 1997). Je variabler die Sequenzen sind, desto unsicherer wird das Alignment (CHILTON et al., 2001). Das Alignment der variablen ITS-2 Sequenzen führte jedoch in der vorliegenden Studie auch mit unterschiedlichen Programmeinstellungen zur gleichen phylogenetischen Rekonstruktion.

4.1.8.2 Methoden zur Konstruktion der phylogenetischen Bäume

Die phylogenetischen Analysen wurden in der vorliegenden Arbeit jeweils mit dem Neighbor-Joining Verfahren und mit der Maximum Parsimony Methode berechnet.

Das distanzbasierte Verfahren Neighbor-Joining ist rechnerisch weniger aufwendig als das Maximum Parsimony Verfahren. Damit ist die Neighbor-Joining Methode besser geeignet, große Datenmengen zu analysieren. Bei der Neighbor-Joining Methode werden die Daten in eine Distanzmatrix umgewandelt und die am nächsten verwandten Taxa nach dem Minimum Evolution Prinzip miteinander verknüpft. Zur Berechnung der genetischen Distanzen können verschiedene Substitutionsmodelle eingesetzt werden. Bei geringen genetischen Distanzen werden einfache Substitutionsmodelle, wie z. B. Jukes-Cantor oder Kimura-2-Parameter eingesetzt (NEI & KUMAR, 2000). In der vorliegenden Arbeit wurden die genetischen Distanzen mit dem Kimura-2-Parameter-Modell berechnet. Zur Überprüfung wurden die hypothetischen Stammbäume zusätzlich mit dem Tamura-3-Parameter Substitutionsmodell berechnet, das im Gegensatz zum Kimura-2-Parameter-Modell die unterschiedliche Häufigkeit der vier Nukleotide

berücksichtigt. Die Topologie der phylogenetischen Bäume blieb bei beiden Substitutionsmodellen unverändert, deshalb wurde in dieser Arbeit das einfachere Kimura-2-Parameter Modell verwendet.

Ein Nachteil des Neighbor-Joining Verfahrens gegenüber Maximum Parsimony besteht darin, dass nur ein möglicher phylogenetischer Baum konstruiert wird. Bei Maximum Parsimony hingegen werden zunächst alle theoretisch möglichen Bäume berechnet und anschließend nach dem Prinzip der maximalen Sparsamkeit der phylogenetische Baum mit der kleinsten Anzahl an Evolutionsschritten ausgesucht. Diese Methode ist jedoch mit hohem rechnerischem Aufwand verbunden (SANDERSON & SHAFFER, 2002), so dass sie bei großen Datenmengen weniger geeignet ist. MELDAL et al. (2007) konnten mit ihrer Studie zeigen, dass die Parsimony Analysen nicht geeignet waren, bei sehr umfangreichen Datenmengen plausible Ergebnisse zu liefern.

Die Maximum Parsimony Methode benötigt zur Berechnung eine möglichst große Anzahl an variablen, sogenannten parsimony-informativen Nukleotidpositionen, so dass sie bei stark konservierten Genregionen weniger geeignet ist (NEI & KUMAR, 2000).

4.1.8.3 Konstruktion der phylogenetischen Bäume mit Sequenzen aus der Datenbank

Die Ergänzung der eigenen Daten mit Sequenzen aus der NCBI Datenbank ermöglicht es, die Daten in einen größeren Kontext zu stellen oder eine phylogenetische Eingruppierung vornehmen zu können. Dabei muss jedoch beachtet werden, dass die Sequenzen aus der NCBI Datenbank ohne Überprüfung übernommen werden und deshalb Fehler nicht auszuschließen sind (DORRIS & BLAXTER, 2000).

4.1.8.4 Cophylogenetische Analyse

Cospeziation hat den Effekt, dass die Phylogenie des Parasiten die des Wirtes wieder spiegelt (KLASSEN, 1992). Da cophylogenetische Mechanismen wie z. B. „host switch“ die Kongruenz beider Stammbäume aufheben können, wurden in den letzten Jahren verschiedene Methoden wie z. B. Brooks Parsimony (Brooks, 1988) oder TreeMap (Page, 1994) entwickelt, die die Stammbäume von Wirt und Parasit vergleichen und mögliche Cospeziationsereignisse rekonstruieren. (PATERSON & GRAY, 2002).

Als Voraussetzung für eine cophylogenetische Analyse müssen phylogenetische Bäume von Wirt und Parasit konstruiert werden, die statistisch gut unterstützt sind (PATERSON & BANKS, 2002). Der Stammbaum der Greifvögel in dieser Studie ist zwar identisch mit den phylogenetischen Bäumen anderer Studien (WINK & SAUERGÜRTH, 2004), besitzt jedoch nur niedrige Bootstrapwerte, kann also nicht für eine cophylogenetische Analyse verwendet werden.

Die meisten der hier untersuchten Nematoden sind mehrwirtig. Nur eines der bis jetzt etablierten cophylogenetischen Programme berücksichtigt mehrwirtige Parasiten, dabei erhöht sich der rechnerische Aufwand jedoch beträchtlich. Aus diesem Grund konnte mit keinem dieser Programme eine cophylogenetische Analyse durchgeführt werden. Deshalb wurde die Untersuchung auf cophylogenetische Ereignisse in dieser Studie nur qualitativ am Beispiel des Verteilungsmusters der spiruriden Nematoden innerhalb der Greifvogelfamilie der Accipitridae durchgeführt.

4.2 Sektionsergebnisse

In dieser Studie wurde bei 52,3% der 153 Greifvögel ein Nematodenbefall diagnostiziert. Diese Gesamtprävalenz kann mit den Ergebnissen von zwei anderen Studien verglichen werden, die ebenfalls den Nematodenbefall wildlebender Greifvögel in Deutschland untersuchten. Eine ähnliche Prävalenz von 48,8% konnten LIERZ et al. (2002) bei 84 untersuchten Greifvögeln und Eulen aus der Region Berlin und Brandenburg feststellen. Der etwas niedrigere Wert von 48,8% kann durch die Untersuchungsmethoden erklärt werden, da bei einem Teil der Vögel nur Kotproben untersucht wurden, aber keine Sektion vorgenommen wurde (LIERZ et al., 2002). Im Gegensatz dazu steht die deutlich höhere Prävalenz, die von KRONE (2000) ermittelt wurde, der bei 87,6% von 194 Greifvögeln aus ganz Deutschland einen Befall mit Nematoden nachwies. Dieser hohe Wert kann eventuell durch eine unterschiedliche Artenzusammensetzung erklärt werden, die die Prävalenz stark beeinflusst. Abweichend zu den fünfzehn in dieser Studie untersuchten Greifvogelarten sezierte KRONE (2000) dreizehn Greifvogelarten, während LIERZ et al. (2002) acht Greifvogel- und drei Eulenarten parasitologisch untersuchten.

Im Gegensatz zu den parasitologischen Untersuchungen von KRONE (1998), der bei 7,0% der sezierten Greifvögel eine Parasitose bedingt durch Nematodenbefall feststellte, konnte in dieser Studie bei keinem der untersuchten Tiere eine klinisch manifeste Parasitose diagnostiziert werden. Die Wurmbürde betrug im Durchschnitt ca. ein bis drei Nematoden pro Wirt. Lediglich bei vier Baumfalken wurde eine größere Anzahl von *Cyrtus seurati* im Drüsen- und Muskelmagen gefunden. Doch trotz der im Durchschnitt ca. 30-60 Nematoden wies keiner der vier Vögel im Magen makroskopisch sichtbare pathologische Veränderungen auf. Die nur geringgradige Pathogenität der greifvogelspezifischen Nematoden deckt sich mit den Ergebnissen ähnlicher Untersuchungen (KRONE, 1998).

4.3 Morphologische Analyse

Adulte Nematoden, von denen bei der Sektion sowohl männliche als auch weibliche Individuen gefunden wurden, konnten mit dem Bestimmungsschlüssel nach ANDERSON et al. (1974-1983) und SKRJABIN (1953-1968) gut identifiziert werden. Die sichere Bestimmung der beiden in Greifvögeln parasitierenden Spulwürmer *Porrocaecum* sp. anhand unterschiedlicher Morphologie der Mundregion war nur bei dem Individuum PO1 möglich. Dieses wurde als *Porrocaecum angusticolle* identifiziert, was durch die genetische Analyse bestätigt wurde. Alle anderen Spulwürmer wurden anhand ihrer Morphologie nur bis auf Gattungsebene bestimmt. Ebenso konnten die Filarien, die im Muskelmagen eines Wespenbussards parasitierten, nicht bis auf Artebene bestimmt werden, da in der Literatur kaum Vergleichsstrukturen zu finden waren. Auch für die Identifikation von Larvenstadien ist eine morphologische Analyse meist nicht ausreichend, da im Larvenstadium nur wenige charakteristische Strukturen ausgebildet sind (GASSER, 2001).

Deshalb ist es sinnvoll, die Artdiagnostik anhand morphologischer Strukturen mit molekularbiologischen Untersuchungsmethoden zu ergänzen (GASSER & NEWTON, 2000). Die molekulargenetischen Methoden besitzen den Vorteil, dass sie unabhängig vom Entwicklungsstatus der Nematoden sind (BALDWIN et al., 1997).

4.4 Prävalenzen

4.4.1 Nematodenspektrum der Greifvögel

Im Gegensatz zu den Untersuchungen von KRONE (2000) und LIERZ et al. (2002) besitzt in der vorliegenden Studie nicht der Mäusebussard das größte Spektrum an Nematodenarten, sondern der Sperber. Dies ist insofern ungewöhnlich, da das Spektrum an Endoparasiten im Allgemeinen mit dem Beutespektrum in Zusammenhang steht, d. h. dass Wirte mit einem breiten Nahrungsspektrum eine große Anzahl an Endoparasitenarten besitzen. Der Sperber ist jedoch im Gegensatz zu Mäusebussarden kein Nahrungsgeneralist, sondern ernährt sich hauptsächlich von Singvögeln (NEWTON, 2006). Die große Anzahl an Nematodenarten in den seziierten Sperbern stimmt jedoch mit der in der vorliegenden Studie durchgeführten Untersuchung überein, wonach bei den Greifvögeln, deren Hauptnahrung aus Vögeln besteht, die meisten Nematodenarten nachgewiesen wurden.

Der Vergleich des gesamten Nematodenbefalls zeigte eine signifikant unterschiedliche Nematodenbelastung der einzelnen Greifvogelarten bei einem Signifikanzniveau von 0,05. Bei Betrachtung des gesamten Nematodenbefalls erwiesen sich die Baumfalken als diejenigen Greifvogelarten, die am stärksten von Nematoden parasitiert wurde. In allen sieben untersuchten Individuen konnten Nematoden nachgewiesen werden. Der Mäusebussard wies die zweithöchste Nematodenbelastung auf, der Turmfalke die niedrigste. Diese Werte stimmen mit den Untersuchungsergebnissen von KRONE (2000) und LIERZ et al. (2002) überein.

Ungewöhnlich erscheint der diagnostizierte Befall eines Fischadlers mit *Porrocaecum* sp. Dieser Spulwurm wird über Insektivore übertragen (OSCHE, 1955), die nicht zum normalen Beutespektrum von Fischadlern gehören, sondern nur in Ausnahmefällen als Nahrung aufgenommen werden. Jedoch wäre es möglich, dass der Befall des Fischadlers mit *P. angusticolle* über in Ausnahmefällen erbeutete Vögel erfolgte, in denen sich bereits eine Larve von *Porrocaecum* sp. entwickelte. Der Befall von Fischadlern mit *Porrocaecum* sp. ist jedoch bereits in der Literatur beschrieben (KRONE, 1998).

4.4.2 Wirtsspektrum der Nematoden

In Übereinstimmung mit der Untersuchung von LIERZ et al. (2002) wurden auch in dieser Studie am häufigsten Haarwürmer und Spulwürmer diagnostiziert. Ebenso wie bei KRONE (1998) wurden die Nematoden *Porrocaecum* sp., *Eucoleus dispar* und *Synhimantus laticeps* bei den meisten Greifvogelarten nachgewiesen. Die höchste Gesamtprävalenz besitzen die Spulwürmer der Gattung *Porrocaecum*, während der Haarwurm *Eucoleus dispar* bei den meisten Greifvogelarten nachgewiesen wurde. Im Gegensatz zu diesen Generalisten mit niedriger Wirtsspezifität besitzen die greifvogelparasitierenden Spiruriden ein engeres Wirtsspektrum. Basierend auf der vorliegenden Studie und der Literaturübersicht von KRONE (1998) kann jedoch nur *Physaloptera apivori* als einwirtig bezeichnet werden, alle anderen Greifvogelparasiten wurden bei mehr als einem Wirt nachgewiesen. CLAYTON et al. (2004) konnten zeigen, dass die Ausbreitung einer Parasitenpopulation stärker durch die ökologischen Faktoren, die die Übertragung auf einen neuen Wirt beeinflussen, limitiert wird, als durch die Etablierung der Population auf dem neuen Wirt. Dies bedeutet, dass die Mehrwirtigkeit der Nematoden maßgeblich von der Verbreitung über die Zwischenwirte abhängt. Der Spulwurm *Contraecaecum microcephalum* benötigt zum Beispiel Fische als Zwischenwirte. Seine Verbreitung innerhalb der Greifvögel ist deshalb nur auf wenige, fischfressende Arten beschränkt (ANDERSON, 2000).

4.4.3 Erstnachweise

Im Europäischen Raum konnte in dieser Studie beim Fischadler erstmalig der Spiruride *Synhimantus laticeps* diagnostiziert werden. Da Fischadler zu den selteneren Greifvögeln in Deutschland gehören (MEBS & SCHMIDT, 2006), liegen für diese Art bis jetzt nur wenige Angaben zum Parasitenspektrum vor (KRONE, 1998). Das Parasitenspektrum war bei den selteneren Greifvogelarten bis jetzt nur fragmentarisch bekannt, deshalb waren Erstnachweise von Nematoden bei diesen Greifvögeln zu erwarten.

Turmfalke, Habicht und Rotmilan sind jedoch häufigere und wesentlich besser untersuchte Arten, sowohl KRONE (1998) als auch LIERZ (2002) haben diese Greifvögel in ihre Untersuchungen mit einbezogen. Dennoch wurden in dieser Studie das erste Mal der Nematode *Synhimantus laticeps* und beim Habicht auch *Microtetrameres cloacitectus* diagnostiziert. Da das Parasitenspektrum dieser Wirte aus ähnlichen Untersuchungsregionen schon in mehreren Studien untersucht wurde, waren Nachweise neuer Nematodenarten bei diesen Greifvögeln nicht zu erwarten.

4.5 Nematodenspektrum in Abhängigkeit vom Nahrungsspektrum der Greifvögel

Da Nematoden hauptsächlich über Beutetiere auf die Greifvögel übertragen werden, wurde das Nematodenspektrum der Greifvögel in Bezug auf ihre Nahrungspräferenzen betrachtet. Aufgrund der geringen Anzahl einiger untersuchter Greifvögel und der geringen Häufigkeiten vieler Nematodenarten konnte diese Analyse nur qualitativ durchgeführt werden. Bei der Einteilung in die jeweiligen Nahrungspräferenzen wurden nur die Beutetiere berücksichtigt, die regelmäßig im Nahrungsspektrum der Greifvögel nachgewiesen wurden. Der Anteil an Invertebraten am Nahrungsspektrum der Greifvögel ist schwierig zu beurteilen, da diese fast vollständig verdaut werden. Die Einteilung in verschiedene Beutetierkategorien in Tabelle 17 repräsentiert deshalb nur das durchschnittliche Nahrungsverhalten der Greifvögel, das hauptsächlich durch Analyse von Mageninhalten und direkte Beobachtungen ermittelt wurde (GLUTZ VON BLOTZHEIM et al., 1971; MEBS & SCHMIDT, 2006).

Bei der Interpretation der Tabelle 18 kann entweder nur die Hauptnahrungskomponente der Greifvögel betrachtet werden, oder alle Beutetiere, die regelmäßig im Nahrungsspektrum der jeweiligen Greifvögel nachgewiesen wurden. In der vorliegenden Studie wurde aus einem Habicht *Microtetrameres cloacitectus* isoliert, ein spirurider Nematode, der nach ANDERSON et al. (1974-1983) durch Insekten als Intermediärwirte übertragen wird. Das Hauptnahrungsspektrum der Habichte besteht aus Vögeln, gelegentlich werden jedoch auch Kleinsäuger als Nahrung aufgenommen. Sowohl Vögel als auch Kleinsäuger könnten jedoch als paratenische Wirte bei der Übertragung von *M. cloacitectus* beteiligt gewesen sein. Die alleinige Zuordnung der Nematoden nur zu den jeweiligen Hauptnahrungspräferenzen der verschiedenen Greifvögel erscheint deshalb nicht sinnvoll.

Viele der hier untersuchten Greifvögel sind ausgesprochene Nahrungsgeneralisten, so dass bei diesen Wirten eine Zuordnung ihrer Nematoden zu ihrer Nahrung kaum möglich ist. So könnte der Nematode *Cyrtus leptoptera*, der in der vorliegenden Studie aus einem Schwarzmilan isoliert wurde, von Vögeln, Kleinsäugetieren, Fischen oder Regenwürmern übertragen worden sein, da alle diese Tiere regelmäßig von Schwarzmilanen erbeutet werden. Um Rückschlüsse auf die Herkunft der Nematoden ziehen zu können, ist das durchschnittliche Nahrungsverhalten der Greifvögel deshalb zu ungenau. Hier müsste der tatsächliche Mageninhalt des jeweiligen Greifvogels analysiert werden.

Die Beutetiere der Greifvögel übernehmen entweder die Funktion eines Intermediärwirtes, in dem ein Teil des Entwicklungszyklus der Nematoden abläuft, oder sie sind paratenischer Wirt, in dem sich die Parasiten lediglich anreichern (KRONE, 1998). So besitzen z.B. die spiruriden Nematoden Insekten als Zwischenwirte. Diese können von den Greifvögeln direkt als Nahrung aufgenommen werden. Werden die Insekten jedoch von Vögeln oder Kleinsäugetern gefressen, so übernehmen die Vögel bzw. Kleinsäuger die Funktion eines paratenischen Wirtes, der der Verbreitung der Nematoden dient. (MEHLHORN & PIKARSKI, 2002). Durch die Einschaltung von paratenischen Wirten kann also aus dem Nahrungsspektrum der Greifvögel kein direkter Rückschluss auf den jeweiligen Zwischenwirt der Nematoden gezogen werden. Um die Funktion der Beutetiere im Lebenszyklus der Nematoden zu untersuchen, müssten zusätzlich Fütterungsversuche durchgeführt werden.

Die Mehrzahl der Greifvögel besitzt ein weites Nahrungsspektrum, so dass das Nematodenspektrum dieser Tiere nicht mit einer einzelnen Nahrungskategorie in Zusammenhang zu bringen ist. Ein relativ enges Nahrungsspektrum besitzen der Fischadler und der Wespenbussard. Unerwartet war in der vorliegenden Studie der Nachweis von *Synhimantus laticeps* in einem Fischadler. Der spiruride Nematode besitzt Insekten als Zwischenwirte, die nicht zum normalen Nahrungsspektrum von Fischadlern gehören (MEBS & SCHMIDT, 2006). Jedoch wäre es auch in diesem Fall, wie oben bereits beschrieben, möglich, dass der Befall des Fischadlers mit *S. laticeps* über in Ausnahmefällen erbeutete Kleinsäuger oder Vögel erfolgte, in denen bereits eine Larve von *S. laticeps* parasitierte.

Das Nematodenspektrum der Greifvogelarten ist also nur in geringem Maße durch ihre jeweiligen Nahrungspräferenzen beeinflusst.

4.6 Nematodenspektrum in Abhängigkeit von der regionalen Herkunft der Greifvögel

In dieser Studie wurde das Nematodenspektrum der Greifvögel aus den Untersuchungsregionen Berlin/Brandenburg, Baden-Württemberg und Niedersachsen verglichen. Diese Untersuchungsgebiete wurden ausgewählt, weil aus ihnen die meisten Greifvögel untersucht wurden, sowohl bezogen auf die Gesamtzahl als auch auf die Artenzahl. Außerdem sind diese Untersuchungsregionen am weitesten voneinander entfernt.

Aus Berlin/Brandenburg wurden insgesamt 59 Greifvögel aus elf Arten untersucht, aus Baden-Württemberg 18 Greifvögel aus neun Arten und aus Niedersachsen 35 Greifvögel ebenfalls aus neun Arten. Der Vergleich des Nematodenspektrums der unterschiedlichen Untersuchungsgebiete erfolgte nur qualitativ, da die Artzusammensetzung und die Anzahl der Greifvögel aus den verschiedenen Regionen sehr unterschiedlich sind.

Das Nematodenspektrum von Seeadlern und Fischadlern konnte nur in den Regionen Berlin/Brandenburg und Niedersachsen verglichen werden, da diese Vögel nicht in Baden-Württemberg heimisch sind. Merlin und Rauhußbussard nehmen ebenfalls eine Sonderstellung ein, da diese Greifvögel in Deutschland nicht brüten, sondern nur Wintergäste sind (GLUTZ VON BLOTZHEIM, 1971). Bei den Zugvögeln wäre es auch möglich, dass die Infektion der Nematoden in den Überwinterungsgebieten erfolgte.

Bei Greifvögeln aus dem Untersuchungsgebiet Berlin/Brandenburg konnten insgesamt 30 Nematoden aus elf Arten nachgewiesen werden, aus Baden-Württemberg 22 Nematoden aus neun Arten und aus Niedersachsen 38 Nematoden aus insgesamt sieben Arten. Die große Anzahl an Nematodenfunden bei niedersächsischen Greifvögeln kommt durch die hohe Anzahl an Mäusebussarden am Sektionsgut zustande, die im

Vergleich mit anderen Greifvogelarten überdurchschnittlich hohe Prävalenzen und Wurmbürden aufweisen (LIERZ et al., 2002).

Bei Greifvögeln aus Berlin/Brandenburg wurde das breiteste Spektrum an Nematodenarten gefunden, da aus dieser Region auch das breiteste Spektrum an Greifvogelarten untersucht wurde.

Die Spiruriden *Cyrnea mansioni*, *C. seurati*, *Synhimantus laticeps* und *Physaloptera alata* wurden in ähnlichen Zahlen in allen drei Untersuchungsgebieten nachgewiesen. Eine Abhängigkeit von der regionalen Herkunft wurde nicht gefunden, was der Studie von KRONE (1998) entspricht, der keine signifikanten Unterschiede in der Helminthenbelastung der Greifvögel aus unterschiedlichen Untersuchungsgebieten feststellte.

Die Prävalenz der Nematoden in einem bestimmten Gebiet hängt von der Verfügbarkeit der End- und der Intermediärwirte ab, wobei das Verbreitungsgebiet der Wirte von ökologischen und abiotischen Faktoren bestimmt wird (HOBERG, 2005). Die Verbreitung der wirtsspezifischen Parasiten wird hauptsächlich vom Vorkommen der Endwirte limitiert, was das Beispiel von *Physaloptera apivori* zeigt. Die Prävalenz mehrwirtiger Nematoden wird jedoch stärker durch die Verfügbarkeit der Intermediärwirte bestimmt.

Die in der vorliegenden Studie untersuchten Regionen nehmen nur einen kleinen Teil des Verbreitungsgebietes der Greifvögel ein. Unterschiede im Nematodenspektrum konnten zwischen diesen Gebieten nicht festgestellt werden.

4.7 Künstlicher Verdau der Brustmuskulatur nach dem Magnetrührverfahren

Bei der routinemäßigen Trichinenuntersuchung des BfR wurden in 19 von 55 Probenpools Nematodenlarven gefunden, die morphologisch nicht identifiziert werden konnten. Diese Larvenfunde sind die ersten Hinweise auf die Existenz von Nematoden in der Brustmuskulatur von Greifvögeln, in der bis jetzt nur Protozoen wie z. B. *Sarcocystis* spp. nachgewiesen wurden (KRONE et al., 2000).

Durch SSCP Analyse und Sequenzierung wurden die Nematodenlarven aus der Brustmuskulatur der Greifvögel als *Porrocaecum angusticolle*, *Cyrnea mansioni* und *Synhimantus laticeps* identifiziert, die als adulte Nematoden im Magen-Darm-Trakt der Greifvögel parasitieren. Der vollständige Lebenszyklus dieser Nematoden ist nicht bekannt, so dass folgende Hypothesen die Existenz der Larven askarider und spirurider Nematoden in der Brustmuskulatur erklären können:

1. Die Greifvögel sind Fehlwirte, d. h. anstatt der eigentlichen Zwischenwirte wurde der Endwirt mit den Larvenstadien infiziert. Eine weitere Entwicklung findet im Fehlwirt nicht mehr statt. Die Existenz von Fehlwirten ist bei Nematoden zwar bekannt (MEHLHORN & PIEKARSKI, 2002), doch wurden in insgesamt 22% aller Brustmuskelproben der Greifvögel Larvenstadien gefunden. Diese hohe Befallsrate spricht gegen diese Hypothese.

2. Die Greifvögel dienen den Nematoden nicht nur als Endwirt, sondern gleichzeitig als Zwischenwirt. Ein Beispiel dafür ist der Entwicklungszyklus von *Trichinella spiralis*, bei dem die Larven aus dem Darm über das Lymph- oder Blutsystem in die gestreifte Muskulatur der Wirte wandern. Die Übertragung der Larven erfolgt, wenn diese von einem Fleischfresser aufgenommen werden (ANDERSON et al., 2000). Diese Infektionsform ist jedoch bei askariden und spiruriden Nematoden nicht bekannt, zumal bei einigen dieser Arten experimentell Insektivore oder Insekten als Zwischenwirte nachgewiesen wurden.

Kleinere Greifvögel gehören regelmäßig zum Beutespektrum größerer Greifvögel (GLUTZ VON BLOTZHEIM, 1971). Falls Greifvögel also den Nematoden als echte Zwischenwirte dienen, sollten die Nematodenlarven v.a. in kleineren Greifvögeln, wie z.B. Sperbern oder Turmfalken nachgewiesen werden. In der vorliegenden Studie wurden Nematodenlarven jedoch auch in der Brustmuskulatur von Seeadlern Habichten und Mäusebussarden nachgewiesen, die von anderen Greifvögeln nicht erbeutet werden.

3. Wird ein Zwischenwirt, der gerade ein Larvenstadium aufgenommen hat, von einem Greifvogel gefressen, so kann die Larve, die eben im Verdauungstrakt des Zwischenwirtes freigesetzt wurde, ihre Körperwanderung, die ursprünglich zum Zielgewebe des Zwischenwirtes führen sollte, im Körper des Greifvogels beenden. D.h. die Nematodenlarve verlässt den Magen-Darmtrakt des Greifvogels und wandert statt in das Zielgewebe des Zwischenwirtes in das entsprechende Zielgewebe des Endwirtes. In diesen Fällen wird der Greifvogel als paradefinitiver Wirt bezeichnet (ODENING, 1976). Dies würde bedeuten, dass das eigentliche Zielgewebe der Nematodenlarven im Zwischenwirt die gestreifte Muskulatur ist, was sinnvoll erscheint, da die Zwischenwirte von den Greifvögeln gefressen werden. Auch diese Hypothese ist allerdings wegen der hohen Befallsrate der Greifvögel mit den Larvenstadien unwahrscheinlich.

4. Die Larvenstadien unternehmen Körperwanderungen im Endwirt. Diese Strategie verfolgen zum Beispiel die Larven des Spulwurms *Ascaris suum*, die eine Passage durch Herz, Lunge, Trachea und Ösophagus des Endwirtes durchlaufen. Dies wird als Anzeichen einer Elimination eines früheren Intermediärwirtes interpretiert (MEHLHORN & PIEKARSKI, 2002). Der Hundespulwurm *Toxocara canis*, der wie *Porrocaecum* sp. zur Unterfamilie Toxocarinae gehört, kann direkt oder über Zwischenwirte übertragen werden. Ebenso wie bei *A. suum* findet bei *T. canis* eine Körperwanderung der Larvenstadien durch unterschiedliche Körpergewebe statt. Der Transport der Larven erfolgt meist über Blut- oder Lymphgefäße. Eine Körperwanderung der Larven würde bedeuten, dass die Brustmuskulatur kein Zielorgan für die Larven darstellt, sondern nur vorübergehend während der Körperpassage aufgesucht wird. Diese Hypothese wäre für *Porrocaecum angusticolle* plausibel. Im Gegensatz zu den Askariden sind für Spiruriden aus der Familie der Acuariidae oder Habronematidae ähnliche Körperwanderungen bis jetzt noch nicht beschrieben. Da sich jedoch die spiruriden Nematoden wahrscheinlich aus askariden Vorfahren entwickelt haben (CHAUBAUD & BAIN, 1994), wäre ein ähnlicher Mechanismus der Larvenwanderung auch bei spiruriden Nematoden denkbar. Zur Überprüfung dieser Theorie könnten Fütterungsversuche von Nematodenlarven an Greifvögel aufschlussreich sein. Darüber hinaus könnte mit histologischen Untersuchungen der Brustmuskulatur nachgewiesen werden, ob die Nematodenlarven sich in den Muskelzellen oder in den Blut-, bzw. Lymphgefäßen aufhalten.

4.8 PCR

4.8.1 PCR der partiellen mt COI Genregion Greifvögel

HEBERT et al. (2004) amplifizierten bei 260 Vogelarten mit dem Primer BirdF1 in Kombination mit den Rückwärtsprimern BirdR1, BirdR2 oder BirdR3 eine je ca. 750 bp lange Region der partiellen mitochondrialen COI Genregion. In dieser Studie wurde mit der Primerkombination BirdF1/BirdR1 bei acht Greifvögeln ein mit 660-700 bp etwas kürzeres Teilstück der mt COI Region amplifiziert. Die Primerkombination BirdF1/BirdR2 ergab bei den Proben von Rohrweihe, Schwarzmilan, Rotmilan und Fischadler mit ca. 660-680 bp ein ebenfalls kürzeres PCR Fragment als bei HEBERT et al. (2004) angegeben. Die Primerkombination BirdF1/BirdR3 wurde in der Arbeit von

HEBERT et al. (2004) für die Amplifikation der genetischen Marker bei Falken eingesetzt. In dieser Studie konnte mit dieser Primerkombination ebenfalls eine partielle, ca. 770 bp lange Region der mt COI DNA von Baumfalke und Merlin amplifiziert werden. Die partielle mt COI Region des Wanderfalken konnte dagegen mit den Primern BirdF1/R1 amplifiziert werden, während die Amplifikation der DNA bei Turmfalkenproben kein positives Ergebnis ergab. Dies kann an der Qualität des Ausgangsmaterials gelegen haben, jedoch wurde DNA aus mehreren Muskelproben verschiedener Tiere extrahiert. Auch in der NCBI Datenbank wurde keine entsprechende Sequenz von Turmfalken gefunden.

4.8.2 PCR der molekularen Marker der Nematoden

Die Amplifikation der 18S Marker wurde mit den Primern des Blaxter lab (<http://www.nematodes.org/>) durchgeführt, die Amplifikation der ITS-2 Region mit den nach FRIEDRICH (2004) modifizierten Primern (siehe Tabelle 7). Die Ergebnisse der PCR entsprachen den Ergebnissen dieser Studien. Lediglich die Amplifikation eines internen Teilstücks der 18S Marker mit der Primerkombination F11/R23 ergab entgegen den Angaben des Blaxter lab ein nur ca. 550 bp langes Fragment statt 700 bp. Diese Fragmentlängen stellen jedoch nur Durchschnittswerte dar und sind von den jeweils analysierten Arten abhängig.

4.8.3 PCR der partiellen mt COI Genregion der Nematoden

VAN DER VEER (2001) amplifizierte mit der Primerkombination COXF1/COXR1 bei Individuen des Nematoden *Cooperia oncophora* aus der Infraordnung Rhabditomorpha ein 474 bp langes Fragment der mt COI Genregion. In der vorliegenden Studie konnte mit der gleichen Primerkombination ein ca. 450 bp langes mt COI Fragment bei Nematoden der Ordnungen Rhabditomorpha und Ascaridomorpha amplifiziert werden. Die Amplifikation des mt COI Markers bei Nematoden der Infraordnungen Spiruromorpha und Trichinellida brachte sowohl mit den Primern COX1F/COX1R als auch mit selbst entwickelten, modifizierten Primern kein Ergebnis. Bei Nematoden ist es wegen der extremen Variabilität der mitochondrialen DNA (ANDERSON et al., 1998) nicht möglich, Universalprimer für Fragmente der Cytochrom C Oxidase zu entwickeln. Die Amplifikation des mt COI Markers ist deshalb besser geeignet für populationsgenetische Fragestellungen oder zur Analyse sehr eng verwandter Arten.

4.9 Single-strand conformation polymorphism

Die SSCP Analyse ist gut geeignet zur Darstellung des Sequenzpolymorphismus innerhalb der variablen ITS-2 Amplifikate askarider und strongylider Nematoden (ZHU & GASSER, 1998; GASSER & MONTI, 1997). Die Auftrennung der unterschiedlichen Allele eines PCR Produkts im Polyacrylamidgel ist abhängig von der Länge der PCR Amplifikate, d.h. die Sensitivität dieser Methode ist umgekehrt proportional zur Länge des untersuchten Abschnittes. Bei PCR Produkten, die zwischen 100 und 300 bp lang sind, können bis zu 99% aller Punktmutationen detektiert werden (LESSA & APPLEBAUM, 1993). Da die ITS-2 PCR Produkte mit ca. 400 bis 600 Basenpaaren jedoch wesentlich länger sind, können durch die SSCP Analyse keine Punktmutationen, sondern nur größere Sequenzunterschiede analysiert werden.

In der vorliegenden Studie konnten Nematodenlarven der Infraordnungen Ascaridomorpha und Spiruromorpha durch Vergleich ihres SSCP Bandenmusters mit dem Bandenmuster bekannter Referenzproben identifiziert werden. Die Referenzproben bildeten

arttypische, reproduzierbare Bandenmuster ohne innerartliche Unterschiede. Einzig die SSCP Banden zweier Spulwürmer der Gattung *Porrocaecum* ließen sich nicht unterscheiden. ZHU & GASSER (1998) konnten dagegen durch die SSCP Analyse drei Arten der Gattung *Toxocara* aus der Infraordnung der Ascaridomorpha identifizieren. Ebenso war es LI et al. (2005) möglich, anhand der SSCP Banden zwei kryptische Spezies des Askariden *Contracaecum rudolphii* zu differenzieren, die sich bei einer Basenlänge von ca. 440 bp in 5,1% der Nukleotide unterschieden. Im Gegensatz dazu bildeten in der vorliegenden Arbeit die beiden Askariden *Porrocaecum angusticolle* und *P. depressum*, die sich im Durchschnitt in 5,8% der Nukleotidpositionen unterschieden, identische Bandenmuster. Auch ZHU et al. (2000) konnten bei den SSCP Profilen von Isolaten der Gattung *Contracaecum* keine Variation innerhalb eines Taxons erkennen.

Hovorkonema variegatum, der einzige Vertreter der Rhabditomorpha, der als Referenzprobe verwendet wurde, bildete ein charakteristisches, von den Nematoden der anderen Ordnungen klar abgegrenztes Bandenmuster. GASSER & MONTI (1997) konnten ebenfalls zeigen, dass SSCP Analysen zur Identifikation von rhabditomorphen Nematoden gut geeignet sind. Sie erhielten unterschiedliche Bandenmuster bei Isolaten aus verschiedenen geographischen Regionen.

Zur SSCP Analyse von Nematoden aus der Infraordnung Spiruromorpha gibt es bisher noch keine Studien. In der vorliegenden Arbeit wurde die SSCP Analyse mit zehn spiruriden Nematoden als Referenzarten durchgeführt. Alle Referenzarten bildeten charakteristische Bandenmuster. Auch *Cyrnea leptoptera*, der in der phylogenetischen Analyse der 18S und ITS-2 Sequenzen mit *C. mansioni* zusammenclustert, unterscheidet sich eindeutig im SSCP Bandenmuster von *C. mansioni*.

Ein Nachteil der SSCP Analyse liegt darin, dass nur diejenigen Arten identifiziert werden können, deren Bandenmuster als Referenzprobe bekannt ist. In der vorliegenden Arbeit konnte bei zwei der fünfzehn positiven Probenpools die ITS-2 Genregion der Nematodenlarven nicht amplifiziert werden, was vermutlich an einer zu geringen Ausbeute an DNA bei der Extraktion lag. Bei allen anderen Proben konnten die Nematodenlarven aus den Brustmuskelpools anhand ihres SSCP Bandenmusters einer Referenzprobe zugeordnet werden. Die reamplifizierte Sequenz der Probe aus Pool 4 stimmte jedoch nur zu 65,2% mit der Sequenz der Referenzprobe *S. laticeps* überein. Dieser ITS-2 Sequenzunterschied liegt im interspezifischen Bereich (MORALES-HOJAS et al., 2001). Skrjabin (1953-1968) beschreibt fünf verschiedene Arten der Gattung *Synhimantus*, die alle in Greifvögeln parasitieren. Eventuell handelt es sich bei der Larve aus Pool 4 um eine mit *S. laticeps* eng verwandte Art der gleichen Gattung, die ein ähnliches SSCP Bandenmuster besitzt. Dagegen spricht allerdings, dass in der vorliegenden Studie *S. hamatus* in der SSCP Analyse von *S. laticeps* unterschieden werden konnte. Da alle Larven zumindest bis auf Gattungsebene einem bekannten SSCP Referenzmuster zugeordnet werden konnten, bedeutet dies, dass alle aus der Brustmuskulatur isolierten Larven auch als Adulte in Greifvögeln parasitieren.

Die SSCP Analyse der ITS-2 Fragmente ist somit eine gut geeignete Methode zur schnellen Identifizierung von Nematoden, die auch für routinemäßigen Einsatz geeignet ist. Für Artdiagnosen kann damit die wesentlich zeitaufwendigere und teurere Methode der Sequenzierung ersetzt werden. In der vorliegenden Studie wurde erstmals gezeigt, dass auch Nematoden der Infraordnung Spiruromorpha durch die SSCP Analyse identifiziert werden können. Zur besseren Auftrennung und damit Unterscheidung der SSCP Banden von Spulwürmern der Gattung *Porrocaecum* müssten die Elektrophoresebedingungen noch weiter optimiert werden.

4.10 Sequenzanalyse

4.10.1 Sequenzanalyse des mt COI Genabschnittes der Greifvögel

HEBERT et al. (2004) sequenzierten die partiellen mt COI Genregionen von 260 amerikanischen Vogelarten. Alle ca. 750 bp langen Sequenzen waren unterschiedlich, so dass alle Vogelspezies eindeutig identifiziert wurden. Auch mit den in der vorliegenden Studie ermittelten Sequenzen konnten alle Greifvogelarten identifiziert werden. Die durchschnittliche Sequenzlänge betrug 683 bp. Lediglich die Primerkombination BirdF1/BirdR3, die wie bei HEBERT (2004) zur Amplifikation der DNA von Falken verwendet wurde, ergab ebenfalls ca. 750 bp lange Sequenzen.

Die durchschnittliche interspezifische genetische Distanz, die mit Kimura-2-Parameter berechnet wurde, betrug bei HEBERT et al. (2004) 7,93%, die intraspezifische 0,43%. Die interspezifischen Nukleotiddifferenzen lagen ca. achtzehnmal höher als die intraspezifischen. Die Sequenzvariabilität in dieser Studie war insgesamt wesentlich höher, die durchschnittliche genetische Distanz betrug 16,9%. Intraspezifische Unterschiede wurden nicht ermittelt, jedoch betrug die geringste interspezifische Distanz 1,7%. Dieser Wert ist ca. viermal höher als die von HEBERT et al. (2004) ermittelten durchschnittlichen intraspezifischen Nukleotidunterschiede von 0,43%. Damit bestätigen sich die Ergebnisse von HEBERT et al. (2004), wonach die partielle mt COI Sequenz zur Artbestimmung von Vögeln gut geeignet ist.

4.10.2 Sequenzanalyse der molekularen Marker der Nematoden

4.10.2.1 Sequenzanalyse der 18S Marker

Die Sequenzlängen der 18S Marker lagen zwischen 1682 bp und 1767 bp, die durchschnittliche Länge bei 1724 bp. Dies stimmt mit der Studie von WIJOVÁ et al. (2006) überein, die die 18S Marker von 26 spiruriden Nematoden sequenzierten. Diese Sequenzen waren zwischen 1642 bp und 1787 bp lang. Die Nukleotidlängen der fünf von FRIEDRICH (2004) sequenzierten 18S Marker von Greifvogelnematoden betrugen ebenfalls zwischen 1687 bp und 1745 bp. Der durchschnittliche G+C Gehalt von 49,4% der Sequenzen dieser Studie liegt geringfügig höher als der durchschnittliche G+C Gehalt von 48,45% bei den von FRIEDRICH (2004) ermittelten Sequenzen.

Die durchschnittliche genetische Distanz, die mit dem Kimura-2-Parameter berechnet wurde, liegt bei 12,9%. Dieser relativ niedrige Durchschnittswert beinhaltet Sequenzen von Nematoden aus allen vier Infraordnungen. FITCH et al. (1995) berechneten bei der Analyse der 18S Sequenzen von Nematoden der Gattung *Caenorhabditis* eine interspezifische genetische Distanz von 1,8% bis 8,8%. Diese Werte liegen in einem ähnlichen Größenbereich wie die interspezifischen Distanzen, die in dieser Studie innerhalb der verschiedenen Infraordnungen berechnet wurden.

4.10.2.2 Sequenzanalyse der ITS-2 Marker

Die ITS-2 Sequenzlängen der verschiedenen Studien können nicht verglichen werden, da die unterschiedlichen Primer, die in den Studien verwendet werden, an verschiedenen Stellen im 5.8S bzw. 28S Bereich des ribosomalen Operons ansetzen.

Ein Vorteil der ITS-2 Sequenzen ist ihre hohe Variabilität, die es ermöglicht, sowohl die phylogenetischen Beziehungen eng verwandter Arten als auch intraspezifische Unterschiede darzustellen. Voraussetzung dafür ist allerdings, dass die interspezifischen Sequenzunterschiede größer sind als die intraspezifischen.

Die folgende Tabelle 27 gibt einen Überblick über die durchschnittlichen intra- und interspezifischen Sequenzunterschiede von ITS-2 Markern aus unterschiedlichen Studien im Vergleich mit den in der vorliegenden Studie ermittelten Werten.

Tabelle 27: Vergleich der intra- und interspezifischen Sequenzunterschiede in Prozent der ITS-2 Genregionen der Nematoden

Studie	systematische Stellung der Nematoden	intraspezifischer Sequenzunterschied in Prozent	interspezifischer Sequenzunterschied in Prozent
eigene Studie	Infraordnung <i>Ascaridomorpha</i>	2,4-4,5	13,8
	Gattung <i>Porrocaecum</i>	-	5,8
JACOBS et al. (1997)	Gattung <i>Toxocara</i>	-	26,1-50,3
eigene Studie	<i>Hovorkonema variegatum</i>	14,6	
KRONE et al., (2007)	<i>Hovorkonema variegatum</i>	14,0-14,5	-
GASSER & MONTI, (1997)	Ordnung Strongylida	>1	-
NEWTON et al., (1998)	Gattung Oesophagostomum, Gattung Chabertia	0	10,0-40,6
CHILTON et al., (1995)	<i>Hypodontus macropi</i>	25,0-28,3	-
EPE et al., (1996)	Gattung <i>Dictyocaulus</i>	-	33,3
eigene Studie	Infraordnung <i>Spiruromorpha</i>	1,0-4,8 (18,5-20,2)	47,9
MORALES-HOJAS et al., (2001)	<i>Onchocerca volvulus</i>	0-5,9	30,5
	<i>Mansonella ozzardi</i>	0,3-2,3	30,5

Die in der Tabelle 27 aufgeführten intraspezifischen Sequenzunterschiede liegen entweder weit unter 10% oder zwischen 14,5 und 28,3%. Sowohl CHILTON et al. (1995) als auch KRONE et al. (2007) interpretierten die sehr hohen intraspezifischen Nukleotidunterschiede, die im Bereich interspezifischer Sequenzunterschiede liegen, als Hinweis auf die Existenz kryptischer Spezies. In Übereinstimmung mit KRONE et al. (2007) konnte auch in der vorliegenden Studie bei dem strongyliden Nematoden *Hovorkonema variegatum* ein intraspezifischer Nukleotidunterschied von 14,6% berechnet werden, so dass die Existenz von kryptischen Spezies innerhalb der Art *H. variegatum* bestätigt werden kann.

In der vorliegenden Studie liegen die intraspezifischen Sequenzunterschiede der Infraordnung Spiruromorpha entweder zwischen 1,0 und 4,8% oder zwischen 18,5 und 20,2%. Während die intraspezifischen Sequenzunterschiede von 1,0 bis 4,8% mit den von MORALES-HOJAS et al. (2001) ermittelten Werten übereinstimmen, liegen die Sequenzunterschiede von 18,5 bis 20,2% deutlich im Bereich interspezifischer Variabilität. Der hohe intraspezifische Sequenzunterschied von 20,2% bei *Cyrnea mansioni* beruht jedoch auf einem Bestimmungsfehler des Individuum CM3, das in der phylogenetischen Analyse mit der Art *Cyrnea seurati* zusammenclustert. Die beiden anderen hohen intraspezifischen Sequenzunterschiede von 18,5% bei *Serratospiculum tendo* und 19,5% bei *Microtetrameres cloacitectus* lassen sich vermutlich dadurch erklären, dass hier jeweils die Sequenzunterschiede von selber sequenzierten Individuen mit Sequen-

zen aus der Datenbank berechnet wurden. Diese Werte sind nicht so zuverlässig wie selbst sequenzierte Proben. Trotz der z.T. hohen intraspezifischen Sequenzunterschiede kann deshalb innerhalb der Infraordnung Spiruromorpha kein begründeter Hinweis auf die Existenz kryptischer Spezies gewonnen werden.

Die interspezifischen Sequenzunterschiede der Tabelle 27 bewegen sich zwischen 10,0 und 50,3%, wobei sogar innerhalb einer Gattung große Sequenzunterschiede von bis zu 50% nachgewiesen wurden (JACOBS et al., 1997). Die in der vorliegenden Studie berechneten Werte liegen in einem ähnlichen Schwankungsbereich.

Die in der vorliegenden Studie berechneten G+C Gehalte liegen im Bereich der in verschiedenen Studien ermittelten Werte von 39,5% bis 48,0% (NEWTON et al., 1998, CHILTON et al., 1997a, HUNG et al., 1997).

In Übereinstimmung mit EPE et al. (1996) kann die Eignung der variablen, aber speziesspezifischen ITS-2 rDNA als Marker für Speziesdiagnostik bestätigt werden. Mit speziesspezifischen Primern können Nematodenarten aus einem Pool nahe verwandter Nematoden sicher identifiziert werden. Dies konnten z.B. VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. (2002) zeigen, die mit Real-time PCR quantitativ DNA der verschiedenen Magen-Darm-Nematoden aus Wiederkäuermägen nachwiesen. Die hier vorliegende Studie belegt, dass nicht nur für Strongylyden und Askariden, sondern auch für Spiruriden speziesspezifische ITS-2 rDNA als Marker für Speziesdiagnostik verwendet werden kann. Allerdings können die hier ermittelten Sequenzen spirurider Nematoden nur mit wenigen anderen Studien verglichen werden, da aktuell nur vereinzelt Studien über Sequenzanalysen spirurider Nematoden vorliegen, die sich überwiegend mit human- oder nutztierpathogenen Arten beschäftigen.

4.10.2.3 Intraindividuelle Variabilität der ITS-2 Sequenzen

Die Multigenfamilie des ribosomalen Operons unterliegt konzertierter Evolution, so dass die repetitiven Sequenzen des ribosomalen Operons, die in mehreren hundert Kopien pro Zelle vorliegen können, innerhalb eines Individuums homogenisiert werden. Dies hat zur Folge, dass die ITS-2 Sequenzen innerhalb eines Individuums ähnlicher sind als die verschiedener Individuen. (GASSER & NEWTON, 2000). Trotz konzertierter Evolution können diese Kopien jedoch Unterschiede in der Basenabfolge aufweisen (ANDERSON et al., 1998). Dies ist zum Beispiel bei den ITS-2 Sequenzen rhabditomorpher Nematoden der Fall. Bei Individuen von *Cooperia oncophora*, Nematoden aus der Familie der Trichostrongylida, konnten intraindividuelle Sequenzunterschiede von 4,9% bis 7,2% festgestellt werden (MES & CORNELISSON, 2004). Mögliche Ursachen der Heterogenität der ITS-2 Region liegen entweder in der komplexen Genneuordnung im Laufe der Ontogenese verbunden mit polyploiden Stadien oder in einer erhöhten Mutationsrate der ITS-2 Gene (MES & CORNELISSON, 2004). STEVENSON et al. (1995) fanden jedoch keinen Hinweis, daß die Sequenzvariationen innerhalb einer Spezies vom Entwicklungsstatus der Nematoden abhängen.

Die intraspezifische Variabilität der ITS-2 Genregion liegt bei Strongylyden im Durchschnitt unter 1,0%, während die interspezifischen genetischen Distanzen über 1,5% liegen (GASSER & NEWTON, 2000). Bei Nematoden der Gattung *Ancyclostoma*, die ebenfalls zu den Strongylyden gezählt werden, konnte in der Studie von CHILTON & GASSER (1999) dagegen kein intraindividueller Polymorphismus festgestellt werden. Die intraindividuellen Sequenzunterschiede der in der vorliegenden Studie untersuchten spiruriden Nematoden betragen zwischen 0,4% bei *Microtetrameres cloacitectus* und 3,3% bei *Physaloptera alata*. Vergleichswerte anderer spirurider Nematoden konnten in der Literatur nicht gefunden werden. Der hohe intraindividuelle Sequenzunterschied

von *Physaloptera alata* liegt noch unterhalb der intraindividuellen Sequenzunterschiede, die MES & CORNELISSON (2004) bei Trichostrongylida nachwiesen. Doch ebenso wie bei Nematoden aus der Familie der Trichostrongylida weisen die intraindividuellen Sequenzunterschiede der spiruriden Nematoden auf nicht vollständig homogenisierte ITS-2 Genregionen hin. Deshalb sollten bei der Analyse intraspezifischer ITS-2 Marker bei spiruriden Nematoden auch stets intraindividuelle Unterschiede untersucht werden.

4.10.2.4 Sequenzanalyse der mt COI Genregion

Die Tabelle 28 zeigt einen Vergleich der in der vorliegenden Studie ermittelten intra- und interspezifischen mt COI Sequenzunterschiede mit Werten, die in anderen Studien ermittelt wurden.

Tabelle 28: Vergleich der intra- und interspezifischen Sequenzunterschiede in Prozent der mt COI Sequenzen der Nematoden

Studie	systematische Stellung der Nematoden	intraspezifischer Sequenzunterschied in Prozent	interspezifischer Sequenzunterschied in Prozent
eigene Studie	<i>Porrocaecum</i> sp.	3,2	12,4
	<i>Hovorkonema variegatum</i>	9,0	-
BLOUIN, (2002)	Nematoden allgemein	bis 2,0%	bis 10,0%
HU, (2006)	Ordnung Strongylida	0,3-2,3	-
	Gattung <i>Ancylostoma</i>	0,3-8,6	4,8-12,9
BLOUIN et al., (1998)	<i>Ostertagia ostertagi</i>	6,0%	-

Der interspezifische Sequenzunterschied des partiellen mt COI Gens liegt in der vorliegenden Studie bei 12,4%, die intraspezifische Distanz für *Porrocaecum* sp. bei 3,2%. Beide Werte liegen in einem ähnlichen Bereich wie die von BLOUIN et al. (2002) ermittelten Werte. Der Nukleotidunterschied der beiden Sequenzen von *Hovorkonema variegatum* liegt allerdings mit 9,0% deutlich höher. Im Gegensatz dazu steht die geringe genetische Distanz von 0,6% zwischen den weit entfernten Arten PO3 und HV2, d. h. die Sequenzunterschiede ergeben keine klare Trennung zwischen intra- und interspezifischen genetischen Distanzen. ZHAN et al. (2001) hingegen konnten mit speziesspezifischen Primern ein 710 bp langes Teilstück der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase amplifizieren und damit Nematodenarten der Gattung *Ancylostoma* eindeutig unterscheiden.

4.11 Phylogenetische Analyse

Phylogenetische Analysen, die auf dem Sequenzvergleich eines bestimmten Gens bzw. eines Genabschnitts beruhen, beinhalten grundsätzlich die Gefahr, nicht die tatsächliche Verwandtschaft der untersuchten Taxa wiederzuspiegeln (ENNOS, 1998). Dies kann z.B. dann passieren, wenn paraloge Gene einer Multigenfamilie untersucht werden (NEI & KUMAR, 2000). In diesem Fall kann der berechnete Genbaum vom phylogenetischen Baum der Spezies abweichen, d. h. die Phylogenie eines Gens repräsentiert nicht zwangsläufig die Evolution der Art. Daher erhöht der Vergleich von Daten aus mehre-

ren voneinander unabhängiger Loci die Verlässlichkeit einer molekulargenetischen Analyse (NEI & KUMAR, 2000). In dieser Studie wurden deshalb drei unterschiedliche genetische Marker analysiert, die beiden nukleären Markern 18S und ITS-2 sowie den vom nukleären Genom unabhängig vererbten mitochondrialen COI Marker.

4.11.1 Phylogenetische Analyse der partiellen mt COI Sequenzen der Greifvögel

Das auf Grundlage der Sequenzunterschiede der partiellen mt COI Gene berechnete Phylogramm wird in den höheren Aufzweigungen nur durch schwache Bootstrapwerte unterstützt, obwohl die mt COI Sequenzen der Säugetiere weniger variabel sind als die der Nematoden (HU & GASSER, 2006). Das mit der Neighbor-Joining Methode berechnete Phylogramm zeigt innerhalb der Familie der Accipitridae ein abweichendes Aufzweigungsmuster. Da aber das hier abgebildete Maximum-Parsimony Phylogramm sowohl mit der aktuell anerkannten, auf Morphologie basierenden Systematik als auch mit dem Stammbaum von WINK & SAUERGÜRTH (2004), der auf Sequenzunterschieden des mitochondrialen Cytochrom b Gens beruht, übereinstimmt, wird das hier berechnete Maximum Parsimony Phylogramm für die weitere cophylogenetische Analyse verwendet.

4.11.2 Phylogenetische Analyse der molekularen Marker der Nematoden

4.11.2.1 Phylogenetische Analyse der 18S Sequenzen

Ein Vorteil der 18S Sequenzen ist ihre universelle Einsetzbarkeit in vielen Bereichen des Tierreiches. Mit ihrer Hilfe können die verwandtschaftlichen Beziehungen verschiedener Klassen von Organismen verglichen werden. In den letzten Jahren wurden mehrere tausend 18S rDNA Marker von Bakterien, Tieren und Pflanzen sequenziert und diese Sequenzen in einer Datenbank zusammengefasst (WUYTS et al., 2002). Dies ermöglicht die Einordnung von 18S Sequenzen in einen größeren Zusammenhang innerhalb des Tierreichs. ALESHIN et al. (1998) charakterisierten z. B. mit Hilfe von 18S Sequenzen die Stellung der Nematoden innerhalb der Gruppe der Invertebraten.

Die Anordnung der vier untersuchten Infraordnungen aus der Gruppe der Nematoden zueinander stimmt mit den neusten Untersuchungen der Nematodenphylogenie von BLAXTER et al. (2003) und MELDAL et al. (2007) überein. Die enge genetische Verwandtschaft der früheren Ordnungen Spirurida und Ascaridida führte zu einer Reklassifizierung in die Infraordnungen Spiruromorpha und Ascaridomorpha und eine Zusammenfassung in die Unterordnung Spirurina. Auch in der vorliegenden Analyse waren die 18S Sequenzen spirurider und askarider Nematoden eng verwandt, die durchschnittlichen genetischen Distanzen betragen 3,1%. Dies bestätigt die Vereinigung der beiden ehemaligen Ordnungen in die gemeinsame Unterordnung Spirurina.

Nematoden aus der Infraordnung Rhabditomorpha und aus der Unterordnung Spirurina werden aufgrund der Untersuchungen von BLAXTER et al. (2003) und MELDAL et al. (2007) in die große Gruppe der Chromadorida eingeordnet, während die Nematoden der Infraordnung Trichinellida zur genetisch weiter entfernten Gruppe der Dorylaimia gehören. Die engere Verwandtschaft der Rhabditomorpha und Spirurina im Gegensatz zu Nematoden der Ordnung Trichinellida kann durch die phylogenetische Analyse der vorliegenden Studie ebenfalls bestätigt werden.

Die phylogenetische Analyse von 18S Sequenzen bei WUOVÁ et al. (2006) zeigte ein anderes Aufzweigungsmuster innerhalb der Familien der Unterordnung Spirurina als der in dieser Studie berechnete phylogenetische Baum. Der Schwerpunkt der Untersu-

chungen von WIJOVÁ et al. (2006) lag allerdings bei Sequenzen aus der Überfamilie Dracunuloidea, nur sieben Sequenzen aus der Infraordnung Spiruromorpha wurden berücksichtigt. In der phylogenetischen Analyse von WIJOVÁ et al. (2006) gruppierte sich die Sequenz von *Physaloptera alata* zusammen mit den Sequenzen der Überfamilie Habronematoidea, was allerdings nur mit niedrigen Bootstrapwerten unterstützt wurde. In der vorliegenden Studie hingegen clustert die Familie der Physalopteridae mit einem Bootstrapwert von 99 mit der Familie der Acuariidae zusammen. Die phylogenetische Analyse der 18S Sequenzen wurde in dieser Studie sowohl mit dem Neighbor-Joining Verfahren als auch mit einer Maximum Parsimony Analyse durchgeführt. Beide Verfahren führten zur gleichen Topologie des 18S Baumes, was die Robustheit der hier berechneten phylogenetischen Hypothese bestätigt. Sowohl die Arbeit von WIJOVÁ et al. (2006) als auch die vorliegende Untersuchung zeigten eine enge Verwandtschaft der Familien Onchocercidae und Diplostriaenidae, die allerdings in dieser Studie nur mit einem Bootstrapwert von 59 belegt wurde.

Die hier errechnete 18S Phylogenie stimmt mit der umfassenden Phylogenie der Nematoden von MELDAL et al. (2007) überein. Die Studie von MELDAL et al. (2007) analysierte jedoch nur neun Sequenzen aus der extrem artenreichen Gruppe der Spiruromorpha, die alle der Familie der Onchocercidae angehören. Die vorliegende Studie ist die erste, die mit 18S Markern die phylogenetischen Beziehungen von spiruriden Nematoden aus sechs verschiedenen Familien analysiert.

Die überwiegend kurzen Astlängen des hier berechneten phylogenetischen Baums zeigen, dass die 18S Sequenzen zu konservativ sind, um innerhalb von Gruppen mit geringen genetischen Distanzen, z. B. den Ascaridomorpha, intrafamiliäre Beziehungen darzustellen. In Übereinstimmung mit FITCH et al. (1995) bestätigt diese Studie aber die Eignung der 18S rDNA als phylogenetischer Marker zur Bestimmung interfamiliärer Verwandtschaftsverhältnisse. Die Verwendung von Universalprimern ermöglicht die Analyse großer Bereiche der gesamten Nematodenphylogenie.

4.11.2.2 Vergleich des 18S Stammbaums der Spiruromorpha mit dem morphologischen Stammbaum

CHABAUD & BAIN (1994) formulierten anhand umfassender Daten zu vergleichender Morphologie, Wirten, geographischer Verbreitung und paläontologischen Daten der Wirte eine Hypothese zur Evolutionsgeschichte der Spirurida. Die Konstruktion einer umfassenden Phylogenie spirurider Nematoden ist vor allem deshalb problematisch, weil viele Arten dieser großen, diversen Gruppe nur unzureichend charakterisiert sind und es kaum fossile Informationen gibt. CHABAUD & BAIN (1994) postulierten die Hypothese, dass die Spirurida aus Vertretern der nahe verwandten Ascaridida hervorgegangen sind. Die in der vorliegenden Studie untersuchten Familien spirurider Nematoden gehen nach CHABAUD & BAIN (1994) alle auf einen gemeinsamen Vorläufer zurück, mit Ausnahme der Familie der Physalopteridae, die sich innerhalb der Spiruriden früh von den anderen Familien trennt. Eng verwandt sind nicht nur die Familien Habronematidae und Tetrameridae, die in der Überfamilie der Habronematoidea zusammengefasst wurden, sondern auch die Filaroidea und die Familie Diplostriaenidae, die beide aus Vorläufern aus der Gruppe der Spiruroidea entstanden sind.

Im Gegensatz zur Studie von CHABAUD & BAIN (1994) clusterte die Familie Acuariidae in der 18S Analyse mit der Familie der Physalopteridae zusammen, und nicht, wie von CHABAUD & BAIN (1994) postuliert, mit den Überfamilien Habronematoidea und Spiruroidea. Diese Differenzen zwischen morphologischen und genetischen Stammbäumen verdeutlichen die Notwendigkeit, innerhalb der Nematodensystematik morphologische

Studien mit genetischen Informationen zu ergänzen. Die weiteren Strukturen des 18S Stammbaums stimmen mit der Hypothese von CHABAUD & BAIN (1994) überein.

In der Abbildung 24 ist das Ergebnis beider Studien gegenübergestellt. Im linken Teil der Abbildung ist der verkürzte Neighbor-Joining Baum der 18S Sequenzen der greifvogelparasitierenden Spiruromorpha dargestellt. Als Außengruppen wurden die Nematoden *Porrocaecum angusticolle* (PO1) und *Hovorkonema variegatum* (HV1) verwendet. Ein vereinfachter, schematischer Baum, der die Evolution der Spiruromorpha nach CHABAUD & BAIN (1994) darstellt, ist im rechten Teil abgebildet. Die Pfeile verdeutlichen die systematische Stellung der einzelnen Familien in den beiden phylogenetischen Hypothesen.

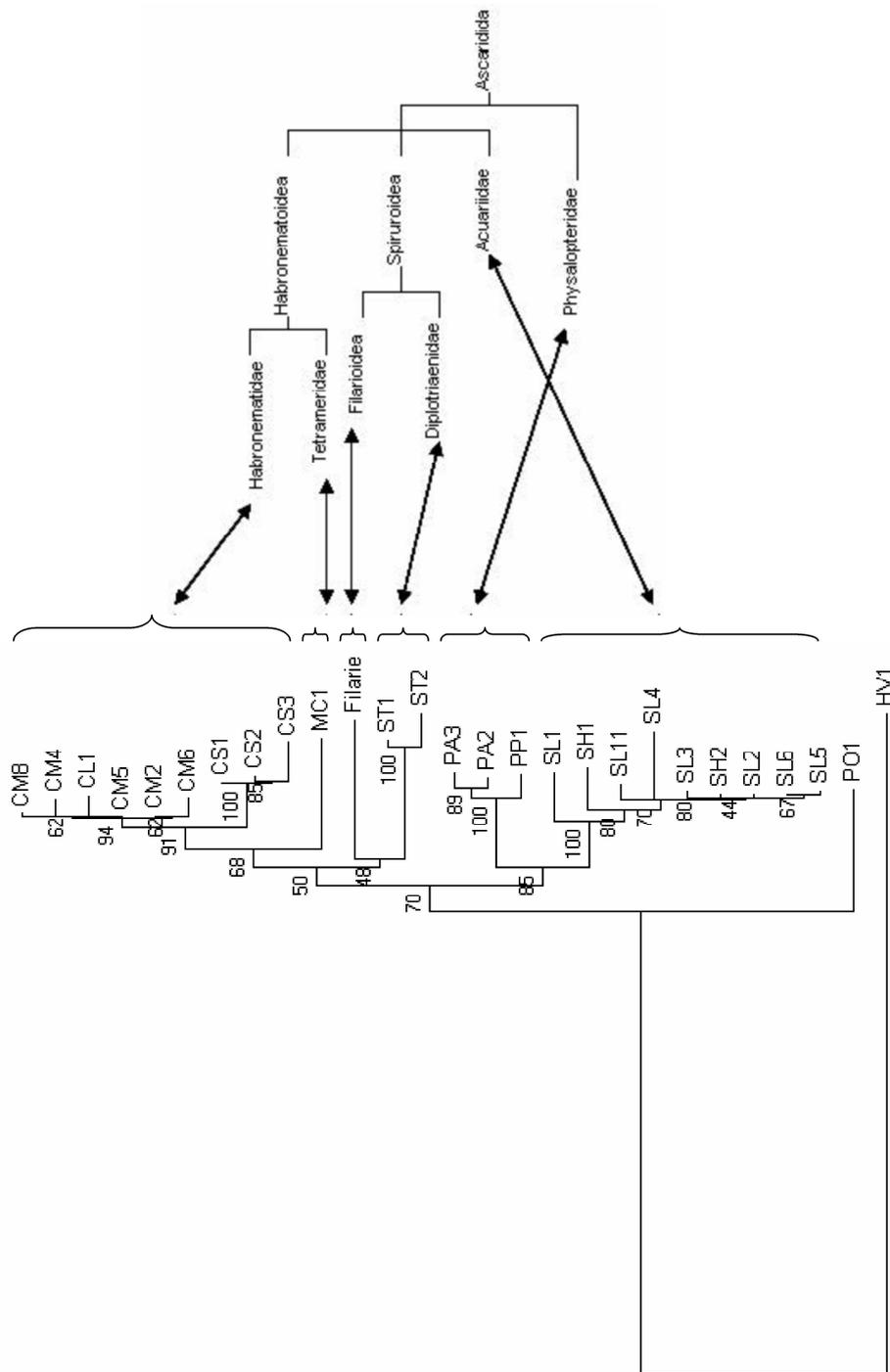


Abb 24: Vergleich der 18S Phylogenie der Spiruromorpha mit der Phylogenie basierend auf morphologischen und ökologischen Merkmalen nach CHABAUD & BAIN (1994). Im linken Teil der Abbildung ist der Neighbor-Joining Stammbaum der 18S Sequenzen dargestellt, berechnet mit K2P Parameter, 1000 Bootstrappedreplikationen, Bootstrappedwerte unter 50 sind nicht angegeben. Als Außengruppen wurden *Porrocaecum angusticolle* (PO1) und *Hovorkonema variegatum* (HV1) verwendet. Rechts ist der schematische, vereinfachte phylogenetische Baum der Spiruromorpha nach CHABAUD & BAIN (1994) abgebildet. Die Pfeile verdeutlichen die systematische Stellung der Familien in beiden Stammbäumen.

4.11.2.3 Phylogenetische Analyse der ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha

Die höheren Aufzweigungen der ITS-2 Phylogramme werden sowohl bei der Neighbor-Joining Analyse als auch beim Maximum Parsimony Verfahren nur mit niedrigen Bootstrapwerten unterstützt. Beim Maximum Parsimony Stammbaum der ITS-2 Sequenzen steht die Familie der Physalopteridae ancestral zu den anderen Familien, allerdings mit einem sehr geringen Bootstrapwert von 35. Die restliche Topologie entspricht dem in dieser Arbeit abgebildeten Neighbor-Joining Baum. Die hochvariablen ITS-2 Marker lassen keine statistisch gut unterstützte Aussage im Bereich der interfamiliären Verwandtschaftsverhältnisse zu. Für diese Bereiche liefert die Analyse der 18S Marker zuverlässigere Ergebnisse. In Übereinstimmung mit DORRIS et al. (1999) können ITS-2 Genregionen bei Nematoden nur zur Analyse intrafamiliärer Beziehungen verwendet werden. Diese Beziehungen sind in der hier konstruierten ITS-2 Analyse statistisch gut gesichert. Für umfassende phylogenetische Untersuchungen sollte also die Analyse eines 18S Stammbaumes mit der Analyse einer hochvariablen Genregion, wie z. B. dem ITS-2 Marker ergänzt werden.

Da die Gattung *Synhimantus* innerhalb der spiruriden Nematoden bei den meisten Wirten vorkommt, wurden mehrere Sequenzen von *Synhimantus laticeps* aus unterschiedlichen Wirten analysiert. Innerhalb der Spezies *S. laticeps* ließ sich kein Hinweis auf Cospeziation erkennen, d.h. das Verwandtschaftsverhältnis der Wirte spiegelte sich nicht in den entsprechenden Sequenzen wieder. Die Individuen von *S. laticeps*, die aus Sperbern stammten, verteilten sich über das ganze Cluster. Nächste Verwandte der *S. laticeps* Sequenzen aus Sperbern waren Wiesenweihe, Turmfalke oder Habicht, also relativ weit entfernt verwandte Wirte.

Die innerartlichen Unterschiede der ITS-2 Sequenzen waren sehr variabel in den einzelnen Arten. Während *Cyrnea seurati* ein einheitliches Cluster fast identischer Sequenzen bildete, betrug die innerartlichen Unterschiede bei *Microtetrameres cloacitectus* 19,5% und bei *Serratospiculum tendo* 18,5%. Da die Werte dieser beider Arten jedoch mit Sequenzen aus der Datenbank berechnet wurden, sind diese hohen intraspezifischen Sequenzunterschiede nicht sehr zuverlässig.

Die Gattung *Cyrnea* stellte sich in zwei Untergruppierungen dar. Ebenso wie bei der 18S Analyse clusterte die Probe CM3 als einzige Sequenz der Art *Cyrnea mansioni* mit den Sequenzen von *C. seurati* zusammen. Dies lässt sich eventuell auf einen Bestimmungsfehler bei der morphologischen Analyse zurückführen. Die Sequenz CL1 von *C. leptoptera* ließ sich ebenso wie bei der phylogenetischen Analyse der 18S Marker nicht als eigene Art abgrenzen. Gegen einen Bestimmungsfehler spricht allerdings die Tatsache, dass CL1 ein deutlich anderes SSCP Bandenmuster bildete als die Proben von *C. mansioni*. Zur weiteren Abklärung müssten noch mehrere Individuen von *C. leptoptera* untersucht werden, jedoch stand in der vorliegenden Studie nur ein Exemplar zur Verfügung.

4.11.2.4 Phylogenetische Analyse der ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha

Die Sequenzen der Spulwürmer *Porrocaecum* trennten sich im Phylogramm der ITS-2 Marker in zwei Gruppen auf, die jeweils mit der Vergleichssequenz von *P. angusticolle* bzw. *P. depressum* aus der NCBI Datenbank zusammenclusterten. Die Aufteilung wurde mit einem Bootstrapwert von 99 unterstützt, so dass alle Sequenzen als *P. angusticolle* bzw. *P. depressum* identifiziert werden konnten. Der Maximum Parsimony Stammbaum zeigte die gleiche Topologie. Mit Hilfe der ITS-2 Marker konnten also die Nematodenarten der Gattung *Porrocaecum*, die morphologisch nur mit hohem präparatorischem Aufwand zu bestimmen sind, schnell und eindeutig identifiziert werden.

Dies zeigt in Übereinstimmung mit CHILTON et al. (1995) die Eignung der ITS-2 Marker für schnelle, routinemäßige Artdiagnosen bei Nematoden ohne parasitologische Spezialkenntnisse, jedoch müssen entsprechende Vergleichssequenzen zur Verfügung stehen.

4.11.2.5 Phylogeographisches Muster der ITS-2 Sequenzen

Die Verwandtschaftsverhältnisse der ITS-2 Sequenzen spiegelten nicht den geographischen Ursprung wieder, d. h. eng verwandte Sequenzen einer Art stammten nicht von Nematoden gleicher regionaler Herkunft. Da die Greifvögel jedoch weiträumige Herkunftsgebiete haben und außerdem ein Großteil der Greifvögel Zugvögel sind, kann innerhalb Deutschlands vermutlich kein regionaler Unterschied erwartet werden. Hier müssten eventuell Nematoden aus verschiedenen Regionen Europas miteinander verglichen werden. MORALES-HOJAS et al. (2001) konnten z. B. 0,3 bis 2,0% Sequenzunterschiede bei Individuen von *Onchocerca volvulus* aus Liberia und Brasilien feststellen. Die ITS-2 Sequenzunterschiede sind jedoch sehr gering, obwohl Nematoden verschiedener Kontinente verglichen wurden. WIJOVÁ et al. (2006) dagegen konnten bei Nematoden der Familie Philometridae keine phylogeographische Korrelation erkennen, obwohl ebenfalls die verwandtschaftlichen Beziehungen von Nematoden verschiedener Kontinente verglichen wurden.

4.11.2.6 Phylogenetische Analyse der partiellen mt COI Sequenzen

Im Gegensatz zur mitochondrialen COI Genregion der Vertebraten, die zu den am häufigsten untersuchten genetischen Markern gehört, gibt es bis jetzt nur wenige phylogenetische Studien, die mitochondriale molekulare Marker bei Nematoden analysieren (HU & GASSER, 2006). Um die Eignung mitochondrialer Gene für phylogenetische Analysen zu testen und die phylogenetischen Informationen der nukleären genetischen Marker zu überprüfen, wurden in dieser Studie zusätzlich die mitochondrialen COI Genregionen von sechs Sequenzen der Spezies *Porrocaecum* sp. und *Hovorkonema variegatum* analysiert.

Der Vorteil der in dieser Studie untersuchten partiellen mt COI Sequenzen liegt in einem problemlosen Alignment. Im Gegensatz zu den ITS-2 Sequenzen, die eine höhere Anzahl an Indels aufweisen, wurden in die alinierten partiellen mt COI Sequenzen nur an zwei Stellen wegen einer Insertion und einer Deletion gaps eingefügt. Je weniger gaps in einem Alignment vorhanden sind, desto zuverlässiger ist das Alignment und die darauf aufbauende phylogenetische Analyse.

Sowohl MCDONNELL et al. (2000) als auch BLOUIN et al. (1998) belegen, dass A+T reiche Sequenzen Probleme bei der Konstruktion von Stammbäumen ergeben. Mitochondriale Gene sind deshalb bei Nematoden weniger zur Konstruktion phylogenetischer Bäume geeignet als ribosomale DNA. Der A+T Gehalt der in dieser Studie ermittelten partiellen mt COI Sequenzen von 63,3% lag jedoch nur knapp über dem A+T Gehalt der ITS-2 Marker, der zwischen 52% und 60,5% lag.

Trotz des relativ zuverlässigen Alignments führte die phylogenetische Analyse der partiellen mt COI Sequenzen in dieser Studie zu keinem plausiblen Ergebnis, obwohl das Phylogramm durch hohe Bootstrapwerte unterstützt wurde. In Übereinstimmung mit den geringen genetischen Distanzen zwischen PO3 und HV2 wurde die Sequenz von HV2 in die Gruppe der askariden Nematoden eingeordnet. Beide Sequenzen von *Hovorkonema variegatum* clusterten statt mit Sequenzen aus der Infraordnung Rhabditomorpha mit der Gruppe der Ascaridomorpha zusammen. Die falsche Eingruppierung der Sequenzen von *Hovorkonema variegatum* könnte jedoch auch aufgrund der weite-

ren Sequenzen der Rhabditomorpha aus der NCBI Datenbank zustandekommen, da die Korrektheit dieser Sequenzen nicht überprüft werden kann. Der mit der Maximum-Parsimony Methode berechnete Baum zeigte die gleiche Topologie. Die Sequenzen waren zu variabel, um die Verwandtschaftsverhältnisse von Nematoden verschiedener Infrarordnungen zu vergleichen.

Aufgrund der Schwierigkeit, geeignete Primer zu entwickeln und der Tatsache, dass intra- und interspezifische genetische Distanzen nicht unterschiedlich genug waren, kann die partielle mt COI Region bei Nematoden trotz eines einfachen Alignments für phylogenetische Analysen nicht als geeignet beurteilt werden.

Grundsätzlich wäre es jedoch sinnvoll, die phylogenetische Analyse ribosomaler Gene mit der Analyse eines von den nukleären Genen unabhängig evolvierenden mitochondrialen Gens zu ergänzen. BLOUIN et al. (1998) untersuchten das Nukleotidsubstitutionsmuster der mitochondrialen ND4 Genregion von Nematoden aus der Familie der Trichostrongylidae. Sie zeigten, dass die ND4 Genregion bei Nematoden noch variabler ist als die COI Genregion und deshalb nur für populationsgenetische Analysen innerhalb einer Art geeignet ist. NADLER & HUDSPETH (2000) verglichen die phylogenetischen Informationen der zweiten Untereinheit der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase (COII) bei Askariden mit denen ribosomaler DNA. Wegen eines hohen Anteils an Homoplasie und schlechter Auflösung der Verzweigungen der phylogenetischen Bäume zeigten sich in dieser Studie auch die COII Sequenzen weniger geeignet für phylogenetische Untersuchungen als ribosomale DNA. Aktuell gibt es noch wenige Untersuchungen zur mitochondrialen NADH Dehydrogenase bei Nematoden. Ob der langsamer evolvierende mitochondriale NADH Dehydrogenase Komplex ein geeigneter genetischer Marker aus dem Bereich der mitochondrialen Gene sein könnte, müsste durch Studien belegt werden.

4.12 Cospeziation zwischen Greifvögeln und Nematoden

4.12.1 Voraussetzungen für Cospeziation

Haarlinge und Federlinge sind Modelltiere für Cospeziationsstudien, da sie stark wirtsspezifisch sind und ihr kompletter Lebenszyklus auf dem Wirt stattfindet (HAFNER et al., 1994). Diese Voraussetzungen erhöhen die Möglichkeit einer vertikalen Übertragung, die Voraussetzung für gemeinsame evolutionäre Prozesse von Wirt und Parasit ist (JOHNSON et al., 2006). Der Vergleich der Phylogenien von Tauben und ihren Federlingen (JOHNSON et al., 2003) zeigte neben Abschnitten mit signifikanter Cospeziation auch Inkongruenzen, d. h. es erfolgte keine Speziation der Federlinge analog zur Speziation der Tauben. Dieses Phänomen wurde als „failure to speciate“ bezeichnet und mit noch bestehendem Genfluß zwischen den verschiedenen Parasitenpopulationen erklärt. Ein ähnliches Muster aus Kongruenzen und Inkongruenzen konnten PAGE et al. (2004) beim Vergleich der Stammbäume von Sturmvögeln und Albatrossen mit den Stammbäumen ihrer Federlinge feststellen. Trotz optimaler Voraussetzungen für Cospeziation konnten allerdings BANKS et al. (2006) keine Evidenz für Cospeziationsereignisse bei Pinguinen und ihren Haarlingen finden. Die inkongruenten Stammbäume wurden ebenfalls mit „failure to speciate“ erklärt, d. h. die Haarlinge spezierten nicht analog zur Speziation der Pinguine.

Der Grad an Cospeziation zwischen Nematoden und ihren Wirten kann unterschiedlich hoch sein. Ein hohes Maß an Cospeziation konnten sowohl HUGOT (1999) als auch SORCI et al. (1997) zwischen Oxyuriden und Primaten feststellen. CHILTON et al. (2004)

dagegen konnten bei einer wirtsspezifischen Nematodenart aus Grauen Riesenkängurus belegen, dass trotz Speziation des Wirtes keine Speziation der Nematoden erfolgte. Auch die 18S Analyse spirurider Nematoden der Familie Philometridae von WIJOVÁ et al. (2006) ergab keine cophylogenetische Beziehung zwischen den Wirten und ihren Nematoden.

Entscheidend für eine gemeinsam verlaufende Phylogenie von Nematode und Wirt ist die Überlebensdauer infektiöser Parasitenstadien in der Umwelt und der Umfang, in dem Vektoren oder Intermediärwirte in den Lebenszyklus des Parasiten involviert sind. Parasiten, die in ihrem Lebenszyklus wirtsunabhängige Stadien durchlaufen, können sich unabhängiger vom Wirt weiterspezialisieren und evolvieren (BLAXTER, 2003). So konnten DORRIS et al. (2002) bei *Strongyloides* sp., einer Nematodenart, bei denen die Männchen einen Teil ihres Lebenszyklus freilebend verbringen, keine Cospeziation mit ihren Wirten nachweisen.

CLAYTON et al. (2004) wiesen an verschiedenen Fallstudien, z.B. bei Tauben und ihren Federlingen, nach, dass der Grad der Cospeziation maßgeblich durch ökologische Faktoren beeinflusst wird. Je mehr ökologische Faktoren cophylogenetische Mechanismen, wie z. B. „host switch“ ermöglichen, desto weniger spezieren die Parasiten analog zu ihren Wirten. Durch Übertragungsexperimente von Parasiten zwischen verschiedenen Wirten konnten CLAYTON et al. (2004) zeigen, dass die Etablierung einer Parasitenpopulation auf einem neuen Wirt hauptsächlich durch die Möglichkeiten des Parasiten zur Dispersion limitiert wird. Die Dispersionsmöglichkeiten des Parasiten und damit die Möglichkeit zum „host switch“ und zur Kolonisation neuer Wirte wird durch abiotische Faktoren wie z.B. Klimafaktoren beeinflusst (HOBERG, 2005).

Die meisten Studien beschäftigen sich mit Parasiten, die einen direkten Lebenszyklus durchlaufen. Fast alle der in dieser Studie untersuchten greifvogelspezifischen Nematoden besitzen jedoch Zwischenwirte und paratenische Wirte. Die Infektion der Greifvögel erfolgt meist über ihre Beutetiere, die als Zwischenwirt oder paratenischer Wirt dienen. Durch die Einschaltung eines Zwischenwirtes wird die horizontale Übertragung der Nematoden auf einen neuen Wirt begünstigt. Nach der Hypothese von CLAYTON et al. (2004) wird damit eine Cospeziation zwischen Greifvögeln und Nematoden unwahrscheinlich.

Die meisten der hier untersuchten Nematoden sind mehrwirtig. Cospeziation erfordert jedoch eine enge, evolutionäre Beziehung zwischen zwei Arten, die bei mehrwirtigen Parasiten nicht gegeben ist. Unterschiedliche Hypothesen können zur Erklärung des Phänomens der Mehrwirtigkeit herangezogen werden (BANKS & PATERSON, 2005):

1. Die Taxonomie der Wirte ist falsch, es handelt sich um Wirte einer Art.
2. Bei den Parasiten handelt es sich um kryptische Spezies, die zwar morphologisch identisch, aber genetisch distinkt sind.
3. Ein „host switch“ des Parasiten erfolgte vor so kurzer Zeit, dass die nun isolierten Spezies genetisch noch identisch sind.
4. Noch bestehender Genfluss zwischen den Parasiten führt zu „failure to speciate“.
5. Ein vorher erfolgter „host switch“ verlief nicht komplett, d. h. ein Teil der ursprünglichen Parasitenpopulation verblieb auf dem ursprünglichen Wirt.

Eine falsche systematische Einordnung der Greifvögel, die in dieser Studie morphologisch und genetisch bestimmt wurden, erscheint unwahrscheinlich. Da die Sequenzanalysen keine Hinweise auf kryptische Spezies ergaben, kommen die Hypothesen drei

bis fünf als mögliche Erklärungen für die Mehrwirtigkeit der greifvogelspezifischen Nematoden in Frage. Welche dieser drei Hypothesen zum aktuellen Verteilungsmuster genetisch identischer Parasitenpopulationen auf den verschiedenen Wirtsvogelarten führte, könnte durch die Untersuchung weiterer genetischer Marker auf populationsgenetischem Niveau geklärt werden.

LAJEUNESSE & FORBES (2002) konnten in ihrer Metaanalyse von 25 pflanzen- und tier-spezifischen Parasiten nachweisen, dass Parasiten mit einem breiten Wirtsspektrum weniger lokale Anpassungsmechanismen an den jeweiligen Wirt besitzen als Parasiten mit einem geringen Wirtsspektrum. Dies bedeutet für die greifvogelspezifischen Parasiten, dass zugunsten eines weiten Wirtsspektrums auf lokale Anpassung an spezielle Wirte verzichtet wurde.

Aufgrund ihres Verbreitungsmodus über Intermediär- und paratenische Wirte und ihrer Mehrwirtigkeit kann also bei greifvogelspezifischen Nematoden keine enge, evolutionäre Beziehung mit ihren Wirten erwartet werden. Diese Hypothese wurde in dieser Studie durch die Analyse der 18S und ITS-2 Stammbäume bestätigt. Auch innerhalb der Arten konnte kein Hinweis auf Cospeziation zwischen den Nematoden und Greifvögeln nachgewiesen werden.

4.12.2 Verteilungsmuster der spiruriden Nematoden innerhalb der Greifvogelfamilie der Accipitridae

Die in der vorliegenden Studie analysierte Verteilung der Nematodenspezies auf die Wirtsvogel kann durch verschiedene Mechanismen der Cospeziation erklärt werden. Nach JOHNSON et al. (2003) führen Mechanismen wie Cospeziation, failure to speciate, duplication, extinction, missing the boat oder host switch zu den bestehenden Assoziationen zwischen Wirt- und Parasitenspezies (siehe Abbildung 3). Durch Cospeziation entstehen dabei kongruente Stammbäume der beteiligten Arten (HAFNER & NADLER, 1988).

Zur Analyse von Cospeziationsmechanismen wurden in der Abbildung 25 die Stammbäume der habichtartigen Greifvögel mit den Stammbäumen der spiruriden Nematoden aus den Familien Habronematidae, Tetrameridae, Physalopteridae und Acuariidae verglichen. Die spiruriden Nematoden wurden dabei exemplarisch für diese Analyse ausgewählt, da sie die höchste Wirtsspezifität unter den greifvogelspezifischen Nematoden besitzen. Die Verbindungslinien zwischen Greifvögeln und Nematoden entsprechen den jeweiligen Wirt-Parasit Assoziationen, wie sie in der vorliegenden Studie bei den Sektionen gefunden wurden.

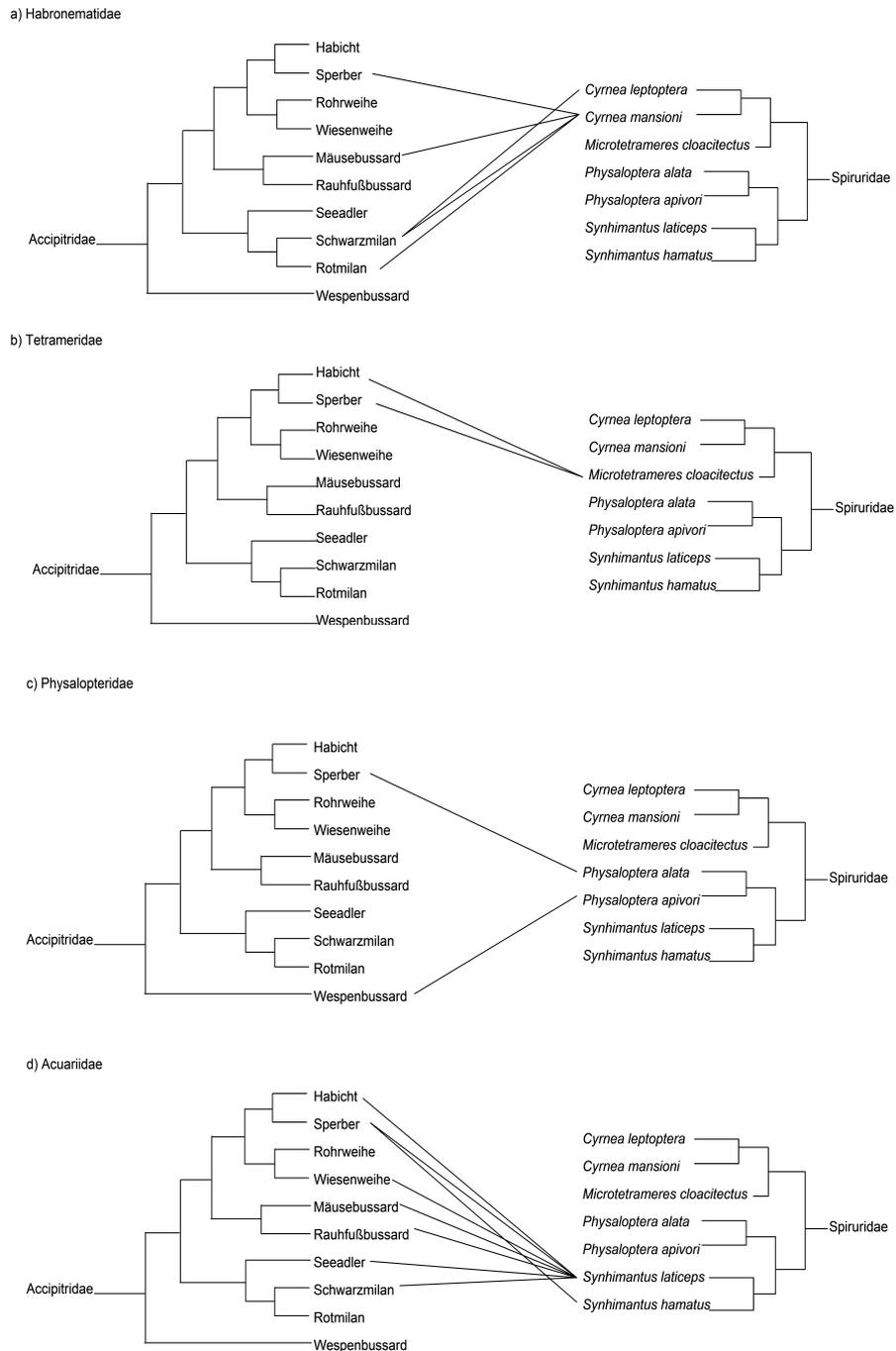


Abbildung 25: Verteilungsmuster der spiruriden Nematoden innerhalb der Greifvogelfamilie der Accipitridae. In den Abbildungen a), b) c) und d) wurde jeweils die Verteilung der Nematoden aus den Familien Habronematidae, Tetrameridae, Physalopteridae und Acuariidae auf die verschiedenen Spezies der habichtartigen Greifvögel dargestellt. Die Stammbaumtopologie der Accipitridae und Spiruridae ist schematisch, die Astlängen korrelieren nicht mit den Sequenzunterschieden. Die Verbindungslinien zwischen Greifvögeln und Nematoden entsprechen den jeweiligen Wirt-Parasit Assoziationen, wie sie in der vorliegenden Studie bei den Sektionen gefunden wurden.

Die in Abbildung 25 dargestellten Assoziationen zwischen Greifvögel und Nematoden können durch eine Vielzahl unterschiedlicher coevolutionstheoretischer Hypothesen

erklärt werden. Im Folgenden werden Hypothesen dargestellt, die auf den Cospeziationsmechanismen von JOHNSON et al. (2003) beruhen.

Abbildung 25a zeigt das Verteilungsmuster von Nematoden der Familie Habronematidae. Der Befall des Schwarzmilans mit den zwei eng verwandten Arten *Cyrtina leptoptera* und *C. mansioni* könnte durch duplication, d.h. Speziation der Parasiten ohne Speziation des Wirtes erklärt werden. Ebenso wäre es jedoch möglich, dass ursprünglich *C. leptoptera* auch im Rotmilan parasitierte, aber zu einem früheren Zeitpunkt in der Evolution des Rotmilans verloren ging. Dieser Vorgang würde als extinction bezeichnet werden. Wäre hingegen *C. leptoptera* ein Parasit des gemeinsamen Vorfahrs von Schwarz- und Rotmilan gewesen, der nur auf den Schwarzmilan, nicht aber auf den Rotmilan übertragen worden wäre, so würde man dies als missing the boat bezeichnen. Das Vorkommen von *C. mansioni* sowohl im Schwarzmilan als auch im Rotmilan kann dagegen durch failure to speciate, also noch bestehendem Genfluß der *C. mansioni* Populationen in verschiedenen Wirtsspezies erklärt werden. Durch eine Serie von host switches könnte der Befall von Sperber und Mäusebussard durch *C. mansioni* entstanden sein.

Die Existenz von *Microtetrameres cloacitectus* aus der Familie der Tetrameridae in Habicht und Sperber kann ebenfalls durch failure to speciate erklärt werden (Abbildung 25b).

Die Verteilung der beiden eng verwandten Spiruriden *Physaloptera alata* und *P. apivori* auf die weiter entfernten Habichtartigen Sperber und Wespenbussard könnte durch den Mechanismus des host switch entstanden sein (Abbildung 25c).

Analog der Verteilung von *C. leptoptera* und *C. mansioni* in Schwarz- und Rotmilan kann die Verteilung von *Synhimantus laticeps* und *S. hamatus* in Habicht und Sperber mit den unterschiedlichen Mechanismen duplication, extinction oder missing the boat erklärt werden. Die Verbreitung von *S. laticeps* in mehreren Wirten der Familie Accipitridae könnte durch eine Serie von host switches entstanden sein (Abbildung 25d).

Für jeden Coevolutionsstudie gibt es eine Vielzahl unterschiedlicher Arbeitshypothesen. Im Allgemeinen wird jedoch die Hypothese als am wahrscheinlichsten angenommen, die die wenigsten Evolutionsschritte beinhaltet (JOHNSON et al., 2003).

4.12.3 Vergleich der mt COI Evolutionsraten von Wirt und Parasit

In ihrer Cospeziationsstudie berechneten HAFNER et al. (1994) unterschiedliche Evolutionsraten der mitochondrialen Cytochrom C Oxidase I von Taschenratten und Haarlingen. In dieser Studie war die mt COI Evolutionsrate der Haarlinge ca. dreimal höher als die der Taschenratten. Die höhere Mutationsrate der mt COI Gene der Haarlinge kann durch eine unterschiedliche Anordnung der mitochondrialen Gene, durch die unterschiedlichen Metabolismusraten und Generationszeiten der beteiligten Arten erklärt werden (HAFNER et al., 1994). Auch JOHNSON et al. (2003) berechneten eine Evolutionsrate der mt COI Gene von Federlingen, die ca. elfmal höher lag als die mt COI Evolutionsraten ihrer Wirte aus der Familie der Columbiformes.

Als Voraussetzung für einen Vergleich der mt COI Evolutionsraten nennen beide Autoren Cospeziation von Wirt und Parasit, die in beiden Studien durch kongruente Stammbäume belegt wurde. Da in der vorliegenden Studie bei keiner der untersuchten Arten ein Cospeziationsereignis nachgewiesen wurde, konnten die Evolutionsraten der beteiligten Gene nicht verglichen werden.

4.13 Charakterisierung der Filarien

Aus dem Muskelmagen des Wespenbussards BW1 197/2001 wurden zwei weibliche Nematoden isoliert, die morphologisch keiner bekannten, bei Greifvögeln parasitierenden Nematodenart zugeordnet werden konnten. Zur Charakterisierung dieser Nematoden konnten folgende Befunde erhoben werden:

4.13.1 Morphologische Analyse

Eine exakte morphologische Analyse war nicht möglich, da keine männlichen Individuen gefunden wurden. Die Form des Ösophagus und der Übergang von Ösophagus in den Dünndarm der beiden Weibchen, der in Abbildung 5 zu erkennen ist, entspricht nach dem Bestimmungsschlüssel von ANDERSON et al. (1974a-1983) den morphologischen Strukturen der Nematodengattung *Chandlerella*. Nematoden dieser Gattung, welche in die Unterfamilie der Splendidofilariinae innerhalb der Familie der Onchocercidae eingeordnet ist, leben in der Unterhaut und im Bindegewebe von Sperlingsvögeln. Eine sichere Zuordnung kann aber anhand der morphologischen Strukturen nicht erfolgen.

4.13.2 Genetische Analyse

Mit den in dieser Arbeit verwendeten Standardprimern konnte sowohl die 18S als auch die ITS-2 Genregion amplifiziert werden. Das SSCP Bandenmuster des ITS-2 Amplifikates stimmte mit keiner der Referenzproben überein. Die DNA der SSCP Banden wurde reamplifiziert und sequenziert. In der NCBI Datenbank wurde als nächstverwandte Sequenz mit 59,6% Übereinstimmung die ITS-2 Genregion von *Onchocerca volvulus* gefunden, einem Nematoden aus der Familie der Onchocercidae, die zur Überfamilie der Filarioidea gehört. Der Vergleich der 18S Sequenzen mit NCBI Sequenzen aus der Datenbank ergab ebenfalls *O. volvulus* als nächsten Verwandten. Die Sequenzhomologie lag bei diesen Sequenzen bei 95,1%. Auch in der phylogenetischen Analyse sowohl der ITS-2 als auch der 18S Sequenzen clustert die unbekannte Sequenz mit *O. volvulus* bzw. *O. cervicalis* zusammen. Aufgrund der genetischen Analysen sind die aus dem Wespenbussard isolierten Nematoden also eng mit der Familie der Onchocercidae verwandt, die zur Überfamilie der Filarioidea gehört.

4.13.3 Literaturübersicht

Die Überfamilie der Filarioidea besteht aus zwei Familien, den Filariidae, die in der Haut und im subkutanen Gewebe von Säugetieren leben, und den Onchocercidae, die sich über Mikrofilarien verbreiten (ANDERSON et al., 1974a-1983). Diese Mikrofilarien werden über blutsaugende Insekten übertragen. Als Vektoren für *Onchocerca volvulus* dienen zum Beispiel Stechmücken der Familie Simuliidae, für *Mansonella ozzardi* Gnizen der Gattung *Culicoides* sp. (MORALES-HOJAS et al., 2001).

Nematoden, die in Vögeln parasitieren, sind nur in der Familie der Onchocercidae beschrieben (ANDERSON et al., 2001). Zum Beispiel parasitieren Nematoden der Gattung *Pelecitus* aus der Unterfamilie der Dirofilariinae in Gelenken und Muskeln verschiedener Vögel, z.B. bei Tauben oder Krähen. Weit verbreitet bei Vögeln sind Nematoden aus den Unterfamilien Splendidofilariinae und Lemdaninae. Nur bei Nematoden der Gattung *Cardiofilaria* aus der Unterfamilie Splendidofilariinae, die in der Körperhöhle und im Perikard von Vögeln parasitieren, sind Greifvögel als Endwirte beschrieben (ANDERSON et al., 2001).

Nach den Parasitenlisten von KRONE (1998) wurden Filarien in folgenden Greifvögeln in Europa nachgewiesen:

- Fischadler: *Pelecitus helix*, *Pelecitus fulicaeatrae*
- Rohrweihe: *Filariata* sp., *Pelecitus armonica*
- Turmfalke: *Chandlerella bosei*, *Filaria* sp.
- Baumfalke: *Cardiofilaria pavlovskyi*
- Sperber: *Cardiofilaria pavlovskyi*

4.13.4 Zusammenfassung der Befunde

Aufgrund der genetischen Analyse handelt es sich bei den hier untersuchten Nematoden um Filarien. Da bis jetzt nur in der Familie der Onchocercidae vogelparasitierende Filarien beschrieben wurden, erscheint eine Zugehörigkeit zu den Onchocercidae als sehr wahrscheinlich. Die hohe Übereinstimmung der Sequenzen mit den Sequenzen von *Onchocerca volvulus* spricht ebenfalls dafür. Da nur wenige Sequenzen von Filarien in der NCBI Datenbank vorhanden sind, ist eine weitere systematische Einordnung nicht möglich. Die Morphologie des Verdauungstraktes weist Ähnlichkeiten mit *Chandlerella* sp. auf. Diese Nematoden wurden allerdings nur bei Sperlingsvögeln, nicht bei Greifvögeln beschrieben. Da die Nematoden im Muskelmagen des Wespenbussards gefunden wurden, besteht die Möglichkeit, dass die Endwirte der Nematoden Sperlingsvögel waren, die der Wespenbussard als Beutetiere gefressen hat. Neben Wespen werden im Nahrungsspektrum von Wespenbussarden regelmäßig Vögel gefunden (MEBS & SCHMIDT, 2006). Der Muskelmagen ist außerdem ein untypisches Zielorgan für Filarien, die hauptsächlich in Körpergeweben, in der Körperhöhle oder im subkutanen Gewebe leben. Dass Greifvögel Ektoparasiten ihrer Beutetiere übernehmen können, haben WHITEMAN et al. (2004) gezeigt, die Federlinge von Galapagostauben auf Galapagosbussarden fanden. Ebenso ist es möglich, dass Endoparasiten von den Beutetieren auf die Greifvögel übertragen werden können.

Erstmalig wurde in dieser Studie der Fund von Filarien im Muskelmagen eines Wespenbussardes beschrieben, die zur Familie der Onchocercidae gehören. Allerdings konnten insgesamt nur vier Wespenbussarde untersucht werden. Diese Zahl reicht nicht aus, um ein umfassendes Bild vom Nematodenspektrum des Wespenbussardes zu erhalten. Mit weiteren Filarienfunden, v. a. in anderen Organen oder Körpergeweben, müsste belegt werden, ob es sich beim Wespenbussard um den Endwirt handelt, oder ob die Filarien ursprünglich in den Beutetieren parasitierten.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurden 153 Greifvögel seziert und parasitologisch untersucht. Das Sektionsgut setzte sich aus folgenden Arten zusammen: 28 Seeadler, 18 Sperber, 15 Mäusebussarde, 15 Turmfalken, 15 Wanderfalken, 13 Habichte, 12 Rotmilane, 8 Fischadler, 7 Baumfalken, 7 Rohrweihen, 5 Schwarzmilane, 4 Wespenbussarde, 3 Wiesenweihen, 2 Merline und 1 Rauhußbussard. Insgesamt waren 52,3% der Greifvögel mit Nematoden befallen. Im Verdauungs- und im Atmungstrakt der Greifvögel wurden 137 Nematoden aus folgenden vierzehn Arten gefunden: *Porrocaecum angusticolle*, *P. depressum* und *Contraeaecum microcephalum* aus der Infraordnung Ascariomorpha, *Hovorkonema variegatum* aus der Infraordnung Rhabditomorpha, *Eucoleus dispar* und *Capillaria tenuissima* aus der Infraordnung Trichinellida, *Physaloptera alata*, *P. apivori*, *Cyrnea leptoptera*, *C. mansioni*, *C. seurati*, *Microtetrameres cloacitectus*, *Serratospiculum tendo*, *Synhimantus hamatus* und *Synhimantus laticeps* aus der Infraordnung Spiruromorpha.

In dieser Studie sollten folgende zentrale Fragestellungen beantwortet werden:

1. Stimmt die mit molekularen Markern konstruierte Phylogenie greifvogelparasitierender Nematoden mit der klassischen morphologischen Phylogenie überein?

Zur Beantwortung dieser Fragestellung wurde die DNA adulter Nematoden aus dem Digestions- und Respirationstrakt der Greifvögel extrahiert. Zwei Abschnitte der ribosomalen DNA, die 18S Region (small subunit, SSU) und der internal transcribed spacer II (ITS-2) wurden amplifiziert und sequenziert. Zusätzlich wurde bei den askariden und strongyliden Nematoden die partielle mitochondriale Untereinheit I der Cytochrom C Oxidase (mt COI) amplifiziert und ebenfalls sequenziert. Die Sequenzen wurden analysiert und zur Konstruktion phylogenetischer Bäume mit der Neighbor-Joining Methode verwendet.

Die partielle mt COI Region konnte nur bei askariden und rhabditomorphen Nematoden amplifiziert und sequenziert werden. Aufgrund ihrer hohen Variabilität waren die Sequenzen nicht für phylogenetische Analysen geeignet.

Mit den ITS-2 Stammbäumen wurden die intrafamiliären phylogenetischen Beziehungen spirurider und askarider Nematoden analysiert. Anhand der variablen ITS-2 Sequenzen konnten die Spulwürmer *Porrocaecum angusticolle* und *Porrocaecum depressum*, die anhand ihrer Morphologie nur schwer zu unterscheiden sind, gut differenziert werden. Die hohen intraindividuellen Sequenzunterschiede des Strongyliden *Hovorkonema variegatum* weisen auf die Existenz kryptischer Arten hin.

Das 18S Phylogramm aller greifvogelparasitierender Nematoden bestätigte mit einer Ausnahme die bisherige, auf Morphologie basierende Systematik. Die Familie der Acuariidae clusterte in der 18S Analyse nicht mit der Überfamilie der Habronematoidea, sondern mit der Familie der Physalopteridae zusammen. Die weitere Topologie entsprach dem bisher bekannten morphologischen Stammbaum.

2. Hat Cospeziation zwischen Greifvögeln und Nematoden stattgefunden?

Basierend auf der partiellen mt COI Region wurde zusätzlich zu den Stammbäumen der Nematoden ein Maximum Parsimony Stammbaum der in dieser Studie untersuchten Greifvögel konstruiert. Die Stammbäume der Nematoden und der Greifvögel wurde

miteinander verglichen, doch aufgrund der Mehrwirtigkeit der Nematoden und ihrer niedrigen Wirtsspezifität konnte kein Hinweis auf eine parallel verlaufene Artentwicklung zwischen Nematoden und Greifvögeln gefunden werden.

Zusätzlich zu dieser Untersuchung wurden die ITS-2 Stammbäume zur Analyse der intraspezifischen phylogenetischen Beziehungen spirurider und askarider Nematoden herangezogen. Die Verwandtschaftsverhältnisse der Nematoden spiegelten jedoch nicht die Verwandtschaftsverhältnisse ihrer Wirte oder die regionale Herkunft der Wirte wieder.

3. Bieten molekulare Marker eine Möglichkeit zur schnellen, zuverlässigen Artdiagnose?

Im Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR, Berlin) wurden 562 Brustmuskelproben von im Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung seziierten Greifvögeln mit der Methode der künstlichen Verdauung nach dem Magnetrührverfahren untersucht. In 22% der Proben wurden Nematodenlarven gefunden, die morphologisch nicht identifiziert werden konnten. In der vorliegenden Arbeit wurde aus der DNA der Nematodenlarven die ITS-2 Genregion amplifiziert und auf einem SSCP Gel zusammen mit Referenzproben aller in Greifvögeln parasitierenden Nematoden analysiert. Die Referenzproben bildeten charakteristische, reproduzierbare SSCP Bandenmuster, nur die Spulwürmer *Porrocaecum angusticolle* und *Porrocaecum depressum* konnten anhand ihrer SSCP Banden nicht unterschieden werden. Die SSCP Banden der Nematodenlarven wurden mit den bekannten Referenzproben verglichen und zur Kontrolle ausgeschnitten, reamplifiziert und sequenziert. So konnten in Brustmuskelproben von Seeadlern, Sperbern, Rohr-, bzw. Wiesenweihen, Mäusebussarden, Habichten, Wanderfalken, Turmfalken und Wespenbussarden Nematodenlarven der Arten *Cyrnea mansioni*, *Porrocaecum angusticolle* und *Synhimantus laticeps* identifiziert werden. Die Kombination aus SSCP Analyse der ITS-2 Marker mit Sequenzierung der reamplifizierten Banden ermöglicht eine effiziente, schnelle und eindeutige Artdiagnose. Diese Methode wurde in der vorliegenden Studie erstmals bei spiruriden Nematoden angewandt.

6 Literaturverzeichnis

- ALESHIN, V.V., MILYUTINA, I.A., KEDROVA, O.S., VLADYCHENSKAYA, N.S., PETROV, N.B.** (1998). Phylogeny of Nematoda and Cephalorhyncha derived from 18S rDNA. *Journal of Molecular Evolution* 47: 597-605.
- ANDERSON, R.C.** (Hrsg.) (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission*. 2nd Edition. CABI Publishing, London.
- ANDERSON, R.C., CHAUBAUD, A.G., WILLMOTT, S.** (Hrsg.) (1974a, 1974b, 1975a, 1975b, 1980a, 1980b, 1982, 1983). *CIH Keys to the nematode parasites of vertebrates 1, 2, 3 (1,2), 7, 8, 9, 10*. Commonwealth Agricultural Bureaux, London.
- ANDERSON, R.M., MAY, R.M.** (1982). Coevolution of hosts and parasites. *Parasitology* 85: 411-426.
- ANDERSON, T.J.C., BLOUIN, M.S., BEECH, R.N.** (1998). Population Biology of Parasitic Nematodes: Applications of Genetic Markers. *Advances in Parasitology* 41: 219-283.
- ANDREWS, R.H., CHILTON, N.B.** (1999). Multilocus enzyme electrophoresis: a valuable technique for providing answers to problems in parasite systematics. *International Journal for Parasitology* 29: 213-253.
- AVISE, J.C., WOLLENBERG, K.** (1997). Phylogenetics and the origin of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 7748-7755.
- AYALA, F.J., FITCH, W.M.** (1997). Genetics and the origin of species: An introduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 7691-7697.
- BALDWIN, J.G., FRISSE, L.M., VIDA, J.T., EDDLEMAN, C.D., THOMAS, W.K.** (1997). An Evolutionary Framework for the Study of Developmental Evolution in a Set of Nematodes Related to *Caenorhabditis elegans*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 8: 249-259.
- BANKS, J.C., PATERSON, A.M.** (2005). Multi-host parasite species in cophylogenetic studies. *International Journal of Parasitology* 35: 741-746.
- BANKS, J.C., PALMA, R.L., PATERSON, A.M.** (2006). Cophylogenetic relationships between penguins and their chewing lice. *Journal of Evolutionary Biology* 19: 156-166.
- BENSCH, S., PÉREZ-TRIS, J., WALDENSTRÖM, J., HELLGREN, O.** (2004). Linkage between Nuclear and Mitochondrial DNA Sequences in Avian Malaria Parasites: Multiple Cases or Cryptic Speciation? *Evolution* 58: 1617-1621.
- BLAXTER, M.L.** (2003). Nematoda: Genes, Genomes and the Evolution of Parasitism. *Advances in Parasitology* 54: 102-168.
- BLAXTER, M.L., DE LEY, P., GAREYS, J.R., LIU, L.X., SCHEIDEMAN, P., VIERSTRAETE, A., VANFLETEREN, R.J., MACKEY, L.Y., DORRIS, M., FRISSE, L.M., VIDA, J.T., THOMAS, W.K.** (1998). A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature* 392: 71-75.

- BLOUIN, M.S.** (2002). Molecular prospecting for cryptic species of nematodes: mitochondrial DNA versus internal transcribed spacer. *International Journal for Parasitology* 32: 527-531.
- BLOUIN, M.S., YOWELL, C.A., COURTNEY, C.H., DAME, J.B.** (1998). Substitution Bias, Rapid Saturation, and the Use of mtDNA for Nematode Systematics. *Molecular Biology and Evolution* 15: 1719-1727.
- BOCH, J., SUPPERER, R.** (2006). *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Parey Verlag, Stuttgart.
- BROWN, W.M., GEORGE, M.JR., WILSON, A.C.** (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76: 1967-1971.
- CHABAUD, A.G., BAIN, O.** (1994). The Evolutionary Expansion of the Spirurida. *International Journal for Parasitology* 24: 1179-1201.
- CHILTON, N.B., GASSER, R.B., BEVERIDGE, I.** (1995). Difference in a Ribosomal DNA Sequence of Morphologically Indistinguishable Species within the *Hypodontus macropi* Complex (Nematoda: Strongylidae). *International Journal for Parasitology* 25: 647-651.
- CHILTON, N.B., GASSER, R.B., BEVERIDGE, I.** (1997a). Phylogenetic Relationships of Australian Strongyloid Nematodes Inferred from Ribosomal DNA Sequence Data. *International Journal for Parasitology* 27: 1481-1494.
- CHILTON, N.B., HOSTE, H., HUNG, G.-C., BEVERIDGE, I., GASSER, R.** (1997b). The 5.8S rDNA Sequences of 18 Species of Bursate Nematodes (Order Strongylida): Comparison with Rhabditid and Tylenchid Nematodes. *International Journal for Parasitology* 27: 119-124.
- CHILTON, N.B., GASSER, R.B.** (1999). Sequence differences in the internal transcribed spacers of DNA among four species of hookworm (Ancylostomatoidea: *Ancylostoma*). *International Journal for Parasitology* 29: 1971-1977.
- CHILTON, N.B., NEWTON, L.A., BEVERIDGE, I., GASSER, R.B.** (2001). Evolutionary Relationships of Trichostrongyloid Nematodes (Strongylida) inferred from Ribosomal DNA Sequence Data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19: 367-386.
- CHILTON, N.B., MORRIS, G.M., BEVERIDGE, I., COULSON, G.** (2004). Lack of evidence for co-speciation in a parasitic nematode of grey kangaroos. *Journal of Helminthology* 78: 207-213.
- CLAYTON, D. H., BUSH, S.E., JOHNSON, K.P.** (2004). Ecology of Congruence: Past meets Present. *Systematic Biology* 53: 165-173.
- DORRIS, M., DE LEY, P., BLAXTER, M.L.** (1999). Molecular Analysis of Nematode Diversity and the Evolution of Parasitism. *Parasitology Today* 15: 188-193.
- DORRIS, M., BLAXTER, M.L.** (2000). The small subunit ribosomal RNA sequence of *Strongyloides stercoralis*. *International Journal for Parasitology* 30: 939-941.
- DORRIS, M., VINEY, M.E., BLAXTER, M.L.** (2002). Molecular phylogenetic analysis of the genus *Strongyloides* and related Nematodes. *International Journal for Parasitology* 32(12): 1507-1517.

- ENNOS, R.** (1998). Ecological genetics of Parasitism. in: Clayton, D.H., Moore, J. (Hrsg.). Host – Parasite Evolution. General Principles and Avian Models. Oxford University Press, Oxford: 213-235.
- EPE, C., v. SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., STOYE, M., SCHNIEDER, T.** (1996). Vergleichende molekularbiologische Charakterisierung von *Dictyocaulus viviparus* und *Dictyocaulus eckerti*. Berliner Münchner Tierärztliche Wochenschrift 109: 227-231.
- FAVRET, C., VÖEGLIN, D.J.** (2004). Speciation by host-switching in pinyon *Cinara* (Insecta: Hemiptera: Aphididae). Molecular Phylogenetics and Evolution 32: 139-151.
- FITCH, D.H., BUGAJ-GAWEDA, B., EMMONS, S.W.** (1995). 18S Ribosomal RNA Gene Phylogeny for Some Rhabditidae Related to *Caenorhabditis*. Molecular Biology and Evolution: 12(2): 346-358.
- GASSER, R.B.** (2001). Identification of Parasitic Nematodes and Study of Genetic Variability Using PCR Approaches. In: Kennedy, M.W., Harnett, W. (Hrsg.). Parasitic Nematodes. 2001. CABI, London: 53-82.
- GASSER, R.B., CHILTON, N.B., HOSTE, H., BEVERIDGE, I.** (1993). Rapid sequencing of rDNA from single worms and eggs of parasitic helminths. Nucleic Acid Research 21(10): 2525-2526.
- GASSER, R.B., MONTI, J.R.** (1997). Identification of parasitic nematodes by PCR-SSCP of ITS-2 rDNA. Molecular and Cellular Probes 11: 201-209.
- GASSER, R.B., NEWTON, S.E.** (2000). Genomic and genetic research on bursate nematodes: significance, implications and prospects. International Journal of Parasitology 30: 509-534.
- GLUTZ VON BLOTZHEIM, U., BAUER, K.M., BEZZEL, E.** (1971). Handbuch der Vögel Mitteleuropas. Band 4. – Frankfurt am Main (Akademische Verlagsgesellschaft).
- GRANT, T., KLUGE, A.G.** (2003). Data exploration in phylogenetic inference: scientific, heuristic, or neither. Cladistics 19: 379-418.
- HAFNER, M.S., SUDMAN, P.D., VILLABLANCA, F.X., SPRADLING, T.A., DEMASTES, J.W., NADLER, S.A.** (1994). Disparate Rates of Molecular Evolution in Cospeciating Hosts and Parasites. Science 265: 1087-1090.
- HARTWICH, G.** (Hrsg.) (1994). Die Tierwelt Deutschlands, 68. Teil: II. Strongylida: Strongyloidea und Ancylostomatoidea. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- HAFNER, M.S., NADLER, S.A.** (1988). Phylogenetic trees support the coevolution of parasites and their hosts. Nature 332: 258-259.
- HEBERT, P.D., STOECKLE, M.Y., ZEMLAK, T.S., FRANCIS, C.M.** (2004). Identification of Birds through DNA Barcodes. PLoS Biology 2(10): 1657-1663.
- HEY, J.** (2001). The mind of the species problem. Trends in ecology and evolution 16: 326-329.
- HOBERG, E.P.** (2005). Coevolution and Biogeography among Nematodirinae (Nematoda: Trichostrongylina) Lagomorpha and Artiodactyla (Mammalia): Exploring Determinants of History and Structure for the Northern Fauna across the Holarctic. Journal of Parasitology 91(2): 358-369.

- HOBERG, E.P., BROOKS, D.R., SIEGEL-CAUSEY, D.** (1998): Host-parasite co-speciation: history, principles and prospects. in: Clayton, D.H., Moore, J. (Hrsg.). Host – Parasite Evolution. General Principles and Avian Models. Oxford University Press, Oxford. 213-235.
- HU, M., GASSER, R.B.** (2006). Mitochondrial genomes of parasitic nematodes - progress and perspectives. *Trends in Parasitology* 22: 78-84.
- HUDSON, P.J., Dobson, A.P., Newborn, D.** (1998). Prevention of population cycles by parasite removal. *Science* 282: 2256-2258.
- HUGOT, J.P.** (1999). Primates and their pinworm parasites: the cameron hypothesis revisited. *Systematic Biology* 48: 523-546.
- HUNG, G.-C., CHILTON, N.B., BEVERIDGE, I., MCDONNELL, A., LICHTENFELS, J.R., GASSER, R.B.** (1997). Molecular Delineation of *Cylicocycclus nassatus* and *C. ashworthi* (Nematoda: Strongylidae). *International Journal for Parasitology* 27(5): 601-605.
- HUYSE, T., POULIN, R., THÉRON, A.** (2005). Speciation in parasites: a population genetics approach. *Trends in Parasitology* 21(10): 469-475.
- JACOBS, D.E., ZHU, X., GASSER, R.B., CHILTON, N.B.** (1997). PCR-based methods for identification of potentially zoonotic ascaridoid parasites of the dog, fox and cat. *Acta tropica* 68: 191-200.
- JOHNSON, K.P., ADAMS, R.J., PAGE, R.D.M., CLAYTON, D.H.** (2003). When Do Parasites Fail to Speciate in Response to Host Speciation? *Systematic Biology* 51(1): 37-47.
- JOHNSON, K.P., KENNEDY, M., MCCRACKEN, K.G.** (2006). Reinterpreting the origins of flamingo lice: cospeciation or host-switching? *Biology letters* 2: 275-278.
- KIMURA, M.** (1988). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111-120.
- KLASSEN, G.J.** (1992). Coevolution: a history of the macroevolutionary approach to studying host-parasite association. *Journal of Parasitology* 78: 573-587.
- KRONE, O.** (1998). Endoparasiten (Faunistik, Epizootiologie, Pathogenität) bei wildlebenden Greifvögeln aus drei verschiedenen Gebieten Deutschlands. *Vet. Med. Diss. Berlin*.
- KRONE, O.** (2000). Endoparasites in free-ranging birds of prey in Germany. In: Lumeij, J.T., Remple, D., Redig, P.T. ; Lierz, M., Cooper, J.E. (Hrsg). *Raptor Biomedicine III. Zoological Education Network, Florida, USA*, 101-116.
- KRONE, O., RUDOLPH, M., JAKOB, W.** (2000). Protozoa in the Breast Muscle of Raptors in Germany. *Acta Protozoologica* 39: 35-42.
- KRONE, O., COOPER, J.E.** (2002). Parasitic Diseases. In: Cooper, J.E. (Hrsg). *Birds of Prey: Health and Diseases*. Blackwell Science. 105-120.
- KRONE, O., FRIEDRICH, D., HONISCH, M.,** (2007): Specific status and pathogenicity of syngamid nematodes in bird species (Ciconiformes, Falconiformes, Gruiformes) from Germany. *Journal of Helminthology* 81. 67-73.
- KUMAR, S., TAMURA, K., NEI, M.** (2004). MEGA 3.1: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in*

Bioinformatic 5: 150-163.

LAJEUNESSE, M.J., FORBES, M.R. (2002). Host range and local parasite adaption. *Proceedings of the Royal Society of London* 269: 703-710.

LAMBRECHTS, L., FELLOUS, S., KOELLA, J.C. (2006). Coevolutionary interactions between host and parasite genotypes. *Trends in Parasitology* 22: 12-16.

LAVOIE, M., MIKAELIAN, I., STERNER, M., VILLENEUVE, A., FITZGERALD, G., MCLAUGHLIN, J.D., LAIR, S., MARTINEAU, D. (1999). Respiratory nematodiasis in raptors in Quebec. *Journal of Wildlife Diseases* 35: 375-380.

LEIGNEL, V., CABARET, J., HUMBERT, J.F. (2002). New molecular evidence that *Teladorsagia circumcincta* (Nematoda: Trichostrongylidae) is a species complex. *Journal of Parasitology* 88(1): 135-140.

LESSA, E.P., APPLEBAUM, G. (1993). Screening techniques for detecting allelic variation in DNA sequences. *Molecular Ecology* 2: 119-129.

LI, A.-X., D'AMELIO, S., PAGGI, L., HE, F., GASSER, R.B., LUN, Z.-R., ABOLLO, E., TURCHETTO, M., ZHU, X.-Q. (2005). Genetic evidence for the existence of sibling species within *Contraecum rudolphii* (Hartwich, 1964) and the validity of *Contraecum septentrionale* (Kreis, 1955) (Nematoda: Anisakidae). *Parasitology Research* 96(6): 361-366.

LIERZ, M., GÖBEL, T., SCHUSTER, R. (2002). Untersuchungen zum Vorkommen von Parasiten bei einheimischen Greifvögeln. *Berliner Münchner Tierärztliche Wochenschrift* 115: 43-52.

LIU, L., BLAXTER, M.L., SHI, A. (1996). The 5S ribosomal RNA intergenic region of parasitic nematodes: variation in size and presence of SL1 RNA. *Molecular and Biochemical Parasitology* 83: 235-239.

LUKES, J., HORÁK, A., SCHOLZ, T. (2005). Helminth genome projects: all or nothing. *Trends in Parasitology* 21: 265-266.

MALLET, J. (1995). A species definition for the Modern Synthesis. *Tree* 10: 296-299.

MCDONNELL, A., LOVE, S., TAIT, A., LICHTENFELS, J.R., MATTHEWS, J.B. (2000). Phylogenetic analysis of partial mitochondrial cytochrome oxidase c subunit I and large ribosomal RNA sequences and nuclear internal transcribed spacer I sequence from species of Cyathostominae and Strongylinae (Nematoda, Order Strongylida), parasites from horse. *Parasitology* 121: 649-659.

MEBS, T., SCHMIDT, D. (Hrsg.) (2006). *Die Greifvögel Europas, Nordafrikas und Vorderasiens. Biologie, Kennzeichen, Bestände.* Kosmos Verlag, Stuttgart.

MEHLHORN, H., PIEKARSKI, G. (Hrsg.) (2002). *Grundriß der Parasitenkunde.* Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin.

MELDAL, B.H.M., DEBENHAM, N.J., DE LEY, P., TANDINGAN DE LEY, I., VANFLETEREN, J.R., VIERSTRAETE, A.R., BERT, W., BORGONIE, G., MOENS, T., TYLER, P.A., AUSTEN, M.C., BLAXTER, M.L., ROGERS, A.D., LAMBSHEAD, P.J.D. (2007). An improved molecular phylogeny of the Nematoda with special emphasis on marine taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42(3): 622-636.

MES, T.H.M., CORNELISSEN, A.W.C.A. (2004). Non-homogenized ITS Regions in the Parasitic Nematode *Cooperia oncophora*. *Parasitology* 129: 213-222.

- MEYER-LUCHT, Y., SOMMER, S.** (2005). MHC diversity and the association to nematode parasitism in the yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*). *Molecular Ecology* 14: 2233-2243.
- MORALES-HOJAS, R., POST, R.J., SHELLEY, A.J., MAIA-HERZOG, M., COSCARON, S., CHEKE, R.A.** (2001). Characterisation of nuclear ribosomal DNA sequences from *Onchocerca volvulus* and *Mansonella ozzardi* (Nematoda: Filarioidea) and development of a PCR-based method for their detection in skin biopsies. *International Journal for Parasitology* 31: 169-177.
- MORRISON, D.A., ELLIS, J.T.** (1997). Effects of nucleotide sequence alignment on phylogeny estimation: a case study of 18S rDNAs of Apicomplexa. *Molecular Biology and Evolution* 14: 428-441.
- NADLER, S.A., HUDSPETH, D.S.S.** (2000). Phylogeny of the Ascaroidoidea (Nematoda: Ascaridida) based on three Genes and Morphology: Hypotheses of Structural and Sequence Evolution. *Journal of Parasitology* 86: 2380-393.
- NEI, M., KUMAR, S.** (Hrsg.) (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- NEWTON, L.A., CHILTON, N.B., BEVERIDGE, I., GASSER, R.B.** (1998). Systematic relationships of some members of the genera *Oesophagostomum* and *Chabertia* (Nematoda: Chabertiidae) based on ribosomal DNA sequence data. *International Journal for Parasitology* 28: 1781-1789.
- NEWTON, I.** (Hrsg.) (1986). *The sparrowhawk*. T. & A.D. Poyser, Calton.
- ODENING K.** (1976). Conception and terminology of hosts in parasitology. *Advances in Parasitology* 14: 1-93.
- OSCHE, G.** (1955). Über Entwicklung, Zwischenwirt und Bau von *Porrocaecum talpae*, *Porrocaecum ensicaudatum* und *Habronema mansioni* (Nematoda). *Zeitschrift für Parasitenkunde* 17: 144-146.
- OTRANTO, D., TARSITANO, E., TRAVERSA, D., GIANGASPERO, A., DE LUCA, F., PUCCINI, V.** (2001). Differentiation among three species of bovine *Thelazia* (Nematoda: Thelaziidae) by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of the first internal transcribed spacer ITS-1 (rDNA). *International Journal for Parasitology* 31: 1693-1698.
- PAGE, R.D.M., CRUICKSHANK, R.H., DICKENS, M., FURNESS, R.W., KENNEDY, M., PALMA, R.L., SMITH, V.S.** (2004). Phylogeny of "Philoceanus complex" sea-bird lice (Phthiraptera: Ischnocera) inferred from mitochondrial DNA Sequences. *Molecular Phylogeny and Evolution* 30: 633-652.
- PATERSON, A.M., GRAY, R.D.** (1998). Host-parasite co-speciation, host switching, and missing the boat. in: Clayton, D.H., Moore, J. (Hrsg.). *Host – Parasite Evolution. General Principles and Avian Models*. Oxford University Press, Oxford. 213-235.
- PATERSON, A.M., BANKS, J.** (2001). Analytical approaches to measuring cospeciation of host and parasites: through a glass, darkly. *International Journal for Parasitology* 31: 1012-1022.
- VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., HARDER, A., SCHNIEDER, T.** (2002). Quantitative analysis of ITS2 sequences in trichostrongyle parasites. *International Journal for Parasitology* 12: 1529-1535.

- SANDERSON, M.J., SHAFFER, H. B.** (2002). Troubleshooting Molecular Phylogenetic Analyses. *Annual Review of Ecology Systematic* 33: 49-72.
- SANGER, F.** (1981). Determination of nucleotide sequences in DNA. *Science* 214: 1205-1210.
- SKRJABIN, K.J.** (Hrsg.) (1953, 1957, 1963, 1964, 1965, 1967, 1968). Die Nematoden der Tiere und des Menschen / Grundlagen der Nematologie 14. Verlag Akademischer Wissenschaften Moskau / Leningrad.
- SORCI, G., MORAND, S., HUGOT, J.-P.** (1997). Host-parasite coevolution: comparative evidence for covariation of life history traits in primates and oxyurid parasites. *Proceedings of the Royal Society of London* 264: 285-289.
- STEVENSON, L.A., CHILTON, N.B., GASSER, R.B.** (1995). Differentiation of *Haemonchus placei* from *H. contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) by the Ribosomal DNA Second Internal Transcribed Spacer. *International Journal for Parasitology* 25: 483-488.
- SUBBOTIN, S.A., VIERSTRAETE, A., DE LEY, P., ROWE, J., WAEYENBERGE, L., MOENS, M., VANFLETEREN, J.R.** (2001). Phylogenetic Relationships within the Cyst-forming Nematodes (Nematoda, Heteroderidae) based on Analysis of Sequences from the ITS Regions of Ribosomal DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21: 1-16.
- SUNNUCKS, P., WILSON, A.C., BEHEREGARAY, L.B., ZENGER, K., FRENCH, J., TAYLOR, A.C.** (2000). SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Molecular Ecology* 9: 1699-1710.
- THOMAS, W.K., WILSON, A.C.** (1991). Mode and tempo of molecular evolution in the nematode *Caenorhabditis*: cytochrome oxidase II and calmodulin sequences. *Genetics* 128: 269-279.
- TIBAYRENC, M.** (2006). The species concept in parasites and other pathogens: a pragmatic approach? *Trends in Parasitology* 22: 66-70.
- VAN DER VEER, M.** (2001). Cytochrome oxidase c subunit 1 polymorphisms show significant differences in distribution between a laboratory maintained population and a field isolate of *Cooperia oncophora*. *Veterinary Parasitology* 116: 231-238.
- WARD, F.P., FAIRCHILD, D.G.** (1972). Air sac parasites of the genus *Serratospiculum* in falcons. *Journal of Wildlife Diseases* 24(2): 165-168.
- WEBSTER, P., MADDOX-HYTTEL, C., NÖCKLER, K., MALAKAUSKAS, A., VAN DER GIESSEN, J., POZIO, E., BOIREAU, P., KAPEL, C.M.** (2006). Meat inspection for *Trichinella* in pork, horsemeat and game within the EU available technology and its present implementation. *Euro Surveillance* 11(1): 50-5.
- WHITEMAN, N.K., SANTIAGO-ALARCON, D., JOHNSON, K.P., PARKER, P.G.** (2004). Differences in straggling rates between two genera of dove lice (Insecta: Phthiraptera) reinforce population genetic and cophylogenetic patterns. *International Journal for Parasitology* 34: 1113-1119.
- WIJOVÁ, M., MORAVEC, F., HORÁK, A., LUKES, J.** (2006). Evolutionary relationships of *Spirurina* (Nematoda: Chromadorea: Rhabditida) with special emphasis on dracunuloid nematodes inferred from SSU rRNA gene sequences. *International Journal of Parasitology* 36: 1067-1075.

- WINK, M., SAUER-GÜRTH, H.** (2004). Phylogenetic Relationships in Diurnal Raptors based on nucleotide sequences of mitochondrial and nuclear marker genes. In: Chancellor, R.D., Meyburg, B.-U. (Hrsg.): *Raptors Worldwide. Proceedings of the VI World Conference on Birds of Prey and Owls.* Budapest. 483-498.
- WOESE, C.R.** (2000). Interpreting the universal phylogenetic tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 8392-8396.
- WOESE, C.R., FOX, G.E.** (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74: 5088-5090.
- WUYTS, J., VAN DE PEER, Y., WINKELMANS, T., DE WACHTER, R.** (2002). The European Database on small subunit ribosomal RNA. *Nucleic Acids Research* 30: 183-185.
- ZHAN, B., LI, T., XIAO, S., ZHENG, F., HAWDON, J.M.** (2001). Species-Specific Identification of Human Hookworms by PCR of the Mitochondrial Cytochrome Oxidase I Gene. *Journal of Parasitology* 87(5): 1227-1229.
- ZHU, X., Q., GASSER, R.B.** (1998). Single-strand conformation polymorphism (SSCP)-based mutation scanning approaches to fingerprint sequence variation in ribosomal DNA of ascaridoid nematodes. *Electrophoresis* 19: 1366-1373.
- ZHU, X., D'AMELIO, S., PAGGI, L., GASSER, R.B.** (2000). Assessing sequence variation in the internal transcribed spacers of ribosomal DNA within and among members of the *Contraecaecum osculatum* complex (Nematoda: Ascaridoidea: Anisakidae). *Parasitology Research* 86: 677-683.

7 Anhang

Internetadressen	124
Online-Programme.....	123
Programme.....	124
Tabelle 29: Bezugsquellen der Verbrauchsmaterialien	125
Tabelle 30: Puffer und Lösungen.....	126
Tabelle 31: Sektionsergebnisse.....	127
Tabelle 32: Ergebnisse der parasitologischen Untersuchung von Greifvogelorganen .	133
Tabelle 33: Übersicht über alle Brustmuskelproben, die auf Nematodenlarven unter- sucht wurden	134
Tabelle 34: Nematodenbelastung der Greifvögel	136
Tabelle 35: NCBI Datenbank Zugangsnummern aller für die phylogenetische Analyse verwendeten Arten.....	137
Tabelle 36: Sequenzunterschiede der mt COI Genregion der Greifvögel	139
Tabelle 37: Sequenzunterschiede der 18S Sequenzen der Nematoden	140
Tabelle 38: Sequenzunterschiede der ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha	144
Tabelle 39: Sequenzunterschiede der ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha	146
Tabelle 40: Sequenzunterschiede der mt COI Sequenzen der Nematoden	147
Tabelle 41: ITS- 2 Sequenzen der Nematodenlarven	148
Tabelle 42: mt COI Sequenzen der Greifvögel	151
Tabelle 43: 18S Sequenzen der Nematoden	152
Tabelle 44: ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha	167
Tabelle 45: ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha.....	171
Tabelle 46: mt COI Sequenzen der Nematoden	173

Internetadressen

NCBI Taxonomy-Datenbank: National Center for Biotechnology Information

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Blaxter lab Nematode Genomics

<http://www.nematodes.org/>

Online-Programme

Nucleotide-nucleotide BLAST

<http://www.ncbi.nih.gov/BLAST/>

Programme

BioEdit Version 7.0.0 (Hall, T. 1997-2004)

<http://www.mbio.nscu.edu/BioEdit/bioedit.html>

MEGA Version 3 (Kumar, Tamura, Nei 2004)

<http://www.megasoftware.net/>

ClustalX; European Bioinformatics Institute, Cambridge (Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D.G. 1997)

<http://www.ebi.ac.uk/clustalx/>

Tabelle 29: Bezugsquellen der Verbrauchsmaterialien

Produkt	Hersteller	Konzentration
Agarose	Serva	1,5%
Ampicillin	Roth, Karlsruhe	100µg/ml
BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 3.1	Applied Biosystems, Weiterstadt	
Clean-Gel DNA-HP	ETC, Kirchentellinfurt	15%
dNTP-Mix	Roth, Karlsruhe	10mM
Ethidiumbromid	Roth, Karlsruhe	
Ethanol	Merck, Darmstadt	100%, 70%
E.Z.N.A. Cycle –Pure Kit	Peqlab, Erlangen	
GeneRuler 100 bp DNA Ladder plus	Fermentas	
IPTG	Roth, Karlsruhe	0,1 M
Ladepuffer	Roth, Karlsruhe	
LB-Medium	Applichem, Darmstadt	
LB-Agar	Applichem, Darmstadt	
PCR-Puffer	Eppendorf, Hamburg	10x
pGem®-T Easy Vector System	Promega, Mannheim	
Primer	BioTez Berlin-Buch GmbH	100µM
n-Propanol	Merck, Darmstadt	
Proteinase K	Roth, Karlsruhe	50mg/ml
QIAGEN DNeasy Tissue Kit	Qiagen, Hilden	
QIAquick Gel Extraction Kit	Qiagen, Hilden	
Taq Polymerase	Eppendorf, Hamburg	
x-Gal	Roth, Karlsruhe	50mg/ml

Tabelle 30: Puffer und Lösungen

Lösung	Zusammensetzung
Agarose-Gel 1,5%	3,0 g Agarose, 200ml 1x TAE-Puffer
Developing solution	12,5 g Na ₂ CO ₃ , 260 µl Formaldehyd, 4,0 mg Na ₂ S ₂ O ₃ ad 500 ml H ₂ O dest.
Ethanol-Glycerin	70% Ethanol, 5% Glycerin
Fixing solution	3,0 g Benzolsulfonsäure, 120 ml 96% Ethanol ad 500 ml H ₂ O dest.
Lactophenol	20 g kristallines Phenol, 20 ml Milchsäure, 20ml Glycerin, 10ml H ₂ O dest.
LB/Ampicillin/IPTG/X-Gal-Agar-Platten	100µg/ml Ampicillin; 100µl IPTG, 0,1 M; 20 µl x-Gal, 50mg/ml pro Platte
NaOH-Puffer	50 µl 1M NaOH, 2 µl 0,5M EDTA, 10 µl 1,0% Xylencyanol ad 938 µl H ₂ O dest.
Proteinase K-Puffer	100mM Tris pH 8; 100mM NaCl; 50mM DTT; 10mM EDTA
Silvering solution	1,0 g AgNO ₃ , 0,29 g Benzolsulfonsäure, 260 µl Formaldehyd ad 500 ml H ₂ O dest.
SOB-Medium	0,5% Hefe-Extract, 2,0% Trypton, 10mM NaCl, 2.5 mM KCl 10mM MgCl ₂ , 20mM MgSO ₄ , 20mM Glucose
SOC-Medium	0,5% Hefe-Extract, 2,0% Trypton, 10mM NaCl, 2.5 mM KCl, 10 mM MgCl ₂ , 20 mM MgSO ₄ , 20 mM Glucose
Stopping solution	5,0 ml Essigsäure, 25 g Natriumacetat, 50 ml 96% Glycerin ad 500 ml H ₂ O dest.
TAE-Puffer	242,0 g Tris in 500ml H ₂ O dest.; 100ml 0,5M Na ₂ EDTA; 57,1ml Eisessig; ad H ₂ O dest.
TB-Puffer	10 mM Pipes, 55 mM MnCl ₂ , 15 mM CaCl ₂ , 250 mM KCl
TBE-Puffer, pH 8,0	10,78 g Tris, 5,50g Borsäure, 0,58g EDTA ad 1000 ml H ₂ O dest.
Washing solution	0,29 g Benzolsulfonsäure ad 500 ml H ₂ O dest.

Tabelle 31: Sektionsergebnisse

Zusammenfassung der Sektionsergebnisse. Erfasst wurde Alter, Geschlecht und Ernährungszustand des Wirtes und seine Todesursache, Sektionsnummer und Sektionsdatum der Greifvögel, Art und Anzahl der gefundenen Nematoden und des Gesamtparasitenbefalls. ad = adult; juv = juvenil; ; m = männlich; w = weiblich; C = Cestoden; E = Ektoparasiten; K = Kokzidien; N = Nematoden; T = Trematoden; A = Akantocephalen; + = mäßiger Befall (1-10), ++ = mittlerer Befall (10-100), +++ = starker Befall (mehr als 100); Kern = hier stand nur der Körperkern für eine Teilsektion zur Verfügung

Wirt	Sektionsnummer	Sektionsdatum	Alter	m/w	Ernährungszustand	Todesursache	Nematoden	befallenes Organ	Parasitenbefall gesamt
ACGE	B 102	09.03.06	ad	w	sehr schlecht	verhungert	-	-	E+
ACGE	Bra 328	21.06.05	juv	m	sehr gut	Anflugtrauma	HV ED PO	Trachea, Luftsäcke Ösophagus Muskelmagen 2/3Ileocejunum	N++, C+, K+, E+
ACGE	BW 9587	26.01.05	ad	m	schlecht	Revierkampf	PO SP SL	Duodenum Muskelmagen Muskelmagen	N++, K+++
ACGE	NS 388	02.12.04	juv	m	schlecht	Anflugtrauma, Euthanasie	PO	Duodenum	N+, T+, K+
ACGE	NS 018	26.01.05	juv	m	schlecht	Trauma, Euthanasie	PO	2/3 Ileocejunum	N+
ACNI	B 095	08.03.04	juv	m	sehr gut	Anflugtrauma, Euthanasie	CM PA PO	Drüsen- + Muskelmagen Muskelmagen 1/3 Ileocejunum	N++, T+
ACNI	B 100	23.06.05	juv	w	gut	Anflugtrauma	ED MC	Ösophagus Drüsenmagen	N++, E+
ACNI	B 101	22.09.05	juv	w	mäßig	Anflugtrauma	PO	1/3 Ileocejunum	N+, K++
ACNI	Bra 292	07.04.04	ad	m	schlecht	Trauma	SL CT PO	Muskelmagen Duodenum 2/3 Ileocejunum	N+
ACNI	BW 02/03	28.04.05	juv	m	gut	Trauma	CM SH PO	Drüsenmagen Drüsenmagen 2/3 Ileocejunum	N+
ACNI	NS 015	16.11.04	juv	m	sehr schlecht	Trauma, Verkehr	SP	2/3 Ileocejunum	N+, K+
ACNI	NS 371	02.03.05	juv	m	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	SL CM PO	Drüsenmagen Drüsenmagen 1/3 Ileocejunum	N+, K+
ACNI	NS 1590	03.03.05	juv	m	sehr schlecht	unklar	PA SL PO	Drüsenmagen Drüsenmagen 1+3/3 Ileocejunum	N+
ACNI	NS 021	22.03.05	juv	m	gut	Trauma, Euthanasie	-	-	-

ACNI	NS 022	03.05.05	juv	m	sehr schlecht	Trauma	-	-	K+, E+
ACNI	NS 026	12.05.05	juv	m	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	SL SL	Drüsenmagen Drüsenmagen	N+
ACNI	NS 031	09.06.05	juv	m	schlecht	Trauma, Euthanasie	-	-	K++
ACNI	NS 033	15.06.05	juv	m	sehr schlecht	Trauma	-	-	-
ACNI	NS 034	16.06.05	juv	m	gut	Trauma, Euthanasie	-	-	E+
BUBT	MV 153	08.03.05	ad	w	gut	unklar	-	-	C++
BUBT	MV 154	08.03.05	ad	w	schlecht	V. a. Vergiftung	-	-	T+, C++, K+
BUBT	NS 257	20.09.04	ad	w	mäßig	Trauma	PO CM	Muskelmagen Muskelmagen	N+, T+
BUBT	NS 427	20.09.04	juv	w	sehr gut	Trauma, Euthanasie	ED CT	Ösophagus Drüsenmagen	N+, E+
BUBT	NS 466	20.09.04	juv	m	sehr schlecht	Trauma	-	-	C+, K+++, E+
BUBT	NS 483	20.09.04	juv	w	sehr schlecht	Trauma	PO	Duodenum	N+, E+
BUBT	NS 474	21.09.04	juv	m	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	PO CT	Muskelmagen Duodenum	N+, K+, E+
BUBT	NS 475	23.09.04	juv	m	sehr gut	Trauma, Euthanasie	CT PO	Duodenum 1/3 Ileojejunum 2/3 Ileojejunum	N+, T+, K+++, E+
BUBT	NS 544	23.09.04	juv	m	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	ED CT	Ösophagus Duodenum	N+, K++, E++
BUBT	NS 545	23.09.04	juv	m	mäßig	Trauma, Euthanasie	ED CM	Ösophagus Drüsenmagen	-N+++, C+, E+
BUBT	NS 019	22.02.05	juv	w	gut	Trauma, Euthanasie	PO	Muskelmagen	N+, T++
BUBT	NS 024	10.05.05	juv	m	schlecht	Trauma	ED CT PO	Ösophagus Duodenum Duodenum 1/3 Ileojejunum	N++, T+++, E++
BUBT	NS 025	10.05.05	juv	m	schlecht	unklar	ED PO	Ösophagus Muskelmagen Duodenum	N+++, T++, E++
BUBT	NS 039	14.07.05	ad	m	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	ED	Ösophagus	N+, T++, C+
BUBT	NS 040	14.07.05	juv	w	gut	Trauma, Euthanasie	ED SL CT PO	Ösophagus Ösophagus Duodenum 2+3/3 Ileojejunum	N+++, E+
BULA	Bra 349	08.03.06	juv	w	sehr gut	Trauma, Euthanasie	ED SL PO	Ösophagus Drüsenmagen 3/3 Ileojejunum	N+++, E+
CIAE	BW 403/01	15.02.05	ad	w	gut	Trauma, Euthanasie	ED	Ösophagus	N+, T++
CIAE	BW 120/05	27.05.05	ad	m	sehr gut	Trauma, Euthanasie	-	-	T+

CIAE	MV 152	02.03.05	ad	m	mäßig	unklar	-	-	T+, C+
CIAE	NS 017	17.11.04	juv	m	sehr gut	Trauma, Euthanasie	PO	Duodenum	N+, E+
CIAE	NS 016	16.11.04	juv	w	gut	Trauma, Euthanasie	-	-	T+, C+, E+
CIAE	NRW (Kern)	24.07.05	ad	w	gut	nicht bestimmt	-	-	-
CIAE	SA 96/211	03.11.04	juv	w	sehr gut	Trauma	PO	Duodenum	N+, T+++
CIPY	BW 154/06	31.03.05	ad	m	sehr schlecht	verhungert	-	-	T+
CIPY	NRW (Kern)	24.07.05	juv	m	schlecht	nicht bestimmt	SL PO	Muskelmagen 2/3 Ileocejunum	T+
CIPY	NRW2 (Kern)	24.07.05	juv	m	schlecht	nicht bestimmt	-	-	-
FACO	Bra 314	04.02.05	juv	w	mäßig	Anflugtrauma	ED	Ösophagus	N+
FACO	NS 020 (Kern)	15.03.05	ad	m	gut	Trauma	-	-	-
FAPE	Bra 315	10.02.05	ad	m	sehr schlecht	V.a. Septikämie	ST	Luftsäcke	N+, T++, C+
FAPE	Bra 326	27.05.05	ad	w	gut	unklar	ST	Luftsäcke	N+, E+
FAPE	Bra 327	14.06.05	juv	w	gut	Septikämie	SL	Muskelmagen	N+
FAPE	Bra 329	21.06.05	juv	w	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	-	-	E+
FAPE	Bra 336	06.07.05	juv	m	sehr schlecht	Blindheit, Neurologische Störungen, Euthanasie	-	-	-
FAPE	Bra 337	07.07.05	juv	w	gut	Trauma, Euthanasie	-	-	E+
FAPE	BW T21/2002	02.12.03	ad	m	mäßig	Revierkampf	ST SL SP	Luftsäcke Muskelmagen Duodenum, Ileocejunum, Rektum	N++, T+
FAPE	BW 256/04	26.04.05	juv	m	schlecht	Trauma	ED PA PO	Ösophagus Drüsenmagen Muskelmagen	N++
FAPE	BW 200/03	26.04.05	juv	m	gut	Trauma	-	-	-
FAPE	NRW 007	26.09.03	juv	m	mäßig	Trauma, Euthanasie	ST ED PA	Luftsäcke Ösophagus Drüsenmagen	N+
FAPE	NRW 010	23.11.04	juv	w	gut	Stromschlag	CM	Muskelmagen	N+
FAPE	NRW 011	23.11.04	ad	m	sehr schlecht	unklar	ST	Luftsäcke	N+
FAPE	NRW 013	13.04.05	ad	w	gut	Trauma	ED	Ösophagus	N+
FAPE	NRW 014	13.04.05	juv	m	gut	Trauma	-	-	-
FASU	Bra 323	22.03.05	juv	m	mäßig	Trauma	CS	Drüsenmagen	N++
FASU	BW 10693	01.12.04	juv	w	sehr schlecht	Trauma	CS	Muskelmagen	N+

FASU	BW 447/03	19.04.05	juv	w	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	ED CS	Ösophagus Drüsenmagen	N++, K+, E+
FASU	BW 150/05	26.05.05	ad	m	gut	Verkehrsunfall	SL CS	Drüsenmagen Drüsenmagen, Duodenum	N++
FASU	NS 023	03.05.05	ad	m	schlecht	Trauma	CS	Drüsenmagen Muskelmagen	N++, E+
FASU	SA 012	15.03.05	ad Kern	m	gut	Trauma	SL PO	Drüsenmagen Muskelmagen	N+
FASU	SA 013	15.03.05	ad Kern	m	schlecht	Trauma	CS	Drüsenmagen	N++
FATI	B 099	25.02.05	ad	w	schlecht	Stromschlag	ED SL	Ösophagus Drüsenmagen	N+
FATI	Bra 311	19.01.05	juv	m	mäßig	Verkehrsunfall	-	-	K+, E+
FATI	BW 434/01	12.05.05	juv	m	schlecht	Trauma, Euthanasie	SL	Muskelmagen	N+, K+
FATI	NS 028	09.06.05	ad	w	gut	Trauma	-	-	E+
FATI	NS 032	15.06.05	ad	w	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	-	-	N+
FATI	NS 035	16.06.05	ad	w	schlecht	Trauma, Euthanasie	SL	Drüsenmagen	N+
FATI	NS 036	23.06.05	juv	m	mäßig	Trauma, Euthanasie	-	-	-
FATI	NS 037	08.07.05	ad	m	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	-	-	K+
FATI	NS 038	08.07.05	juv	m	schlecht	Trauma, Euthanasie	-	-	K+
HAAL	Bra 310	03.11.04	ad	w	sehr gut	Windkraft- anlage	-	-	T++, K+
HAAL	Bra 312	25.01.05	ad	m	mäßig	Revierkampf	-	-	T+++, K+, E++
HAAL	Bra 313	26.01.05	juv	w	gut	Revierkampf	ED	Ösophagus	N+, T++
HAAL	Bra 316	15.02.05	ad	w	gut	Anflugtrauma	-	-	T++, E+
HAAL	Bra 317	15.02.05	juv	?	nicht bestimmbar	Bahn	-	-	-
HAAL	Bra 318	01.03.05	ad	w	gut	Verkehrsunfall	-	-	T+, E+
HAAL	Bra 324	15.04.05	juv	m	sehr schlecht	Bleivergiftung	ED	Ösophagus	N+, T+++, E++
HAAL	MV 118	19.08.03	ad	m	sehr schlecht	Trauma, Gonarthrose, Euthanasie	ED CN	Ösophagus Muskelmagen	N+++, T+++, E++
HAAL	MV 128	08.03.04	juv	w	sehr gut	Bahn	ED	Ösophagus	N+, E+
HAAL	MV 130	13.03.04	ad	w	mäßig	Bleivergiftung	ED	Ösophagus	N+, E+
HAAL	MV 132	18.03.04	ad	w	sehr gut	Carbofuran- vergiftung	ED	Ösophagus	N++, T++, E+
HAAL	MV 133	25.03.04	ad	w	sehr gut	Bleivergiftung	ED	Ösophagus	N++, T++, E+
HAAL	MV 137	10.12.04	juv	m	sehr schlecht	Bleivergiftung	-	-	T+, K+, E++
HAAL	MV 138	10.12.04	juv	w	sehr gut	unklar	-	-	T+++, K+, E++

HAAL	MV 145	07.01.05	ad	w	sehr schlecht	Bleivergiftung	ED PO SP	Ösophagus, Duodenum, Duodenum 1- 3 Ileojejunum	N+++ , T+ , E+
HAAL	MV 146	11.11.04	juv	w	schlecht	Bleivergiftung	ED	Ösophagus	N+ , T+++ , E+
HAAL	MV 148	22.02.05	ad	m	gut	Bahn	-	-	-
HAAL	MV 149	22.02.05	ad	w	sehr gut	unklar	ED	Ösophagus	N+ , E+
HAAL	MV 150	24.02.05	ad	m	gut	Bleivergiftung	-	-	T++ , E+
HAAL	MV 151	03.03.05	ad	w	sehr gut	Bleivergiftung	-	-	T+
HAAL	MV 156	09.03.05	juv	m	gut	unklar	ED	Ösophagus	N+ , E+
HAAL	MV 162	14.04.04	juv	m	sehr gut	Windkraft- anlage	HV	Trachea	N+ , T++ , K++
HAAL	MV 172	19.07.05	ad	m	sehr schlecht	Revierkampf	ED SL	Ösophagus Drüsenmagen Muskelmagen	N+ , T++
HAAL	MV 180	12.10.05	ad	m	mäßig	unklar	-	-	T++ , K+ , E+
HAAL	MV 181	14.10.05	ad	w	schlecht	unklar	ED	Ösophagus	N+ , T++
HAAL	SH 026	18.11.04	juv	m	gut	Stromschlag	-	-	T+
HAAL	SH 027	13.12.04	juv	w	gut	Bleivergiftung	-	-	T+++ , K+ , E+
HAAL	TH 001	22.02.05	juv	m	gut	Federfuß- bildung, Euthanasie	ED	Ösophagus	N+ , E++
MIMG	Bra 319	08.03.05	ad	m	mäßig	Trauma, Euthanasie	PO	Duodenum	N+ , T++ , C+
MIMG	Bra 331	24.06.05	juv	m	gut	Federfuß- bildung, Euthanasie	-	-	T++
MIMG	BW T244/04	28.04.05	ad	w	gut	Vergiftung	ED	Ösophagus	N+ , C+ , E+
MIMG	BW 151/05	26.05.05	ad	w	schlecht	Trauma	CM	Drüsenmagen	N+ , E+
MIMG	SA 011	18.11.04	ad	w	mäßig	Trauma	CL PO	Muskelmagen 2/3 Ileojejunum	N++ , K+
MIML	Bra 305	11.10.04	ad	w	sehr gut	Trauma	CM	Duodenum	N+ , T+
MIML	Bra 320	15.03.05	ad	m	gut	Anflugtrauma	PO	Duodenum	N+
MIML	Bra 321	15.03.05	ad	w	sehr gut	Stromschlag	ED	Ösophagus	N+ , T++ , E+
MIML	Bra 322	15.03.05	juv	w	mäßig	Trauma, Euthanasie	-	-	T+ , K+ , E+
MIML	Bra 333	01.07.05	ad	w	gut	Windkraft- anlage Euthanasie	PO	Duodenum	N+ , T++
MIML	Bra 334	01.07.05	ad	w	gut	Trauma, Euthanasie	PO	Duodenum 1/3 Ileojejunum	N+ , T+
MIML	MV 147	10.02.05	juv	m	sehr gut	Trauma	-	-	T+ , C+

MIML	NRW 012	26.11.04	ad	m	mäßig	Trauma	ED PO CT	Ösophagus Duodenum Duodenum	N+, K+, E+, A+
MIML	NS 581	04.10.04	juv	m	schlecht	Anflugtrauma, Euthanasie	PO	Duodenum	N+
PAHA	Bra 348	28.02.06	ad	w	mäßig	Trauma	-	-	E++
PAHA	MV 168	20.06.05	ad	m	mäßig	Stromschlag	-	-	E+
PAHA	MV 176	23.08.05	juv	?	sehr gut	Trauma	-	-	-
PAHA	MV 178	08.09.05	ad	m	mäßig	Trauma	-	-	T+, E++
PAHA	MV 191	31.01.06	juv	w	mäßig	Trauma, Euthanasie	-	-	E+
PAHA	MV 192	07.02.06	ad	m	sehr schlecht	Trauma	SL PO	Drüsenmagen Porrocaecum sp.	N+, E+++
PAHA	S 016	09.11.04	juv	m	mäßig	unklar	-	-	E++
PEAP	BW 249/2002	04.12.03	ad	m	sehr schlecht	Trauma, Euthanasie	PP	Muskelmagen	N++, T+
PEAP	BW 197/2001	01.12.04	ad	w	schlecht	Trauma, Euthanasie	PP F	Ösophagus Muskelmagen	N+, T+, E+
PEAP	BW 000	03.12.04	juv	w	schlecht	Trauma, Euthanasie	-	-	-
PEAP	BW 459/03	19.04.05	juv	m	sehr schlecht	verhungert	-	-	-

Tabelle 32: Ergebnisse der parasitologischen Untersuchung von Greifvogelorganen

Ergebnisse der Teilsektion von Greifvogelorganen. Bei diesen Greifvögeln standen für die parasitologische Untersuchung der Magen-Darm-Trakt, Trachea und Lunge, Leber und die Nieren zur Verfügung. Aufgeführt sind Wirt mit Sektionsnummer und Herkunft, bei der Sektion gefundene Nematoden mit dem jeweils befallenen Organ.

Sektionsnummer	Wirt	Herkunft	Nematoden	befallenes Organ
U 109	ACGE	Bra	-	-
U 208	ACGE	Bra	-	-
U 396	ACGE	Bra	SL	Drüsenmagen
U 453	ACGE	Bra	-	-
U 470	ACGE	Bra	-	-
U 472	ACGE	Bra	-	-
U 514	ACGE	Bra	MC PO	Drüsenmagen Drüsenmagen, Duodenum
U 631	ACGE	Bra	-	-
U 043	ACNI	Bra	-	-
U 230	ACNI	Bra	-	-
U 232	ACNI	Bra	-	-
U 510	ACNI	Bra	-	-
U 386	FAPE	Bra	-	-
U 490	FATI	Bra	-	-
U491	FATI	Bra	-	-
U 493	FATI	Bra	-	-
U 652	FATI	Bra	-	-
U 653	FATI	Bra	-	-
U 1492	FATI	Bra	-	-
U 03	MIML	Bra	PO	Duodenum
U 95	MIML	Bra	PO	Drüsenmagen
U 452	MIML	Bra	-	-
U 474	PAHA	Bra	-	-

Tabelle 33: Übersicht über alle Brustmuskelproben, die auf Nematodenlarven untersucht wurden

Ergebnisse der parasitologischen Untersuchung der Brustmuskelproben: Aufgeführt sind Poolnummer, Anzahl der Brustmuskelproben im Pool, Herkunft der Proben, Ergebnisse des Pepsinverdaus und der genetischen Analyse.

Pool nummer	Anzahl der Proben im Pool	Herkunft der Brustmuskelproben	Ergebnis des Pepsinverdaus	Ergebnis der genetischen Analyse
1	10	HAAL	-	-
2	10	HAAL	-	-
3	10	HAAL	-	-
4	10	HAAL	1 Larve, Abbildung 6	<i>Synhimantus laticeps</i>
5	12	HAAL	1 Larve, Typ wie Abbildung 6	-
6	11	HAAL	-	-
7	10	HAAL	-	-
8	14	HAAL	-	-
9	12	HAAL	-	-
10	13	HAAL	-	-
11	10	HAAL	-	-
12	11	HAAL	-	-
13	7	HAAL	-	-
14	12	HAAL	-	-
15	12	HAAL	-	-
16	12	HAAL	-	-
17	13	HAAL	-	-
18	8	HAAL	-	-
19	10	HAAL	-	-
20	10	HAAL	-	-
21	10	HAAL	-	-
22	10	HAAL	-	-
23	10	HAAL	-	-
24	11	HAAL	1 Larve, Abbildung 7	-
25	11	HAAL	-	-
26	12	ACNI, FATI	-	-
27	7	FAPE, PAHA	-	-

28	6	BUBT, MIML, MIMG, ACGE	-	-
29	12	ACGE	-	-
30	4	PAHA	-	-
31	6	ACNI	2 Larven, Typ wie Abbildung 7	<i>Synhimantus laticeps</i>
32	10	ACNI	1 Larve, Typ wie Abbildung 7	<i>Synhimantus laticeps</i>
33	10	ACNI	4 Larven, Typ wie Abbildung 7	<i>Synhimantus laticeps</i>
34	10	CIAE	-	-
35	11	CIAE, CIPY	1 Larve, Abbildung 8	<i>Synhimantus laticeps</i>
36	10	BUBT	2 Larven, Typ wie Abbildung 7	<i>Cyrnea mansioni</i> , <i>Synhimantus laticeps</i>
37	10	BUBT	4 Larven, Typ wie Abbildung 7	<i>Porrocaecum angusticolle</i> .
38	10	BUBT	-	-
39	12	BUBT	3 Larven, Abbildung 9	-
40	13	BUBT	5 Larven, Typ wie Abbildung 7	<i>Synhimantus laticeps</i>
41	11	PAHA	-	-
42	12	PAHA	-	-
43	3	MIML	-	-
44	2	PAHA	-	-
45	10	ACGE	-	-
46	11	ACGE	-	-
47	11	ACGE	2 Larven, 1 wie Abbildung 7, 1 wie Abbildung 8	<i>Porrocaecum angusticolle</i>
48	11	ACGE	2 Larven, Typ wie Abbildung 7	<i>Synhimantus laticeps</i>
49	9	ACGE	1 Larve, Typ wie Abbildung 7	<i>Synhimantus laticeps</i>
50	11	FAPE	1 Larve, Typ wie Abbildung 7	<i>Synhimantus laticeps</i>
51	11	FAPE, FASU	2 Larven, Typ wie Abbildung 7	-
52	11	FAPE, FASU, FATI	13 Larven, Typ wie Abbildung 7	-
53	11	FATI	8 Larven, 7 wie Abbildung 7, 1 wie Abbildung 8	<i>Synhimantus laticeps</i>
54	13	PEAP	1 Larve, Abbildung 10	-
55	13	ACNI, BUBT, FAPE, ACNI	-	-

Tabelle 34: Nematodenbelastung der Greifvögel, Ergebnis des Chi-Quadrattests

Greifvogel- arten	Seeadler	Sperber	Mäuse- bussard	Turmfalke	Wanderfalke	Habicht	Rotmilan	Fischaadler	Baumfalke	Rohrweihe	Summe
Nematoden befall (n)	15	9	12	3	9	6	9	1	7	3	74
kein Nematoden befall (n)	13	9	3	12	6	7	3	7	0	4	64
Summe	28	18	15	15	15	13	12	8	7	7	138

Erwartete
Frequenzen

Greifvogel- arten	Seeadler	Sperber	Mäuse- bussard	Turmfalke	Wanderfalke	Habicht	Rotmilan	Fischaadler	Baumfalke	Rohrweihe	Summe
Nematoden befall	15,01	9,65	8,04	8,04	8,04	6,87	6,43	4,29*	3,75*	3,75*	74
kein Nematoden befall	12,99	8,35	6,96	6,96	6,96	6,03	5,57	3,71*	3,25*	3,25*	64
Summe	28	18	15	15	15	13	12	8	7	7	138

Chi- Quadrat Werte	1,4E-05	0,044066	1,946181	3,162397	0,113749	0,135256	1,022620447	2,522963	2,807677242	0,151307
	1,62E-05	0,050951	2,250272	3,656522	0,131522	0,156389	1,182404891	2,917176	3,246376812	0,174948
	3,02E-05	0,095017	4,196453	6,818919	0,24527	0,291645	2,205025338	5,440139	6,054054054	0,326255

Anzahl der Freiheitsgrade = 9

Chi-Quadrat = 25,67281

p= 0,00231

* = Erwartete Frequenzen < 5

Tabelle 35: NCBI Datenbank Zugangsnummern aller für die phylogenetische Analyse verwendeten Arten

Art	NCBI Zugangsnummer 18S	NCBI Zugangsnummer ITS-2	NCBI Zugangsnummer COI
<i>Accipiter gentilis</i>	-	-	AB219551
<i>Anisakis simplex</i>	AF411202	-	-
<i>Anisakis</i> sp.	-	AY821749	-
<i>Ascaris lumbricoides</i>	U94366	AB110029	-
<i>Ascaris suum</i>	U94367	-	-
<i>Baylascaris procyonis</i>	U94368	-	-
<i>Circus aeruginosus</i>	-	-	U83770
<i>Contraecum</i> sp.	DQ813456	AY821753	AJ405301
<i>Cooperia oncophora</i>	-	-	AB246061
<i>Cruzia americana</i>	U94371	-	-
<i>Cyrtoneura seuratii</i>	-	AY702697	-
<i>Diphyllobotrium latum</i>	DQ925309	-	-
<i>Falco columbarius</i>	-	-	AY666522
<i>Filaria martis</i>	-	-	AJ544880
<i>Goezia pelagia</i>	U94372	-	-
<i>Hovorkonema variegatum</i>	-	DQ679968	-
<i>Metastrongylus elongatus</i>	AJ920363	-	-
<i>Microtetrameres cloacitectus</i>	-	AY702693	-
<i>Onchocerca cervicalis</i>	DQ 094174	-	-
<i>Onchocerca volvulus</i>	-	DQ317666	-
<i>Parascaris equorum</i>	U94378	-	-
<i>Passer domesticus</i>	-	-	AF468523
<i>Pernis apivorus</i>	-	-	U83774
<i>Porrocaecum angusticolle</i>	-	AY702695	-
<i>Porrocaecum depressum</i>	U94379	AY603534	-
<i>Serratospiculum tendo</i>	AY702704	AY702691	-
<i>Spirocerca lupi</i>	AY751497	-	-
<i>Syngamus trachea</i>	AJ920344	-	-
<i>Toxascaris leonina</i>	U94383	-	-
<i>Trichinella pseudospiralis</i>	-	AY851269	-
<i>Trichinella spiralis</i>	U60231	-	-

<i>Trichostrongylus</i> sp.	-	-	U57041
<i>Trichuris muris</i>	AF036637	-	-
<i>Trichuris suis</i>	AY851265	-	-

Tabelle 36: Sequenzunterschiede in Prozent der mt COI Genregion der Greifvögel, berechnet mit K2P Parameter, pairwise deletion, * = NCBI Sequenz

	Merlin	Baumfalke	Wanderfalke	Fischadler	Wespenbussard	Rotmilan	Schwarzmilan	Seeadler	Maeusebussard	Rauhfußbussard	Rohrweihe	Wiesenweihe	Habicht	Sperber	Haussperling
Merlin*															
Baumfalke	4,4														
Wanderfalke	6,6	10,7													
Fischadler	19,8	23,9	18,3												
Wespenbussard*	19,6	23,7	19,1	15,2											
Rotmilan	17,9	23,2	18,7	16,9	15,3										
Schwarzmilan	19,1	24,3	19,4	16,9	16,4	1,7									
Seeadler	19,5	24,5	21,5	17,8	17,3	10,6	10,6								
Maeusebussard	20,6	25,5	22,5	17,8	15,0	9,9	10,6	10,7							
Rauhfußbussard	19,4	24,3	22,1	18,5	16,1	10,6	11,3	10,7	1,7						
Rohrweihe*	20,2	25,1	20,5	17,0	15,3	13,3	14,0	10,9	11,2	10,9					
Wiesenweihe	19,5	24,0	20,6	17,3	15,7	12,7	12,3	12,1	12,0	11,7	6,0				
Habicht*	15,4	20,4	18,3	18,1	16,4	9,8	11,5	11,6	10,5	11,2	12,6	12,3			
Sperber	22,3	26,6	24,3	24,4	21,8	16,5	18,8	17,8	15,8	16,6	16,9	15,9	11,3		
Haussperling*	20,1	24,6	19,3	20,1	22,2	20,4	20,4	20,9	20,4	20,4	22,0	23,2	20,8	25,0	

[1]	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38		
[18]	32,7	32,5	32,8	33,6	34,6	30,4	31,8	25,4	20,1	20,5	20,2	0,6	0,9	0,5	0,6	0,7	0,9																						
[19]	33,0	32,7	33,0	33,8	35,0	30,6	32,0	25,6	20,4	20,7	20,5	1,1	1,4	1,0	1,1	1,2	1,4	0,5																					
[20]	32,8	32,4	32,7	33,5	34,5	30,3	31,7	25,3	20,0	20,4	20,1	0,5	0,8	0,5	0,5	0,7	0,8	0,1	0,5																				
[21]	32,9	32,5	32,8	33,6	34,5	30,2	31,8	25,3	19,9	20,3	20,0	0,5	0,7	0,4	0,5	0,6	0,7	0,3	0,7	0,2																			
[22]	32,3	31,9	32,2	33,1	34,4	30,2	31,2	25,2	20,2	20,6	20,3	0,7	0,9	0,6	0,7	0,8	0,8	0,9	1,4	0,8	0,9																		
[23]	32,9	32,5	32,8	33,7	34,5	30,5	31,7	25,6	20,6	21,0	20,8	1,6	1,8	1,5	1,6	1,7	1,6	1,8	2,3	1,7	1,8	1,6																	
[24]	32,8	32,4	32,7	33,7	34,7	30,2	31,7	26,0	21,1	21,2	21,3	2,2	2,5	2,3	2,3	2,5	2,6	2,5	3,0	2,5	2,4	2,4	3,4																
[25]	33,3	32,9	33,2	33,9	35,0	30,4	31,9	25,5	20,2	20,5	20,3	2,2	2,5	2,1	2,2	2,3	2,5	2,3	2,7	2,2	2,1	2,3	3,1	3,4															
[26]	32,5	32,1	32,4	33,1	34,3	29,9	31,3	24,8	20,4	20,6	20,1	2,5	2,8	2,5	2,5	2,7	2,8	2,5	3,0	2,5	2,4	2,5	3,7	3,4	2,7														
[27]	33,0	32,5	32,8	33,5	35,0	30,4	31,8	25,5	20,9	21,1	20,4	3,0	3,3	3,0	3,0	3,2	3,3	3,0	3,5	3,0	2,9	3,0	4,2	3,9	3,2	0,5													
[28]	32,1	31,6	31,9	32,9	34,3	29,8	31,3	25,2	20,2	20,3	19,9	1,8	2,1	1,7	1,8	1,9	2,1	1,8	2,3	1,8	1,7	1,7	2,9	2,5	2,3	2,4	2,9												
[29]	32,4	32,0	32,2	32,8	34,5	30,7	32,4	25,4	21,6	21,8	21,3	3,3	3,6	3,2	3,3	3,5	3,6	3,5	3,9	3,4	3,3	3,2	4,1	4,4	4,2	3,6	4,1	2,9											
[30]	32,5	32,1	32,4	33,3	34,3	29,7	31,6	25,0	20,9	21,0	20,8	2,5	2,7	2,5	2,6	2,7	2,9	2,6	3,1	2,5	2,6	2,7	3,1	3,4	3,1	3,7	4,2	3,0	4,4										
[31]	32,2	31,7	32,0	32,9	34,2	29,8	31,7	24,9	20,6	20,7	20,5	2,2	2,5	2,3	2,3	2,5	2,6	2,3	2,8	2,3	2,3	2,4	2,8	3,2	2,9	3,4	3,9	2,7	4,1	0,3									
[32]	32,6	32,2	32,3	33,4	34,2	29,8	31,7	24,7	20,6	20,7	20,5	2,5	2,7	2,5	2,6	2,7	2,9	2,6	3,1	2,5	2,6	2,7	3,1	3,4	3,1	3,7	4,2	3,1	4,5	0,7	0,5								
[33]	32,0	31,6	31,9	32,7	33,8	29,5	31,2	24,8	20,5	20,8	20,7	2,2	2,5	2,3	2,3	2,5	2,6	2,4	2,9	2,3	2,4	2,4	2,3	3,4	3,1	3,4	3,9	3,1	4,2	2,4	2,1	2,3							
[34]	32,2	31,8	32,1	32,9	34,0	29,7	31,4	24,9	20,7	21,0	20,9	2,2	2,5	2,3	2,3	2,5	2,6	2,4	2,9	2,3	2,4	2,4	2,3	3,4	3,1	3,4	3,9	3,1	4,2	2,4	2,1	2,3	0,1						
[35]	32,1	31,7	32,0	32,8	33,9	29,6	31,3	24,9	20,8	21,1	21,0	2,3	2,5	2,3	2,4	2,5	2,7	2,5	3,0	2,4	2,5	2,5	2,4	3,4	3,2	3,4	3,9	3,2	4,2	2,5	2,2	2,3	0,2	0,2					
[36]	32,2	31,8	32,1	33,0	34,0	29,7	31,4	25,0	20,7	21,0	20,9	2,2	2,5	2,3	2,3	2,5	2,6	2,4	2,9	2,3	2,4	2,4	2,3	3,4	3,1	3,4	3,9	3,1	4,2	2,4	2,1	2,3	0,1	0,1	0,2				
[37]	31,9	31,5	31,8	32,6	33,7	29,4	31,0	24,8	20,7	21,0	20,9	2,3	2,5	2,3	2,4	2,5	2,7	2,5	3,0	2,4	2,5	2,5	2,4	3,3	3,0	3,4	3,9	3,0	4,1	2,3	2,0	2,2	0,2	0,2	0,3	0,2			
[38]	32,1	31,7	32,0	32,8	33,9	29,6	31,3	25,1	20,8	21,1	21,0	2,3	2,5	2,3	2,4	2,5	2,7	2,5	3,0	2,4	2,5	2,4	3,5	3,2	3,5	4,0	3,2	4,2	2,5	2,2	2,3	0,2	0,3	0,1	0,3				
[39]	33,3	32,8	33,1	34,0	35,3	30,9	32,4	25,9	21,6	21,9	21,8	3,2	3,5	3,2	3,3	3,5	3,6	3,4	3,9	3,3	3,4	3,4	3,3	4,3	4,0	4,2	4,7	4,0	5,1	3,3	3,0	3,2	1,1	1,1	1,2	1,1	1,2	1,2	
[40]	32,0	31,6	31,9	32,7	33,4	29,0	30,6	25,0	20,7	21,0	20,9	2,4	2,7	2,5	2,5	2,7	2,8	2,7	3,2	2,7	2,7	2,7	1,8	3,5	3,4	3,4	3,9	3,4	4,3	2,4	2,1	2,4	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	1,0	
[41]	32,6	32,2	32,5	33,1	34,1	30,1	31,9	25,3	21,0	21,1	21,0	2,5	2,8	2,6	2,7	2,8	3,0	2,7	3,2	2,7	2,7	2,7	2,6	3,6	3,4	3,7	4,2	3,5	4,2	2,4	2,1	2,3	0,9	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0	
[42]	32,7	32,3	32,6	33,5	34,1	29,9	31,9	25,4	20,2	20,2	20,1	3,4	3,7	3,3	3,4	3,5	3,7	3,6	4,1	3,5	3,5	3,3	3,9	4,6	4,0	4,4	4,9	3,9	4,9	3,8	3,5	3,7	3,5	3,5	3,6	3,5	3,6	3,6	

- [1] 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38
- [43] 32,6 32,2 32,5 33,4 34,0 29,8 31,8 25,3 20,1 20,0 3,4 3,7 3,4 3,4 3,6 3,7 3,7 4,2 3,6 3,5 3,4 3,9 4,7 4,1 4,4 4,9 3,9 4,9 3,7 3,5 3,6 3,4 3,4 3,5 3,5 3,5 3,5
- [44] 32,9 32,4 32,7 33,6 34,2 30,0 31,8 25,5 20,2 20,2 20,1 3,6 3,9 3,5 3,6 3,7 3,9 3,8 4,3 3,7 3,5 4,0 4,8 4,2 4,6 5,1 4,1 5,1 3,9 3,6 3,7 3,6 3,6 3,7 3,6 3,7 3,7
- [45] 32,6 32,2 32,5 33,4 34,0 29,9 31,9 25,3 20,2 20,2 20,1 3,4 3,7 3,4 3,4 3,6 3,7 3,7 4,2 3,6 3,5 3,4 3,9 4,7 4,1 4,4 4,9 3,9 4,9 3,7 3,4 3,6 3,6 3,6 3,7 3,6 3,7 3,7
- [46] 32,6 32,2 32,5 33,4 34,0 29,9 31,7 25,3 20,2 20,2 20,1 3,4 3,7 3,4 3,4 3,6 3,7 3,7 4,2 3,6 3,5 3,4 3,9 4,7 4,1 4,4 4,9 3,9 4,9 3,7 3,5 3,6 3,6 3,6 3,7 3,6 3,7 3,7
- [47] 32,8 32,3 32,6 33,5 34,0 29,7 31,7 25,0 20,2 20,2 20,1 3,4 3,7 3,3 3,4 3,5 3,6 3,6 4,1 3,5 3,5 3,3 3,7 4,6 4,0 4,4 4,9 3,9 5,0 3,7 3,4 3,5 3,5 3,5 3,6 3,5 3,6 3,6
- [48] 33,0 32,6 32,9 33,8 34,5 30,2 32,2 25,1 20,5 20,3 20,3 3,8 4,1 3,7 3,8 4,0 4,0 4,5 4,0 3,9 3,7 4,1 4,9 4,5 4,7 5,2 4,2 5,4 4,1 3,8 3,9 4,0 4,0 4,0 4,0 4,0 4,0
- [49] 33,0 32,5 32,8 33,5 34,2 30,0 31,8 24,8 20,1 20,1 20,0 3,4 3,7 3,4 3,4 3,6 3,7 3,7 4,2 3,6 3,5 3,4 3,8 4,6 4,1 4,3 4,8 3,9 4,9 3,9 3,6 3,7 3,6 3,6 3,7 3,6 3,7 3,7
- [50] 32,6 32,2 32,5 33,4 33,9 29,8 31,8 25,0 20,3 20,3 20,2 3,3 3,6 3,2 3,3 3,5 3,5 4,0 3,5 3,4 3,2 3,7 4,5 3,9 4,3 4,8 3,8 4,9 3,6 3,3 3,5 3,5 3,5 3,5 3,5 3,5
- [51] 32,4 32,0 32,3 33,2 33,7 29,6 31,7 25,0 20,1 20,1 20,0 3,4 3,7 3,3 3,4 3,5 3,7 3,6 4,1 3,5 3,5 3,4 3,8 4,6 4,0 4,4 4,9 3,9 5,1 3,6 3,3 3,4 3,5 3,6 3,5 3,6 3,6
- [52] 32,5 32,1 32,4 33,1 33,9 29,7 31,5 24,9 20,3 20,3 20,2 3,3 3,6 3,2 3,3 3,5 3,6 3,5 4,0 3,5 3,4 3,2 3,7 4,5 3,9 4,3 4,8 3,8 4,9 3,7 3,5 3,6 3,5 3,5 3,5 3,5 3,5
- [53] 32,5 32,1 32,4 33,1 33,9 29,7 31,5 24,9 20,3 20,3 20,2 3,3 3,6 3,2 3,3 3,5 3,6 3,5 4,0 3,5 3,4 3,2 3,7 4,5 3,9 4,3 4,8 3,8 4,9 3,7 3,5 3,6 3,5 3,5 3,5 3,5 3,5
- [54] 32,9 32,5 32,8 33,5 34,2 30,2 32,0 25,1 20,3 20,3 20,2 3,6 3,9 3,5 3,6 3,7 3,9 3,7 4,2 3,7 3,6 3,7 4,0 4,5 4,2 4,6 5,1 3,9 5,3 4,1 3,8 3,8 3,6 3,6 3,7 3,6 3,7 3,7
- [55] 33,6 33,2 33,5 34,2 34,3 29,8 32,0 25,2 20,0 20,0 19,7 3,6 3,9 3,5 3,6 3,7 3,9 3,8 4,3 3,7 3,7 3,5 4,0 4,9 4,0 4,7 5,2 3,9 5,3 4,2 3,9 4,0 3,9 3,7 4,0 3,9 4,0 4,0
- [56] 32,7 32,3 32,6 33,3 33,9 30,1 32,0 25,1 20,4 20,4 20,3 3,5 3,7 3,4 3,5 3,6 3,6 3,7 4,2 3,6 3,5 3,2 3,7 4,7 4,1 4,3 4,8 3,8 5,0 4,0 3,7 3,9 3,6 3,6 3,6 3,6 3,7 3,7
- [57] 33,3 32,8 33,1 33,8 34,4 30,2 32,0 25,2 19,7 19,9 20,1 3,7 3,9 3,6 3,7 3,8 3,9 3,9 4,4 3,8 3,7 3,7 3,9 4,7 4,5 5,0 5,5 4,3 5,5 4,0 3,7 3,8 3,5 3,5 3,5 3,5 3,5 3,5
- [58] 58,8 58,3 59,3 60,6 59,5 53,3 53,5 52,4 53,6 53,9 53,8 47,7 48,1 47,5 47,4 47,4 48,1 47,9 48,5 47,8 47,8 47,5 47,3 50,0 48,3 49,2 49,7 48,4 49,6 47,8 47,7 47,3 47,2 47,4 47,5 47,4 47,3 47,6

- [39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58]
- [40] 1,9
- [41] 1,9 1,3
- [42] 4,4 3,8 3,4
- [43] 4,4 3,7 3,4 0,1
- [44] 4,5 3,9 3,5 0,2 0,1
- [45] 4,5 3,9 3,4 0,2 0,1 0,3
- [46] 4,5 3,9 3,4 0,2 0,1 0,1
- [47] 4,5 3,8 3,4 0,5 0,4 0,5 0,4 0,4
- [48] 4,9 4,2 3,9 1,0 0,9 1,1 0,9 0,9 0,5
- [49] 4,5 3,9 3,5 0,6 0,5 0,7 0,5 0,5 0,3 0,7
- [50] 4,4 3,7 3,4 0,4 0,3 0,5 0,3 0,3 0,1 0,6 0,3
- [51] 4,4 3,8 3,4 0,5 0,6 0,5 0,5 0,3 0,9 0,6 0,3
- [52] 4,4 3,7 3,4 0,3 0,3 0,4 0,3 0,3 0,4 0,9 0,4 0,3 0,5
- [53] 4,4 3,7 3,4 0,3 0,3 0,4 0,3 0,3 0,4 0,9 0,4 0,3 0,5 0,0
- [54] 4,4 4,1 3,6 0,9 0,8 0,9 0,8 0,8 0,9 1,4 0,9 0,9 0,9 0,7 0,7
- [55] 4,8 4,2 3,8 1,2 1,2 1,3 1,2 1,2 1,2 1,7 1,2 1,1 1,2 1,0 1,0 1,6
- [56] 4,6 3,7 3,5 0,9 0,8 0,9 0,8 0,8 0,8 1,4 0,9 0,7 0,9 0,7 1,2 1,2
- [57] 4,5 3,7 3,5 1,8 1,8 1,9 1,8 1,8 1,8 2,4 1,9 1,8 1,6 2,0 2,2 1,8
- [58] 48,3 47,9 47,6 47,7 47,6 47,8 47,4 47,6 47,7 48,4 47,8 47,6 47,2 47,4 47,4 47,3 47,5 47,6 47,4

- [19] 74,8 62,1 67,4 60,0 56,7 56,6 56,2 55,9 55,9 56,4 58,7 60,5 59,5 70,0 70,4 4,9 4,2 1,7
- [20] 69,9 60,9 64,3 55,2 52,5 53,3 52,6 53,6 52,9 58,8 56,3 59,6 69,3 67,9 3,6 3,9 2,6 4,1
- [21] 69,8 64,8 65,7 56,6 51,4 49,5 49,7 52,1 51,5 51,3 52,1 58,4 61,3 67,8 68,2 11,0 10,1 9,7 11,0 8,2
- [22] 68,5 58,7 62,2 52,7 50,1 50,8 49,9 52,2 52,2 53,1 56,7 54,3 56,7 66,1 63,7 3,6 3,2 1,7 3,9 2,3 8,2
- [23] 76,2 68,7 71,9 61,7 58,6 60,2 59,1 60,7 60,7 61,7 67,0 61,5 66,4 77,7 74,6 7,4 8,0 5,1 6,7 6,2 12,3 4,7
- [24] 67,7 58,7 61,7 52,5 49,9 51,1 50,2 51,6 51,6 52,4 56,0 53,2 55,9 66,1 63,7 3,2 3,2 1,7 3,4 1,9 8,2 0,4 4,3
- [25] 68,5 59,4 62,5 53,1 50,4 50,8 50,7 52,1 52,1 53,0 55,6 53,5 56,1 66,8 64,4 3,2 3,4 1,9 3,4 1,5 8,5 0,6 4,3 0,2
- [26] 69,9 60,0 64,2 54,7 51,5 53,4 52,3 53,3 53,3 54,2 60,1 55,4 58,7 68,5 65,9 4,7 4,7 3,3 5,0 3,8 9,5 2,1 4,9 1,7 1,7
- [27] 70,2 61,8 68,9 55,3 54,7 57,9 55,4 56,4 55,8 56,2 61,0 59,1 60,1 68,5 67,7 6,8 6,6 5,1 6,8 5,8 11,6 4,1 7,6 3,6 3,7 5,1
- [28] 73,2 65,1 65,8 51,9 54,5 50,6 50,7 51,7 50,6 51,5 56,2 52,4 53,4 60,3 57,5 49,3 51,9 48,4 50,7 47,7 47,3 46,2 54,5 46,2 46,3 48,1 49,6
- [29] 72,9 65,3 65,5 52,0 55,2 51,2 51,3 52,4 51,3 52,1 57,4 52,6 54,2 61,2 58,4 49,6 52,2 48,6 51,0 47,9 47,4 46,4 54,7 46,4 46,5 47,8 49,8 0,8
- [30] 69,8 65,9 68,2 54,2 57,5 59,5 58,2 60,5 59,8 60,2 62,8 55,2 58,5 64,7 62,5 57,4 61,3 55,3 57,7 54,8 51,0 53,0 61,8 52,6 52,2 572 55,9 37,8 39,4
- [31] 94,5 92,3 100 100 100 127 127 115 115 116 104 109 103 91,1 97,7 97,1 96,3 95,8 97,4 101 101 97,1 101 97,1 98,7 99,3 101 125 125 114

Tabelle 39: Sequenzunterschiede in Prozent der ITS-2 Sequenzen der Ascaridomorpha, berechnet mit K2P Parameter, pairwise deletion

Beschriftung der Tabelle ???: PN* = *Porrocaecum angusticolle*, PD* = *Porrocaecum depressum*, AL* = *Ascaris lumbricoides*, CN* = *Contracaecum* sp., HV* = *Hovorkonema variegatum*, * = NCBI Sequenz

	PN*	PO12	PO5	PO6	PO9	PO1	PO4	PO10	PO11	PO7	PO8	PO3	PO2	PD	AL*	CN*	HV*
PN*																	
PO12	0,0																
PO5	0,4	0,9															
PO6	0,4	0,6	1,1														
PO9	1,8	2,0	2,4	2,4													
PO1	0,2	0,6	1,1	0,9	1,7												
PO4	0,5	0,8	1,3	1,1	2,6	0,6											
PO10	4,9	4,9	5,3	5,1	6,5	5,1	4,7										
PO11	10,3	10,9	11,4	11,1	13,1	11,1	10,6	15,0									
PO7	7,2	7,6	7,3	7,6	8,1	7,8	8,1	11,9	6,4								
PO8	8,0	7,4	8,6	8,4	8,1	7,6	7,9	13,0	7,5	2,8							
PO3	6,4	5,8	7,0	6,8	8,4	6,3	6,6	11,3	5,6	2,4	2,3						
PO2	6,9	7,0	7,8	7,6	9,2	6,7	6,2	11,1	6,4	4,5	4,4	3,2					
PD	6,6	8,3	7,3	7,4	9,0	8,5	8,7	12,0	6,7	2,9	3,5	2,8	5,1				
AL*	31,0	29,8	30,6	30,4	32,3	30,2	30,7	32,4	35,4	31,4	32,8	30,3	32,3	30,8			
CN*	46,3	44,0	44,9	44,9	47,6	44,4	45,1	47,3	44,9	43,2	44,4	41,5	43,2	41,9	44,0		
HV*	71,5	72,1	72,6	72,0	74,7	72,9	69,5	82,5	79,4	73,8	73,9	74,0	73,7	73,8	75,5	79,1	

Tabelle 40: Sequenzunterschiede in Prozent der mt COI Sequenzen der Nematoden, berechnet mit K2P Parameter, pairwise deletion, * = NCBI Sequenz

	<i>Cooperia oncophora</i> *	<i>Trichostrongylus</i> sp.*	HV2	PO3	PO4	PO6	PO5	<i>Contraecum</i> sp.*	HV1	<i>Filaria martis</i> *
<i>Cooperia oncophora</i> *										
<i>Trichostrongylus</i> sp.*	14,4									
HV2	18,2	20,5								
PO3	19,0	20,9	0,6							
PO4	18,6	22,2	1,2	1,8						
PO6	19,4	23,0	19,0	2,5	1,2					
PO5	18,6	20,9	3,8	4,4	4,4	5,1				
<i>Contraecum</i> sp.*	24,9	19,3	12,9	13,3	12,6	13,3	13,3			
HV1	16,3	15,5	9,0	9,7	10,1	10,8	9,0	15,2		
<i>Filaria martis</i> *	47,9	50,3	46,8	47,4	48,0	49,2	51,1	51,9	44,5	

#MC1	GCTGCTGC.. C..C.A----	-----TGC .CA.G.C.A. CCA-----	-----T. A-----AT.A	[330]
#Filarie	G-----A. T. T.-----	-----TGA AAT. .A.-----	-----TC.C-----AC-----	[330]
#PP1	T.C-----T T.T.T.G-----	-----TG. .TA.----- C ACAGAAA-----	-----AGAGA. .TG. .AATA TTGCTATGAGC.AAT.T CCTTGTCTAG	[330]
#PA1	..CA-CACAT A.....CC-----	-----T. CTC.C----- C.C-----	-----CTT .CT-----T...CCATGT -----	[330]
#CM2	-CGA-ITTACA TCAGGTGATT TTTCATG-----	-----GCAT G-----A ----TACAC-----	-----ACGAA CA--CATTGT T-----	-----	[440]
#SL10	[440]
#P36_Bande_A	..A. T.A.TC.C.	[440]
#CL1	..A.C. A.TCCA-----AA.A.C.T.TG ATGAT.TC.TTT-----	[440]
#CM4	..A.C. A.TCCA-----AA.A.C.T.TG ATGAT.TC.TTT-----	[440]
#CS3	..TTCC.....G.....CA.CA-----	-----T.A.C A-----A. AAATC. .T-----	-----C. G.-G.G. GAT-----	[440]
#CS2	..TTCC.....G.....CATCA-----	-----T.A.C A-----A. AAATC. .T-----	-----C. G.-G.G. GAT-----	[440]
#CS1	..TTCC.....G.....CA.CA-----	-----T.A.C A-----A. AAATC. .T-----	-----C. G.-G.G. GAT-----	[440]
#P4	..TTCC.....G.....CATCA-----	-----T.A.C A-----A. AAATC. .T-----	-----C. G.-G.G. GAT-----	[440]
#CM3	..TT.CG.....G.....AACAA-----	-----T.A.C A-----A. AA.T. .T-----	-----TC. A.-G.-GA. GAT-----	[440]
#P31	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCTT .T.-C.T-----	[440]
#P36_Bande_B	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#P36_Bande_c	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL4	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL7	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#P50	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL1	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#P33	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL5	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#P40	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL2	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL3	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL9	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL8	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAA.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL6	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAA.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#P53	..AACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAA.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SL11	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#SP1	..TACCA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#CM1	..A.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----	[440]
#ST1	..G. A. .T.T.GC CAAA.AA-----	-----C. .A. C-----C. ACCCCCT.A-----	-----G.CTT .C.-G.A-----GGT-----	[440]
#MC1	..TATGA.....GTT.AGGC .C.G.A-----	-----TAT.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----GGT-----	[440]
#Filarie	..CT. .G. .A. .CTCC-----	-----TAA.A A-----C. A-----T.G.-----	-----TCT .T.-C.T-----G.A.-A.GG. GGA-----	[440]
#PP1	TGT.TA.G. .T. .A. .A GAGAGA.AGA GAGA-----	-----GTACTAG. G AATGTGATC. GCAG.GT.T-----	-----TTTGT.C.G .T-----GTTG-----	[440]
#PA1	..A.....CGATA.AG .GGATA-----	-----CAT.C-----	-----T-AT.TTGTG TGTAT.GCTG.A.GG. .G. .TTGT-----	[440]
#CM2A TTGGTGTGTA TCATT-----	-----GCA-AATG CTAACG-AAA T-----TTCCCC TG-----	-----ATTATGAT GG-----TGTTA-----	[550]
#SL10G.	[550]
#P36_Bande_AG.T.A-----	[550]
#CL1	..G. .A.A.A.ATACA AT-----C. G.T.T-----	[550]
#CM4	..G. .A.A.A.ACACA AT-----C. G.T.T-----	[550]
#CS3	..G. A. AAA.CCC CTGA-----	-----T.TGT.TTTG.GTTG .T-----	-----GG. .C.A.G.A. .A	[550]
#CS2	..G. A. AAA.CCC CTGA-----	-----T.TGT.TTTG.GTTG .T-----	-----GG. .C.A.G.A. .A	[550]
#CS1	..G. A. AAA.CCC CTGA-----	-----T.TGT.TTTG.GTTG .T-----	-----GG. .C.A.G.A. .A	[550]
#P4	..G. A. AAA.CCC CTGA-----	-----T.TGT.TTTG.GTTG .T-----	-----GG. .C.A.G.A. .A	[550]
#CM3	..G. A.AAGA.CCC CTGA-----	-----T.TGT.TA.TGTG.G-----G.ATTG .T-----	-----GG. .A. A-----A.A. .A	[550]
#P31	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#P36_Bande_B	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#P36_Bande_c	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL4	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL7	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#P50	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL1	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----GA.	[550]
#P33	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL5	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#P40	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL2	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL3	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL9	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL8	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL6	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#P53	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SL11	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#SP1	..G. C.C. G.A.GG.	-----GT.AA. A-----	[550]
#CM1	..G. C.T-GT.C.A. A-----C.C-----	[550]
#ST1	..G. C.T-GT.C.A. A-----C.C-----	[550]
#MC1	TGCTATCGTG . .TATGTGT GTT.ATATTT TT.GCA. .AA A.CT.AA. .A-----	-----C. .T GA-----	-----T. .T. .GA .TATGTGAAA CAATACAATT GTGTGTC.GC	[550]
#Filarie	..G. C.GG. .A. .A. .T A-----	-----T. .T. .GA .TATGTGAAA CAATACAATT GTGTGTC.GC	[550]
#PP1	..G. C.GG. .A. .A. .T A-----	-----T. .T. .GA .TATGTGAAA CAATACAATT GTGTGTC.GC	[550]
#PA1	..G. C.GG. .A. .A. .T A-----	-----T. .T. .GA .TATGTGAAA CAATACAATT GTGTGTC.GC	[550]
#CM2	..TC-CTTG-----G AAATGCT-----	-----ACG-GT-----TGAT-----	-----TCATC TCGAGCAAAAT G-----CATT C-----AAAT-----	-----GGG-A-----	[660]
#SL10	[660]
#P36_Bande_AG.C-----ATG-----	[660]
#CL1	..T-TCC-----A-----	-----T-----	-----AT.G-----A.G.GCA.CA-----	[660]
#CM4	..T-TCC-----A-----	-----T-----	-----AT.G-----A.G.GCA.CA-----	[660]
#CS3	A. .A.AC.AG AGAA-----T-----	-----TG. .AT-----ATCGT-----	-----G.G. .T ATC.CA. .T-----A. .TAGC.A. .ATG-----	[660]
#CS2	A. .A.AC.AA AGAA-----T-----	-----TG. .AT-----ATCGT-----	-----G.G. .T ATC.CA. .T-----A. .TAGC.A. .ATG-----	[660]
#CS1	A. .A.AC.AA AGAA-----T-----	-----TG. .AT-----ATCGT-----	-----G.G. .T ATC.CA. .T-----A. .TAGC.A. .ATG-----	[660]
#P4	A. .A.AC.AA AGAA-----T-----	-----TG. .AT-----ATCGT-----	-----G.G. .T ATC.CA. .T-----A. .TAGC.A. .ATG-----	[660]
#CM3	A. .A.AA .AA AGAA-----T-----	-----TG. .AT-----ATCGT-----	-----G.G. .T ATC.CA. .T-----A. .TAGC.A. .ATG-----	[660]
#P31	..G. .CT-----C.T-----	-----CCG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#P36_Bande_B	..G. .CT-----C.T-----	-----CCG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#P36_Bande_c	..G. .CT-----C.T-----	-----CCG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL4	..G. .CT-----C.T-----	-----CCG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL7	..G. .CT-----C.T-----	-----CCG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#P50	..G. .CT-----C.T-----	-----CCG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL1	..T. .AT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#P33	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL5	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#P40	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL2	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL3	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL9	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL8	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL6	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#P53	..G. .CTCT A-----A-----	-----CCG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SL11	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#SP1	..G. .CT-----C.T-----	-----CAG.ATA-----	-----G. .GT-----C.G. .T G. .GTT.TGC T-----TG.TT-----	[660]
#CM1	A. .GA.GAT-----G. .T.GAT GATGATGGAA CATA. .AAT-----	-----G. .T AT-----T.G. .A-----	-----GAT.TGA T-----T. .C-----	[660]
#ST1	AC.AT. .TCT GTCC-----T-----	-----TT-----	-----C.G. .T GG.G.G.TG. T-----GT-----	[660]
#MC1	T.TGA. .TC GTCC-----T-----	-----AAAT.GGC GT-----	-----CG. .C.C ACCA.TG.AT-----A.TTG. GGA-----	[660]
#Filarie	A. .CT. .CCA T-----CA-----	-----G. T-----	-----A. TTCA A.A.ATTTT A-----T-----	[660]
#PP1	A. .TGTG. .TT ATTAGCCCTAC-----	-----AACAA-----	-----ACA. .AC.C-----AT.AT GAGAA. .A-----	[660]
#PA1	G. .AA. .TT T-----TT-----G.C.GCAGG CA-----	-----AATG. TCA. .CGTC. .C. CT TTATAGAGG. G. AG. .TGTTGC TAGAGCT. .CAAATCCCTG CTCA. .TATGC	[660]


```

#SL3      C...T...G...C.CT--G...GC.A..G...-T...C...C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#SL6      C...T...G...C.CT--G...GC.A..G...-T...C...C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#SL11     C...T...G...C.CT--G...GC.A..G...-T...C...C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#SL5      C...T...G...C.CT--G...GC.A..G...-T...C...C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#SL4      C...G.T.A...G...C.CT--G...GC.A..G...-T...G...C...TG...G.C..G.T.T [ 312]
#SH1      C...T...G...C.CT--G...GC.A..G...-T...C...C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#SL1      C...T...G...C.CT--G...GC.A..G...-T...C...C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#PO2      C...T...G...C.CT--G...C.A.AG...-T...C.A..C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#PO3      C...T...G...C.CT--G...C.A.AG...-T...C.A..C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#PO5      C...T...G...C.CT--G...C.A.AG...-T...C.A..C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#PO1      C...T...G...C.CT--G...C.A.AG...-T...C.A..C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#PO4      C...T...G...C.CT--G...C.A.AG...-T...C.A..C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#Ascaris_suum_*
#Parascaris_equorum_*
#Ascaris_lumbricoides_*
#Baylascaris_procyonis_*
#Toxascaris_leonina_*
#Porrocaecum_depressum_*
#PO6      C...T...G...C.CT--G...C.A.AG...-T...C.A..C...TG...A.C..G.T.T [ 312]
#Goezia_pelagia_*
#Contraecacum_microcephalum_*
#Anisakis_sp.*
#Cruzia_america_*
#Diphyllobotrium_latum_*
CGT CCT .T.G...C.CT--G...T.G.TA.A...GT...C...T.C.GTC...GG..C.C...T.T [ 312]

```

```

#ED4      CTT GCC TAT CAA CTG TCG ATG GCA GGC TAC GTG CCT ACC ATG GTG ACA ACG GTF AAC GGA GAA TCA GGG TT- CGA TTC [ 390]
#ED2
#ED1
#ED3
#CT1      ...T.C...T...T...T...T...TT...G...C... [ 390]
#Trichuris_suis_*
#Trichuris_muris_*
#Trichinella_spiralis_*
#Syngamus_trachea_*
#HV1
#Metastrongylus_elongatus_*
#CM2
#CM6
#CM5
#CM8
#CL1
#CM4
#CS2
#CS3
#CS1
#CM3
#CM1
#CM7
#MCL1
#Spirocerca_lupi_*
#ST1
#Serratospiculum_tendo_*
#Onchocerca_cervicalis_*
#Filarie
#PA2
#PA1
#PP1
#SH2
#SL2
#SL3
#SL6
#SL11
#SL5
#SL4
#SH1
#SL1
#PO2
#PO3
#PO5
#PO1
#PO4
#Ascaris_suum_*
#Parascaris_equorum_*
#Ascaris_lumbricoides_*
#Baylascaris_procyonis_*
#Toxascaris_leonina_*
#Porrocaecum_depressum_*
#PO6
#Goezia_pelagia_*
#Contraecacum_microcephalum_*
#Anisakis_sp.*
#Cruzia_america_*
#Diphyllobotrium_latum_*

```

```

#ED4      CGG AGA AAG AGC CTG AGA GAC GGC TAC CAC ATC CAA GGA AGG CAG CAG GCA CGC AAA TTA CCC ACT CCC AGA ATG GGG [ 468]
#ED2
#ED1
#ED3
#CT1      ...G...T...T...T...G...C... [ 468]
#Trichuris_suis_*
#Trichuris_muris_*
#Trichinella_spiralis_*
#Syngamus_trachea_*
#HV1
#Metastrongylus_elongatus_*
#CM2
#CM6
#CM5
#CM8
#CL1
#CM4
#CS2
#CS3
#CS1
#CM3
#CM1
#CM7
#MCL1
#Spirocerca_lupi_*

```



```

#Trichinella_spiralis_* TG ... ACG .TT .T .A GAT CT- ... .T. CG. .G- ... ..C TG. T- ... T. ... . [ 780]
#Syngamus_trachea_* ... T. .G. T- ... .C GAC .AT .T- ... GC. .G. T- ... ..A - ... -T .T AAA GT. [ 780]
#HV1 ... T. .G. T- ... .GAC .AT .T- ... GC. .G. T- ... ..T - ... -T .CT AAA GT. [ 780]
#Metastrongylus_elongatus_* ... CA. .G. T- ... .GAC .AT .T- ... GC. .G. T- ... ..T - ... -T .T GAA AT. [ 780]
#CM2 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CM6 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CM5 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CM8 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CL1 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CM4 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CS2 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CS3 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CS1 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CM3 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CM1 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#CM7 ..C T.G .CA C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#MC1 ..C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Spirocerca_lupi_* ..C TAG GC. CT. CTA GAC .AA AAT .A- -T GCC AG. T- ... ..T - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#ST1 ..C T.G GC. C- CTA G.C .TT .TT A- ... .GCC AG. T- ... ..T - ... -T .T.A CC. [ 780]
#Serratospiculum_tendo_* ..C T.G GC. C- CTA G.C .TT .TT A- ... .GCC AG. T- ... ..T - ... -T .T.A CC. [ 780]
#Onchocerca_cervicalis_* ..C T.G GC. C- CTA G.C .AA .AT ... .GCC AG. T- ... ..C - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#Filarie ..C T.G GA. T- CTA G.C .AA .AC ... .GC. AGC C- ... ..T.C C- ... -T .T.A CC. [ 780]
#PA2 ..C T.G GC. C- CTA G.C .AA CAC ... .GCC .G. T- ... ..T - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#PA1 ..C T.G GC. C- CTA G.C .AA .AC ... .GCC .G. T- ... ..T - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#PP1 ..C T.G GC. C- CTA G.C .AA CAC ... .GCC .G. T- ... ..T - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#SH2 ..C T.G GCG C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC .G. T- ... ..C - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#SL2 ..C T.G GCG C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC .G. T- ... ..C - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#SL3 ..C T.G GCG C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC .G. T- ... ..C - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#SL6 ..C T.G GCG C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC .G. T- ... ..C - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#SL11 ..C T.G GCG C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC .G. T- ... ..C - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#SL5 ..C T.G GCG C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC .G. T- ... ..C - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#SL4 ..C T.G GCG C- CTA G.C .AT .GT G- ... .GTC .G. T- ... ..G - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#SH1 ..C T.G .CA C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC .G. T- ... ..C - ... -T .C T.A CC. [ 780]
#SL1 ..C T.G GA. C- CTA G.C .A. .AC ... .GTC .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#PO2 ..C T.G GA. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#PO3 ..C T.G GA. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#PO5 ..C T.G GA. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#PO1 ..C T.G GA. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#PO4 ..C T.G GA. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Ascaris_suum_* ..C T.G GC. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Parascaris_equorum_* ..C T.G GC. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Ascaris_lumbricoides_* ..C T.G GC. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Baylascaris_procyonis_* ..C T.G GC. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Toxascaris_leonina_* ..C T.G GC. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Porrocaecum_depressum_* ..C T.G GC. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#PO6 ..C T.G GC. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Goezia_pelagia_* ..C T.G GC. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Contraecum_microcephalum_* ..C TAN GC. C- CTG G.C .A. .TC ... .GC. .G. T- ... ..TC - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Anisakis_sp.* ..C T.G GC. C- CTG G.C .A. .AC ... .GT. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Cruzia_americana_* T.C T.G GC. C- CTA G.C .A. .AC ... .GT. .G. T- ... ..C - ... -T .C T.G CC. [ 780]
#Diphyllobotrium_latum_* GTC T.T.G TGT AGG T.G GAC GGT GCT C.G GCG .GC ACC CCT CGC CCA GGC GC. GT. ATG .TC .AG TT. GC. TGG TGG [ 780]

```

```

#ED4 TGG TTG AGT GTC T- TGG ACG GCA -T GAA TGT TT- ACT TTG A- -GA A- -A ATA AG- -AG CGC CCA AAG CAG GCT [ 858]
#ED2 ... .. [ 858]
#ED1 ... .. [ 858]
#ED3 ..CA .C. ... .. [ 858]
#CT1 ..T. .G. ... ..C GCG ..GA. .A. .CA. ... .C. .CCC ... ..AC G. .T. TC. ... .T- .C. GCT T. ... .G. ... [ 858]
#Trichuris_suis_* ..CA G. ... ..C- .T. G. .A.T- ... .A. ... ..G GA- ... ..T. .G. .A. .C [ 858]
#Trichuris_muris_* ..A G. ... ..C- .T. G. .A.T- ... .A. ... ..G GA- ... ..T. .G. .A. .C [ 858]
#Trichinella_spiralis_* ..CA ... ..A- .AT. GT. C.T- -C .G AT. ... ..A. ... ..T. T. ... ..G [ 858]
#Syngamus_trachea_* ..C- .- .CT. T.T- -A- GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .T. ... ..T. T. T. G.A. .A. .G [ 858]
#HV1 ..C- .- .CT. T.T- -A- GT. .T- -A .GG A. ... ..A- .T. ... ..T. T. T. G.A. .A. .G [ 858]
#Metastrongylus_elongatus_* ..C- .- .TT. C.T- -A- GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .T. ... ..T. T. T. G.A. .A. .G [ 858]
#CM2 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CM6 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CM5 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CM8 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CL1 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CM4 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CS2 ..CA G. .GT. .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CS3 ..CA G. .GT. .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CS1 ..CA G. .GT. .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CM3 ..CA G. .GT. .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CM1 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#CM7 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#MC1 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -A .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Spirocerca_lupi_* ..A .C. GT. .CG ... AA. GTT .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#ST1 ..AA ... GT. .CA ... A. GTA .G- -G .C. A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Serratospiculum_tendo_* ..AA ... GT. .CA ... A. GTA .G- -G .C. A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Onchocerca_cervicalis_* ..A .C. GT. .CG ... AT. GT. .T- -A .C. A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Filarie ..AA ... GT. .CG ... AA. GT. .C- -G .G. A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#PA2 ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#PA1 ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#PP1 ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#SH2 ..A .C. GT. .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#SL2 ..A .C. GT. .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#SL3 ..A .C. GT. .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#SL6 ..A .C. GT. .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#SL11 ..A .C. GT. .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#SL5 ..A .C. GT. .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#SL4 ..A .C. GT. .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#SH1 ..A .C. GTC .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#SL1 ..CA ... GTC .CG ... A. GT. .C- -G .CG A. ... ..C ... A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#PO2 ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#PO3 ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#PO5 ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#PO1 ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#PO4 ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Ascaris_suum_* ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Parascaris_equorum_* ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Ascaris_lumbricoides_* ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Baylascaris_procyonis_* ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Toxascaris_leonina_* ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Porrocaecum_depressum_* ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#PO6 ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Goezia_pelagia_* ..CA .C. GTA .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Contraecum_microcephalum_* ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Anisakis_sp.* ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]
#Cruzia_americana_* ..CA .C. GTC .CG ... A. GT. .T- -A .CG A. ... ..A- .A. ... ..T. T. T. .G. ... [ 858]

```


#CM6	..T G.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CM5	..T G.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CM8	..T G.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CL1	..T G.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CM4	..T G.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CS2	..T A.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CS3	..T A.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CS1	..T A.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CM3	..T A.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CM1	..T G.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#CM7	..T G.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#MCL	..T A.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Spirocerca_lupi_*	A.A.A.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#ST1	..T A.A.T. T.T --- ..T ... T. AGC T.	[1638]
#Serratospiculum_tendo_*	..T A.A.T. T.T --- ..T ... T. AGC T.	[1638]
#Onchocerca_cervicalis_*	..C.A.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Filarie	..T G.A.T. T.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#PA2	..T G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#PA1	..T G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#PP1	..T G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#SH2	..A G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#SL2	..A G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#SL3	..A G.A.T. C.T --- ..T ... T. AG. T.	[1638]
#SL6	..A G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#SL11	..A G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#SL5	..A G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#SL4	..A G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#SH1	..T G.A.T. C.T --- ..T ... T. AGC T.	[1638]
#SL1	..A G.A.T. C.T --- ..T ... T. ACT T.	[1638]
#PO2	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#PO3	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#PO5	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#PO1	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#PO4	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Ascaris_suum_*	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Parascaris_equorum_*	..A G.A.TA TAC --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Ascaris_lumbricooides_*	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Baylascaris_procyonis_*	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Toxascaris_leonina_*	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Porrocaecum_depressum_*	..A G.A.T. T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#PO6	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Goezia_pelagia_*	..A G.A.TA T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Contraecacum_microcephalum_*	A.A.G.A.T. T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Anisakis_sp._*	..A G.A.T. T.C --- ..T ... T. AGC T.	[1638]
#Cruzia_american_*	..A G.A.T. T.C --- ..T ... T. AGT T.	[1638]
#Diphyllobotrium_latum_*	.GC GGT GCT ..G .C. AA. .TG CTC A.A TAT --- ..T. .AC T.C T.T T.G --- ..G C. .TCT --- ..CGT	[1638]

#ED4	ATG GGC GGG GCT GCA CGC GTG CTA CAC TGA TGG CAT CAA CGT GCG TCC AAG CCT GAC CTG TAA AGG TCA GGA AAT CGA	[1716]
#ED2	[1716]
#ED1	[1716]
#ED3	[1716]
#CT1	..A.C.G. .A.A. T. .G. T. .AC. .A.A. G. .A.	[1716]
#Trichuris_suis_*	..TA.CG.TA GC. C. .G. .G.T.C. G. .GC.C.G.G	[1716]
#Trichuris_muris_*	..TA.CG.TA GC. C. .G. .G.T.C. G. .GC.C.G.G	[1716]
#Trichinella_spiralis_*	..TC.C.A.AA. .G.A. .TA CGT.T.A.TT. .C.	[1716]
#Syngamus_trachea_*	..TC.C.A.G AA. A.G.G. C.T. TC. A. TG.A. G.C ATT. .T. A. CG	[1716]
#Hv1	..TC.C.A.G AA. A.G.G. C.T. TC. A. TG.A. G.C ATT. .T. A. CG	[1716]
#Metastrongylus_elongatus_*	..TC.C.A.G AA. A.G.G. C.T. TC. A. TG.A. G.C ATT. .T. A. CG	[1716]
#CM2	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CM6	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CM5	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CM8	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CL1	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CM4	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CS2	..TC. A.C.G A. A.G.CGT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CS3	..TC. A.C.G A. A.G.CGT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CS1	..TC. A.C.G A. A.G.CGT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CM3	..TC. A.C.G A. A.G.CGT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CM1	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#CM7	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#MCL	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#Spirocerca_lupi_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#ST1	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Serratospiculum_tendo_*	..TC. A.C.G A. A.G.GGT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Onchocerca_cervicalis_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Filarie	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. C.	[1716]
#PA2	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#PA1	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#PP1	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#SH2	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#SL2	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#SL3	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#SL6	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#SL11	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#SL5	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#SL4	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#SH1	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#SL1	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#PO2	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#PO3	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#PO5	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#PO1	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#PO4	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Ascaris_suum_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Parascaris_equorum_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Ascaris_lumbricooides_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Baylascaris_procyonis_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Toxascaris_leonina_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Porrocaecum_depressum_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#PO6	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Goezia_pelagia_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Contraecacum_microcephalum_*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Anisakis_sp._*	..TC. A.C.G A. A.G.GT. .C. A. TG.A. G.T ATT. .T. C. CC	[1716]
#Cruzia_american_*	..TC. A.C.G A. A.G.CGT. .C. A. TG.A. G.C ATT. .T. C. CC	[1716]
#Diphyllobotrium_latum_*	..CCG C.A.C.T. .T. G. .G. .GT G.T GT. .G. AGG G.C .T. -G .C. TG. .GT AG. AGG C.T GTG C.G TGG GTG	[1716]

#ED4	TTG AAA TGT CCG TGA CTG GGA TAG GGA ATT GCA ATT ATT TCC CTT GAA CGC GGA ATT CCC AGT AAG CGT GAG TCA	[1794]
#ED2	[1794]
#ED1	[1794]

#ED3	[1794]
#CT1T.....	[1794]
#Trichuris_suis_*	C.....C..T.....C.....C.....C.....	[1794]
#Trichuris_muris_*C..T.....C.....A.....C.....	[1794]
#Trichinella_spiralis_*	A.....C..TT.....T.....A.....A.....G.....	[1794]
#Syngamus_trachea_*C..TT.....C.....T.....	[1794]
#HV1C..TT.....C.....T.....	[1794]
#Metastrongylus_elongatus_*C..TT.....C.....T.....	[1794]
#CM2A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CM6A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CM5A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CM8A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CL1A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CM4A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CS2	C.....A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CS3	C.....A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CS1	C.....A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CM3	C.....A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CM1A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#CM7A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#MCL1A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Spirocerca_lupi_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#ST1A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Serratospiculum_tendo_*A.....T.....C.....TC.....C.....CT.....	[1794]
#Onchocerca_cervicalis_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#FilarieA.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#PA2	A.....A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#PA1	A.....A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#PP1	A.....A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#SH2A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#SL2A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#SL3A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#SL6A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#SL11A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#SL5A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#SL4A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#SH1A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#SL1A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#PO2A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#PO3A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#PO5A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#PO1A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#PO4A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Ascaris_suum_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Parascaris_equorum_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Ascaris_lumbricoides_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Baylascaris_procyonis_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Toxascaris_leonina_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Porrocaecum_depressum_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#PO6A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Goezia_pelagia_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Contracecum_microcephalum_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Anisakis_sp._*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Cruzia_americana_*A.....T.....C.....TC.....C.....	[1794]
#Diphyllobotrium_latum_*	CG.TGC.TG..T.C..G.T.AC..CG.C.....TG.TC..C..T..A..G.G.A.CA.GCA.TTA.C.A..T..T..AC.AA.	[1794]
#ED4	TTA GCT TGC GTT GAC TAC GTC CCT GCC CTT TGT ACA CAC CGC CCG TCG CTA CTA CCG ATT GGA TGA TTT AGT GAG GCC	[1872]
#ED2	[1872]
#ED1	[1872]
#ED3	[1872]
#CT1	.C.....	[1872]
#Trichuris_suis_*	.C.....	[1872]
#Trichuris_muris_*	.C.....N.....N.....	[1872]
#Trichinella_spiralis_*C.....C.....T.....A.....	[1872]
#Syngamus_trachea_*	.C.....CA..C..T.....A.....G.TCC.GG..C..AG.CTG..C..A.....A.	[1872]
#HV1	.C.....CA..C..T.....A.....G.TCC.GG..C..AG.CTG..C..A.....A.	[1872]
#Metastrongylus_elongatus_*	.C.....CA.....T.....A.....G.TCC.GG..C..AG.CTG..C..A.....A.	[1872]
#CM2	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CM6	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CM5	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CM8	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CL1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CM4	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CS2	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CS3	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CS1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CM3	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CM1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#CM7	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#MCL1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Spirocerca_lupi_*	.C.....CA.....T.....C.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#ST1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Serratospiculum_tendo_*	.C.....CA.....A.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Onchocerca_cervicalis_*	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Filarie	.C.....C.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#PA2	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#PA1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#PP1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#SH2	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#SL2	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#SL3	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#SL6	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#SL11	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#SL5	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#SL4	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#SH1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#SL1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#PO2	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#PO3	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#PO5	.C.....CA.....T.....C.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#PO1	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#PO4	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Ascaris_suum_*	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Parascaris_equorum_*	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Ascaris_lumbricoides_*	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Baylascaris_procyonis_*	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Toxascaris_leonina_*	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#Porrocaecum_depressum_*	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]
#PO6	.C.....CA.....T.....G..CC.GG..C..AG.CCG..C..A..A.AG	[1872]

#P01	A.C CGG .C.	[2006]
#P04	A.C CGG .C.	[2006]
#Ascaris_suum_*	A.C CGG .C.	[2006]
#Parascaris_equorum_*	A.C CGG .C.	[2006]
#Ascaris_lumbricoides_*	A.C CGG .C.	[2006]
#Baylascaris_procyonis_*	A.C CGG .C.	[2006]
#Toxascaris_leonina_*	A.C CGG .C.	[2006]
#Porrocaecum_depressum_*	A.C CGG .C.	[2006]
#P06	A.C CGG .C.	[2006]
#Goezia_pelagia_*	A.C CGG .C.	[2006]
#Contracecum_microcephalum_*	A.C CGG .C.	[2006]
#Anisakis_sp._*	A.C CGG .C. TTT C-	[2006]
#Cruzia_americana_*	A.C CGG .C.	[2006]
#Diphyllobotrium_latum_*	CC. TG. ACG .GG - - - - -	[2006]

Tabelle 44: Alignment für die ITS-2 Sequenzen der Spiruromorpha, * = NCBI Sequenz

#PA1	-----GAT TTCGATGAAG AACGC-AGC TAGCTGCCAT -AAATAG--T GCGAATTGCA GACACATT-G AGCACA--- GATTT--CGA	[90]
#PA2	-----GAT TTCGATGAAG AACGC-AGC TAGCTGCCAT -AAATAG--T GCGAATTGCA GACACATT-G AGCACA--- GATTT--CGA	[90]
#PP1A.....	[90]
#CM1	-----G.....	[90]
#CM2	-----G.....	[90]
#CL1	-----G.....	[90]
#CM4	-----G.....	[90]
#CS3	-----G.....	[90]
#CS2	-----G.....	[90]
#CS1C.....	[90]
#CM3	-----G.....	[90]
#MCL	-----G.....A.....	[90]
#Microtetrameres_cloacitectus_*	-----G.....T.....	[90]
#ST1C.....T.....G.G.....A.....	[90]
#Serratospiculum_tendo_*T.....G.G.....A.....	[90]
#SL7	-----T.....	[90]
#SL11	-----T.....	[90]
#SL9T.....GC.....C.....A.....	[90]
#SL8A.....GC.....A.....	[90]
#SL10CT.....G.....T.....A.....	[90]
#SH1C.....T.....A.....	[90]
#SL2	-----T.....A.....	[90]
#SL3GA.GA.....C.....G.....T.....A.CGC.....C.....A.....GA.....	[90]
#SL4	-----T.....A.....	[90]
#SL5A.....T.....A.....	[90]
#SL6GC.....T.....T.....A.....	[90]
#SL1	-----G.....T.....A.....	[90]
#Onchocerca_cervicalis_*	-----G.....G.....T.....	[90]
#Onchocerca_volvulus_*	-----G.....T.....	[90]
#Filarie	-----T.....G.....	[90]
#Trichinella_pseudospiralis_*	CTCTATG.CA A..CG.AG.. C.T..CTGTT .GAG...C.. G.....C T.CC.CCC.. AG.G...TT TA..TG..AC .GC..GG..G	[90]
#PA1	ACGCAAATG CGCCATCGGG T-----TCA CT-CCCGTTG GCAC--CTCT GG-CTGAGGG TCGAATGACG AC---CAACT C-----	[180]
#PA2	ACGCAAATG CGCCATCGGG T-----TCA CT-CCCGTTG GCAC--CTCT GG-CTGAGGG TCGAATGACG AC---CAACT C-----	[180]
#PP1A..T.....AC G.....	[180]
#CM1C.....GT---G. T.....A.....-G.....T.TT.T.TGCA.....AAAACAGCT	[180]
#CM2C.....GT---G. T.....A.....-G.....T.TT.C.T---T.G.....	[180]
#CL1C.....GT---G. T.....A.....-G.....T.TT---A.....	[180]
#CM4C.....GT---G. T.....A.....-G.....T.TT---A.....	[180]
#CS3C.....GT---G. T.....A.....-G.....A.T.TT.T.C---T.....	[180]
#CS2C.....GT---G. T.....A.....-G.....A.T.TT.T.C---T.....	[180]
#CS1C.....GT---G. T.....A.....-G.....A.T.TT.T.C---T.....	[180]
#CM3C.....GT---GT T.....A.....-G.....A.T.TTAT C---T.....	[180]
#MCLC.....A.....G. T.....A.....T.-G.....A.T.T---A.A.....	[180]
#Microtetrameres_cloacitectus_*	.T..C...A.....G. T.....A.....T.-G.....A.T.T---A.AA.....	[180]
#ST1C...A.....T.....A.....T.-G.....T.....A.T.....	[180]
#Serratospiculum_tendo_*C...A.....T.....A.....T.-G.....T.....A.T.....	[180]
#SL7GC.....T.....G.....	[180]
#SL11GC.....T.....G.....	[180]
#SL9GC.....T.....G.....	[180]
#SL8GC.....T.....G.....	[180]
#SL10GC.....T.....G.....	[180]
#SH1GC.....T.....G.....	[180]
#SL2GC.....T.....G.....	[180]
#SL3GC.....T.....ATG.....	[180]
#SL4GC.....T.....G.....	[180]
#SL5GC.....T.....G.....	[180]
#SL6GC.....T.T...CC.....G.....	[180]
#SL1GC.....GGGTTC...TCC..T.....A.G.....T AGA.....	[180]
#Onchocerca_cervicalis_*C.....A.....G. T.....A.....T.-G.....T.....A.TATCTA T...T.TTC T-----	[180]
#Onchocerca_volvulus_*C.....A.....G. T.....A.....T.-G.....T.....A.TATCTA T...T.TTC T-----	[180]
#FilarieC.....A.....G. T.....A.....T.-G.....T.....AGT.....T.....	[180]
#Trichinella_pseudospiralis_*	.T.GGTC.. GA---T...G---C.T .G.T.C.CT.....A..AC...C ...CCC-----	[180]
#PA1	-----TAACA A-GAGAC-- --ATGTGATC ATCATA---- --CC CTATCATCAC ACA-TATG-- --A	[270]
#PA2	-----TAACA A-GAGAC-- --ATGTGATC ATCATA---- --CC CTATCATCAC ACA-TATG-- --A	[270]
#PP1T.CA.G--- ..A.TG.T T.T.G--- ..G GC...G..A .T...A--- ..C	[270]
#CM1	CAATATAACA AACAAC.... .CA.C..ATG -T..AC..C. CGATC.GATA CGTATGCA.A AATCGTAT.T CT.T...TAT TGTGTGTGT	[270]
#CM2	-----AC.....TA.....ACAGCT CAACC-----CA- ----AT.T CTCT...A--- ..TGTG	[270]
#CL1	-----ACG... GTA.A.....ACAGCT CAA.CCC-CA TATTATCATG A.GATGATGA TG.TG..CAT GAT--TTTTC	[270]
#CM4	-----A.G... GTA.A.....ACAGCT CAA.CCC-CA TATTATCATG A.GATGATGA TG.TG..CAT GAT--TTTTC	[270]
#CS3	-----C...G .T..A.....ACAGCT CAA.C.....ATA G..AGCAAGG CTGT.G.....TGT-	[270]
#CS2	-----C...G .T..A.....ACAGCT CAA.C.....ATA GC.AGCAAGG CTGT.G.....TGT-	[270]
#CS1	-----C...G .T..A.....ACAGCT CAA.C.....ATA GC.AGCAAGG CTGT.G.....TGT-	[270]
#CM3	-----C...G .T..A.....ACAGCT CAA.C.....A.A GC.ATGAA.G TTGT..C.....TGT-	[270]
#MCL	-----TA...T.T.A.A.....ACAGCT TA.T.TTATT GCT---G.T GCTG.TG.TG CTGC.....CGC.	[270]
#Microtetrameres_cloacitectus_*	-----AGA..A.TTA.A.....ACAGCT TAT..TGCTT GCTAGGTG.T ACTG.TA.TG CTCC.....CAC.	[270]
#ST1A.TTT.A.....CT..CAT...A--- ..AAA GAGGA.GA.G...AG.CA-	[270]
#Serratospiculum_tendo_*A.TTT.A.....CT..CAT...A--- ..AAA GAGGA.GA.G...AG.CA-	[270]
#SL7	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SL11	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SL9	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SL8	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SL10	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SH1	-----T.TT...T.....AC...T CGA..GG--- ..GG GGG---GGG ..GC.....T-	[270]
#SL2	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SL3	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SL4	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SL5	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SL6	-----T.TT...T.....AC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#SL1	-----T.TT...T.....TC...T CGA..G--- ..G TGT---GG ..GC.....T-	[270]
#Onchocerca_cervicalis_*	-----TAAC.T.TTATA.TATA TC.CTC...A TAT..T--- ..A AGCAG.A.GA...A.T...TT	[270]
#Onchocerca_volvulus_*	-----TAAC.T.TTATA.TATA TC.CTC...A TAT..T--- ..A AGCAG.A.GA...A.T...TT	[270]
#Filarie	-----TGG..A.. TT.T-T.AAA CC.CAG.TGA TGA.GT--- ..TG T.TG---A .T.A.T...GTC	[270]
#Trichinella_pseudospiralis_*	-----GA..T.C.....A..G.. GC.T.G--- ..G...C.T...TT	[270]
#PA1	TCCTATC--- --TCACTCTCCT TGCTATTG-- -- --TCCATGTA TA-----	[360]
#PA2T.TC.T.....	[360]
#PP1	G.TC.....TCT.TA..TCTC..T- --TTG...G..AG-----	[360]
#CM1	-GT.G.TGTT -ATAAAA GG.A.GGAG -A..G..T- --C-----TG..A..C.T-----	[360]
#CM2	-ATA..GG- -GAAA GTTT.GGAG -A..G..T- --CA T-----G.G..T..C.T-----	[360]
#CL1	-GT...GG- -GCTAAC -TTT.GGAG -A..G..T- --CA -----A.A.CT..C.T-----	[360]

#SL10	-----C.T.A AAG-----T. TCGC.CTAA-----CT--CAGCAT. T.ATGTCGT [630]
#SH1	-----C.TA.A AAG-----T. TCOC.C-AA-----CC--CACCAA. T.ATGTCGT [630]
#SL2	-----C.T.A AAG-----T. TCGC.CTAA-----CT--CAGCAT. T.ATGTCGT [630]
#SL3	-----C.T.A AAG-----T. TCGC.CTAA-----CT--CAGCAT. T.ATGTCGT [630]
#SL4	-----C.T.A AAG-----T. TCGC.CTAA-----CT--CAGCAT. T.ATGTCGT [630]
#SL5	-----C.T.A AAG-----T. TCGC.CTAA-----CT--CAGCAT. T.ATGTCGT [630]
#SL6	-----C.T.A AAG-----T. TCGC.CTAA-----CT--CAGCAT. T.ATGTCGT [630]
#SL1	-----C.T.A AAG.A.-----GAT. TCTC.ATAA N-----A--CATCAT. T.-TCTCTGT [630]
#Onchocerca_cervicalis_*	-----CT..-----C.. AC.A.ATAA-----..AGCA..GA. A.ATGTAA.T [630]
#Onchocerca_volvulus_*	-----CT..-----C.. AC.A.ATAA-----..AGCA..GA. A.ATGTAA.T [630]
#Filarie	-----TTC-----AC.AA..T.T-----A..GC..AGA. A--TTGT.T [630]
#Trichinella_pseudospiralis_*	-----C.TC-----TTGCTA.... G-----CC.AAAGGAGG. AT.T-TTGGT [630]
#PA1	AATG----A TCA-----GTCCT ---CTCATCT TTT-----AGAG GTGA-----GGA TGTTGCTAG- [720]
#PA2	.G.....CATAAAT TGATT.CT.. ACAT.T.GC AC.GTGT---GAATGT.T.T T...T-----T.TG...AT...C [720]
#PP1	GT.ATGAAT.-----T.G AT--G.TG GCAAT-----A.T A.AGACC--ATGAATT.TT [720]
#CM1	TT.NNGGGCG-----AT.A GA--G.A. G-AAA-----ACC AAAGGG-----GCGTT.TT [720]
#CL1	TT.GATGCG-----AT.A GA--T..G ACAAAAT-----T.ACC AAAGC-----TT...AAG----- [720]
#CM4	TT.GATGCG-----AT.A GA--T..G ACAAAAT-----T.ACC AAAGC-----TT...AA----- [720]
#CS3	GC.TGACATG .T.TC-----GT.. GA--T..A CAAAIT-----T.ATT C.AGCA-----A... [720]
#CS2	GC.TGACATG .T.TC-----GT.. GA--T..A CAAAIT-----T.ATT C.AGCA-----A... [720]
#CS1	GC.TGACATG .T.TC-----GT.. GA--T..A CAAAIT-----T.ATT C.AGCA-----A... [720]
#CM3	GC.TGACATG .TGT-----GT.. GA--T..A .AA-TT-----TGATC C.A.CAT--AAACACAA... [720]
#MC1	TG..TGTCTG CTTTGA-----T.. CG--G..A. AAAAIT-----GGCGT CGACGCG--CACCATT.T. A.GTGC.TT [720]
#Microtetrameres_cloacitectus_*	GG.....T..-----G.A GAAAIT-----TGTGT T-----T..A----- [720]
#ST1	TG..GCCTGG CTGCCT-----ATAA AA.A.T.A.G GC.TTT-----TGA.CC-----TT...C----- [720]
#Serratospiculum_tendo_*	T...CAGT. CTGCAT-----ATPA GA--T.A.. G.ATTT-----TGATC CC-----CT.A..A----- [720]
#SL7	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SL11	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TAA-----GCTA...GN.G.TTC [720]
#SL9	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SL8	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SL10	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SH1	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A.AGA-----A.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SL2	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SL3	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SL4	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SL5	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SL6	TGC-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#SL1	CGG-----G .T.TG-----T. G---TG.TG A..GA-----T.C.A TA-----GCTA...CG.T.TTC [720]
#Onchocerca_cervicalis_*	T..T-----T-----TT. A-----A..CA-----TC.TCA T.A-----TAAAA... [720]
#Onchocerca_volvulus_*	T..T-----T-----TT. A-----A..CA-----TC.TCA T.A-----TAAAA... [720]
#Filarie	C..T-----T-----TT. AT-T.TC.T..GG-----A.A.A T.T-----GGGAGAA..T----- [720]
#Trichinella_pseudospiralis_*	TG.....TC. G---G.G. GC.TC-----GA.C T-----CCTC----- [720]
#PA1	-----AG---CTAT CAAATTCCTC GCFC-----AGTATG----- [810]
#PA2	-----G----- [810]
#PP1	CT-----AC .A--A..A...CAA.AC-----T...AGA-----A [810]
#CM1	-----AAA-----ACGG G...CAA.GA T-----GACGG.G-----G [810]
#CM2	-----AAA-----ACGG G...CAA.GA T-----GACGG.G-----G [810]
#CL1	-----AAA-----GCG. AG.TCOT.GG TT-----GTTTC .ACGAAA-----GA [810]
#CM4	-----AAA-----GCG. AG.TCOT.GG TT-----GTTTC .ACGAAAACAT CCCCC-----GA [810]
#CS3	-----A-----TC.A AG...AT.AA T-----GA.T----- [810]
#CS2	-----A-----TC.A AG...AT.AA T-----GA.T----- [810]
#CS1	-----A-----TC.C AG...AT.AA T-----GA.T----- [810]
#CM3	-----A-----CGA A...AT.AA T-----GA.T----- [810]
#MC1	GCTGTGTGTTG CTGGAAGACA ..GTTTT. A .A .CC. AA CA. .TATGTA TGCTAGATGC GA. .AACTGC TACGG-----GG [810]
#Microtetrameres_cloacitectus_*	-----TC.A A-----A-----AC.AA----- [810]
#ST1	-----T.GG-----CA.G----- [810]
#Serratospiculum_tendo_*	-----T.GC G...AA.A----- [810]
#SL7	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#SL11	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GAA----- [810]
#SL9	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#SL8	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#SL10	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#SH1	TT-----CGA .T.GC.T.-C.A-----GAA.GA----- [810]
#SL2	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#SL3	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#SL4	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#SL5	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#SL6	CT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#SL1	TT-----TCGA .T.GCAT.. A-----GTA.GA----- [810]
#Onchocerca_cervicalis_*	-----A-----TG.A TG...AAA.A-----GA..AAA----- [810]
#Onchocerca_volvulus_*	-----A-----TG.A TG...AAA.A-----GA..AAA----- [810]
#Filarie	-----TC...TT.ATG.G.A-----GAG..AT----- [810]
#Trichinella_pseudospiralis_*	-----GG...C..C.AA T----- [810]
#PA1	-CAAAGTAT GATAGATTTC AAGCTATACA TTTCTGCACA ATGGAATGTA CACTTATTGT GTTAGCGAGT AAAACGCTAT TATGATAAAA [900]
#PA2	----- [900]
#PP1	T..T..T...GCTGC.G CT..CC-TG C.G..A..TC .A.C..GTA. A.TAC..CG .A.CA.ATTC ..TGTG... [900]
#CM1	ATC-GT..G..-A.CCCGAA ..AT-----ATT-C TC.-AT..C -GC----- [900]
#CM2	ATC-GT..G..-A.CCCGAA ..AT-----ATT-C TC.-AT..C -GC----- [900]
#CL1	-TCT.T..C TCG.TC-AT .CA-----ATT-C .C.TACA...-ACG----- [900]
#CM4	ATCT.T..C TCG.TC-AT .CA-----ATT-C .C.TACA...-ACG----- [900]
#CS3	GTTC.T.C..T-----GAT-----ATT--TCCTAT-C.A.GAT----- [900]
#CS2	GTTC.T.C..T-----GAT-----ATT--TCCTAT-C.A.GAT----- [900]
#CS1	GTTC.T.C..T-----GAT-----ATT-C TCCTAT-C.A.GAT----- [900]
#CM3	-TCC.A...T-----TTT-----TTTCT. TCCCACA..A.GAT----- [900]
#MC1	T...T..T.T.T---TCCAA C.A.AGC-----C.AT. AC..AT.C.C.T.CTAT...T.GT.GT [900]
#Microtetrameres_cloacitectus_*	...TA...C---TC-A CGA-----ATCCC TG.TA-----GT----- [900]
#ST1	---CCG..G.T-----TATGC-----TAT.C.A [900]
#Serratospiculum_tendo_*	---C.G..G-----TAT.C.A [900]
#SL7	---GC...AC-----CTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..AT----- [900]
#SL11	---GC...AC-----CTAT-----GA-CG.C GGCTAT----- [900]
#SL9	---GC...AC-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..TT----- [900]
#SL8	---GC...AC-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..T----- [900]
#SL10	---GC...AC-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..T----- [900]
#SH1	---GC...C-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..T----- [900]
#SL2	---GC...AC-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..T----- [900]
#SL3	---GC...AC-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..T----- [900]
#SL4	---GC...AC-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..T----- [900]
#SL5	---GC...AC-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..T----- [900]
#SL6	---GC...AC-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..T----- [900]
#SL1	---GC...AC-----TTAT-----GAACG.C GGCTAT.ATC ..T----- [900]
#Onchocerca_cervicalis_*	---CA..A-----T-----GATTT.A .TC.TTCT----- [900]
#Onchocerca_volvulus_*	---CA..A-----T-----GATTT.A .C.TTCT----- [900]
#Filarie	---G-----T-----ATTTTC .TCCTT..T..T----- [900]
#Trichinella_pseudospiralis_*	---T.C.C T----- [900]


```

#P011      ..G----- ..... G..... ..T.GA .A.-..... .G--A..-T ....C..... [480]
#P07       G----- ..... ..T.AA ..... .G--A..T ..... [480]
#P08       G----- ..... ..T.AA ..... .G--A..T ..... [480]
#P03       G----- ..... ..T.AA ..... .G--A..T ..... [480]
#P02       G----- ..... ..T.AA ..... .G--A..T ..... [480]
#Porrocaecum_depressum_* GCT----- ..... ..T.AA ..... .G--A..T ..... [480]
#Ascaris_lumbricoides_* GC----- ..... ..T... G.A...AA. .G--AGGG. ....AAT A..G..G... [480]
#Contraecum_sp.*      TCG----- ..... .T..T.GA-A ..A.T.T.AC .GT..... A-----T .....G. [480]
#Hovorkonema_variegatum CC----- ..... -T.CAAC C.GAG..C.A .CG--T.A. ..C.CG..GA [480]

#Porrocaecum_angusticolle_* AT-----TT TT--GACCTC AGCT----- ..... [560]
#P012      .....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAACTTA AGCATAT-AA TCGATAGTG- ..... [560]
#P05       .....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAACTTA- ..... [560]
#P06       .....TT.....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAT- ..... [560]
#P09       .....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAC- ..... [560]
#P01       .....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAACTTA AGCATATCAA TCACTAGTG- ..... [560]
#P04       .....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAACTTA AGCATATCAA TCACTAGTG- ..... [560]
#P010      .....TT.....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAT- ..... [560]
#P011      T-----T-----TCATCG T-GAA-ACCC GCTGAT- ..... [560]
#P07       .....CAGTCG T-GAATACCC GCTGACTA- ..... [560]
#P08       .....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAACTTA AGCATATCAA- ..... [560]
#P03       .....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAACTTA AGCATATCAA TCG- ..... [560]
#P02       .....CAGTCG T-GAATACCC GCTGAACTTA AGCATATCAA TCACTAGTG- ..... [560]
#Porrocaecum_depressum_* .....CAGTCG TTGGAT- -C G-TGAATTTA AGCATATTAAC TAAGCGGAGG AAAAGAAACT [560]
#Ascaris_lumbricoides_* ..GAAAAA...TT.....CAGTCG T-GAATA- ..... [560]
#Contraecum_sp.*      GC----- .....CAGTCG T-GATTACCC GC----- ..... [560]
#Hovorkonema_variegatum .C----- .AAGC.TA...TAGCGG AGGAAAAGAA ACTAA----- ..... [560]

#Porrocaecum_angusticolle_* -- [562]
#P012      -- [562]
#P05       -- [562]
#P06       -- [562]
#P09       -- [562]
#P01       -- [562]
#P04       -- [562]
#P010      -- [562]
#P011      -- [562]
#P07       -- [562]
#P08       -- [562]
#P03       -- [562]
#P02       -- [562]
#Porrocaecum_depressum_* AA [562]
#Ascaris_lumbricoides_* -- [562]
#Contraecum_sp.*      -- [562]
#Hovorkonema_variegatum -- [562]

```

Tabelle 46: Alignment für die mt COI Sequenzen der Nematoden

#Cooperia_oncophera_*	GAT ATA AGA TTT CCT CGT TTA AAT AAT TTA AGG TTT TGA TTA TTA CCT ACA GCA ATA TTT TTG ATT TTA GAT TCT TGT	[78]
#Trichostrongylus_sp._*TAG ..GG ..T ..GAGA ...	[78]
#HV2G ..TGG ..TG ..GT ..T ..GGG ...	[78]
#PO3G ..TGG ..TG ..GT ..T ..GGG ...	[78]
#PO4G ..TGG ..TG ..GT ..T ..GGG ...	[78]
#PO6G ..TGG ..TG ..GT ..T ..GGG ...	[78]
#PO5G ..TGG ..TG ..GT ..T ..GGG ...	[78]
#Contracaecum_sp._*G ..TGC ..TG ..G ..GT ..T ..GAG ...	[78]
#HV1G ..TGG ..TG ..G ..GT ..T ..GGG ...	[78]
#Filaria_martis_*	..G ... GCTA ..T ... GC ... TCTG ... ACT TTA GTG ..T T.G ... A.. G.A ..AT ..GT.	[78]
#Cooperia_oncophera_*	TTT GTT GAT ATG GGT TGC GGC ACA AGT TGG ACT GTT TAT CCT CCT TTA AGA ACT TTA GGT CAT CCG GGT AGA AGT GTG	[156]
#Trichostrongylus_sp._*AT ..A ..T ..T ..A ..AC ..G ..GGACA ...	[156]
#HV2AT ..T ..T ..TGG ..GA ..GC ..TG ...	[156]
#PO3AT ..T ..TGG ..GA ..GCG ...	[156]
#PO4AT ..T ..TGG ..GA ..GT ..C ..G ...	[156]
#PO6AT ..T ..TGG ..GA ..GT ..C ..G ...	[156]
#PO5GT ..T ..TGG ..GA ..G ..CTG ...	[156]
#Contracaecum_sp._*AA ..A ..T ..T ..TG ..CG ..G ..G ..G ..G ..GTG ...	[156]
#HV1AA ..T ..T ..TAGG ..G ..G ..G ..GTA ...	[156]
#Filaria_martis_*	... A.. ..G ..AT ... CCT ..A ..GTA ... T.AT GTC GATA ..TG TC. T.A	[156]
#Cooperia_oncophera_*	GAT TTA GCA ATT TTT AGT TTA CAT TGT GCA GGG TTA AGA TCT ATT TTA GGG GGT ATT AAT TTT ATG TGT ACT ACT AAA	[234]
#Trichostrongylus_sp._*	..CAATTG ..AGAA ...	[234]
#HV2G ..TGG ..T G.TGGGGG ...	[234]
#PO3G ..TGG ..T G.TGGGGG ...	[234]
#PO4G ..TGG ..T G.TGGGGG ...	[234]
#PO6G ..TGG ..T G.TGGGGG ...	[234]
#PO5G ..TGG ..T G.TGGGGG ...	[234]
#Contracaecum_sp._*G ..TGG ..T G.T ..TG ..T ..CGGG ...	[234]
#HV1G ..TGG ..T G.TGG ..T ..CGGG ...	[234]
#Filaria_martis_*	... AG. ATGAG ... AC ..TT ... GCT G.T ... T.AT ..CGGG ...	[234]
#Cooperia_oncophera_*	AAT TTG CGT AGT AGT TCT ATT TCG TTG GAA CAT ATA AGA TTG TTT GTA TGA ACG GTG TTT GTA ACT GTT TTT TTG TTA	[312]
#Trichostrongylus_sp._*AAATAGT ..AGA ...	[312]
#HV2AG ..ATGG ..TTTTG ...	[312]
#PO3AG ..ATGG ..TTTTG ...	[312]
#PO4AG ..GTGG ..TTTTG ...	[312]
#PO6AG ..GTGG ..TTTTG ...	[312]
#PO5AG ..GTGG ..TTTTG ...	[312]
#Contracaecum_sp._*AGT ..A ..GG ..T ..AT ..G ..T ..TG ...	[312]
#HV1AGT ..A ..GG ..T ..AT ..G ..T ..TG ...	[312]
#Filaria_martis_*	... A.. ... TC. CA G.A G.. A.T ..A ..T ..G T.G ..T A..TT ACT ..A ..TC. G.. ...	[312]
#Cooperia_oncophera_*	GTA TTA TCT T-- TA CCT GT- [333]	
#Trichostrongylus_sp._*	..G ..G ..A ..- ..G ..A ..- [333]	
#HV2	..T ..G A.. ..- ..G- [333]	
#PO3	..T ..G A.. ..- ..G- [333]	
#PO4	..T ..G A.. ..- ..G- [333]	
#PO6	..T ..G A.. ..- ..G- [333]	
#PO5	..T ..G A.. ..- ..G- [333]	
#Contracaecum_sp._*	..G ..G ..C C-- ..G ..A ..- [333]	
#HV1	..T ..G ..A C-- ..T- [333]	
#Filaria_martis_*	A.T ..G ..TA ..CA G..T [333]	

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Heribert Hofer und Herrn Prof. Dr. Eberhard Schein für die Übernahme des Erst- und Zweitgutachtens.

Herrn Dr. Oliver Krone danke ich für die Bereitstellung des Themas, des Tiermaterials und der finanziellen Mittel, sowie für die Betreuung beim Sezieren der Greifvögel und bei der morphologischen Bestimmung der Nematoden.

Bei Herrn Dr. Jörns Fickel möchte ich mich für die Hilfe bei der Durchführung und Auswertung des genetischen Teils der Arbeit bedanken.

Vielen Dank an Herrn Dr. Karsten Nöckler vom Bundesinstitut für Risikobewertung in Berlin, der mir die Nematodenlarven aus den Brustmuskelpollen der Greifvögel und die dazugehörigen Photos zur Verfügung gestellt hat.

Herzlich möchte ich mich bei Yvonne Meyer-Lucht bedanken, die mit mir zusammen die SSCP Analyse etabliert hat.

Vielen Dank an Tanja Noventa, die mir unermüdlich beim Sequenzieren geholfen hat und an Effi Rees, die mir immer wieder mit guten Tipps und Ratschlägen weitergeholfen hat, wenn die PCRs mal wieder nicht geklappt haben.

Mein besonderer Dank gilt Franziska Zillmann und Doreen Pick, die mit ihrer steten Unterstützung und seelischen Betreuung einen Großteil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Vielen Dank Doreen für die zahlreichen hilfreichen Korrekturen zu Postern, Vorträgen uvm.

Weiterhin möchte ich mich bei Stephanie Heil bedanken, die sich beim Korrekturlesen als Fachfremde großartig durch eine Vielzahl von Fachbegriffen und komplizierten Nematodennamen gekämpft hat. Gut, dass sie vorher noch nicht wusste, auf was sie sich da eingelassen hat.

Nicht zuletzt bedanke ich mich bei allen weiteren Mitgliedern der Arbeitsgruppe für die nette und angenehme Arbeitsatmosphäre und natürlich auch bei allen ehemaligen Bewohnern des Doktorandenraums in der Alfred-Kowalke-Str. 30 für die schöne und lustige Zeit, in der wir dort gemeinsam gearbeitet haben.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 30.12.2007