

Aus dem
Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Kurt Pfister

Angefertigt unter der Leitung von
Priv.-Doz. Dr. Monika Rinder

Molekular-phylogenetische Differenzierung von Babesien des Rindes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Sigrid Vogl
aus Altötting

München 2004

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referentin: Priv.-Doz. Dr. M. Rinder
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. K. Pfister

Tag der Promotion: 13. Februar 2004

Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung und Problemstellung	1
II.	Literaturübersicht	3
1.	Bovine Babesienarten	3
1.1.	<i>Babesia bovis</i>	3
1.2.	<i>Babesia bigemina</i>	5
1.3.	<i>Babesia divergens</i>	6
1.4.	<i>Babesia major</i>	8
1.5.	<i>Babesia jakimovi</i>	8
1.6.	<i>Babesia ovata</i>	9
1.7.	<i>Babesia occultans</i>	9
2.	Taxonomische Stellung der Rinderbabesien	11
3.	Entwicklungszyklus	12
4.	Differenzierung und Abgrenzung der bovinen Babesienarten	15
4.1.	Nach phänotypischen Merkmalen	15
4.2.	Mit molekularbiologischen Methoden	17
5.	Aufbau der nukleären rDNA und deren Bedeutung in phylogenetischen Untersuchungen	19
III.	Material und Methoden	21
1.	Herkunft des Probenmaterials	21
2.	Molekularbiologische Untersuchung	25
2.1.	DNA-Isolation	25
2.2.	Polymerasekettenreaktion (PCR)	25
2.3.	Agarose-Gelelektrophorese	28

2.4.	Klonierung der ITS-Produkte	29
2.4.1.	Isolierung und Reinigung von DNA-Fragmenten aus Agarosegel	29
2.4.2.	Restriktionsenzymverdau der DNA-Fragmente	30
2.4.3.	Vektorherstellung	31
2.4.4.	Ligation	32
2.4.5.	Herstellung elektrokompenter Zellen	32
2.4.6.	Elektroporation und Selektion rekombinanter Klone	33
2.4.7.	Plasmidpräparation, -reinigung und -analyse	34
2.4.8.	Reinigung von Plasmid-DNA durch Silikamembran- Adsorption	36
2.5.	DNA-Sequenzierung	36
2.5.1.	Manuelle Sequenzierung	36
2.5.2.	Automatische Sequenzierung	39
2.6.	Sequenzanalyse	40
IV.	Ergebnisse	42
1.	Molekularbiologischer Nachweis	42
1.1.	PCR-Optimierung	42
1.2.	Amplifizierung der 18S-rDNA	45
1.3.	Amplifizierung der ITS-Region	46
2.	Genotypische Artdifferenzierung boviner Babesien anhand der 18S-Sequenz	47
2.1.	Phylogenetische Analyse auf Interspeziesniveau	48
2.2.	Phylogenetische Analyse innerhalb von Arten	52
3.	ITS-Sequenzanalyse zur genotypischen Charakterisierung boviner Babesien	57
3.1.	Intraisolat-Identitäten	57
3.2.	Interisolat-Identitäten	58
3.3.	Intraspezies-Sequenzanalyse	64
4.	Mischinfektionen	73
4.1.	18S-rDNA	73
4.2.	ITS-Region	75

V. Diskussion	77
1. Methodische Aspekte	77
2. Molekular-phylogenetische Differenzierung boviner Babesien	81
3. Variabilität der Rinderbabesien	87
VI. Zusammenfassung / Summary	95
VII. Literaturverzeichnis	101
VIII. Abkürzungen	117
IX. Anhang	119
1. 18S-rDNA Sequenzen	119
2. ITS-rDNA Sequenzen	135
Danksagung	155

I. Einleitung und Problemstellung

Babesien zählen weltweit zu den veterinärmedizinisch bedeutendsten Blutparasiten des Rindes. Vor allem in tropischen und subtropischen Ländern verursachen Erkrankungen mit diesen protozoären Erregern hohe wirtschaftliche Verluste. Aus diesem Grund wird seit Jahren mit beträchtlichem Einsatz an einer effektiven Vakzineherstellung, der Züchtung resistenter Rinderrassen und der Entwicklung neuer diagnostischer Methoden gearbeitet (Melendez 2000).

Grundlage für einen Erfolg dieser Bemühungen sind genaue Kenntnisse über die Zusammensetzung und Abgrenzung von Arten, da Unterschiede auf Speziesniveau zwischen eng verwandten Taxa oft wesentliche Unterschiede reflektieren, die das Verhalten der Parasiten, ihre Ökologie, Biochemie und Pathogenität, sowie ihr Wirtsspektrum beeinflussen (Monis 1999). Die Babesien des Rindes werden derzeit sieben verschiedenen Arten zugeordnet, wobei *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* und *B. ovata* aufgrund ihres Vorkommens und ihrer Pathogenität die größte Relevanz zukommt. Sie stellen bezüglich Immunogenität, Pathogenität und Vektorspezifität eine sehr heterogene Erregergruppe dar, wobei sich häufig sogar Isolate, die derselben Art angehören, unterscheiden. Auch morphologische Merkmale wie Größe und Form können vielfältig sein; außerdem ist nur eine geringe Anzahl solcher Merkmale bei Protozoen verfügbar (Barta 2001). Die phänotypischen Merkmale, auf denen die derzeit akzeptierte Einteilung der bovinen Babesien beruht, sind also sehr variabel; dies erschwert eine eindeutige Differenzierung der Arten.

Der Ableitung von Verwandtschaftsbeziehungen aus morphologischen und biologischen Merkmalsmustern, steht die molekulare Phylogenetik gegenüber. Dabei repräsentieren Ähnlichkeiten von Nukleotidsequenzen, vergleichend analysiert und in Form eines Stammbaumes dargestellt, die genetische Verwandtschaft von Organismen. Da diese genotypischen Merkmale nahezu unabhängig von Umwelteinflüssen sind, stellt dieser Ansatz eine viel versprechende Möglichkeit zur Charakterisierung unterschiedlicher Spezies der Rinderbabesien dar. Möglicherweise gibt diese Analyse auf genetischer Ebene auch Aufschlüsse über die biologische Diversität innerhalb und zwischen den Arten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, unter Anwendung molekularbiologischer Techniken und anschließender phylogenetischer Untersuchungen, die Differenzierung boviner Babesien zu ermöglichen. Anhand dieser Ergebnisse sollte die derzeitige Arzuteilung der Babesien des Rindes überprüft und darüber hinaus untersucht werden, ob Gruppen von Genotypen auch unterhalb der Artebene existieren. Weiterhin stellte sich die Frage, inwiefern die phylogenetischen Beziehungen von Isolaten einer Art mit biologischen Eigenschaften oder der geographischen Verteilung korrelieren.

In diese Studie wurden daher die veterinärmedizinisch bedeutenden Arten *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* und *B. ovata* mit Isolaten unterschiedlicher geographischer Herkunft einbezogen. Die Erreger waren zuvor anhand phänotypischer Merkmale den einzelnen Arten zugeordnet worden. Mittels PCR und Sequenzierung von zwei rDNA-Abschnitten wurden diese Babesien genotypisch charakterisiert und phylogenetischen Analysen unterzogen.

II. Literaturübersicht

1. Bovine Babesienarten

Babesien sind durch Schildzecken übertragene, intraerythrozytäre Protozoen (Mc Cosker 1981). Sie wurden erstmals von dem Pathologen Victor Babès als Erreger der „Seuchenhaften Hämoglobinurie der Rinder“ im Jahre 1888 in Rumänien beschrieben und, in der Annahme es handle sich um ein Bakterium, als *Haematococcus bovis* (Babès 1888, 1889) bezeichnet. Den heute gebräuchlichen Gattungsnamen *Babesia* prägte Starcovici, ein Mitglied aus Babès Forschungsgruppe. Er ordnete den Erreger den Protozoen zu und nannte ihn, nach seinem Entdecker, *Babesia bovis* (Starcovici 1893). Im gleichen Jahr erkannten Smith und Kilborne *Pyrosoma bigeminum* (*Babesia bigemina*) als Ursache des „Texasfiebers der Rinder“ in Nordamerika und die Übertragung dieses Erregers durch Zecken (zitiert in Hoyte 1976) – in der Geschichte der Parasitologie der erste Nachweis für Arthropoden als Vektoren protozoärer Krankheitserreger (Levine 1973).

Nach derzeitiger Auffassung (Levine 1988, Euzeby 1990, Uilenberg 1995) umfasst die Fauna der Babesien des Rindes sieben Arten: *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens*, *B. major*, *B. jakimovi*, *B. ovata* und *B. occultans*. Eine einfache Klassifizierung teilt sie nach der Größe ihrer intraerythrozytären Formen in „kleine“ Babesien (*B. bovis* und *B. divergens*) und „große“ Babesien (*B. bigemina*, *B. major*, *B. jakimovi*, *B. ovata* und *B. occultans*) ein. Die einzelnen Arten unterscheiden sich aber nicht nur morphologisch voneinander, sondern auch bezüglich ihrer Vektorspezifität (Sonenshine 1993), Pathogenität (Wright & Goodger 1988) und ihrem Verbreitungsgebiet (Young 1988). Eine Übersicht ist in Tab. 1 (S.10) dargestellt.

1.1. *Babesia bovis* (Babès 1888, Starcovici 1893)

B. bovis gehört neben *B. bigemina* zu den bedeutendsten, durch Zecken übertragenen Blutparasiten (Uilenberg 1995). Das Wirtsspektrum von *B. bovis* umfasst die *Bovinae* (Rinder) mit den vier Gattungen *Bos* (eigentliche Rinder), *Bubalus* (asiatische Büffel), *Syncerus* (afrikanische Büffel), und *Bison* (Bisons/Wisente); dennoch wurden bisher in Europa zwei Fälle von Infektionen des Menschen mit *B. bovis* dokumentiert, wobei die Artdiagnose aber nicht gesichert ist (Gorenflot et al. 1998). Als Vektoren sind hauptsächlich

Boophilus-Spezies bekannt: *B. microplus* in Afrika, Südamerika und Australien (Friedhoff 1988); *B. annulatus* in Afrika, Zentralamerika und Südeuropa; über *B. geigy* als Überträger in Nigeria wurde ebenfalls berichtet (Akinboade et al. 1985). Für Südeuropa und Nordafrika gilt auch *Rhipicephalus bursa* als Vektor (Friedhoff 1988). Das große Verbreitungsgebiet dieser Vektoren erklärt ein weltweites Vorkommen von *B. bovis* (Mc Cosker 1981). Epidemiologischen Studien zufolge kommt *B. bovis* vor allem in den tropischen und subtropischen Regionen Australiens (Seddon 1966, Callow 1984, Bock et al. 2001), Afrikas (Akinboade & Dipeolu 1985, Sahibi et al. 1998, Katsande et al. 1999, Smeenk et al. 2000) und Amerikas (Montenegro-James 1992, Ramirez et al. 1998, Carrique Mas et al. 2000, Smith et al. 2000) vor, aber auch in Asien (Chandrawathani et al. 1994, Ahmed et al. 2002) und Südeuropa (Papadopoulos et al. 1996, Georges et al. 2001, Almería et al. 2001). Die aus unterschiedlichen Kontinenten stammenden und früher getrennt aufgeführten Arten *B. argentina* (Südamerika) und *B. berbera* (Nordafrika), gelten heute als synonym mit *B. bovis* (Hoyte 1976).

Morphologisch gehört *B. bovis* mit einer durchschnittlichen Größe von $2 \times 1,5 \mu\text{m}$ zu den kleinen Babesienarten. Die intraerythrozytären Teilungsformen des Parasiten, genannt Merozoiten, besitzen birnenförmige oder runde Gestalt; es treten auch vakuoläre, siegelringähnliche Formen auf. Die Merozoiten bilden zueinander einen stumpfen Winkel und liegen gewöhnlich zentral im Erythrozyten (Levine 1988).

Allgemein sind die „kleinen“ Babesien hochpathogen, wobei die Virulenz des Erregers innerhalb einer Art unterschiedlich sein kann und auch vom Zustand des Wirtstieres abhängt. So erkranken splenektomierte Tiere wesentlich schwerer als Tiere mit intakter Milz (Wright & Goodger 1988). Auch Alter und Rasse spielen eine Rolle: Jungtiere bis zu neun Monaten besitzen eine Resistenz gegenüber *B. bovis*-Infektionen, die unabhängig von kolostralen Antikörpern ist (Levy et al. 1982, Goff et al. 2001). Ebenso zeigen einheimische Rinderrassen eine höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. bovis* und *B. bigemina* als importierte oder gekreuzte Rassen (Bock et al. 1999); z.B. sind Zebus (*Bos indicus*) weniger empfänglich als taurine Rinderrassen (*Bos taurus*).

Kennzeichen einer Babesiose sind Fieber und intravaskuläre Hämolyse (Hildebrandt 1981). Jedoch verlaufen die durch die einzelnen Babesienarten hervorgebrachten Erkrankungen unterschiedlich. Die bei einer *B. bovis*-Infektion festgestellten Parasitämien zwischen 0,04 %

und 0,2 % (Kakoma & Mehlhorn 1994) sind vergleichsweise gering; trotzdem treten nach einer Inkubationszeit von 8-16 Tagen hohes Fieber, Anämie und Hämoglobinurie, verursacht durch intravaskuläre Hämolyse, auf. Die Aggregation befallener Erythrozyten in den Kapillaren hat in schweren Fällen Schädigungen von Niere, Muskulatur und Gehirn zur Folge (Wright 1988a). Die dadurch bedingte Anoxie führt schließlich zur zerebralen Babesiose mit zentralnervösen Symptomen und Koma (Nevils et al. 2000). Dagegen bleiben Tiere, die eine akute Infektion überstanden haben, oft persistent mit dem Erreger infiziert und besitzen so eine Prämunität über mehrere Jahre (Mahoney et al. 1979, Allred 2003).

1.2. *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne 1893)

Für die größte Babesienart des Rindes mit ungefähr $4,5 \times 2 \mu\text{m}$, ist die paarweise Anordnung der birnenförmigen Merozoiten in den Erythrozyten charakteristisch. Von diesen Zwillingsformen, die zueinander einen spitzen Winkel bilden, leitet sich der Artnamen *bigemina* (von lat. *bigeminus* = doppelt, zweimal) ab. Die Teilungsformen können aber auch eine runde, ovale oder unregelmäßige Gestalt besitzen (Levine 1988).

Hauptsächlich werden junge Erythrozyten (Wright et al. 1974) unter Ausbildung hoher Parasitämien befallen. Die Krankheitsanzeichen sind denen einer *B. bovis*-Infektion ähnlich, jedoch erscheinen die Tiere weniger krank und es treten keine neurologischen Symptome auf. Im Vordergrund steht die intravaskuläre Hämolyse, gefolgt von Anämie, Hämoglobinurie und Ikterus. In akuten Fällen kann die Erkrankung sehr schnell fortschreiten und rasch zum Tode führen; es gibt aber auch milde Verlaufsformen, bei denen eine vollständige Gesundung mit nachfolgender Prämunität möglich ist (De Vos & Potgieter 1994).

B. bigemina besitzt unter natürlichen Bedingungen eine hohe Spezifität für Mitglieder der Unterfamilie der *Bovinae* (Rinder): Neben den eigentlichen Rinderrassen der Gattung *Bos*, der das Hausrind (*Bos taurus*) und das Zebu (*Bos indicus*) angehören, sind nur Wildrinder wie Wasserbüffel (*Bubalus bubalis*), afrikanischer Büffel (*Syncerus caffer*) und amerikanisches Bison (*Bison bison*) empfänglich (Kuttler 1988). Erkenntnisse einer jüngeren Studie über Babesiose bei Wasserbüffeln in China sprechen jedoch aufgrund von Morphologie, Epidemiologie und Vektorspezifität des dort nachgewiesenen Erregers für eine bisher unbekannt Babesienart (Zhongling et al. 1997).

B. bigemina wird durch Zecken der Gattung *Boophilus* übertragen: In Asien, Australien und Südamerika ausschließlich durch *Boophilus microplus* (Callow 1984, Montenegro-James 1992, Jinlin et al. 1997), in Zentralamerika auch durch *Boophilus annulatus* (Montenegro-James 1992). Diese Zeckenart tritt ebenfalls als Vektor in Südeuropa auf (Sparagano et al. 2000, Almería et al. 2001). Neben den beiden bereits erwähnten Arten wird *B. bigemina* in Afrika auch durch *Boophilus decoloratus* übertragen. (Akinboade & Dipeolou 1985, Katsande et al. 1999). Das Verbreitungsgebiet von *B. bigemina* ist weitgehend mit dem von *B. bovis* identisch und erstreckt sich über die tropischen und subtropischen Regionen aller Kontinente. Wirtschaftlich gesehen ist *B. bigemina* in Australien weniger bedeutungsvoll - zum einen aufgrund geringerer Pathogenität, außerdem führen hohe Prävalenzen zu einer größeren endemischen Stabilität (Bock & de Vos 2001). In Südafrika hingegen ist *B. bigemina* vorherrschend, bedingt durch die weitere Verbreitung der Zecke *Boophilus decoloratus*, die ausschließlich *B. bigemina* überträgt. Die als „Texas cattle fever“ oder „Redwater“ bezeichnete Erkrankung verursachte in den USA Ende des 19. Jahrhunderts hohe wirtschaftliche Verluste (Hoyte 1976), seit einem groß angelegten Eradikationsprogramm für *Boophilus*-Zecken von 1907-1940 gilt Nordamerika jedoch als frei von Rinderbabesiose (Kuttler 1988).

1.3. *Babesia divergens* (M'Fadyean & Stockman 1911)

B. divergens verursacht beim Rind die Krankheit „Mairot“ oder „Weiderot“ - eine Infektion, die durch Hämoglobinurie gekennzeichnet ist. Weitere Symptome sind Anämie, hohes Fieber und Durchfall. *B. divergens* gilt zwar als hochpathogen, viele Infektionen verlaufen dennoch subklinisch und werden daher nicht erkannt (L'Hostis et al. 1995). Die Ausbreitung des Erregers ist daher nur mit großem Aufwand zu verfolgen. *B. divergens* ist in den Ländern der gemäßigten Klimazone Nord- und Westeuropas verbreitet (Euzeby 1990). Weiterhin wurde diese Babesienart in Italien (Georges et al. 2001), Griechenland (Papadopoulos et al. 1996) und Tunesien (Bouattour & Darghouth 1996) nachgewiesen, ist in diesen Ländern aber von geringer Bedeutung.

Am besten dokumentiert ist die epidemiologische Situation der Rinderbabesiose in Frankreich: Abhängig vom Vorkommen der Überträgerzecke *Ixodes ricinus* tritt die Krankheit vor allem im Nordwesten des Landes auf. In einer Langzeitstudie mit 236 Tieren

zeigten sich je nach Jahreszeit 20-80 % seropositiv, aber nur drei Tiere erkrankten auch klinisch (L'Hostis 1998). In Irland wurde innerhalb von 11 Jahren ein deutlicher Rückgang der Prävalenz, von 118 tausend Fällen im Jahr 1983 auf 27 tausend im Jahr 1994, festgestellt (Gray et al. 1996). Berichte über die Verbreitung von *B. divergens* in Deutschland liegen aus Niedersachsen (Enigk et al. 1963), Bayern (Weiland et al. 1980, Ullmann et al. 1984), sowie aus Baden-Württemberg (Huwer et al. 1994) vor. Da die Babesiose nicht zu den anzeigepflichtigen Krankheiten gehört, ist es schwierig aktuelle Daten zu erhalten; auch sind die tatsächliche Verbreitung und veterinärmedizinische Bedeutung unbekannt. Dasselbe gilt für Österreich, wo Rinder-Babesiose in allen Bundesländern außer dem Burgenland und Vorarlberg auftritt (Hinaidy 1981) und die Schweiz, in der 1,1 % der *Ixodes ricinus*-Zecken von Rindern einer endemischen Gegend des Jura positiv auf *B. divergens* getestet wurden (Gern & Brossard 1986).

B. divergens ist die einzige bovine Babesienart, die auch beim Mensch eine Rolle spielt. Bisher sind in Europa 22 Fälle humaner Infektionen mit *B. divergens* bekannt (Gorenflot et al. 1998). Das Risiko, an dieser seltenen Zoonose zu erkranken, beschränkt sich bei *B. divergens* allerdings auf splenektomierte Menschen, bei denen eine Babesiose auch tödlich verlaufen kann (Hohenschild 1999). Eine experimentelle Infektion mit *B. divergens* ist bei entmilztem Rot- und Rehwild (Gray et al. 1990), Ratten, Schimpansen und Rhesusaffen möglich (Euzeby 1990). Die Mongolische Rennmaus (*Meriones unguiculatus*) dagegen ist auch mit intaktem Immunsystem infizierbar und bildet eine patente Infektion aus; daher wird die, auch Gerbil genannte, Maus zur Kultivierung des Erregers und als Tiermodell in *B. divergens*-Studien eingesetzt (Drössigk et al. 1993).

Die von M'Fadyean und Stockman, wegen ihrer weit auseinanderstehenden Teilungsformen, *B. divergens* genannten Parasiten gehören mit einer Größe von 1,5-2 x 2 µm zu den „kleinen“ Babesien. Form und Lage der Merozoiten ist vom Entwicklungsstadium abhängig: Zu Beginn der Infektion überwiegen Ringformen, später besitzen sie birnenförmige Gestalt und liegen paarweise am Erythrozytenrand (Purnell 1981a). Allerdings variiert die Größe und Lage von *B. divergens* in den roten Blutkörperchen in Abhängigkeit vom Wirt (Homer et al. 2000): Die birnenförmigen Doppelformen in den Erythrozyten waren bei Mensch und Gerbil größer als beim Rind und lagen beim Gerbil eher zentral (Gray et al. 1985, Drössigk et al. 1993).

1.4. *Babesia major* (Sergent et al. 1926)

Die erstmalige Isolation und Beschreibung dieser Babesienart gelang Sergent et al. 1926 in Algerien, bei einem aus Frankreich (Massif Central) importierten Rind (Sonenshine 1993). Seitdem wurde *B. major* in Europa, der ehemaligen Sowjetunion (Levine 1985) und in China (Yin et al. 1996) beschrieben.

Typisch sind die großen, zentral im Erythrozyten gelegenen Parasiten. Sie sind meist ringförmig, wobei mit zunehmender Parasitämie birnenförmige Zwillingsformen mit spitzem Teilungswinkel häufiger auftreten (Euzéby 1990). Morphologisch ist diese große Babesienart *B. bigemina* sehr ähnlich, mit 2,6-3,7 x 1,5 µm aber etwas kleiner (Zwart et al. 1968).

Die Pathogenität von *B. major* variiert je nach Stamm, ist aber geringer als bei den anderen Arten. Hämoglobinurie fehlt bei natürlicher Infektion meist, gelegentlich tritt jedoch Splenomegalie auf, die eine Milzruptur zur Folge haben kann (Enigk et al. 1963). Bei einer Herde Amerikanischer Bisons (*Bison Bison*) im Südosten Englands führte ein Babesioseausbruch zu Ikterus und Milzvergrößerung (Findlay & Begg 1977). In den Niederlanden (Zwart et al. 1968) und Großbritannien (Brocklesby & Barnett 1970) wurde über *B. major* als wenig pathogene Art berichtet – ebenso in Deutschland auf den Nord- und Ostfriesischen Inseln (Liebisch et al. 1976).

Dass seitdem über das Vorkommen von *B. major* in Europa nichts mehr bekannt ist, mag mit der geringen Pathogenität des Erregers und dem begrenzten Lebensraum für die Überträgerzecke *Haemaphysalis punctata*, die offene Grasflächen bevorzugt, zusammenhängen. In China wurden zwei verschiedene Stämme von *B. major* isoliert, die durch *Haemaphysalis punctata*, bzw. *Haemaphysalis longicornis* übertragen werden. Beide gelten als nicht besonders pathogen (Yin et al. 1997).

1.5. *Babesia jakimovi* (Nikolskii et al. 1977)

In Sibirien wird Rinderbabesiose durch *B. jakimovi* verursacht. Das Reh (*Capreolus capreolus*) - ebenfalls empfänglich, wird als natürlicher Wirt vermutet. Nikolskii's Untersuchungen der großen Babesienart (4,5 x 2 µm) zeigten Ähnlichkeit mit *B. bigemina*, jedoch wird *B. jakimovi* durch *Ixodes ricinus* übertragen und es konnten weder Prämunition,

noch serologische Kreuzreaktionen zwischen beiden Arten festgestellt werden (Purnell 1981b). *B. jakimovi* wird zwar als valide Babesienart aufgeführt (Levine 1988), wurde jedoch nur einmal von Nikolskii im Jahr 1977 beschrieben.

1.6. *Babesia ovata* (Minami & Ishihara 1980)

Die in Ostasien vorkommende und vor allem in Japan weit verbreitete Babesienart wird durch *Haemaphysalis longicornis* übertragen. Sie ist den anderen „großen“ Babesien morphologisch ähnlich, aber serologisch von *B. bigemina* und *B. major* differenzierbar (Fujinaga 1980a) und auch weniger pathogen als die beiden Arten. Splenektomierte Rinder können jedoch hohe Parasitämien mit Anämie und Hämoglobinurie entwickeln (Fujinaga 1980b). Dabei überwiegen birnenförmige Teilungsstadien mit einer durchschnittlichen Größe von $3,2 \times 1,7 \mu\text{m}$; bei niedrigen Parasitämien hingegen sind ringförmige Merozoiten häufiger (Higuchi 1987a).

Ein Isolat aus Japan besaß im Vergleich zu *B. ovata* größere Merozoiten und war durch Elisa, Western Blot und ein nicht näher beschriebenes PCR-Produkt von *B. ovata* differenzierbar (Ohta et al. 1995b, 1995c), wurde aber durch den gleichen Vektor übertragen. Da nicht auszuschließen war, dass diese Unterschiede lediglich eine intraspezifische Variation repräsentierten, wurde dieses Isolat als neue Unterart, und zwar als *B. ovata oshimensis* n. var. bezeichnet (Ohta et al. 1996).

1.7. *Babesia occultans* (Gray & de Vos 1981)

B. occultans ist eine, selbst bei splenektomierten Tieren, wenig pathogene Babesienart. Sie ist in Südafrika verbreitet und wird durch *Hyalomma marginatum rufipes* übertragen (Thomas & Mason 1981). Ihre birnenförmigen Merozoiten sind meist paarweise zentral im Erythrozyten gelegen und besitzen eine durchschnittliche Größe von $2,9 \times 1,2 \mu\text{m}$. Serologisch war *B. occultans* von *B. bigemina*, *B. divergens*, *B. bovis* und *B. major* unterscheidbar (Gray & de Vos 1981).

Eine serologische Überprüfung der Rinder von 25 Farmen, wovon 23 positiv getestet wurden, ergab eine Häufigkeit von 21-100 % für *B. occultans*, und damit ähnlichere Werte wie für

B. bigemina (Gray & de Vos 1981). Trotzdem wird die Validität dieser Babesienart bisweilen in Frage gestellt (Euzeby 1990). Zur Übersicht sind nachfolgend (Tab. 1) Morphologie, Vektoren und Verbreitungsgebiet der einzelnen bovinen Babesienarten dargestellt.

Tabelle 1: Babesienarten des Rindes (nach Kuttler 1988, Friedhoff 1988, Uilenberg 1995)

Babesienart	Morphologie (Länge x Breite)	Vektor	Verbreitung
<i>B. bovis</i>	klein 2 x 1,5 µm	<i>Boophilus microplus</i> <i>Boophilus annulatus</i> <i>Rhipicephalus bursa</i>	Afrika, Amerika, Asien, Südeuropa
<i>B. bigemina</i>	groß 4,5 x 2 µm	<i>Boophilus microplus</i> <i>Boophilus annulatus</i> <i>Boophilus decoloratus</i>	Afrika, Amerika, Asien, Südeuropa
<i>B. divergens</i>	klein 1,5-2 x 0,4 µm	<i>Ixodes ricinus</i>	Europa, Nordafrika
<i>B. major</i>	groß 2,6-3,7 x 1,5 µm	<i>Haemaphysalis punctata</i>	Europa, Asien
<i>B. jakimovi</i>	groß 4,5 x 2 µm	<i>Ixodes ricinus</i>	Sibirien
<i>B. ovata</i>	groß 3,2 x 1,7 µm	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	Ostasien
<i>B. occultans</i>	groß 2,9 x 1,2 µm	<i>Hyalomma marginatum</i> <i>rufipes</i>	Südafrika

2. Taxonomische Stellung der Rinderbabesien

Die Gattung *Babesia* wird in der Systematik der Protozoen dem Stamm Apicomplexa zugeordnet, der nach dem charakteristischen Organellenkomplex am apikalen Pol der Einzeller benannt ist. Für diese Gruppe obligater Endoparasiten wurden in den letzten Jahren verschiedene taxonomische Untergliederungen vorgeschlagen, die im Wesentlichen auf phänotypischen Grundlagen basieren (Ellis et al. 1998). Da klassifikatorische Systeme immer vom Standpunkt und den Definitionen des Bearbeiters abhängen und durch neue Methoden beeinflusst werden, kann Taxonomie kein statisches System sein, sondern unterliegt einer stetigen Veränderung. Die in Tabelle 2 dargestellte Klassifikation und die Bezeichnung der Taxa erfolgte in Anlehnung an die bisher akzeptierte Einteilung von Levine (1980).

Tabelle 2: Taxonomische Stellung der Gattung *Babesia* innerhalb der Protozoen (Levine 1980)

Taxon	Benennung	Begründer
Stamm:	Apicomplexa	Levine, 1970
Klasse:	Sporozoea	Leuckart, 1879
Unterklasse:	Piroplasmia	Levine, 1961
Ordnung:	Piroplasmida	Weynon, 1926
Familie:	Babesiidae	Poche, 1913
Gattung:	<i>Babesia</i>	Starcovici, 1893

Für die Gattung *Babesia* gelten derzeit mindestens 111 Arten als valid (Levine 1988), die in der Familie Babesiidae zusammengefasst sind und der Ordnung Piroplasmida angehören. Gemeinsame Merkmale von Organismen dieser Ordnung sind die Übertragung durch Schildzecken auf Wirbeltiere und der heterogenetische Lebenszyklus, d.h. der regelmäßige Wechsel zwischen ungeschlechtlicher und geschlechtlicher Vermehrung (Mehlhorn & Schein 1984). Die während der Merogonie, einer ungeschlechtlichen Vermehrungsphase im

Vertebratenwirt, entstehenden birnenförmigen Teilungsformen waren für die Piroplasmen (griech: *pera* für Birne) namensgebend.

Die Eingliederung in die Gattung *Babesia* beruht darüber hinaus auf den Eigenschaften der Erreger, ausschließlich Erythrozyten (Friedhoff 1988) der Wirbeltiere zu befallen und nicht nur von einem Zeckenstadium auf das nächste, sondern auch transovariell auf die nächste Zeckengeneration übertragen werden zu können (Smith & Kilbourne, zitiert in Hoyte 1976). Im Gegensatz zu vielen anderen Babesienarten, deren Lebenszyklus nicht oder nur unvollständig bekannt ist, gibt es dazu bei den Rinderbabesien *B. bigemina*, *B. bovis* und *B. divergens* genaue Untersuchungen.

2. Entwicklungszyklus

Während der Entwicklung der Rinderbabesien findet ein obligater Wirtswechsel zwischen Rind und Schildzecke statt. In den Erythrozyten des Wirbeltieres erfolgt eine ungeschlechtliche Vermehrungsphase – **Merogonie**, im Arthropoden dagegen die geschlechtliche Vermehrung – **Gamogonie** und anschließend mehrere ungeschlechtliche Teilungen – **Sporogonie**. Die Zecke stellt damit definitionsgemäß den Endwirt, das Rind den Zwischenwirt für Babesien dar. Der folgende, für *B. divergens* beschriebene Entwicklungszyklus gilt entsprechend für *B. bigemina* und *B. bovis* und wird ebenfalls für die anderen, weniger gut untersuchten Arten der Rinderbabesien angenommen. Davon abweichende Unterschiede werden an den entsprechenden Stellen erläutert.

Die Infektion erfolgt, wie in Abbildung 1 (S. 14) dargestellt, über Sporozoiten (1), die während des Saugaktes mit dem Zeckenspeichel auf das Rind übertragen werden. An der Erythrozyteninvasion (2) ist der Apikalkomplex der Parasiten, der aus Polring, Mikronemen und Rhoptrien besteht, beteiligt (Dubremetz et al. 1998). Der genaue Vorgang der Penetration ist nicht bekannt; jedoch existieren verschiedene Theorien wie die Modifikation der Wirtszellmembran durch Rhoptrienproteine (Kakoma & Mehlhorn 1994), Rezeptoren für das Komplement C3b (Igarashi et al. 1988) oder ein Actomyosin-System, das eine selbständige Bewegung der Parasiten ermöglicht (Lew et al. 2002). Nach Einschluss der Sporozoiten in eine parasitophore Vakuole, differenzieren sie sich in der Wirtszelle zu Trophozoiten. Aus diesen einkernigen Wachstumsformen entstehen durch DNA-Replikation zuerst zweikernige,

ringförmige Stadien, die nach ihrer Zweiteilung (3) Merozoiten genannt werden. Diese Tochterzellen sind meist birnenförmig und treten häufig als Doppelformen auf. Die unter Zerstörung der Wirtszellen freiwerdenden Merozoiten (4) befallen neue Erythrozyten und auch Retikulozyten, in denen weitere Zweiteilungen stattfinden. Diese ungeschlechtlichen Vermehrungszyklen, genannt **Merogonie**, ermöglichen dem Erreger die Ausbreitung im Wirtsorganismus. Einige Parasitenstadien in den Erythrozyten teilen sich jedoch nicht und differenzieren sich später zu Gamonten. Fluoreszenzmessungen von Parasiten-DNA ermöglichten den Nachweis „kleiner“ und „großer“ Merozoiten, von denen sich die „kleinen“ nach DNA-Replikation wie beschrieben in Tochterzellen teilten. Die „großen“ Merozoiten wurden als Gametozyten (5, 8) vermutet (Mackenstedt et al. 1990). Wird infiziertes Blut von einer Zecke aufgenommen, entwickeln sich die Gamontozyten nach Lyse der Erythrozytenmembran im Zeckendarm zu Gamonten (6, 9). Aus diesen gehen dann die bereits 1906 von Koch entdeckten einkernigen Strahlenkörper oder Gameten (7, 10) hervor, die sich zu Zygoten vereinigen (11). Dies bestätigt die früher umstrittene Existenz einer geschlechtlichen Vermehrungsphase, der **Gamogonie**, im Zeckenvektor. Bei *B. bigemina* wurden zweikernige Strahlenkörper beobachtet, die sich nach ihrer Teilung zu Gameten differenzierten (Mackenstedt et al. 1995). Die Zygoten (12) dringen in Darmepithelzellen (13, 14) ein und wandeln sich dort in bewegliche Kineten (15) um. Sie gelangen über die Hämolymphe in Zellen der Ovarien und anderer Organe. Hier erfolgen weitere ungeschlechtliche Vermehrungszyklen (16, 17), wobei die so genannten Sporokineten (18) entstehen. Saugt eine Zecke Blut, invadieren sie Zellen der Speicheldrüsen und teilen sich, in einem als **Sporogonie** bezeichneten Vermehrungsvorgang, in mehrere Tausend infektiöse Sporozoiten (19), die einige Tage nach dem Anheften der Zecke auf des Rind übertragen werden (Kakoma & Mehlhorn 1994).

Über die Infektion der Ovarien werden die Babesien auch auf die Eier und somit auf die nächste Zeckengeneration weitergegeben. Diese transovarielle Übertragung ist von epidemiologischer Bedeutung, da sie dem Parasiten ein Überleben auch ohne den entsprechenden spezifischen Zwischenwirt ermöglicht (Young & Morzaria 1986).

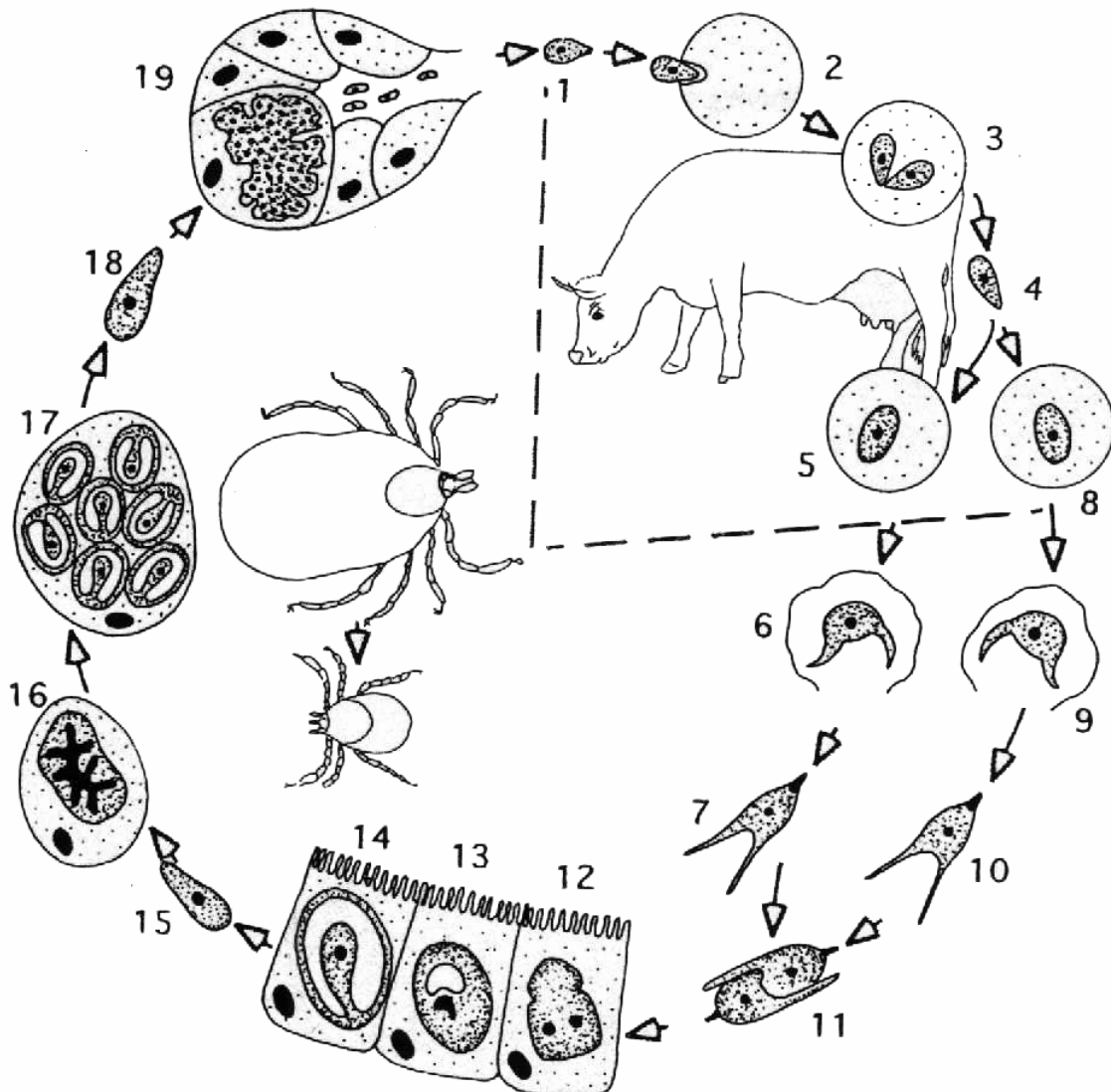


Abbildung 1: Entwicklungszyklus von *Babesia* spp.

(Quelle: Parasitologie, Richard Lucius & Brigitte Loos Frank, 1997)

- 1** Infektiöser Sporozoit **2** Invasion eines Erythrozyten **3** Zweiteilung **4** Merozoit
5, 8 Gametozyten **6, 9** Gamonten **7, 10** Strahlenkörper bzw. Gameten **11** Verschmelzung
12 Zygote **13, 14** Bildung des Kineten in Darmepithelzellen der Zecke **15** Kinet
16, 17 Vielfachteilungen in Körperzellen mit Bildung weiterer Kineten **18** Sporokinet
19 Sporozoitenbildung in der Speicheldrüse

4. Differenzierung und Abgrenzung der bovinen Babesienarten

4.1. Nach phänotypischen Merkmalen

Die traditionellen Methoden der Parasitologie zur Differenzierung der bovinen Babesienarten basieren auf morphologischen und biologischen Eigenschaften, die zusammen als Phänotyp eines Organismus bezeichnet werden. Einige Charakteristika wurden schon bei der Vorstellung der einzelnen Babesienarten des Rindes erwähnt, sollen aber hier noch einmal vergleichend dargestellt werden.

Morphologische Merkmale einer bestimmten Spezies zuzuordnen kann Probleme bereiten, da die Parasiten in den Erythrozyten pleomorph sind, d.h. je nach Entwicklungsstand unterschiedliche Formen besitzen. Auch die Bestimmung anhand der Größe ist kein verlässlicher Parameter: Bei *B. divergens* variieren Größe und Lage in den Erythrozyten in Abhängigkeit vom Wirt (siehe Kapitel 1.3.). Vor allem die Arten innerhalb der beiden Gruppen der „kleinen“ und der „großen“ Babesien können jeweils nicht eindeutig voneinander abgegrenzt werden. Die „kleinen“ Arten *B. bovis* und *B. divergens* sind, obwohl *B. divergens* etwas kleiner ist und in den roten Blutkörperchen eher peripher liegt, ohne Anwendung morphometrischer Analysen nicht unterscheidbar (Purnell 1981a). Auch die „großen“ Babesienarten *B. bigemina*, *B. major*, *B. ovata*, *B. jakimovi* und *B. occultans* besitzen eine große Ähnlichkeit zueinander und lassen aufgrund ihrer Morphologie keine eindeutige Abgrenzung zu (Zwart et al. 1968, Fujinaga et al. 1980a, Gray & de Vos 1981, Purnell 1981). Die lichtmikroskopische Untersuchung von Kineten in der Hämolymphe von Boophilus-Zecken ergab sogar für *B. bovis* und *B. bigemina* Überschneidungen, die eine Artdiagnose erschweren. Darüber hinaus variierte die Größe der Kineten von Babesien-Isolaten aus unterschiedlichen geographischen Regionen auch innerhalb einer Art (Guglielmone et al. 1996). Die elektronenmikroskopische Untersuchung von *B. bovis* zeigte im Vergleich zu *B. bigemina* und *B. major* eine weitgehende Übereinstimmung in der Ultrastruktur ihrer Merozoiten und Trophozoiten (Todorovic et al. 1981). Der im vorhergehenden Kapitel für *B. divergens* beschriebene **Entwicklungszyklus** der Rinderbabesien weist im Vergleich zu *B. bigemina* und *B. bovis* einzelne Unterschiede auf, die nicht zu einer Differenzierung ausreichen. Der Entwicklungszyklus übrigen bovinen Babesienarten ist bisher nicht oder nur teilweise untersucht.

In epidemiologischen Studien stellt die **Vektorspezifität** ein interessantes und wichtiges Hilfsmittel bei der Charakterisierung der Babesienarten des Rindes dar - als Kriterium zur Artabgrenzung ist es jedoch nur bedingt geeignet:

Zum einen können manche Zeckenarten mehrere Babesienspezies übertragen, andererseits besitzen die derzeit als valide geltenden Babesienarten in Bezug auf ihre Vektoren unterschiedliche Spezifität, so dass für einige Spezies eine Reihe von Zeckenarten als kompetente Vektoren gelten. *B. bigemina* und *B. bovis* z.B. werden durch *Boophilus microplus* und *Boophilus annulatus* weitergegeben, *Boophilus decoloratus* überträgt aber nur *B. bigemina* (Friedhoff 1988, Sonenshine 1993, Kakoma & Mehlhorn 1994). Häufig sind jedoch Vektor-Parasit-Beziehungen noch unbekannt und führen zu neuen Fragestellungen. So wurden in Spanien Infektionen mit *B. bovis* nachgewiesen, nicht aber dessen Überträger (Almería et al. 2001). Im umgekehrten Fall übertrugen in China Zecken der Art *Hyalomma anatolicum anatolicum* Babesien auf Rinder, die Babesienart konnte allerdings nicht charakterisiert werden (Lou et al. 2002).

Von den **serologischen Methoden** wird der **indirekte Immunfluoreszenz-Antikörpertest** (IFAT) in der Babesiendiagnostik am häufigsten angewendet. Allerdings besitzt er eine geringe Spezifität und ist von subjektiven Entscheidungen des Anwenders nicht unabhängig (Böse et al. 1995). Oft treten Kreuzreaktionen zwischen den bovinen Babesienarten auf (Fujinaga 1980b, de Vos & Potgieter 1994, Papadopoulos et al. 1996); auch sind intraspezifische Unterschiede in der Antigenität bekannt. Diesen liegt eine Antigenvariation zugrunde, die den Parasiten, durch Veränderungen an der Erythrozytenoberfläche, vor Immunreaktionen des Wirtes schützen soll (Turner 1984, Allred 2001). Antigenvariation tritt zwischen Stämmen unterschiedlicher geographischer Herkunft auf. Sie wurde bei *B. bovis* (Kahl et al. 1982, Passos et al. 1998, Allred 2003), *B. bigemina* (De Vos & Potgieter 1994), *B. divergens* (Précigout et al. 1991, Phillips et al. 1986) und *B. ovata* (Arai et al. 1998, Tsuji et al. 1999) beschrieben. Bei *B. bovis*, *B. bigemina* und *B. ovata* wurden sogar Variationen innerhalb eines Isolates festgestellt (De Vos & Potgieter 1994, Arai et al. 1998, Allred 2003).

Der **Enzyme linked Immunosorbent Assay** (ELISA) besitzt zwar eine höhere Spezifität, jedoch können Qualitätsunterschiede des Antigens eine Standardisierung des Tests erschweren und zu falsch-positiven Ergebnissen führen (Böse et al. 1995, El-Ghaysh et al. 1996). Eine eindeutige Identifizierung und Abgrenzung boviner Babesienarten ist auch mittels ELISA nicht möglich. So traten Kreuzreaktionen zwischen geographisch unterschiedlichen

B. bigemina Stämmen (Reddy et al. 1997), sowie zwischen den Arten *B. bigemina* und *B. bovis* (Machado et al. 1997), auf. Zur Lösung dieser Probleme wurde in den letzten Jahren an verschiedenen ELISAs gearbeitet, z.B. an einem kompetitiven ELISA mit monoklonalen Antikörpern für *B. bigemina*, dessen Spezifität nicht durch *B. bovis*-Antikörper beeinträchtigt wurde (Molloy et al. 1998); fraglich ist, ob die mit Seren experimentell infizierter Tiere erhaltene Sensitivität von 95,7 % auch unter „Feld-Bedingungen“ erreicht werden kann. ELISAs, die speziell auf IgM-Antikörper ausgerichtet sind, ermöglichten den Nachweis von Infektionen mit *B. bigemina* oder *B. bovis* bereits ca. 14 Tage p. i. (Gonçalves et al. 1999, 2001), sind aber nach wie vor von der Qualität des Antigens abhängig. Für die serologische Differenzierung der Rinderbabesien wird in Zukunft die Entwicklung speziesspezifischer Tests mit rekombinantem Antigen von Bedeutung sein. Für *B. bovis* existiert bereits ein ELISA mit rekombinantem Antigen, der mit verschiedenen *B. bovis*-Stämmen getestet wurde, jedoch traten Kreuzreaktionen mit *B. bigemina*-Seren auf (Boonchit et al. 2002).

4.2. Mit molekularbiologischen Methoden

Genotypische Merkmale unterliegen keinen, durch den Entwicklungszyklus des Parasiten bedingten, Veränderungen und sind nahezu unabhängig von Umwelteinflüssen (Zarlenga & Higgins 2001); deshalb bieten sie sich zur Charakterisierung von Babesien an. Darüber hinaus sind molekularbiologische Methoden objektiv auswertbar und ermöglichen aufgrund ihrer hohen Spezifität nicht nur eine Artdiagnose, sondern auch die Differenzierung einzelner Unterarten oder sogar Stämme (Prichard & Tait 2001). Der Differenzierungsgrad hängt dabei von der angewandten Methode und der Variabilität des Zielgens ab.

Die gleichzeitige Diagnose und Differenzierung von *B. bovis*, *B. bigemina* und *Anaplasma marginale* wurde durch eine Multiplex-PCR der 18S-rRNA und anschließendem Nachweis im Southern-blot ermöglicht (Figueroa et al. 1993). Allerdings muss beim Nachweis verschiedener Erreger in derselben PCR ein Kompromiss für die optimalen Reaktionsbedingungen gefunden werden, was die Qualität des Tests beeinflussen kann. *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* und *B. major* wurden nach der Amplifizierung eines Teils des β -tubulin-Gens anhand ihrer Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen (RFLP) voneinander abgegrenzt (Cacciò et al. 2000). Ungeklärt bleibt aber, ob geographisch unterschiedliche Isolate einer Art, v. a. von *B. bigemina* und *B. bovis*, die gleichen

Restriktionsmuster aufweisen und somit der entsprechenden Art zugeordnet werden können. Mit einem auf der 18S-rRNA basierenden Reverse Line blot (RLB) Hybridization Assay, durch den mit speziesspezifischen Sonden *B. bigemina*, *B. bovis* und *B. divergens* differenziert wurden, könnten noch weitere Spezies oder auch Stämme der Rinderbabesien identifiziert werden (Gubbels et al. 1999). Der Einsatz dieser Methoden zur Differenzierung der bovinen Babesienarten würde die Kenntnis speziesspezifischer Sequenzen, die auch unterschiedliche Stämme einer Art einschließen, voraussetzen.

Intraspezifische Vergleiche wurden bisher bei *B. bigemina*, *B. bovis* und *B. ovata* durchgeführt. Bei *B. bovis* waren, mittels RFLPs genomischer DNA nach Sondenhybridisierung, Isolate aus unterschiedlichen Regionen Australiens (Cowman et al. 1984a, b, Gill et al. 1987, Dalrymple et al. 1992), Isolate aus Australien und ein afrikanisches Isolat (Dalrymple 1990), je ein Isolat aus Mexiko und Australien (Jasmer et al. 1990) und ein mexikanisches und zwei thailändische Isolate (Petchpoo et al. 1992) unterscheidbar. Anhand unterschiedlicher PCR-Produktgrößen und charakteristischer Bandenmuster der Random Amplification of Polymorphic DNA-PCR (RAPD) von zwei Genen (Bv80 und BvVA1), wurden bei *B. bovis*-Isolaten aus Australien unterschiedliche Genotypen festgestellt. Aufgrund der großen Variabilität der Zielgene war jedoch keine geographische Zuordnung möglich (Lew et al. 1997a, b). Die Untersuchung von *B. bovis* und *B. bigemina*-Isolaten mit RAPD-PCR ergab ebenfalls Isolat-spezifische Bandenmuster, wobei sich innerhalb der jeweiligen Art die Isolate aus Südamerika (Mexiko und Costa Rica) ähnlich waren, aber von den Isolaten Australiens unterschieden (Carson et al. 1994). Zwei *B. ovata*-Isolate wurden durch Nukleinsäure-Hybridisierung und anhand eines PCR-Produktes differenziert (Ohta et al. 1995a, b). Mit einer Southern-blot-Analyse, bei der eine Sonde für das 18S-RNA-Gen eingesetzt wurde, konnten in Japan sogar *B. ovata*-Isolate von Rindern innerhalb einer Herde unterschieden werden (Arai et al. 1998). Diese Ergebnisse lassen bereits die Variabilität innerhalb der einzelnen Arten erkennen, ermöglichen aber keine Rückschlüsse auf phylogenetische Fragestellungen; es handelt sich dabei um stark diskriminierende Methoden, mit denen einzelne Isolate unterschieden, nicht aber die Verwandtschaft zwischen ihnen festgestellt werden kann. Auch fehlen in der Literatur bisher Untersuchungen mit einem repräsentativen Spektrum an verschiedenen Babesienarten unterschiedlicher geographischer Herkunft.

5. Aufbau der nukleären rDNA und deren Bedeutung in phylogenetischen Untersuchungen

Die ribosomale DNA (rDNA) im Genom von Eukaryonten (Abb. 2) ist aus verschiedenen, für die RNA der Ribosomen kodierenden Genen und nicht kodierenden Bereichen zusammengesetzt. Das 18S-Gen kodiert für die, durch ihren Sedimentationskoeffizienten (S für Svedberg) von 18 charakterisierte, kleine ribosomale Untereinheit (SSU, small subunit), das 28S-Gen für die große ribosomale Untereinheit (LSU, large subunit); mit der LSU strukturell und funktionell eng verbunden ist das 5,8S-Gen, das von den beiden anderen Genen durch die internen transkribierten Spacer ITS1 und ITS2 getrennt ist. Zusammen mit dem externen transkribierten Spacer (ETS) bilden sie die transkribierte Region der rDNA. Die internen transkribierten Spacer besitzen vermutlich eine Funktion bei der Reifung des Primärtranskriptes. Bei der rDNA im eukaryontischen Genom handelt es sich um ein multi-copy-Gen, das aus mehreren, sich wiederholenden Transkriptionseinheiten (tandem repeats) besteht, die jeweils durch nicht transkribierte Spacer (NTS) getrennt werden (Gerbi 1986, Hillis & Dixon 1991).

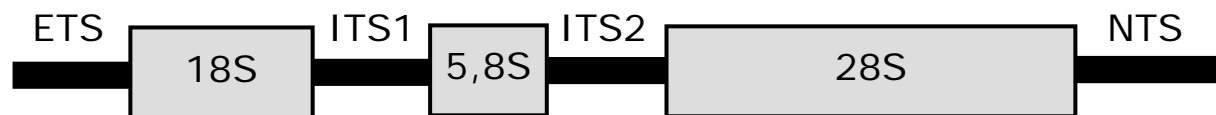


Abbildung 2: Organisation der nukleären ribosomalen DNA

Bei *B. bovis* (Dalrymple 1990, Dalrymple et al. 1992) und *B. bigemina* (Reddy et al. 1991, Dalrymple et al. 1992) kommen drei Kopien der rDNA vor. Von diesen mit A, B und C bezeichneten Einheiten werden A und B dreimal so häufig transkribiert wie die Einheit C, die sich zudem in der Sequenz der SSU leicht von den beiden anderen unterscheidet (Reddy et al. 1991). In der Pulsfeld-Gelelektrophorese wurden sowohl für das auf 9,4 Millionen Basenpaare geschätzte Genom von *B. bovis*, als auch für *B. bigemina* vier Chromosomen nachgewiesen (Ray et al. 1992, Jones et al. 1997), wobei 18S-rDNA-Sonden mit dem dritten Chromosom hybridisierten (Jones et al. 1997), das 18S-rDNA-Gen also dort lokalisiert ist.

Die DNA-Sequenzanalyse bietet eine Möglichkeit zur Untersuchung phylogenetischer Zusammenhänge (Olson & Woese 1993). Die Vorteile der von Umwelteinflüssen weitgehend unabhängigen genotypischen Merkmale wurden bereits in den 60er Jahren erkannt (Zuckermandl & Pauling 1965), wobei sich die rDNA als geeignetes Zielgen erwiesen hat, da sie Mutationen im Laufe der Evolution kontinuierlich ansammelt und deshalb auch als molekulare Uhr bezeichnet wird. In der Mitte der 70er Jahre begannen Woese und Kollegen Sequenzdaten der SSU rRNA zu sammeln, auf denen der heutige „universal tree of life“ basiert (Doolittle 1999).

Die Eignung der ribosomalen DNA für phylogenetische Analysen resultiert zum einen aus der Tatsache, dass sie in allen lebenden Organismen vorhanden ist und somit viele verschiedene Spezies miteinander verglichen werden können, zum anderen besitzt sie unterschiedlich stark konservierte Bereiche (Hillis & Dixon 1991), so dass je nachdem, ob nah oder entfernt verwandte Organismen verglichen werden sollen, mehr oder weniger polymorphe Regionen ausgewählt werden können. So eignet sich die 18S-rDNA für phylogenetische Untersuchungen weiter entfernt verwandter Taxa, wie Sequenzvergleiche verschiedener protozoärer Parasiten, einschließlich der Babesien, belegen (Sogin & Silberman 1998, Barta 2001). Für Vergleiche verschiedener Babesien- und Theilerienspezies (Ellis et al. 1992, Allsopp et al. 1994, Mackenstedt et al. 1994, Kjemtrup et al. 2000, Criado-Fornelio et al. 2003) fand die 18S-rDNA ebenfalls Verwendung, sogar bis zur Differenzierung von Erregern der gleichen Spezies unterschiedlicher geographischer Herkunft (Zahler et al. 2000). Die nicht kodierenden Regionen der internen transkribierten Spacer, die eine höhere Variabilität besitzen, wurden vor allem in Untersuchungen unterhalb des Artneiveaus erfolgreich angewendet (Zahler et al. 1998, Collins & Allsopp 1999).

III. Material und Methoden

1. Herkunft des Probenmaterials

Eine breite geographische Streuung der Herkunft der Isolate (Abb. 3) wurde durch die Einsendung von Probenmaterial durch verschiedene Institute aus dem In- und Ausland, die auf dem Gebiet der Rinderbabesiose arbeiten, gewährleistet. Von insgesamt 50 untersuchten Isolaten waren 11 aus Europa, 22 aus Nord- und Südamerika, 5 aus Afrika, 4 aus Asien und 8 aus Australien. Das babesienhaltige Untersuchungsmaterial wurde in Form von Blut (EDTA- oder lyophilisiertes Blut) oder DNA eingeschickt und stammte von Rindern mit natürlicher Infektion, experimentell infizierten Tieren oder aus Kulturen von Impfstämmen. Als Besonderheit ist das von einer Humaninfektion stammende *B. divergens* Isolat „B di09“ anzusehen. In Tabelle 3 ist die geographische Verteilung der Proben, nach den verschiedenen Babesienarten, dargestellt.

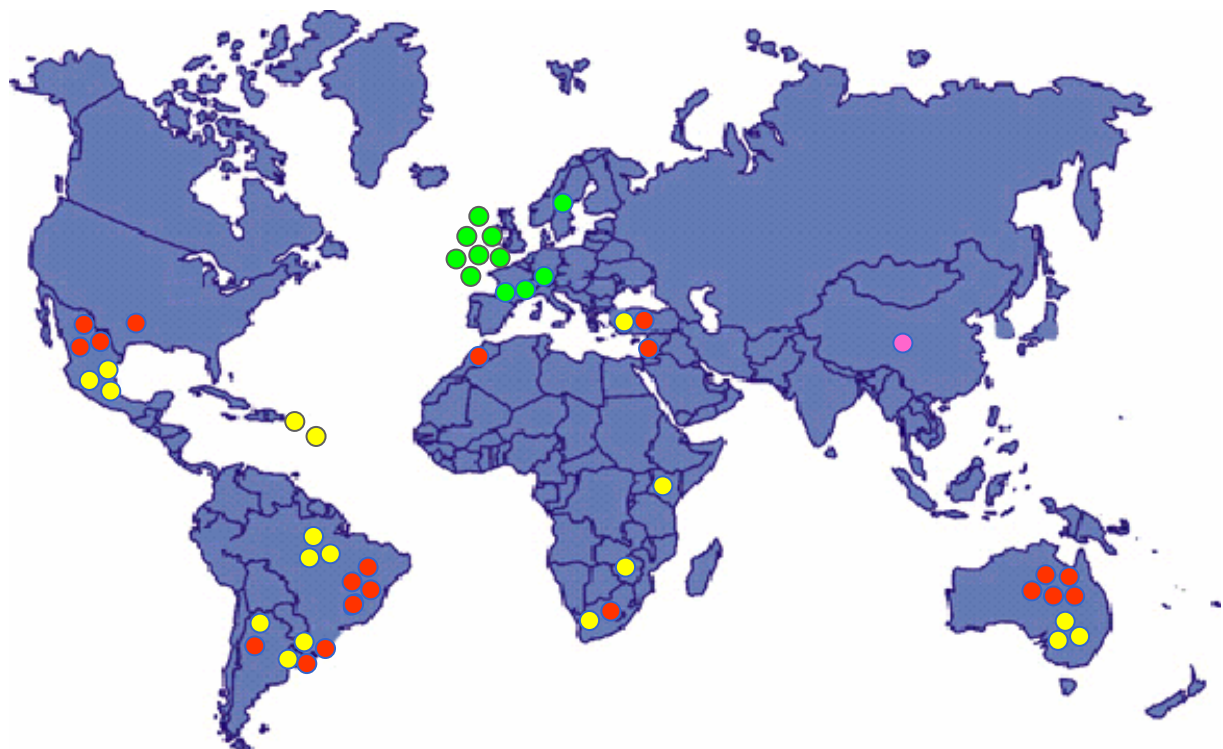


Abbildung 3: Geographische Verteilung der Babesienisolate

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| ● <i>B. divergens</i> | ● <i>B. bigemina</i> |
| ● <i>B. ovata</i> | ● <i>B. bovis</i> |

Tabelle 3: Herkunft der Babesienisolate

Babesienart	Isolat	Probe	Herkunftsland	Einsender
<i>B. divergens</i>	B di01	EDTA-Blut, natürliche Infektion	Irland	University College Dublin, Department of Environmental Resource Management
	B di02			
	B di03			
	B di04			
	B di05			
	B di06			
	B di07			
	B di08	EDTA-Blut	Schweden	National Veterinary Institute, Uppsala
	B di09	Blut aus „Gerbilkultur“ (Wirt: Mensch)	Frankreich	UFR des Sciences Pharmaceutique & Biologiques, Montpellier
	B di10	Blut aus „Gerbilkultur“		
	B di11	EDTA-Blut	Deutschland (Sylvenstein)	Utrecht, Niederlande
<i>B. bigemina</i>	B bi01	Blut, lyophilisiert	Südafrika	Onderstepoort Veterinary Institute, Parasitology Division
	B bi02	Kultur, attenuierter Impfstamm („S1A“)	Argentinien	Sanidad Animal INTA – Rafaela
	B bi03	Infiziertes Kälberblut, Feldisolat	Australien	Tick Fever Research Center, Queensland
	B bi04			
	B bi05			
	B bi06	DNA, natürliche Infektion	Zimbabwe	Biomedical and Research Training Institute, Harare
	B bi07	Blut Impfstamm	Brasilien	Centro de Pesquisas Veterinarias Desiderio Finamor, Eldorado Sul
	B bi08			
	B bi09			

Fortsetzung Tabelle 3: Herkunft der Babesienisolate

Babesienart	Isolat	Probe	Herkunftsland	Einsender
<i>B. bigemina</i>	B bi10	Blut	Türkei	Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin, Berlin
	B bi11	Blut	Kenia	
	B bi12	DNA aus Kultur	Mexiko	Department of Pathobiology, Florida (USA)
	B bi13	Blut, lyophilisiert, natürliche Infektion	Uruguay	Ministerio de Ganaderia, Agricultura y Pesca, Montevideo
	B bi14			
	B bi15	Kulturblut, lyophilisiert		
	B bi16	Kulturblut	Mexiko	Department of Vet. Micro./Path., Washington (USA)
	B bi17			
	B bi18		Puerto Rico	
	B bi19		Virgin Isl.	
<i>B. bovis</i>	B bo01	Blut	Türkei	Veteriner Kontrol ve Arastirma Enstitüsü, Samsun
	B bo02	Kultur; attenuierter Impfstamm („R1A“)	Argentinien	Sanidad Animal INTA - Rafaela
	B bo03	Infiziertes Kälberblut, Feldisolat	Australien	Tick Fever Research Center, Queensland
	B bo04			
	B bo05			
	B bo06			
	B bo07	Blut Impfstamm	Brasilien	Centro de Pesquisas Veterinarias Desiderio Finamor, Eldorado Sul
	B bo08			
	B bo09			
	B bo10			

Fortsetzung Tabelle 3: Herkunft der Babesienisolate

Babesienart	Isolat	Probe	Herkunftsland	Einsender
<i>B. bovis</i>	B bo11	Blut	Australien	Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin, Berlin
	B bo12	Blut	Marokko	
	B bo13	DNA aus Kultur	Mexiko	Department of Pathobiology, Florida (USA)
	B bo14	Kulturblut, lyophilisiert	Uruguay	Ministerio de Ganaderia, Agricultura y Pesca, Montevideo
	B bo15	Blut	Südafrika	Animal Quarantine Institute, Qingdae (China)
	B bo16	Kulturblut	USA/Texas	Department of Vet. Micro./Path., Washington (USA)
	B bo17		Mexiko	
	B bo18			
	B bo19	Blut	Israel * (vermutlich)	Utrecht, Niederlande
<i>B. ovata</i>	B ov01	Blut	China	Animal Quarantine Institute, Qingdae (China)

* Die Herkunft des aus Utrecht eingesandten *B. bovis*-Isolates „B bo19“ war nicht mehr eindeutig nachvollziehbar; mit hoher Wahrscheinlichkeit aber stammt dieses Isolat aus Israel.

2. Molekularbiologische Untersuchung der Blutproben

2.1. DNA-Isolation

Die Extraktion und Reinigung der DNA aus EDTA-Blut erfolgte nach dem Prinzip der enzymatischen Lyse und anschließender Adsorption an eine Silikagelmembran („QIAamp[®] DNA Blood Mini Kit“, Qiagen, Hilden).

In einem Eppendorfgemäß wurden 20 µl Protease, 200 µl EDTA-Blut und 200 µl Puffer AL kräftig durchmischt („Vortex Genie 2“, Bender und Hobein AG, München) und 10 min bei 56 °C im Wasserbad inkubiert. Durch Zugabe von 200 µl Ethanol (99,6 % , Roth, Karlsruhe) wurden die Nukleinsäuren gefällt, das Gemäß anschließend 15 s geschüttelt und kurz zentrifugiert (Tischzentrifuge, Abbot Diagnostics Division, Wiesbaden). Zur Adsorption der DNA an die Silikagelmembran wurde der Inhalt in „QIAamp spin-Säulen“ überführt, 1 min zentrifugiert und mit je 500 µl Waschpuffer AW1 und AW2 gewaschen. Nach jedem Waschschritt und zum Trocknen der Säulenmembran erfolgte eine weitere Zentrifugation, da Puffer- und Alkoholreste die nachfolgenden Reaktionen stören können. Die DNA wurde nach 5 min Inkubation in 200 µl Puffer AE (die Zusammensetzungen der Puffer AL, AW1, AW2 und AE werden von der Firma nicht angegeben) eluiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei -20 °C aufbewahrt. Bei jeder DNA-Isolierung wurde ein Eppendorfgemäß, das anstelle von Blut steriles Wasser enthielt, als Negativkontrolle verwendet.

2.2. Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die PCR diente der Vervielfältigung („Amplifizierung“) zweier definierter Genabschnitte. Zielsequenzen waren die Region der **ITS** (Interne transkribierte „Spacer“) und die **18S** der nukleären rDNA (siehe Abb. 2).

Für die Amplifizierung der ITS-Region wurde als „Upstream“-Primer RIB-13 (siehe Tab. 4) verwendet, der mit einem bei verschiedenen Babesienarten konservierten Sequenzabschnitt der 18S rDNA hybridisiert. Der „Downstream“-Primer RIB-3 ist auf eine im Tier- und Pflanzenreich hochkonservierte Region der 28S rDNA gerichtet. Als „Upstream“-Primer für die 18S-PCR wurde RIB-19, der mit einem bei Eukaryonten konservierten Abschnitt nahe am

5'-Ende der 18S hybridisiert, eingesetzt. Der „Downstream“-Primer RIB-20 ist auf einen Bereich am 3'-Ende der 18S gerichtet, der für mehrere Babesien- und Theilerienarten konserviert ist.

Tabelle 4: DNA-Sequenzen der benutzten PCR-Primer

Primer der ITS-PCR		Referenz
RIB-3:	5'-CGG GAT CCT TC(A,G) CTC GCC G(C,T)T ACT -3'	Zahler et al. 1995
RIB-13:	5'-CCG AAT TCT TTG TGA ACC TTA TCA -3'	Zahler et al. 1998
Primer der 18S-PCR		Referenz
RIB-19:	5'-CGG GAT CCA ACC TGG TTG ATC CTG C-3'	Zahler et al. 2000
RIB-20:	5'-CCG AAT TCC TTG TTA CGA CTT CTC-3'	Zahler et al. 2000

Die Lage der PCR-Primer für die Zielsequenzen der ITS-Region und der 18S der nukleären rDNA (siehe Kapitel II. 5., Abb. 2) sind in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt:

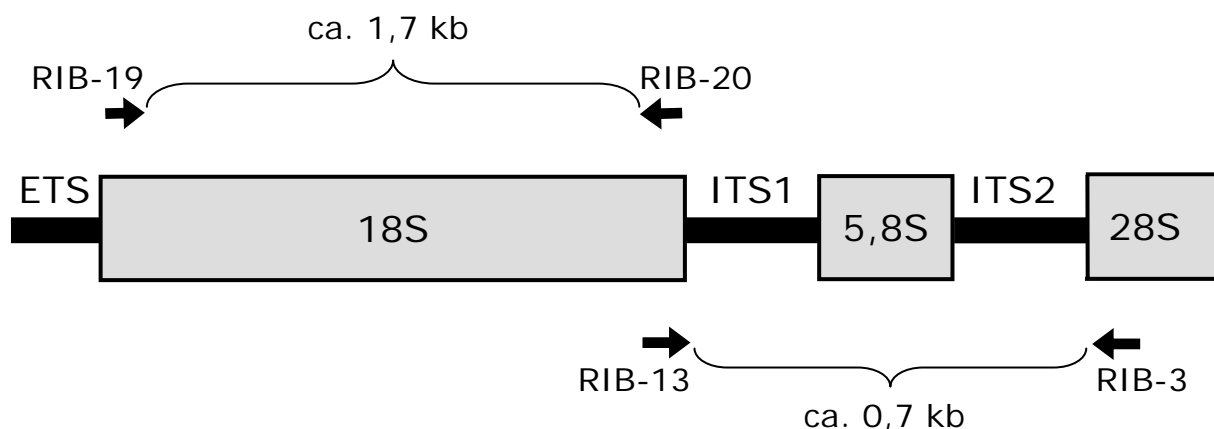


Abbildung 4: Zielsequenzen der rDNA und Position der PCR-Primer

ETS	externer transkribierter Spacer
18S	für die 18S kodierender Bereich
ITS1, 2	interne transkribierte Spacer
5,8S	für die 5,8S kodierender Bereich
28S	für die 28S kodierender Bereich

Die PCR-Bedingungen in Bezug auf MgCl₂-Konzentration, Zyklenzahl, sowie Zusatz von DMSO und BSA wurden für die Arten *B. bigemina*, *B. bovis* und *B. ovata* optimiert. Abweichungen von dem für *B. divergens* verwendeten PCR-Protokoll sind in den Tabellen 5 und 6 ersichtlich. Für einen PCR-Ansatz (Tab. 5) wurden jeweils die beiden Primer (Tab. 4, 50 µM, Thermo BioSciences GmbH, Ulm), MgCl₂ (50 mM), demineralisiertes Wasser, DMSO und BSA (100 mg/ml) in einem 0,5 ml Reaktionsgefäß mit 2 Tropfen Mineralöl (Sigma, St. Luis) überschichtet, die DNA (aus Punkt 2.1.) dazupipettiert und in einem PCR-Gerät (Uno-Thermoblock 40, Biometra, Göttingen) 2 min bei 96 °C denaturiert. Nach Abkühlung auf 85 °C (so genannte „Hot-Start“-Technik) wurden je 5,9 µl des „Master-Mix“ (Tab. 5) hinzugefügt. Die Amplifizierung der 18S-PCR erfolgte in 30 Zyklen und die Amplifizierung der ITS-PCR in 27 (*B. bigemina*, *B. bovis* und *B. ovata*) bzw. 30 (*B. divergens*) Zyklen, bestehend aus Denaturierung bei 92 °C für 60 s, Primer-Hybridisierung („Annealing“) bei unterschiedlichen Temperaturen für 60 s und Primer-Extension bei 72 °C für 90 s (Tab. 6).

Tabelle 5: Zusammensetzung des PCR-Ansatzes

Babesienart	Primer jeweils 1 µl	MgCl ₂ (µl)	DMSO (µl)	BSA (µl)	H ₂ O (µl)	DNA (µl)	„Master- Mix“* (µl)	Endvolu- men (µl)
<i>B. divergens</i>	RIB 3/13 (ITS)	2,3	-	-	34,8	5	5,9	50
	RIB 19/20 (18S)	1,8	-	-	35,3	5	5,9	50
<i>B. bigemina</i>	RIB 3/13 (ITS)	1,8	2	1	32,3	5	5,9	50
<i>B. bovis</i>	RIB 19/20 (18S)	1,8	2	1	32,3	5	5,9	50
<i>B. ovata</i>								

*Master-Mix:

5 µl 10x PCR-Puffer (100 mM Tris-HCl, pH 8,3; 500 mM KCl)

0,4 µl dNTP-Mix (je 25 mM dGTP, dATP, dTTP, dCTP, United States Biochemicals, Bad Homburg)

0,5 µl *Taq*-Polymerase (5u/µl, Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg)

Tabelle 6: PCR-Reaktionsbedingungen

Babesienart	Primerpaar	Denaturierung Temp. (°C)	Zeit (s)	Annealing Temp. (°C)	Zeit (s)	Extention Temp. (°C)	Zeit (s)	Zyklus- zahl
<i>B. divergens</i>	RIB 3/13	92	60	52	60	72	90	50
	RIB 19/20	92	60	54	60	72	90	30
<i>B. bigemina</i>	RIB 3/13	92	60	52	60	72	90	27
<i>B. bovis</i>	RIB 19/20	92	60	54	60	72	90	30
<i>B. ovata</i>	RIB 19/20	92	60	54	60	72	90	30

2.3. Agarose-Gelelektrophorese

Durch elektrophoretische Auftrennung in Agarosegelen wurden Produkte der Polymerasekettenreaktion nachgewiesen und ihre Größe bestimmt.

Zur Herstellung eines 1,3 %igen Gels wurde 0,57 g Agarose („molecular biology grade“, Appligene, Heidelberg) durch kurzes Aufkochen in 44 ml TAE-Puffer (40 mM Tris-Acetat, pH 8,0; 0,1 M EDTA) gelöst, nach dem Abkühlen auf ca. 50 °C 1 µl Ethidiumbromid (10 mg/ml, Sigma, Deisenhofen) hinzugefügt und luftblasenfrei in die horizontale Gelkammer („Bioplex“ Gelelektrophoresekammer, Strehlau und Kruse, Freiburg) gegossen. Nach dem Erstarren des Gels wurde die Kammer mit TAE als Laufpuffer gefüllt, je **10 µl der ITS-PCR-Ansätze** und je **4 µl der 18S-PCR-Ansätze** mit einem 10x Blaupuffer (15 % Ficoll 400, 0,1 M EDTA, 1 % SDS, 0,25 % Bromphenolblau) versetzt und aufgetragen. Als Größenstandard diente die 1 kb-DNA-Leiter (in 10 mM Tris-HCl, pH 7,5; 50 mM NaCl, 0,1 mM EDTA, GIBCO-BRL, Eggenstein). Die Elektrophorese erfolgte ca. 1 h bei einer Spannung von maximal 35 V und einer Stromstärke von maximal 40 mA.

Zur Sichtbarmachung der Banden der PCR-Produkte im Gel wurde die Eigenschaft des Ethidiumbromids, sich sequenzunspezifisch zwischen einzelne Basenpaare der DNA-Doppelhelix einzulagern („Interkalation“), ausgenutzt. Die Anregung des Farbstoffes unter UV-Licht bei 312 nm (UV-Leuchttisch Typ B IL-350-m, Bachhofer, Reutlingen) führte zu einer rotorangen Fluoreszenz der DNA-Banden bei 590 nm, die auf Polaroid-Film (Typ „667“, Vertrieb Sigma) photographisch festgehalten wurden. Die restliche **PCR der positiven 18S-Produkte** wurde zur späteren Sequenzierung bei -20 °C tiefgefroren. Die **Banden der ITS-PCR** wurden mit einem ausgeglühten Skalpell knapp an ihren Grenzen aus dem Agarosegel geschnitten, in bereits beschriftete 1,5 ml Eppendorf-Gefäße gegeben und gewogen (Sartorius 3716 Tischwaage, Sartorius Werke Göttingen).

2.4. Klonierung der ITS-Produkte

2.4.1. Isolierung und Reinigung von DNA-Fragmenten aus Agarosegel

Die im Agarosegel enthaltene DNA wurde durch Silikagel-Adsorption („GeneClean[®] III-Kit“, Bio 101, La Jolla, USA) isoliert und gereinigt. Dazu wurden die Gelstücke nach Zugabe der 2,5-fachen Menge einer 6 M NaI-Lösung im Wasserbad bei 50 °C solange gelöst, bis keine Schlieren mehr zu sehen waren (ca. 5 min). Die Adsorption der DNA erfolgte durch 5-minütige Inkubation bei Raumtemperatur mit 5 µl Silikagelsuspension („Glasmilch“). Mehrfaches Schütteln hielt dabei die Silikapartikel in Lösung. Störende Substanzen wurden durch dreimaliges Überschichten mit je 250 µl alkoholischer Waschlösung („New Wash“, NaCl/Tris/EDTA-Konzentrat des Herstellers, laut. Protokoll in 50 % Ethanol verdünnt) entfernt. Dazu wurde die Suspension in einer Tischzentrifuge anzentrifugiert, der Überstand verworfen und das Sediment („Pellet“) in der Waschlösung resuspendiert. Nach der letzten Zentrifugation wurde der Überstand abpipettiert und das Pellet ca. 10 min getrocknet. Die DNA wurde anschließend mit 16 µl 10 mM TE-Puffer (10 mM Tris·HCl, pH 8,0; 1 mM EDTA) nach Aufsuspendierung der Glasmilch eluiert, 2 min zentrifugiert und vorsichtig abpipettiert.

2.4.2. Restriktionsenzymverdau der DNA-Fragmente

Zur Vorbereitung der Klonierung wurden die gereinigten PCR-Produkte mit den Restriktionsendonukleasen *Bam*HI und *Eco*RI verdaut. *Bam*HI schneidet den Linker des Primers RIB-3, *Eco*RI den von Primer RIB-13. Die Restriktionsenzyme besitzen folgende Erkennungssequenzen:

<u>Enzym</u>	<u>Herkunft</u>	<u>Erkennungssequenz</u>
<i>Bam</i>HI:	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	5'-GGATCC-3'
<i>Eco</i>RI:	<i>Escherichia coli</i>	5'-GAATTC-3'

Für einen Reaktionsansatz (50 µl) wurde die DNA-Lösung mit dem Enzym *Bam*HI (New England Biolabs GmbH, Frankfurt a.M.), dem für *Bam*HI spezifischen Puffer *Bam*HI (10 mM Tris·HCl, pH 7,9; 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 150 mM NaCl) und BSA (New England Biolabs GmbH, Frankfurt a.M.) versetzt und bei 37 °C im Wasserbad inkubiert. Nach 1 h wurden das Enzym *Eco*RI (Amersham Biosciences Europe GmbH, Freiburg), Puffer H (500 mM Tris·HCl, pH 7,5; 100 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 1000 mM NaCl) und demineralisiertes Wasser hinzugefügt und nochmals für 1 h bei 37 °C inkubiert.

<i>Bam</i> HI-Reaktionsansatz:	DNA	16,0 µl
	<i>Bam</i> HI (20 units/µl)	1,8 µl
	Puffer <i>Bam</i> HI (10x)	2,0 µl
	BSA (10 µg/µl)	<u>0,2 µl</u>
		20,0 µl
<i>Eco</i> RI-Reaktionsansatz:	<i>Bam</i> HI –Ansatz	20,0 µl
	<i>Eco</i> RI (20 units/µl)	2,0 µl
	Puffer H (10x)	3,0 µl
	Aqua demin.	<u>24,8 µl</u>
		50,0 µl

Die mit den Restriktionsendonukleasen geschnittenen DNA-Fragmente wurden erneut mittels Silikagel-Adsorption („GeneClean“), wie in Punkt 2.4.1. beschrieben, gereinigt und in 6 µl TE-Puffer eluiert.

2.4.3. Vektorherstellung

Als Klonierungsvektor wurde das Plasmid pBluescript[®] II SK(-) (Abb. 5, Stratagene, La Jolla, USA) verwendet. Dieses besitzt eine Poly-Linker-Region (Multi Cloning Site) mit mehr als 20 Restriktionsenzymstellen. Um die PCR-Produkte in den Vektor einligieren zu können, wurde dieser ebenfalls mit den Restriktionsenzymen *Bam*HI und *Eco*R I geschnitten.

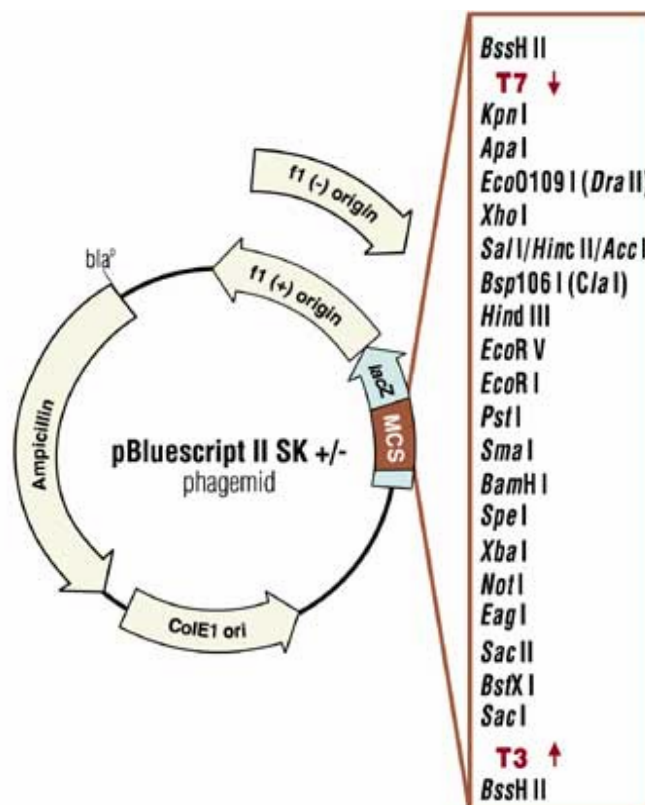


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Vektors pBluescript[®] II SK (-), (Quelle: Stratagene, La Jolla, USA)

Dazu wurden 8,75 µg des Plasmids zuerst mit *Bam*HI, Puffer *Bam*HI, BSA und demineralisiertem Wasser für 1 h bei 37 °C inkubiert, danach mittels „GeneClean“ unter Verwendung von 10 µl Silikagel-Suspension und 500 µl „New Wash“ gereinigt und in 40 µl TE-Puffer eluiert. Dem Eluat wurden *Eco*R I, Puffer H und Wasser zugefügt, unter den gleichen Bedingungen inkubiert und nach einer weiteren „GeneClean“-Reinigung in 100 µl TE-Puffer eluiert. Die Endkonzentration des Vektors betrug somit, unter Annahme von 25 % Verlust je „GeneClean“, 50 ng/µl.

<i>Bam</i> HI-Reaktionsansatz:	pBluescript (0,25 µg/µl)	35,0 µl
	<i>Bam</i> HI (20 units/µl)	4,0 µl
	Puffer <i>Bam</i> HI (10x)	5,0 µl
	BSA	<u>0,5 µl</u>
		44,5 µl
<i>Eco</i> RI-Reaktionsansatz:	Eluat	40,0 µl
	<i>Eco</i> RI (20 units/µl)	5,0 µl
	Puffer H (10x)	6,0 µl
	Aqua demin.	<u>49,0 µl</u>
		100,0 µl

2.4.4. Ligation

Die Ligation diente der Verknüpfung des Vektormoleküls mit dem PCR-Produkt durch eine DNA-Ligase. Das dadurch entstandene, rekombinante DNA-Molekül wurde später, um eine zur Sequenzierung ausreichende Menge der PCR-Produkte zu erhalten, kloniert.

Dabei wurden die DNA-Lösung (siehe 2.4.2.) und der Plasmid-Vektor (siehe 2.4.3.) zusammengegeben und zur Trennung von bereits verbundenen kohäsiven Enden 5 min bei 50 °C inkubiert. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurden T4-DNA-Ligase (Amersham Biosciences Europe GmbH, Freiburg) und Ligase-Puffer (Amersham, 660 mM Tris-HCl, pH 7,6; 66 mM MgCl₂, 100 mM DTT, 660 µM ATP) zugefügt und für mindestens 90 min bei 16 °C im Wasserbad inkubiert.

Ligationsansatz:	DNA-Lösung	6,0 µl
	Vektor (50 ng/µl)	2,0 µl
	T4-DNA-Ligase (1u/µl)	1,0 µl
	Ligase-Puffer (10x)	<u>1,0 µl</u>
		10,0 µl

2.4.5. Herstellung elektrokompetenter Zellen

Mit dieser Methode wurden *Escherichia coli*-Bakterien ohne SK II-Plasmid vermehrt und durch Waschen in einer ionenschwachen Lösung für die Elektroporation vorbereitet. So

vorbehandelte, kompetente Zellen, besitzen eine erhöhte Aufnahmefähigkeit für in Lösung befindliche DNA.

Eine Kolonie des auf einer „LB-Tet“-Platte (LB-Medium* mit 15 g/l Select Agar [GIBCO-BRL, Eggenstein] und 12,5 mg/l Tetrazyklin [Sigma, Deisenhofen]) ausgestrichenen *E.-coli*-Stammes XL1-Blue (Stratagene, La Jolla, USA) wurde zur Herstellung einer Flüssigkultur in 15 ml LB-Tet-Medium über Nacht im Wärmeschrank bei 37 °C inkubiert. Am nächsten Tag wurde mit dieser Kultur 1,5 l LB-Tet-Medium beimpft und bis zum Erreichen einer optischen Dichte (OD_{600nm}) von 0,3 (Photometer PCP 6121, Eppendorf Gerätebau, Hamburg) etwa 3 h inkubiert. Nach 20 min Lagerung auf Eis wurde die Zellsuspension in einer Kühlzentrifuge (Sorvall RC2-B, Du Pont, Bad Homburg) 15 min bei 5500 rpm (4920xg) und 4 °C zentrifugiert (GSA-Rotor, Du Pont, Bad Homburg). Nach Dekantieren des Überstandes wurde das Bakterienpellet zweimal in HEPES-Lösung (1 mM Hepes·HCl, pH 7,0) resuspendiert und jeweils 15 min bei 6500 rpm (6880xg) zentrifugiert. Danach wurde das Pellet in 10 %iger Glycerinlösung aufsuspendiert und 15 min bei 7500 rpm (5860xg) zentrifugiert (SS34-Rotor, Du Pont, Bad Homburg). Abschließend wurden die Zellen in 2 ml 10 %iger Glycerinlösung resuspendiert, zu jeweils 40 µl aliquotiert und bei -70 °C gelagert.

*LB-Medium: 10 g/l Select Peptone 140 (GIBCO-BRL, Eggenstein)
5 g/l Hefeextrakt (GIBCO-BRL, Eggenstein)
5 g/l NaCl
1 ml/l 1M NaOH

2.4.6. Elektroporation und Selektion rekombinanter Klone

Zum Transfer der Plasmid-DNA wurden die Zellmembranen der Bakterienzellen unter Verwendung eines kurzen (10 µs) elektrischen Impulses („Elektroporation“) durchlässig gemacht.

Die aufgetauten XL1-Blue-Portionen, Elektroporationsküvetten (2 mm Elektrodenabstand, Biorad, München) und SOC-Medium (0,5 % Hefeextrakt, 2 % Trypton, 10 mM NaCl, 2,5 mM MgCl₂, 10 mM MgSO₄ und 20 mM Glucose) wurden auf Eis vorgekühlt. Nach dem Zusammenfügen von 2 µl Ligationsansatz zu 40 µl der aliquotierten Zellen wurde der Ansatz für 1 min auf Eis inkubiert und in eine gekühlte Küvette überführt. Den bei 1,5 kV und 150 Ohm im Elektroporationsgerät („The Porator“, Invitrogen Corporation, Vertrieb ITC,

Heidelberg) transformierten Zellen wurde sofort 1 ml des SOC-Mediums zugegeben, um das Absterben geschwächter Zellen zu minimieren. Nach Inkubation der Zellen bei 37 °C in einem Glasröhrchen für 1 h im Schüttelrad (M&B Stricker, Oberschleißheim) wurde die Suspension für 5 min bei 2000 U/min (700xg) zentrifugiert (Tischzentrifuge Typ Z-3, Vetter, Wiesloch), der Überstand dekantiert und das in der Restflüssigkeit (ca. 100 µl) suspendierte Pellet auf LB-Ampicillin-Blaumarker-Agarplatten (LB-Medium siehe oben, 100 mg/l Ampicillin, Sigma, Deisenhofen; 80 mg/l X-Gal; 57 mg/l IPTG, Sigma, Deisenhofen; 1 ml/l DMF und 15g/l Select-Agar) ausgestrichen. Bei Inkubation der Agarplatten über Nacht bei 37 °C wuchsen ausschließlich Kolonien („Klone“) deren Zellen das Plasmid mit Ampicillinresistenzgen (Abb. 5) aufgenommen hatten.

Die Differenzierung rekombinanter Klone und solchen mit selbstligierten Vektor erfolgte anhand der „**Blau-Weiß-Selektion**“. Kolonien, deren Plasmid keine einligierte Fremd-DNA besitzt, wachsen blau, da die von ihnen produzierte β -Galaktosidase das in den Agarplatten enthaltene Substrat X-Gal zu einem blauen Indigofarbstoff abbaut. Im Gegensatz dazu besitzen rekombinante Klone eine weiße Farbe: Die in das Plasmid ligierte Fremd-DNA inaktiviert einen Bereich des *lacZ*-Gens (Abb. 5), der für die Bildung von β -Galaktosidase kodiert.

2.4.7. Plasmidpräparation, -reinigung und -analyse

Zum Nachweis von Plasmiden, die ein „Insert“ in der zu erwartenden Größe besitzen, fand ein weiterer Restriktionsverdau statt. Zuvor erfolgte die Extraktion der Plasmid-DNA aus den Bakterienzellen und die Fällung der DNA.

Weißer Kolonien wurden in jeweils 5 ml LB-Amp-Medium (LB-Medium Punkt 2.4.5., mit 100 mg/l Ampicillin) überimpft und in einem Reagenzschüttler über Nacht bei 37 °C inkubiert. 300 µl dieser Übernachtskultur wurden für 60 s zentrifugiert (Tischzentrifuge, 10900 U/min, Abbot Diagnostics Division, Wiesbaden), der Überstand dekantiert und das Bakteriensediment in 250 µl RNase-haltigem Puffer P1 (6,06 g/l Tris, 3,72 g/l Na₂EDTA·2H₂O, mit HCl eingestellt auf pH 8,0; 100 mg/l RNase A) resuspendiert. Nach Zugabe von 250 µl Puffer P2 (8 g/l NaOH, 1 % SDS), wurden 250 µl Puffer P3 (294,5 g/l Kaliumacetat, mit Eisessig auf pH 5,5 eingestellt) dazugegeben und für 15 min zentrifugiert.

700 µl des plasmidhaltigen Überstandes wurden vorsichtig abpipettiert, mit 700 µl Isopropanol versetzt und die DNA durch 15 min Inkubation bei -20 °C gefällt. Nach 10 min Zentrifugation wurde der Überstand dekantiert, das Pellet vorsichtig mit 500 µl 70 %igen Ethanol bedeckt, wieder für 5 min zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. Nach dem Trocknen des Pellets für mindestens 10 min bei Raumtemperatur wurde die DNA in 15 µl Tris·HCl (10 mM, pH 8,3) gelöst.

Um die Größe des DNA-Inserts zu überprüfen, wurde das Plasmid mit den beiden Restriktionsendonukleasen *Xba* I und *Xho* I für 90 min bei 37 °C im Wasserbad verdaut. Diese Enzyme schneiden in der Poly-Linker-Region des Plasmids außerhalb der Ligationsstellen, in die das DNA-Fragment eingefügt wurde. Ein Ansatz bestand aus der DNA-Lösung, den Enzymen *Xba* I und *Xho* I (Amersham Biosciences Europe GmbH, Freiburg), Puffer M (100 mM Tris·HCl, pH 7,5; 100 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 500 mM NaCl) und BSA (New England Biolabs GmbH, Frankfurt a.M.). Anschließend wurde die DNA-Lösung nach Zugabe von 1,5 µl Baupuffer in einem Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt (Punkt 2.3.) und bei UV-Licht auf einen Polaroid-Film abphotographiert.

<u>Enzym</u>	<u>Herkunft</u>	<u>Erkennungssequenz</u>
<i>Xba</i> I:	<i>Xanthomonas badrii</i>	5'-GGATCC-3'
<i>Xho</i> I:	<i>Xanthomonas holcicola</i>	5'-GAATTC-3'

<i>Xba</i> I/ <i>Xho</i> I- Reaktionsansatz:	DNA-Lösung	9,8 µl
	<i>Xba</i> I (12 units/µl)	0,5 µl
	<i>Xho</i> I (12 units/µl)	0,5 µl
	Puffer M (10x)	1,2 µl
	BSA (10 µg/µl)	<u>0,12 µl</u>
		12,12 µl

Von den Klonen mit einem Insert erwarteter Größe wurde eine Glycerinkultur angelegt. Dazu wurden 500 µl der Übernachtskultur mit der gleichen Menge 99 % Glycerin (Sigma, Deisenhofen) vermengt und bei -70 °C tiefgefroren. Die restliche Kulturlösung wurde für die Sequenzierung für 10 min bei 3500 rpm (1225 xg) zentrifugiert (Tischzentrifuge Typ Z-3, Vetter, Wiesloch), der Überstand dekantiert und das Pellet im Glasröhrchen bei -20 °C gelagert. Die restliche Plasmid-DNA-Lösung wurde ebenfalls bei -20 °C aufbewahrt.

2.4.8. Reinigung von Plasmid-DNA durch Silikamembran-Adsorption

Dieser Arbeitsschritt diente der Isolierung von besonders reiner Plasmid-DNA, die für die Sequenzierungsreaktion verwendet werden sollte. Die Präparation wurde nach dem Prinzip der alkalischen Lyse und anschließender Adsorptionschromatographie mit einem „E.Z.N.A.[®] Plasmid Miniprep Kit I“ (Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen) durchgeführt.

Das Bakterien-Pellet aus der Übernachtskultur (siehe 2.4.7.) wurde in 250 µl RNase-haltigen Puffer I resuspendiert und 250 µl Puffer II zugegeben. Nach mehrmaligem Invertieren wurde mit 350 µl Puffer III neutralisiert und für 10 min zentrifugiert (Tischzentrifuge, 10900 U/min, Abbot Diagnostics Division, Wiesbaden). Anschließend wurden 850 µl des plasmidhaltigen Überstandes in ein Zentrifugationssäulchen mit einer Silikamembran gegeben, 60 s zentrifugiert und mit 750 µl eines nach Anleitung mit absolutem Ethanol (99,6 %, Roth, Karlsruhe) komplettierten Waschpuffers gewaschen. Zuletzt wurde die DNA in 100 µl TE-Puffer (10 mM Tris·HCl, pH 8,3; 1 mM EDTA) eluiert. Die Zusammensetzungen der Puffer I, II, III und des Waschpuffers werden von der Herstellerfirma nicht angegeben.

2.5. DNA-Sequenzierung

2.5.1. Manuelle Sequenzierung

Die Sequenzierung der rekombinanten Klone von *B. divergens* erfolgte nach dem **Kettenabbruchverfahren** (Sanger et al. 1977) mit dem „Sequenase Version 2.0 DNA Sequencing-Kit“ (United States Biochemicals, Bad Homburg). Zur Sequenzierung der selektierten Klone der anderen Babesienarten siehe Punkt 2.5.2.

Die **Fällung der Plasmid-DNA** begann mit einer alkalischen Denaturierung durch Zugabe von 11 µl 2 M NaOH und 30 min Inkubation bei 37 °C. Nach der Neutralisation der Lösung durch Zugabe 11 µl 3 M Natriumacetatlösung (pH 4,5-5,5), wurden 110 µl Isopropanol (-20 °C) zugegeben und die DNA über Nacht bei -20 °C gefällt. Nach 15 min Zentrifugation wurde dekantiert und der verbleibende Überstand vollständig abpipettiert. Das DNA-Sediment wurde mindestens 10 min bei Raumtemperatur getrocknet. Zur **Hybridisierung** der Primer an die DNA-Matritze wurde das DNA-Sediment in 15 µl TE-Puffer (10 mM) gelöst und 7 µl dieser Lösung mit 2 µl 5x Sequenase- Reaktionspuffer (200 mM Tris·HCl, pH 7,5;

100 mM MgCl₂, 250 mM NaCl) mit 1 µl (0,5 µM) Sequenzierprimer (Tab. 5, Thermo Hybaid, Ulm) versetzt. Es erfolgte eine 30-minütige Inkubation bei 37 °C.

Tabelle 7: DNA-Sequenzen der verwendeten Sequenzierprimer

Name	Sequenz	Referenz
T3:	5'- ATT AAC CCT CAC TAA AG -3'	Stratagene
RIB-14:	5'- TCA GCG ATG GAT GTC TTG -3'	Zahler et al. 1998
RIB-15:	5'- TGG TTA CGT TCG GAG GTC -3'	Zahler et al. 1998
KS:	5'- CGA GGT CGA CGG TAT CG -3'	Stratagene

Für die **radioaktive Markierung** und den **Kettenabbruch** wurde ein sogenannter „Master-Mix“* vorbereitet und je 6,5 µl zu den auf Eis gelagerten, hybridisierten Proben gegeben. Die Kettenabbruchreaktion wurde in einer Mikrotiterplatte („Terasaki Trays“, Robbins Scientific, Vertrieb Bibby Dunn, Asbach) durchgeführt: Für jeden Reaktionsansatz wurden je 2,5 µl (80 µM) der vier Didesoxynukleotide 1 min bei 37 °C vorinkubiert und mit 3,5 µl des Sequenzierungsgemisches (hybridisierte Proben und „Master-Mix“) versetzt. Nach Ablauf einer 5 min Inkubationszeit bei 37 °C beendete die Zugabe von 4 µl „Stop-Solution“ (95 % Formamide, 20 mM EDTA, 0,05 % Bromphenolblau, 0,05 % Xylolcyanol) die Reaktion. Zur Denaturierung der DNA wurde die Mikrotiterplatte, kurz vor dem Auftragen der Sequenzieransätze auf das Sequenzgel, für 2 min auf 92 °C erhitzt.

* „MasterMix“-Ansatz je Probe:

Demineralisiertes Wasser	2,6 µl
Enzym-Verdünnungspuffer (10 mM Tris·HCl, pH 7,5; 5 mM DTT, 0,5 mg/ml BSA)	1,75 µl
DTT (0,1 M)	1,0 µl
5 x dNTP-Mischung (je 7,5 µM dGTP, dATP, dTTP, dCTP)	0,4 µl
Radioaktiver Schwefel [α - ³⁵ S]-dATP (1000 Ci/mmol, 10 mCi/ml)	0,5 µl
Sequenase [®] (13 u/µl; T7 DNA-Polymerase)	<u>0,25 µl</u>
	6,5 µl

In einer **Polyacrylamid-Gelelektrophorese** wurden die aus der Kettenabbruchreaktion hervorgegangenen DNA-Fragmente aufgetrennt, und zwar in einem 6 %igen Polyacrylamidgel, dessen Dicke am oberen Ende 0,25 mm und am unteren Ende 0,75 mm betrug. Die vertikale Gelelektrophorese wurde mit einer 38x50 cm großen „Sequi-Gen“-Sequenzierkammer (Biorad, München) durchgeführt. Dazu wurde nach dem Reinigen der Kammer- und Glasplatte mit 96 %igen Ethanol (Spicker, Baierbrunn) die Kammerplatte mit 2 ml Sigmacote (Sigma, Deisenhofen) beschichtet, um mit Hilfe des feinen Silikonfilms das spätere Ablösen des Gels von dieser Platte zu erleichtern. Danach wurde die Kammer zusammengebaut und zum Gießen positioniert. Für das Trenngel wurde zuerst eine Monomerlösung aus Acrylamid-Konzentrat (20 %iges Acrylamid: 19 Teile Acrylamid, 1 Teil Methylen-Bis-Acrylamid; 8,3 M Harnstoff), Verdünner (8,3 M Harnstoff) und einem Puffer (10x TBE-Puffer, 8,3 M Harnstoff) hergestellt (sämtliche Lösungen: National Diagnostics, Hess. Oldendorf). Nach Zugabe von TEMED (Sigma, Deisenhofen) und 10 %igen APS (USB, Bad Homburg) wurde das Gel in die Sequenzierkammer eingefüllt.

Sequenziergel:	Acrylamid-Konzentrat	30,0 ml
	Verdünner	82,5 ml
	Puffer	12,5 ml
	TEMED	42,0 µl
	APS	0,7 ml

Nach vollständiger Polymerisation erfolgte ein Vorlauf des Gels bei 2,5 kV und 80 mA, bis das Gel eine Temperatur von 45-50 °C erreicht hatte. Nach Auftragen von je 1,2 µl Sequenzieransatz (Punkt 2.4.8.) fand die Elektrophorese bei 2 kV und 55 mA statt, um eine gelschädigende Temperatur von über 60 °C zu vermeiden. Als Laufpuffer wurde TBE (50 mM Tris, 50 mM Borsäure und 2 mM EDTA, pH 8,0) verwendet.

Im Anschluß an die Elektrophorese wurde das Gel, das nach Öffnen der Kammer auf der nicht mit Silikonlösung behandelten Glasplatte haftete, in einer Waschlösung aus demin. Wasser, 10 % Methanol und 10 % Eisessig (Roth, Karlsruhe) gewässert. Der dabei herausgelöste Harnstoff würde sonst bei der späteren Exposition zuviel radioaktive Strahlung absorbieren. Das Gel wurde mit GB002-Blottingpapier (Schleicher und Schüll, Dassel) abgezogen und mit Plastikfolie („Saran“, Dow Chemical, Vertrieb Schubert Laborbedarf, München) abgedeckt. Nach Trocknung auf einem Geltrockner (G1200, Fröbel, Labortechnik,

Lindau) über Nacht bei 90 °C wurde auf das Gel in einer Röntgenfilmkassette mit einem Autoradiographie-Film 3-6 Tage exponiert.

2.5.2. Automatische Sequenzierung

Im Laufe der Dissertation wurde aus Zeit- und Kostengründen das Angebot eines kommerziellen Sequenzieranbieters (MWG Biotech, Ebersberg) getestet und aufgrund überzeugender Ergebnisse beibehalten.

Sequenzierung der ITS-Klone von *B. bigemina*, *B. bovis* und *B. ovata*:

Zur Vorbereitung für die Sequenzierung erfolgte eine **Ethanol-Fällung** der gereinigten Plasmid-DNA (siehe 2.4.8.). Dazu wurden die 100 µl des Eluats in zwei Portionen zu je 50 µl geteilt, jeweils ¼ Vol. Ammoniumacetat (10 M, Merck, Darmstadt) und 2 Vol. eiskalter Ethanol (99,6 %, Roth, Karlsruhe) dazugegeben und für eine Stunde bei -20 °C gefällt. Nach anschließender Zentrifugation für 10 min bei 4 °C (1200 rpm, Centrifuge 5417R, Eppendorf, Hamburg) wurde das Pellet mit 200 µl ebenfalls kaltem, 70 % igen Ethanol überschichtet und nochmals 5 min bei 4 °C zentrifugiert. Danach wurde der Überstand dekantiert, der Rest der Flüssigkeit abpipettiert und das Pellet ca. 10 min getrocknet.

Je Klon wurden zwei Pellets eingeschickt (MWG Biotech, Ebersberg), um das „Insert“ von beiden Seiten, mit den von der Firma angebotenen **Standardprimern T3 und T7** zu sequenzieren. Diese beiden Sequenzierungsreaktionen reichten aus, die je nach Babesienart 0,7-1 kb lange Sequenz der ITS-Region zu erhalten. Die photometrisch ermittelte DNA-Menge von 1-6 µg/50 µl Eluat, erfüllte die geforderte Mindestmenge von 1-2 µg Plasmid-DNA pro Reaktion.

Reinigung und direkte Sequenzierung der 18S-PCR Produkte:

Bei der 18S-Region wurde auf eine Klonierung verzichtet und die PCR-Produkte, nach der Bestätigung durch Agarose-Gelelektrophorese (Punkt 2.3.) direkt zum Sequenzieren eingeschickt. Die zuvor notwendige **Reinigung der PCR-Produkte** erfolgte durch Adsorption an eine Silicagelmembran (QIAquick® PCR Purification Kit, Qiagen, Hilden). Dabei wurden 250 µl Puffer PB mit dem PCR-Produkt vermischt, in „QIAquick spin-Säulen“ überführt und 60 s zentrifugiert (Tischzentrifuge, 10900 rpm, Abbot Diagnostics Division, Wiesbaden). Anschließend wurden 750 µl des nach Anleitung mit absolutem Ethanol

komplettierten Waschpuffers PE (die Zusammensetzungen der Puffer PB und PE werden von Hersteller nicht angegeben) dazugegeben. Nach diesem Waschschrift und zum Trocknen der Säulenmembran erfolgte eine weitere Zentrifugation für 60 s. Die DNA wurde nach kurzer Inkubation in 100 µl Puffer EB (10 mM Tris·Cl, pH 8,5) eluiert und, je nach Stärke der PCR-Bande im Agarosegel, ganz oder in zwei Portionen gefällt (**Ethanol-Fällung** siehe oben).

Für die Sequenzierung der PCR-Produkte wurden die beiden PCR-Primer RIB-41 und RIB-20 (10 µl/Reaktion, 10 pmol/µl) der 18S-PCR verwendet und mit eingeschickt (MWG Biotech, Ebersberg). Da die Sequenz der 18S-Region eine Länge von ca. 1,7 kb besitzt und eine Sequenzierungsreaktion maximal 800-900 Basen weit reicht, waren zur vollständigen Sequenzierung zusätzlich verschiedene interne Primer (Tabelle 8) notwendig. Für eine Sequenzierung wurde eine DNA-Menge von 20 ng/100 Basen benötigt.

Tabelle 8: DNA-Sequenzen der Sequenzierprimer für die 18S-Region

Name	Sequenz	Referenz
RIB-19:	5'-CGG GAT CCA ACC TGG TTG ATC CTG C-3'	Zahler et al. 2000
RIB-20:	5'-CCG AAT TCC TTG TTA CGA CTT CTC-3'	„
RIB-22:	5'-ATG GTT AAT AGG AAC GG-3'	„
RIB-23:	5'-TCT CCG GAA TCC AAC CC-3'	„
RIB-26:	5'-TTG GAG GGG CAA GTC TGG-3'	„
RIB-27:	5'-CCT AAC TTT CGT TCT TG-3'	„
RIB-29:	5'-GCA TCA GTG TAG CGC GC-3'	„
RIB-41:	5'-ATA TGC TTG TCT YAA AG-3'	vorliegende Arbeit

2.6. Sequenzanalyse

Die Sequenzen der PCR-Produkte wurden mit dem Computerprogramm „DNAMAN“ (Lynnon BioSoft, Quebec, Kanada) analysiert. Zur Ausrichtung („Alignment“) von je zwei Nukleotidsequenzen wurde das Programm „**Two Sequence Alignment**“ mit der „Dynamic Alignment“-Methode nach „Myers & Miller“ angewandt. Für die Parameter „Gap open penalty“ und „Gap extention penalty“ wurden Werte von 10 bzw. 5 gewählt. Die Identität der beiden Sequenzen ergibt sich aus folgender Formel:

$$\text{Identität (\%)} = \frac{\text{Anzahl an identischen Basen zwischen zwei Sequenzen}}{\text{Länge der alignnten Sequenz} - \text{Länge aller „gaps“}^*} \times 100$$

Das Programm gibt außerdem den Anteil der „gaps“ im Alignment an:

$$\text{gap (\%)} = \frac{\text{Anzahl der „gaps“ beider Sequenzen}}{\text{Länge der alignnten Sequenz}} \times 100$$

*gap (engl. für Lücke)

Die Analyse von mehr als zwei Sequenzen erfolgte mit dem Programm „**Multiple Sequence Alignment**“ unter Verwendung von Clustal W (Feng & Doolittle 1987, Thompson et al. 1994). Daher wurde eine „Optimal Alignment“-Methode, und zwar „Full Alignment“ gewählt und ein „Dynamic Alignment“ mit den Parametern „Gap open penalty“ von 10, „Gap extension penalty“ von 5, „Delay divergent sets“ von 30 % und „DNA transition weight“ von 0,5 durchgeführt.

Phylogenetische Zuordnungen und deren Präsentation als Dendrogramme wurden mittels „Distanz-Matrix“- , „Maximum-Parsimony“- und „Maximum-Likelihood“-Analysen der DNA-Alignments mit dem Programm PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Felsenstein 2002, Version 3.6, alpha 3, Seattle, USA) berechnet. Für „Distanz-Matrix“-Analysen wurde ein neighbor joining Dendrogramm mit der Kimura 2-parameter distance matrix unter der Verwendung der Algorithmen DNADIST und NEIGHBOR erstellt. Für „Maximum-Parsimony“-Analysen wurde der Algorithmus DNAPARS verwendet, wobei Lücken im Alignment immer nur als 1 Ereignis gewertet wurden. Die Signifikanz einzelner Aufspaltungen in der dendrographischen Darstellung wurde mittels „bootstrapping“ über 100 Replikate mit den Programmen SEQBOOT und CONSENSE ermittelt. „Maximum-Likelihood“-Analysen erfolgten mit dem Programm DNAML. Da diese Methode selbst eine statistische Anwendung ist, war „bootstrapping“ hier nicht sinnvoll. Zur Erstellung der Dendrogramme wurde das Programm DRAWGRAM verwendet.

IV. Ergebnisse

1. Molekularbiologischer Nachweis

1.1. PCR-Optimierung

Bei *Babesia divergens* wurden für die Amplifikation der ITS-Region die für *B. canis* ermittelten PCR-Bedingungen (Zahler et al. 1998) übernommen und die Parameter der 18S-PCR analog zu *B. gibsoni* (Zahler et al. 2000) gewählt. Für *B. bigemina* wurden einzelne PCR-Parameter, die Einfluss auf die Effizienz der Reaktion haben, und zwar MgCl₂-, DMSO-, BSA-Konzentration und Zyklenzahl variiert. Die für verschiedene *B. bigemina*-Isolate bei der ITS-PCR ermittelten Reaktionsbedingungen zeigten auch bei den Arten *B. bovis* und *B. ovata* gute Ergebnisse und wurden übernommen.

Zyklenzahl

Um das zeitliche Auftreten von unspezifischen Nebenprodukten zu untersuchen, wurde eine ITS-PCR durchgeführt, bei der bereits nach 30 und nach 50 Zyklen Proben entnommen und gelelektrophoretisch verglichen wurden. Abbildung 6 zeigt deutlich das stärkere Auftreten von Nebenbanden und die Verdrängung der erwünschten 1 kb-Bande bei der höheren Zyklenzahl.

Magnesiumchlorid-Konzentration

Die Bestimmung der optimalen MgCl₂-Konzentration wurde, gleichzeitig mit der Zyklenzahl (Abb. 6), durch Abweichung von +/- 0,5 mM vom ursprünglichen Wert von 2,3 mM ermittelt. Das Auswahlkriterium bei diesem Parameter war nicht die stärkste Bande, sondern die schwächste Nebenbande, die bei einer Konzentration von 1,8 mM erkennbar war.

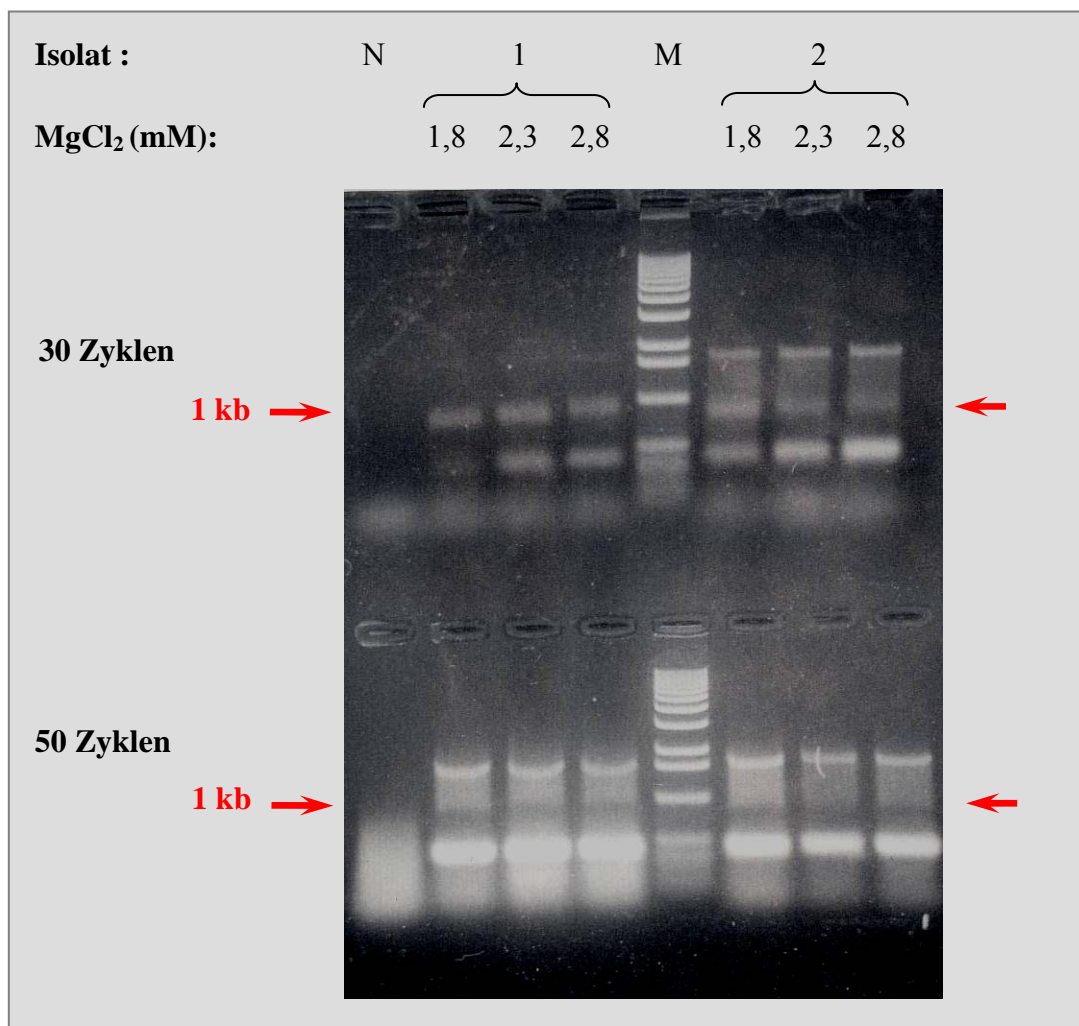


Abbildung 6: Beispiel für die PCR-Produkte der ITS-Region einer MgCl₂-Optimierung mit gleichzeitiger Variation der Zyklenzahl

- N** PCR-Negativkontrolle
- M** DNA-Größenstandard (1 kb-Leiter)
- 1** *B. bigemina*-Isolat B bi09
- 2** *B. bigemina*-Isolat B bi18

DMSO

Da die Verwendung des Kosolvens Dimethylsulfoxid (DMSO) die Intensität und Spezifität einer PCR-Reaktion positiv beeinflussen kann (Buckler et al. 1996), wurden DMSO-Konzentrationen von 0 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 % und 10 % getestet. Dabei wurde die vorher bestimmte MgCl₂-Konzentration von 1,8 mM eingesetzt und Proben nach 25, 30 und 35 Zyklen entnommen. Dabei stellt sich heraus, dass DMSO die Banden verstärkt und den größten Effekt bei 3-4 % zeigt. Die Zyklenzahl wurde aufgrund des Erscheinens von Nebenbanden mit steigender Anzahl auf unter 30 festgelegt.

BSA

Der Zusatz von BSA wurde ebenfalls zur Verbesserung der PCR erprobt. Es wurden 0,05 µl, 0,5 µl, 1 µl und 2 µl BSA (10g/l) eingesetzt und Proben nach 25, 27 und 29 Zyklen entnommen. Die stärkste Reduktion der Intensität von Nebenbanden wurde mit der Kombination von 1 µl BSA (10 g/l) und 27 Zyklen erzielt.

Zusammenfassung der PCR-Optimierungsergebnisse

Bei Zugabe von DMSO mit gleichzeitiger Reduzierung der Zyklenzahl erhöhte sich die Intensität der Bande der erwarteten Größe. Mit anschließendem Einsatz von BSA wurde die Stärke von unspezifischen Nebenbanden verringert. Zur Verdeutlichung ist in Abbildung 7 die Entwicklung der Optimierung dargestellt.

- MgCl₂-Konzentration 1,8 mM
- Zyklenzahl 27
- DMSO 4 %
- BSA (10 g/l) 1 µl

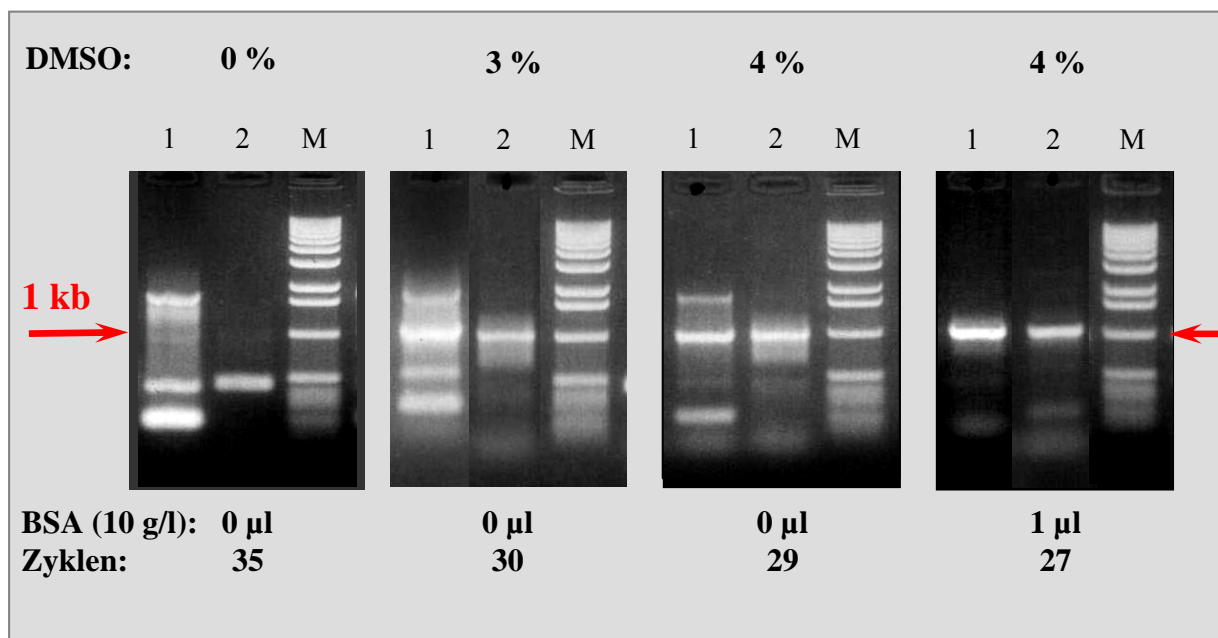


Abbildung 7: Einfluss von DMSO, BSA und Zyklenzahl auf Bandenstärke und Nebenbanden am Beispiel der ITS-PCR zweier *B. bigemina*-Isolate

- M** DNA-Größenstandard (1 kb-Leiter)
- 1** *B. bigemina*-Isolat B bi04
- 2** *B. bigemina*-Isolat B bi11

1.2. Amplifizierung der 18S-rDNA

Die Polymerasekettenreaktion (Kapitel III 2.2.) erzeugte für alle verwendeten Babesienarten PCR-Produkte in einer Bandengröße von ca. 1,7 kb. Dabei wurde DNA aus 17 *B. bigemina*-Isolaten, 11 *B. bovis*-Isolaten, 11 *B. divergens*-Isolaten und einem *B. ovata*-Isolat amplifiziert. In Abbildung 8 sind beispielhaft PCR-Produkte für die Amplifikation der 18S-rDNA von *Babesia divergens*, *B. bigemina* und *B. bovis* dargestellt.

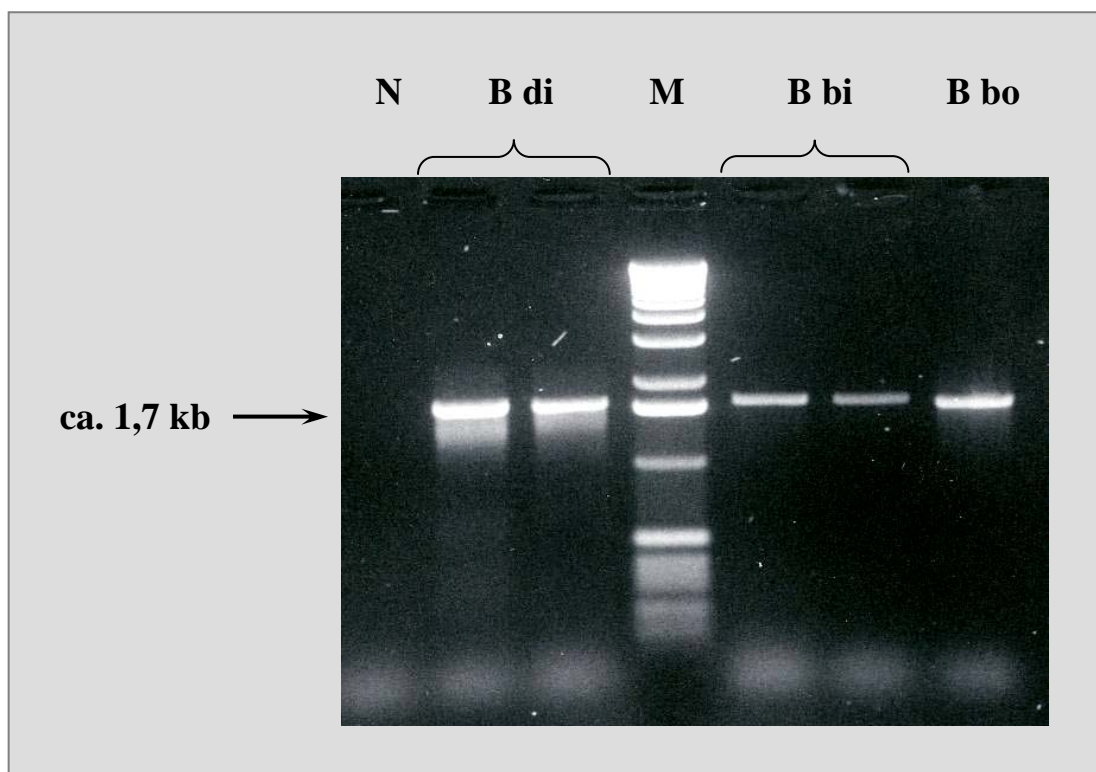


Abbildung 8: Beispiel für PCR-Produkte der 18S-rDNA nach gelelektrophoretischer Auftrennung

- N** PCR-Negativkontrolle
- M** DNA-Größenstandard (1 kb-Leiter)
- B di** *B. divergens*-Isolate
- B bi** *B. bigemina*-Isolate
- B bo** *B. bovis*-Isolat

1.3. Amplifizierung der ITS-Region

Die Region der „Internen transkribierten Spacer“ (ITS) der nukleären rDNA umfasst den ITS1, den die 5,8S-rRNA kodierenden Abschnitt und den ITS2. Zur Vereinfachung wird diese Region bei weiterer Erwähnung nur als „ITS“ bezeichnet werden.

Insgesamt wurde DNA aus 19 *B. bigemina*-Isolaten, 19 *B. bovis*-Isolaten, 11 *B. divergens*-Isolaten und einem *B. ovata*-Isolat amplifiziert. Die Größe des ITS-PCR-Produktes lag für *B. bovis* bei ca. 0,7 kb, für *B. divergens* und *B. bigemina* bei ca. 0,9 kb. Das ITS-Produkt von *B. ovata* war ebenfalls ca. 0,9 kb groß. Aus Abbildung 9 wird die Differenzierbarkeit des *B. bovis* ITS-Produktes von *B. divergens* und *B. bigemina* deutlich.

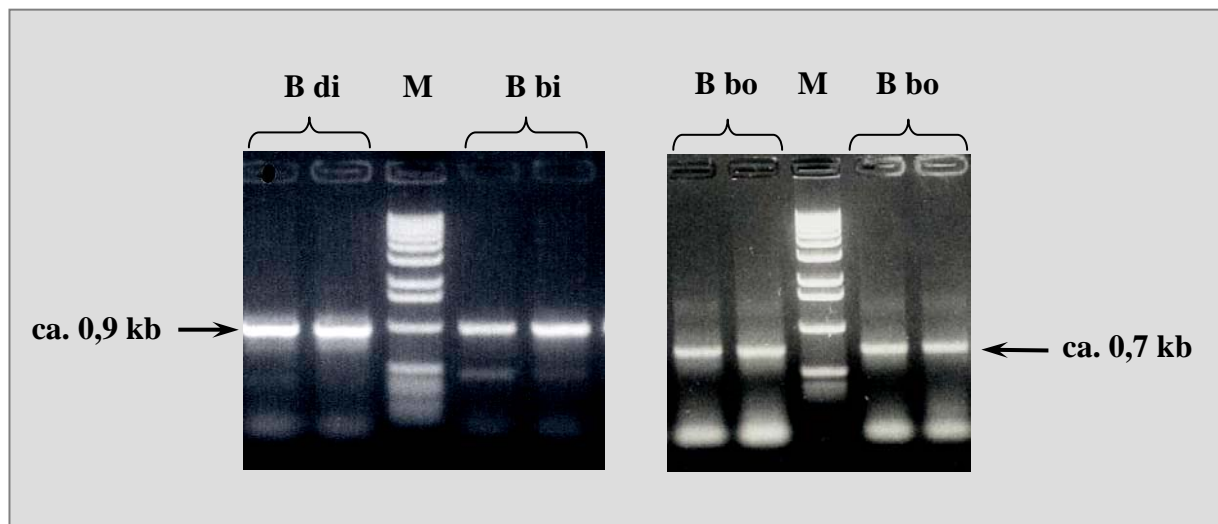


Abbildung 9: Beispiel für PCR-Produkte der ITS-Region nach gelelektrophoretischer Auftrennung

- M** DNA-Größenstandard (1 kb-Leiter)
- B di** *B. divergens*-Isolate
- B bi** *B. bigemina*-Isolate
- B bo** *B. bovis*-Isolate

2. Genotypische Artdifferenzierung boviner Babesien anhand der 18S-Sequenz

Von insgesamt 19 *B. bovis*-Isolaten wurden 11 Amplifikate sequenziert, davon „B bo03“, „B bo07“, „B bo08“ und „B bo09“ vollständig. Für das Isolat „B bo01“ wurde die Sequenz bis auf 342 Basen ermittelt. Bei den restlichen Isolaten brach die Sequenzierungsreaktion wiederholt im gleichen Bereich ab, so dass in der Sequenz von Isolat „B bo05“ 26 Basen, Isolat „B bo10“ sechs Basen, Isolat „B bo16“ 22 Basen, Isolat „B bo17“ 36 Basen, Isolat „B bo18“ 87 Basen und Isolat „B bo19“ 47 Basen fehlen. Für das Alignment wurde jede fehlende Base durch ein „N“ ersetzt. Die Sequenzlänge der verschiedenen *B. bovis*-Isolate schwankt zwischen 1448 und 1552 Basen. Bei *B. bigemina* gelang die vollständige Sequenzierung bei 17 der 19 Isolate; sie besitzen eine Länge von 1481 bis 1485 Basen. Die Basenabfolge von *B. divergens*, die vollständig für alle 11 Amplifikate ermittelt wurde, beträgt zwischen 1516 und 1519 Basen. Eine Ausnahme stellt das von einer Humaninfektion stammende Isolat „B di09“ mit 1535 Basen dar. Von dem einzigen *B. ovata*-Isolat konnten, trotz Einsatz verschiedener, interner Sequenzierprimer nur 889 von 1,5 kb sequenziert werden. Die 18S-Sequenzen der einzelnen Babesienarten sind im Anhang (Kapitel IX 1.) ersichtlich.

Bei der Bestimmung der Babesienart bestätigten Vergleiche mit 18S-Sequenzen aus der Genbank die Artzugehörigkeit der einzelnen Isolate. Hierfür wurden folgende Genbanksequenzen verwendet: *B. bigemina* X59604, *B. bovis* L19078, *B. divergens* U07885 und *B. ovata* AY081192. Die Artdiagnose stimmte bis auf ein Isolat, das als *B. bovis* eingeschickt und als *B. bigemina* („B bi14“) identifiziert wurde, mit den auf phänotypischen Merkmalen beruhenden Angaben der Einsender der Proben überein.

2.1. Phylogenetische Analyse auf Interspeziesniveau

In die phylogenetische Analyse der 18S-rDNA wurden 17 *B. bigemina*-, 11 *B. bovis*-, 11 *B. divergens*-Sequenzen und eine *B. ovata*-Sequenz einbezogen. Eine *B. caballi*-Sequenz (Genbanknummer Z15104) diente als Außengruppe. Zur interspezifischen Sequenzanalyse wurden die Identitäten zwischen repräsentativen Isolaten der einzelnen Arten ermittelt. Die Identitäten betragen für *B. bigemina* („B bi04“) und *B. bovis* („B bo08“) 89,3 %, für *B. bigemina/B. divergens* („B di01“) 95 %, für *B. bigemina/B. ovata* („B ov01“) 98,8 %, für *B. bovis/B. divergens* 88,7 %, für *B. bovis/B. ovata* 91,3 % und für *B. divergens/B. ovata* 95,1 %.

Die graphische Präsentation der phylogenetischen Analyse ist in den Abbildungen 10-12 ersichtlich. Für die „Distanz-Matrix“- und „Maximum-Parsimony“-Analysen sind an den jeweiligen Knotenpunkten der Dendrogramme Bootstrap-Werte als Prozentwerte angegeben. Sie sind als Indikator für die Stabilität der Bäume zu verstehen und wurden mittels Bootstapping über 100 Replikate errechnet. Bei allen drei angewandten Methoden war eine einheitliche Aufzweigung in drei große Gruppen ersichtlich. Dabei teilten sich die einzelnen Arten in verschiedene Äste auf. Zuerst spaltete sich die Gruppe der *B. divergens*-Isolate ab, im zweiten Hauptast teilten sich anschließend die Arten *B. bovis* und *B. bigemina/B. ovata* auf. Die *B. ovata*-Sequenz „B ov01“ erschien dabei in allen Dendrogrammen immer in Verbindung mit der *B. ovata*-Vergleichssequenz (AY081192) und in enger Korrelation mit *B. bigemina*. Innerhalb der *B. bigemina*-Gruppe erfolgte stets eine gemeinsame Abspaltung der Isolate aus Australien und Südafrika, die durch hohe Bootstrap-Werte (99 % in der „Distanz-Matrix“- und 83 % in der „Maximum-Parsimony“-Analyse) und ein ähnliches graphisches Erscheinungsbild in allen drei Dendrogrammen unterstützt wurde. Bei *B. bovis* war eine Aufteilung in Isolatgruppen aus Amerika, Australien und Asien erkennbar. Bei *B. divergens* dagegen wurden keine Untergruppen festgestellt.

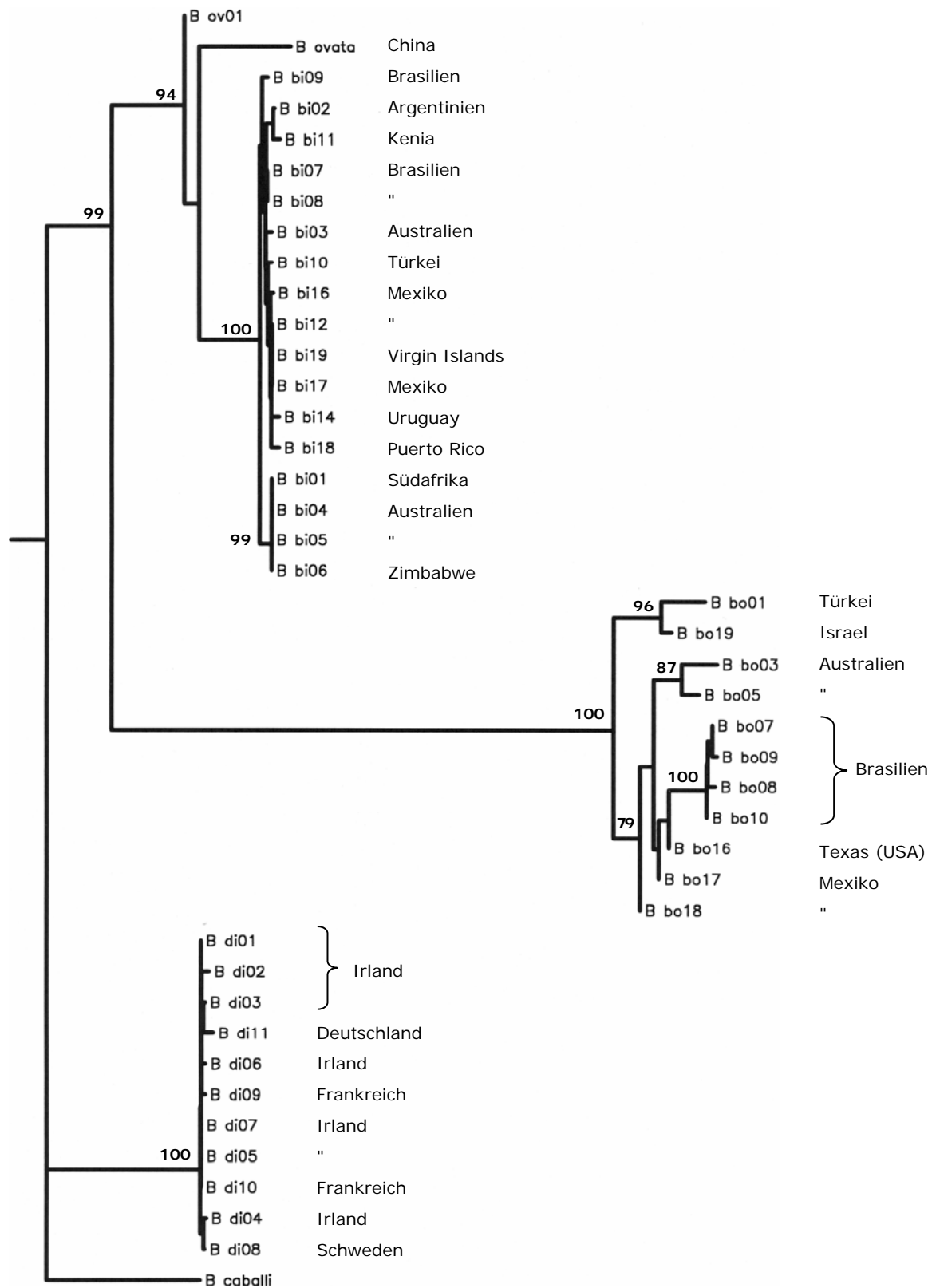


Abbildung 10: „Distanz-Matrix“-Dendrogramm der 18S-rDNA von *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* und *B. ovata*; die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 100 Replikate in Prozentangaben dar.

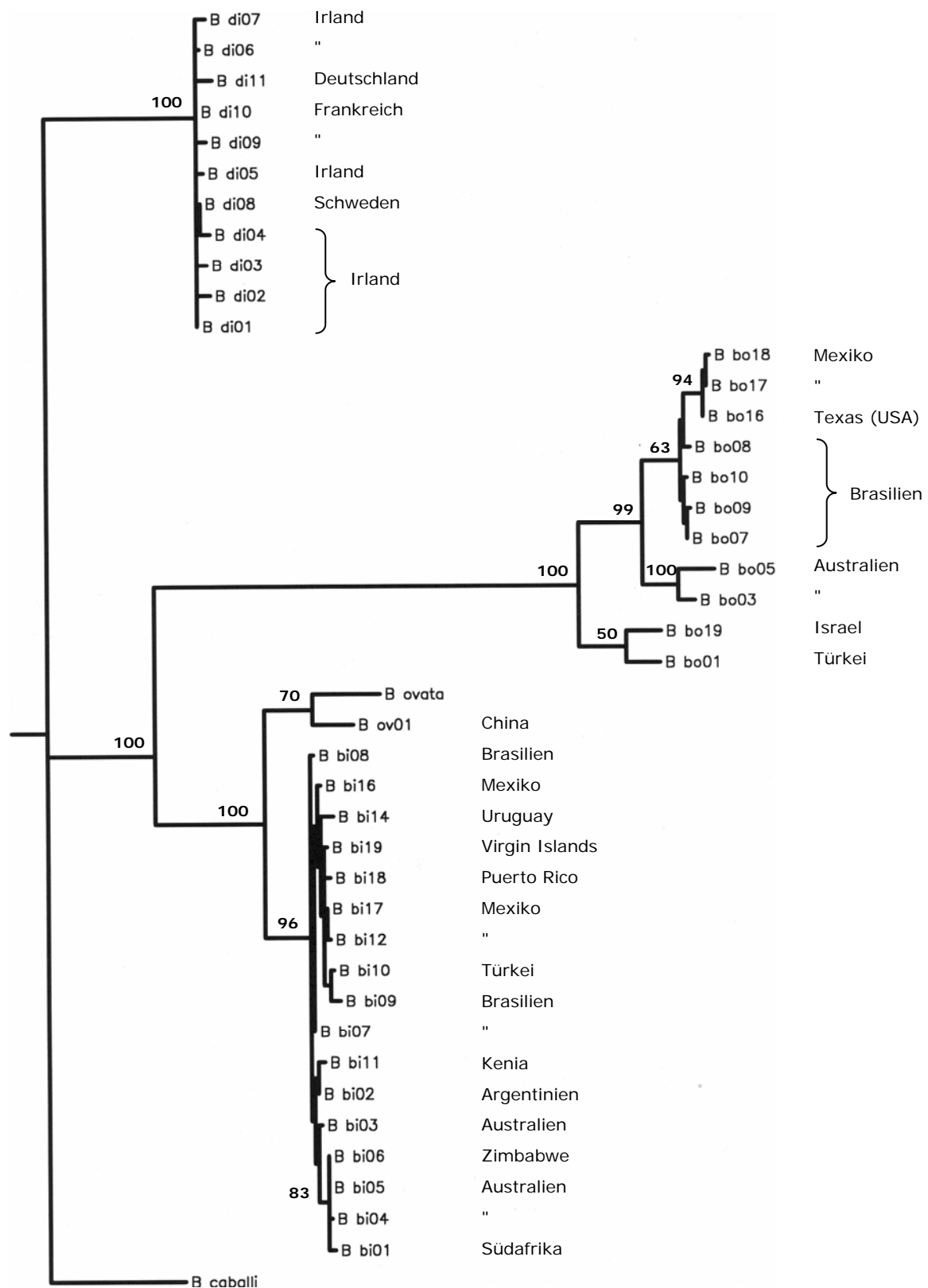


Abbildung 11: „Maximum-Parsimony“-Dendrogramm der 18S-rDNA von *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* und *B. ovata*; die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 89 Replikate in Prozentangaben dar.

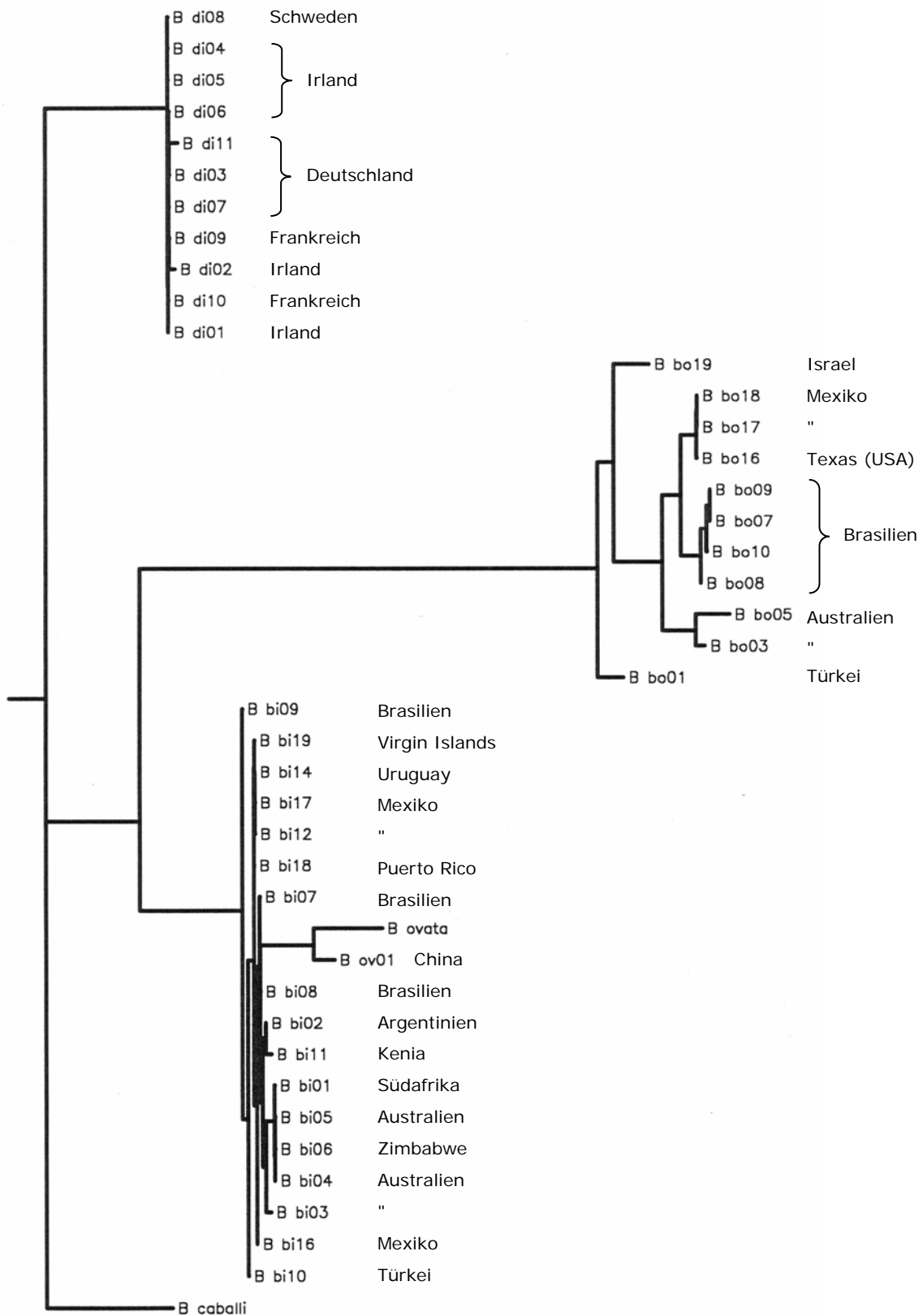


Abbildung 12: „Maximum-Likelihood“-Dendrogramm der 18S-rDNA von *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* und *B. ovata*

2.2. Phylogenetische Analyse innerhalb der Arten

Zur intraspezifischen Sequenzanalyse wurden *B. bovis* und *B. bigemina* mit den bereits erwähnten Analysemethoden nochmals getrennt untersucht. Als Außengruppe diente jeweils die *B. ovata*-Sequenz (AY081192).

Die Sequenzvariation innerhalb der Art ***B. bovis*** reicht von 100 % identischen Sequenzen bis zu 97,3 % Identität. Bei der Ermittlung der Identitäten wurden Sequenzbereiche, die „N’s“ enthalten ausgespart. Dabei ergaben sich für die Isolate „B bo16“, „B bo17“ und „B bo18“ Identitäten von 100 %. Für „B bo07“ und „B bo08“ betrug die Identität 99,9 %, wobei an nur einer Position eine Substitution vorlag. Die beiden Isolate „B bo01“ und „B bo19“ zeigten 99,1 % Übereinstimmung, mit Substitutionen an 9 und Deletionen/Insertionen an einer Position. Die geringste Identität mit 97,9 % wurde für „B bo03“ und „B bo19“ ermittelt; von den 35 polymorphen Positionen waren dabei 29 Substitutionen und 6 Deletionen/Insertionen. In den Dendrogrammen von *B. bovis* (Abb. 13-15) bestätigte sich die Teilung der Isolate aus unterschiedlichen Kontinenten in getrennte Äste, mit Bootstrap-Werten für Asien von 89 % und 69 %, und für Australien von 95 % und 96 %. In den „Maximum-Parsimony“- und „Maximum-Likelihood“-Analysen war darüber hinaus eine Trennung der südamerikanischen von nord- und mittelamerikanischen Isolaten erkennbar, wobei sich allerdings nur bei der „Maximum-Likelihood“-Methode die Äste direkt, ohne Beteiligung anderer Isolate, teilten.

Bei ***B. bigemina*** wurde der größte innerartliche Unterschied mit einer Identität von 99,5 %, 8 Substitutionen und 3 Deletionen/Insertionen zwischen „B bi11“ und „B bi14“ festgestellt. Für die Isolate „B bi08“ und „B bi04“ wurde eine Identität von 99,7 %, mit Substitutionen an 5 und Deletionen/Insertionen an 2 Positionen, ermittelt. Zwischen den Isolaten „B bi 01“, „B bi04“, „B bi05“ und „B bi06“ bestand eine Identität von 100 %. Insgesamt existierten im Alignment nur 3 polymorphe Positionen mit je einer Deletion/Insertion. In der phylogenetischen Analyse von *B. bigemina* traten die Isolate aus Australien und dem südlichen Afrika in allen drei Dendrogrammen (Abb. 16-19) in einer gemeinsamen Gruppe auf. Die entsprechenden Bootstrap-Werte betragen 94 % und 84 %. Bei den restlichen Isolaten bildeten sich in den verschiedenen Stammbäumen keine klar abgegrenzten Gruppen. Das ***B. ovata***-Isolat „B ov01“ ordnete sich in jeder Analyse dem *B. ovata*-Isolat aus der Genbank zu.

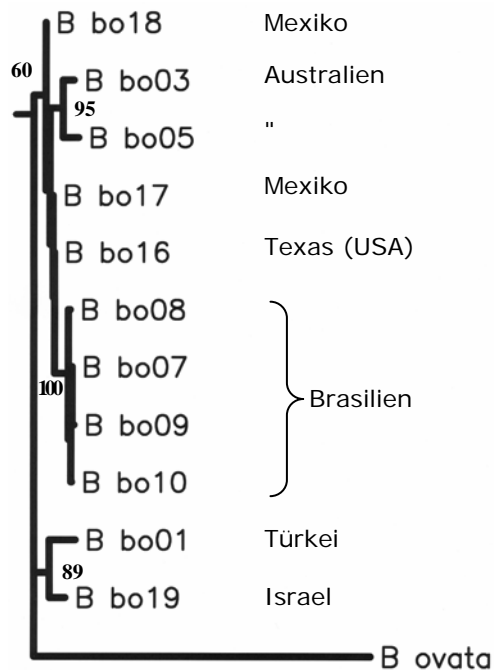


Abbildung 13: „Distanz-Matrix“
Dendrogramm, 18S-rDNA, *B. bovis*

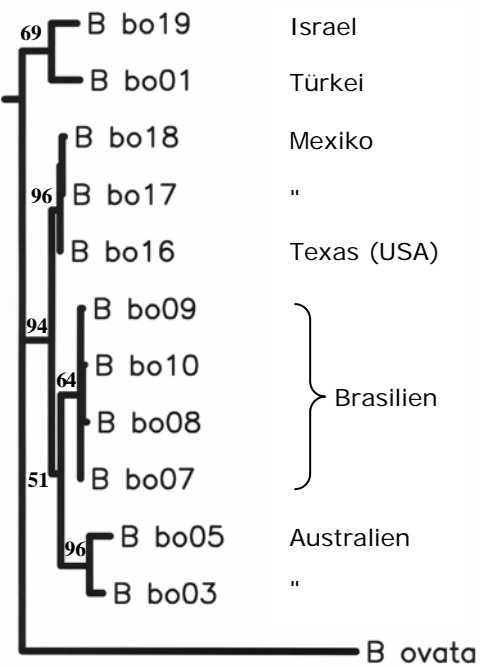


Abbildung 14: „Maximum Parsimony“
Dendrogramm, 18S-rDNA, *B. bovis*

(Die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 100 Replikate in Prozent dar)

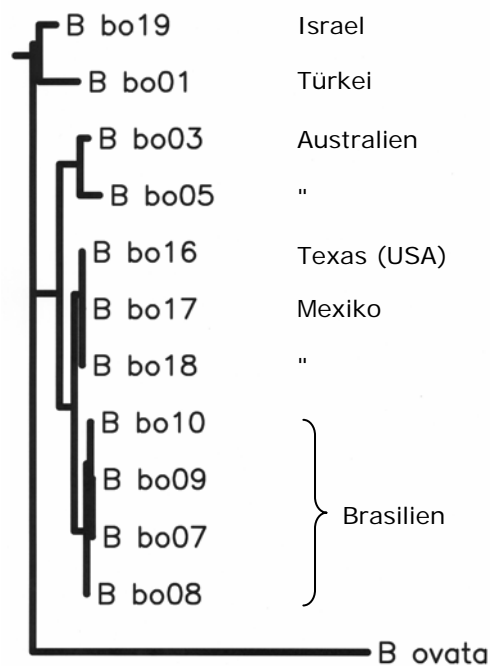


Abbildung 15: „Maximum-Likelihood“
Dendrogramm, 18S-rDNA, *B. bovis*

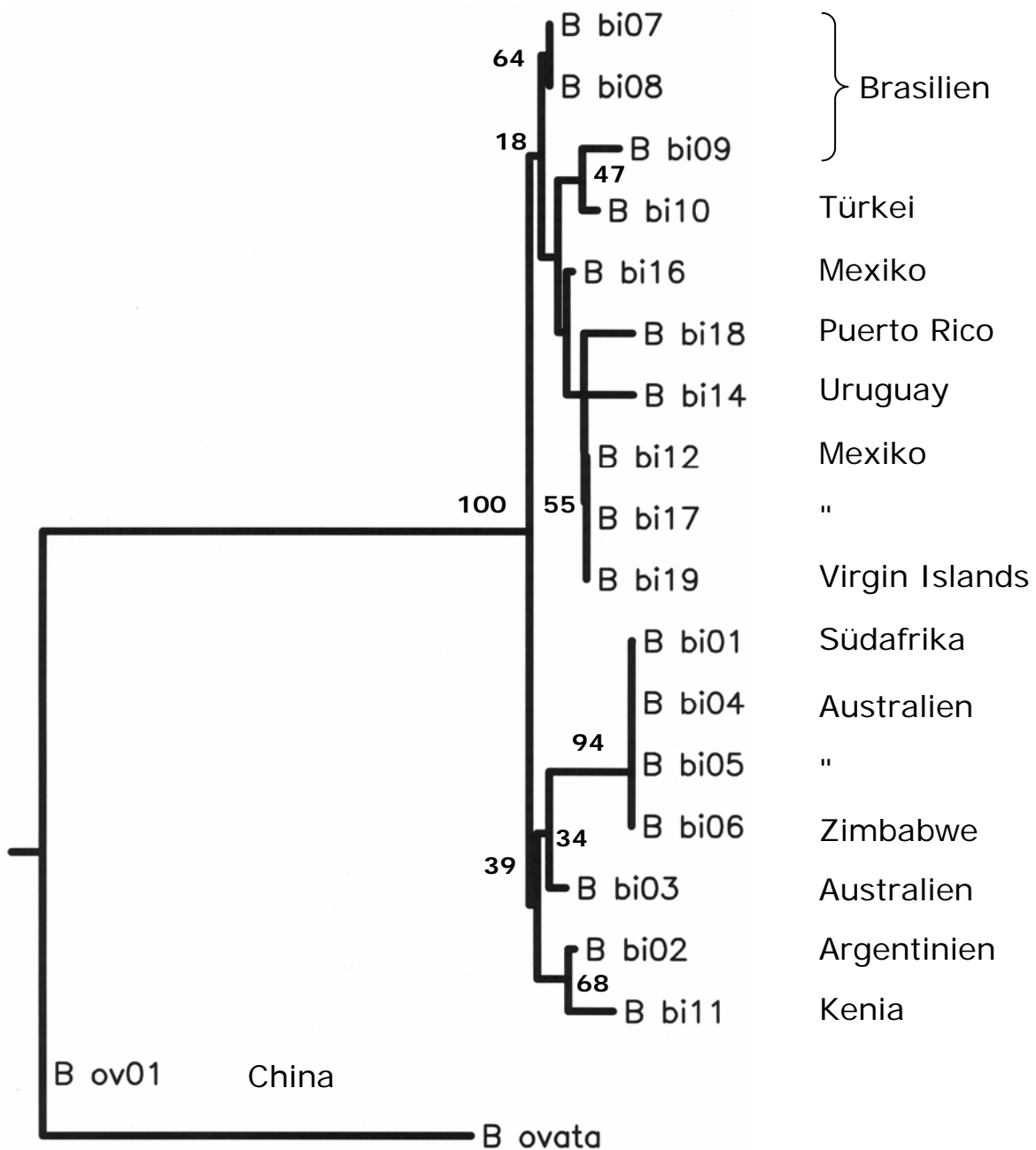


Abbildung 16: „Distanz-Matrix“-Dendrogramm, 18S-rDNA von *B. bigemina*. Die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 100 Replikate in Prozentangaben dar.

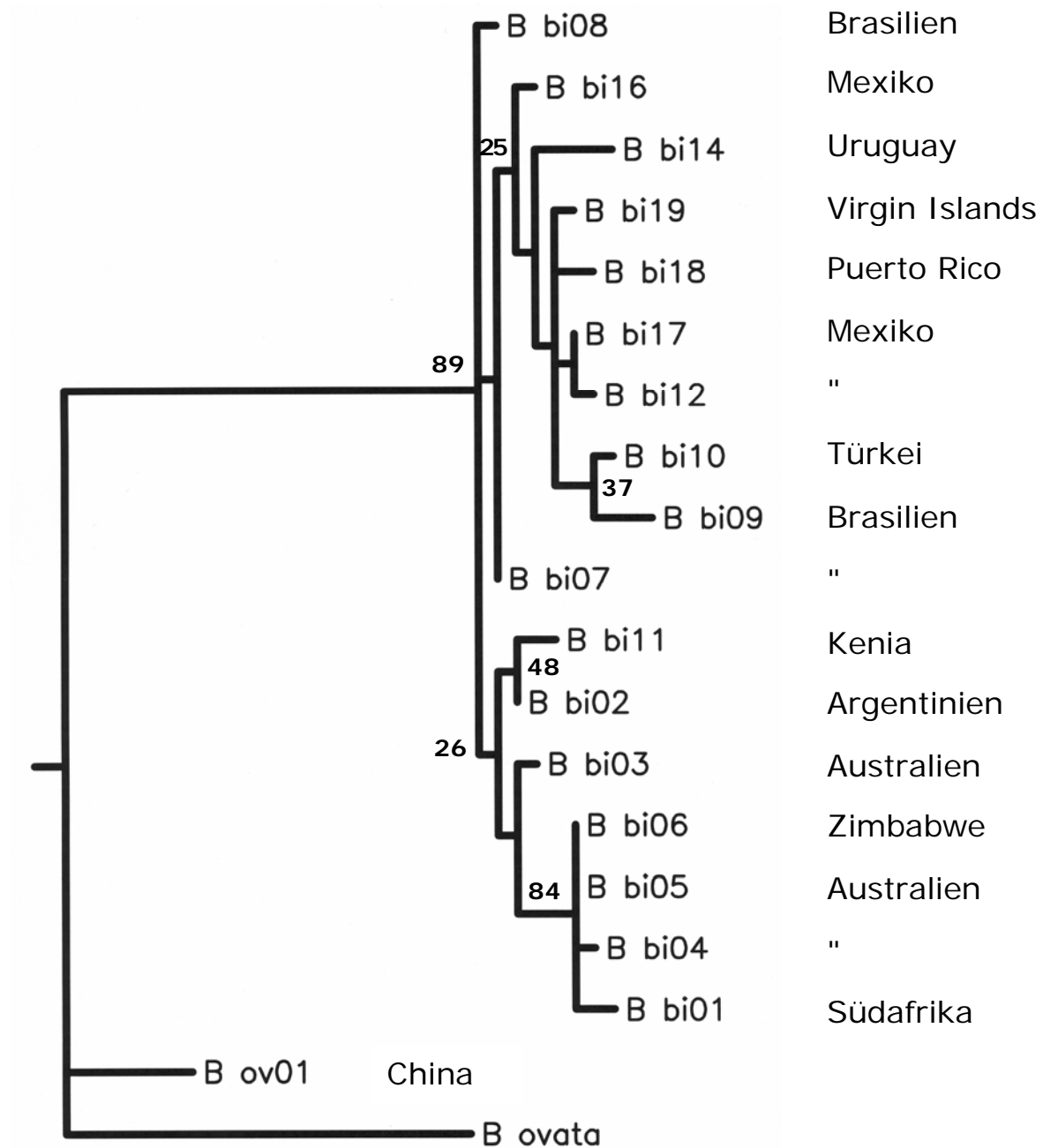


Abbildung 17: „Maximum-Parsimony“-Dendrogramm, 18S-rDNA von *B. bigemina*. Die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 88 Replikate in Prozentangaben dar.

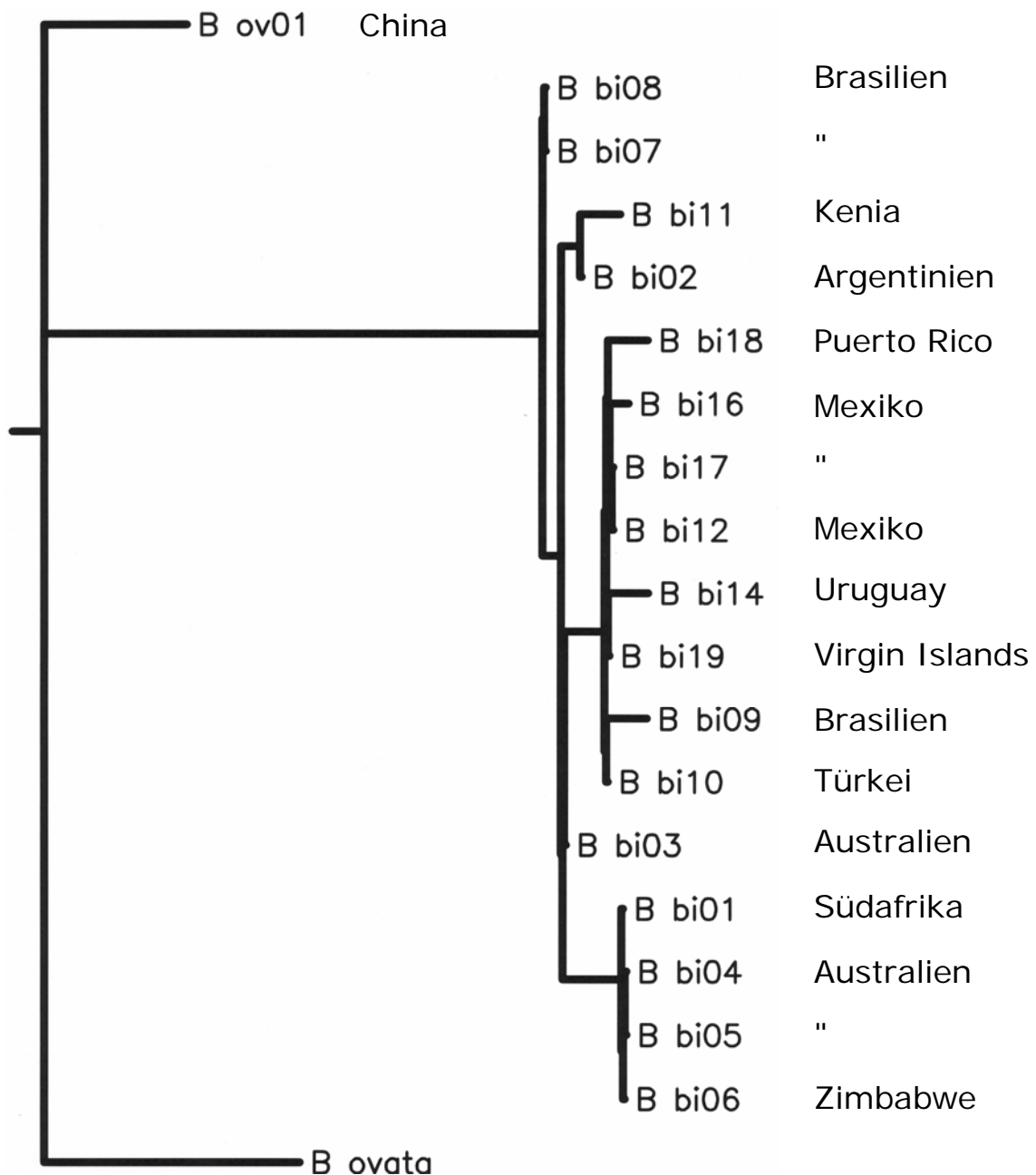


Abbildung 18: „Maximum-Likelihood“-Dendrogramm, 18S-rDNA von *B. bigemina*

3. ITS-Sequenzanalyse zur genotypischen Charakterisierung boviner Babesien

Die ITS-Region der rDNA ist hochpolymorph und besonders gut für die Differenzierung nahe verwandter Taxa geeignet, da dadurch auch Isolate innerhalb einer Babesienart diskriminiert werden können. Deshalb sollte die Analyse der ITS-Sequenzen Einblick in die genetische Verwandtschaft innerhalb der einzelnen Babesienarten geben. Da es sich bei der rDNA um ein multi-copy-Gen (vgl. II, 2.5.) handelt, wurden die Amplifikate der Babesienisolate kloniert (siehe III, 2.4.), um auch die Intraisolat-Variabilität zu erfassen.

Nach der Klonierung standen von 19 *B. bigemina*-, 11 *B. divergens*-Isolaten, einem *B. ovata*-Isolat und 14 *B. bovis*-Isolaten je 2 Klone, und von 5 *B. bovis*-Isolaten je ein Klon zur Verfügung. Die insgesamt 95 Klone wurden anschließend vollständig sequenziert (siehe III, 2.5.1. und 2.5.2.); im Anhang (Kapitel IX) sind die Primär-Sequenzen aller ITS-Klone ersichtlich. Obwohl die Sequenzen innerhalb der einzelnen Arten sehr stark in ihrer Länge differierten, ließen sich die verschiedenen Spezies, wie die anschließende Analyse bestätigte, bereits durch dieses Merkmal voneinander abgrenzen - so konnten Isolate, deren 18S-Sequenz unvollständig ist oder fehlt, einer Spezies zugeordnet werden. Für die *B. bovis*-Klone wurden Sequenzlängen von 654 bis 729 Basen ermittelt. Die beiden *B. ovata*-Klone waren 883 Basen lang. Die Basenabfolge der *B. bigemina*-Klone schwankte zwischen 923 und 943 Basen. Klone der Art *B. divergens* besaßen Sequenzlängen von 995 und 997 Basen.

3.1. Intraisolat-Identitäten

Für diejenigen Isolate, von denen Sequenzen von 2 Klonen vorlagen, wurden die beiden Nukleotidsequenzen miteinander verglichen. Die errechneten Identitäten und Anteile der „gaps“ sind in den Tabellen 9-11 dargestellt. Die Übereinstimmung (Identität) der beiden Klone jeden Isolates ist in den Tabellen in den grau unterlegten Feldern unterhalb der Diagonale ersichtlich. Die gleichen Felder oberhalb der Diagonale beziehen sich auf den prozentualen Anteil der Lücken („gaps“) im jeweiligen Alignment. Bei *B. bovis* (Tab. 9) lagen die Intraisolat-Identitäten der Klone zwischen 93,7 und 100 %. Der Anteil der „gaps“ betrug null bis 2,96 %. Das entspricht maximal 20 Ereignissen in einem Alignment von ca. 700 Basen. Für *B. bigemina* (Tab. 10) wurden etwas höhere Identitäten von 95,8-100 % und maximal 0,75 % „gaps“ ermittelt. Am einheitlichsten stellten sich die *B. divergens*-Klone

(Tab. 3) dar. Hier wurden Intraisolat-Identitäten von 99,4-100 % und bei nur einem Isolat „gaps“ (0,2 %) festgestellt. Die beiden *B. ovata*-Klone zeigten 100 % Übereinstimmung.

3.2. Interisolat-Identitäten

Innerhalb einer Spezies wurden für jedes Isolat, und zwar für beide Klone der gleichen Art, jeweils die höchsten und niedrigsten Identitäten, im Vergleich zu den Klonen der anderen Arten, ermittelt. Dieser paarweise Vergleich aller Klone einer Art sollte Aufschluss über die Heterogenität innerhalb der verschiedenen Spezies geben. Außerdem sollten die dabei ermittelten Werte in Bezug zu den Intraisolat-Identitäten gesetzt werden.

Bei den 33 Klonen von *B. bovis* variierten die Identitäten von mindestens 82,7 % (Isolate „B bo11B“, „B bo19B“) bis 89,7 % und maximal 94,8 bis 100 % sehr stark. Dies wird auch bei Betrachtung der „gaps“ mit max. 14,1 % (Isolate „B bo01B“, „B bo02K“, „B bo02L“), was in dem entsprechenden Alignment von 744 Nukleotiden 105 Basen ausmacht, deutlich. Bei 12 der 33 Klone erreichten die Interisolat-Identitäten höhere Werte, als die innerhalb des jeweiligen Isolates; sie ähnelten also Klonen anderer Isolate mehr, als dem anderen Klon desselben Isolates. Bei den *B. bigemina*-Sequenzen, deren Identitäten mindestens 92,7-94,9 % und maximal 97,8-100 % betragen, besaßen 26 der 38 Klone teilweise höhere Interisolat- als Intraisolat-Identitäten. Da die Klone von *B. divergens* mit hohen Identitäten von min. 99,1-99,5 % und max. 99,1-100 % sehr homogen waren, führten schon Abweichungen von einer Base im Alignment zweier Klone desselben Isolates zu höheren Interisolat-Identitäten; dies traf für 17 der 22 Klone zu. Die Homogenität der *B. divergens*-Isolate wurde durch äußerst niedrige „gap“-Werte von maximal 0,2 % bestätigt.

Tabelle 9: Identitäten der *Babesia bovis*-Klone; Identitäten sind unterhalb und „gaps“ oberhalb der blau gekennzeichneten Diagonale dargestellt. Grau unterlegte Felder stellen Werte desselben Isolates, weiße Felder Interisolat-Werte dar. (- bedeutet: keine „gaps“ vorhanden)

	01 A	01 B	02 K	02 L	03 A	03 C	04 A	04 B	05 B	05 C	06 B	06 D	07 A	07 B	08 A	08 B	09 D
01 A		0,61	13,8	13,8	8,13	8,13	9,31	8,04	9,99	10,1	6,03	7,23	8,89	8,89	8,89	8,89	8,89
01 B	97,1		14,1	14,1	8,43	8,43	9,6	8,33	10,3	10,4	6,32	7,53	9,18	9,18	9,18	9,18	9,18
02 K	90,2	89,7		-	7,62	7,62	5,6	8,3	6,27	6,4	10	7,8	7,07	7,07	7,07	7,07	7,07
02 L	90	89,5	99,7		7,62	7,62	5,6	8,3	6,27	6,4	10	7,07	7,07	7,07	7,07	7,07	7,07
03 A	85,6	86,3	92	91,9		-	2,53	0,99	3,78	3,92	3,09	5,06	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94
03 C	85,9	86,2	91,6	91,5	99,3		2,53	0,99	3,78	3,92	3,09	5,06	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94
04 A	86	86,7	94,1	93,9	95,2	94,8		2,96	1,29	1,43	5,06	2,59	3,89	3,89	3,89	3,89	3,89
04 B	85	85,5	92,1	92	96,2	95,9	93,7		3,66	3,8	3,52	5,5	2,36	2,36	2,36	2,36	2,36
05 B	84,7	84,6	91,7	91,6	92,9	92,4	95,1	95,2		0,14	6,01	3,59	4,84	4,84	4,84	4,84	4,84
05 C	85	85,2	91,6	91,4	92,7	92,3	94,9	95,3	99,6		6,15	3,73	4,98	4,98	4,98	4,98	4,98
06 B	87	87,3	92,4	92,3	96,4	95,9	95	96,1	93	92,7		2,59	3,89	3,89	3,89	3,89	3,89
06 D	87,2	87	93,5	93,3	94,5	94,1	96,7	93,7	94,5	94,3	96,7		6,39	6,39	6,39	6,39	6,39
07 A	87,5	87,3	93	92,8	92,1	91,6	90,3	91,6	89,5	89,1	93,1	91,1		-	-	-	-
07 B	87,5	87	93,1	93	92	91,6	90,3	91,6	89,5	89,1	93,1	91,1	99,7		-	-	-
08 A	87,6	87,1	93,3	93,1	92,2	91,8	90,5	91,7	98,7	89,2	93,2	91,2	99,9	99,9		-	-
08 B	87,6	87,1	93,3	93,1	92,2	91,8	90,5	91,7	98,7	89,2	93,2	91,2	99,9	99,9	100		-
09 D	87,5	87,1	93,1	93	92	91,6	90,3	91,6	98,5	89,1	93,1	91,1	99,7	99,7	99,9	99,9	
09 E	87,6	87,1	93,3	93,1	92,2	91,8	90,5	91,7	98,7	89,2	93,2	91,2	99,9	99,9	100	100	99,9
10 E	87,5	97	93	92,8	91,9	91,5	90,2	91,4	89,4	88,9	92,9	90,9	99,6	99,6	99,7	99,7	99,6
10 L	87,6	87,1	93,3	93,1	92,2	91,8	90,5	91,7	98,7	89,2	93,2	91,2	99,9	99,9	100	100	99,9
11 A	85,8	85,8	91,4	91,2	96,1	95,6	92,7	97,2	94	93,6	97,4	95	92,3	92,3	92,5	92,5	92,3
11 B	85,6	85,7	91,2	91,1	95,9	95,5	92,6	97,1	93,9	93,4	97,2	94,8	92,2	92,2	92,3	92,3	92,2
12 A	96,9	95,4	90,2	90,1	86,9	86,6	87,6	86,1	84,4	84,8	85	85,9	87,6	87,6	87,7	87,7	87,6
12 B	97,2	95,7	90,5	90,4	87,2	86,9	87,9	86,4	84,7	85,1	85,3	86,2	87,9	87,9	88	88	87,9
13 B	85,8	85,6	94,1	93,9	91	90,5	93,2	91,5	92,7	92,3	91,2	92,7	91,3	91	91,2	91,2	91
14 B	86,8	86,9	96,7	96,6	90,4	90,1	92	98,1	90,7	90,5	91,1	92	91,7	91,4	91,5	91,5	91,4
15 A	86	86,5	92	91,8	96,7	96,6	93,9	97,4	94,9	94,4	96,7	94,8	92,6	92,6	92,8	92,8	92,6
16 A	88,8	88,7	97,7	97,4	91,6	91,2	93,5	90,2	91,1	91	91,5	92,4	91,9	92	92,2	92,2	92,6
16 B	88,5	88,1	95,7	95,6	91,6	91,2	93,8	90,8	91,7	91,6	93	94,4	96,4	96,4	96,6	96,6	92
17 B	88,3	88,4	97,1	97	91,3	90,9	93,2	89,9	91	90,8	91,2	92,1	91,5	91,6	91,8	91,8	91,6
18 B	88,5	88,3	95,7	95,6	91,6	91,2	93,8	90,8	91,7	91,6	93	94,4	96,2	96,4	96,6	96,6	96,4
19 A	96,3	95,4	90,1	89,9	86,8	86,5	87,3	85,7	85	85,4	84,9	87,3	87,3	87,3	87,5	87,5	87,3
19 B	96,6	95,1	89,9	89,8	86,6	86,3	87,3	85,8	84,2	84,6	84,7	85,6	87,3	87,3	87,4	87,4	87,3

Fortsetzung Tabelle 9: Identitäten der *Babesia bovis*-Klone

	09 E	10 E	10 L	11 A	11 B	12 A	12 B	13 B	14 B	15 A	16 A	16 B	17 B	18 B	19 A	19 B
01 A	8,89	8,89	8,89	6,45	6,45	2,4	2,4	11,8	11,4	10,9	11,3	10,8	11,6	11	2,1	2,4
01 B	9,18	9,18	9,18	6,74	6,74	2,11	2,11	12,1	11,9	11,2	11,6	11,1	11,9	11,2	1,8	2,11
02 K	7,07	7,07	7,07	10,4	10,4	13,5	13,5	3,15	4,07	5,21	4,49	4,77	4,76	4,9	13,3	13,5
02 L	7,07	7,07	7,07	10,4	10,4	13,5	13,5	3,15	4,07	5,21	4,49	4,77	4,76	4,9	13,3	13,5
03 A	1,94	1,94	1,94	3,5	3,5	7,57	7,57	6,28	6,11	4,35	5,22	4,43	5,49	4,56	7,29	7,57
03 C	1,94	1,94	1,94	3,5	3,5	7,57	7,57	6,28	6,11	4,35	5,22	4,43	5,49	4,56	7,29	7,57
04 A	3,89	3,89	3,89	5,2	5,2	9,01	9,01	4,18	4,03	6,27	3,09	2,26	3,37	2,4	8,73	9,01
04 B	2,36	2,36	2,36	3,38	3,38	7,48	7,48	5,91	6,54	3,7	5,65	4,85	5,91	4,99	7,19	7,48
05 B	4,84	4,84	4,84	5,88	5,88	8,89	8,89	4,05	4,71	6,67	3,78	2,96	4,06	3,01	9,41	8,89
05 C	4,98	4,98	4,98	6,02	6,02	9,03	9,03	4,19	4,85	6,8	3,92	3,1	4,2	3,24	9,55	9,03
06 B	3,89	3,89	3,89	0,43	0,43	5,45	5,45	8,72	8,55	6,27	7,42	6,91	7,68	7,03	5,16	5,45
06 D	6,39	6,39	6,39	3,02	3,02	6,93	6,93	6,42	6,26	8,72	5,07	4,53	5,34	4,67	8,06	6,93
07 A	-	-	-	4,03	4,03	8,33	8,33	6,5	5,56	4,59	4,92	3,59	5,19	3,72	8,06	8,33
07 B	-	-	-	4,03	4,03	8,33	8,33	6,5	5,56	4,59	4,92	3,59	5,19	3,72	8,06	8,33
08 A	-	-	-	4,03	4,03	8,33	8,33	6,5	5,56	4,59	4,92	3,59	5,19	3,72	8,06	8,33
08 B	-	-	-	4,03	4,03	8,33	8,33	6,5	5,56	4,59	4,92	3,59	5,19	3,72	8,06	8,33
09 D	-	-	-	4,03	4,03	8,33	8,33	6,5	5,56	4,59	4,92	3,59	5,19	3,72	8,06	8,33
09 E		-	-	4,03	4,03	8,33	8,33	6,5	5,56	4,59	4,92	3,59	5,19	3,72	8,06	8,33
10 E	99,7		-	4,03	4,03	8,33	8,33	6,5	5,56	4,59	4,92	3,59	5,19	3,72	8,06	8,33
10 L	100	99,7		4,03	4,03	8,33	8,33	6,5	5,56	4,59	4,92	3,59	5,19	3,72	8,06	8,33
11 A	92,5	92,2	92,5		-	5,32	5,32	8,59	8,94	6,14	7,55	7,04	7,82	7,17	5,59	5,32
11 B	92,3	92	92,3	99,9		5,32	5,32	8,59	8,94	6,14	7,55	7,04	7,82	7,17	5,59	5,32
12 A	87,7	87,6	87,7	83	82,8		-	11,5	11,1	10,3	11	10,5	11,3	10,7	0,3	-
12 B	88	87,9	88	83,3	83,2	99,7		11,5	11,1	10,3	11	10,5	11,3	10,7	0,3	-
13 B	91,2	90,9	91,2	91,2	91	87,1	87,4		5,85	4,62	4,95	4,43	5,22	4,56	11,3	11,3
14 B	91,5	91,2	91,5	89,9	89,7	86	86,3	92,8		8,36	2,63	2,36	2,63	2,23	11,3	11,6
15 A	92,8	92,5	92,8	98,5	98,4	86,9	87,2	92	91,3		8,79	7,53	9,04	7,65	10,1	10,4
16 A	92,2	91,9	92,2	89,9	89,7	88,1	88,4	94,8	96,2	91,1		1,41	0,28	1,54	10,8	11
16 B	96,6	96,3	96,6	91,8	91,7	89,3	89,6	94,8	93	92	94,1		1,69	0,14	10,3	10,5
17 B	91,8	91,5	91,8	89,6	89,4	87,7	88	94,3	95,6	90,8	99,6	93,7		1,54	11	11,3
18 B	96,6	96,3	96,6	91,9	91,7	89,3	89,6	94,8	92,9	92	94,1	99,7	93,7		10,4	10,7
19 A	87,5	87,3	87,5	83,8	83,6	98,6	98,9	86,8	86,7	86,5	88,2	89	88	89		0,3
19 B	87,4	87,3	87,4	82,8	82,7	99,1	99,4	86,2	86,7	86,8	87,9	89	87,7	89	98,3	

Tabelle 10: Identitäten der *Babesia bigemina*-Klone; Identitäten sind unterhalb und „gaps“ oberhalb der blau gekennzeichneten Diagonale dargestellt. Grau unterlegte Felder stellen Werte desselben Isolates, weiße Felder Interisolat-Werte dar. (- bedeutet: keine „gaps“ vorhanden)

	01 D	01 O	02 H	02 Q	03 C	03 E	04 A	04 R	05 A	05 B	06 L	06 M	07 O	07 Q	08 T	08 U	09 H	09 I	10 D
01 D		0,43	1,18	1,18	-	-	-	0,43	0,43	0,43	0,54	2,12	0,54	0,75	1,4	1,39	0,54	1,39	1,29
01 O	96,4		0,75	0,75	0,43	0,43	0,43	-	-	-	0,11	1,7	0,11	0,11	0,75	0,75	0,11	0,11	0,86
02 H	93,4	94,7		0,21	1,18	1,18	1,18	0,75	0,75	0,75	0,86	2,42	0,86	1,07	0,86	0,21	0,86	0,21	0,53
02 Q	93,2	94,5	97,4		1,18	1,18	1,18	0,75	0,75	0,75	0,86	2,42	0,64	0,64	0,64	-	0,64	-	0,11
03 C	98,4	96	93,1	92,7		-	-	0,43	0,43	0,43	0,54	2,12	0,54	0,75	0,75	1,18	0,54	1,18	1,29
03 E	98,4	96	93,1	92,7	100		-	0,43	0,43	0,43	0,54	2,12	0,54	0,75	1,18	1,18	0,54	1,18	1,29
04 A	98,4	96	93,1	92,7	100	100		0,43	0,43	0,43	0,54	2,12	0,54	0,75	1,18	1,18	0,54	1,18	1,29
04 R	96,2	99,8	94,5	94,3	95,8	95,8	95,8		-	-	0,11	1,7	0,11	0,11	0,75	0,75	0,11	0,75	0,86
05 A	96,2	98,5	94,6	94,2	96,2	96,2	96,2	98,3		-	0,11	1,7	0,11	0,11	0,75	0,75	0,11	0,75	0,86
05 B	96,7	98,6	94,9	94,5	96,7	96,7	96,7	98,4	99,5		0,11	1,7	0,11	0,11	0,75	0,75	0,11	0,75	0,86
06 L	96,3	99,9	94,7	94,5	95,9	95,9	95,9	99,7	98,4	98,5		1,8	0,22	0,22	0,86	0,86	0,22	0,86	0,96
06 M	97,3	98,2	95	94,9	96,2	96,2	96,2	97,9	97,9	98,5	98,1		1,8	1,8	2,43	2,42	1,8	2,42	2,53
07 O	93,8	95	96,5	96,8	93,6	93,6	93,6	94,8	94,8	95,1	95	95,2		0,22	0,65	0,64	-	0,64	0,96
07 Q	94,9	95,6	95,7	95	95,1	95,1	95,1	95,4	95,5	95,9	95,5	95,6	96,5		0,86	0,86	0,22	0,86	0,75
08 T	93,9	95,2	96,8	97	93,8	93,8	93,8	94,9	94,9	95,4	95,1	95,2	98	96,3		0,64	0,65	0,64	0,96
08 U	93,8	94,4	96,6	97,3	93,2	93,1	93,1	94,2	94,1	94,6	94,4	94,9	96,6	95,3	97,6		0,64	-	0,32
09 H	93,8	95	96,5	96,8	93,6	93,6	93,6	94,8	94,8	95,1	95	95,2	100	96,5	98	96,6		0,64	0,96
09 I	93,8	94,4	96,6	97,3	93,2	93,2	93,2	94,2	94,1	94,6	94,4	94,9	96,6	95,3	97,6	100	96,6		0,32
10 D	93,6	94,9	98	98,9	93,2	93,2	93,2	94,7	94,6	94,2	94,0	95,3	97,3	95,9	97,4	97,7	97,3	97,7	
10 H	93,2	94,5	97,5	100	92,7	92,7	92,7	94,3	94,2	94,5	94,5	94,9	96,8	95	96,9	97,3	96,8	97,3	98,9
11 E	93,2	94,5	96,8	97,7	93,1	93,1	93,1	94,3	94,4	94,5	94,4	94,7	96,5	95,2	96,9	96,7	96,5	96,7	98,2
11 S	92,9	94,1	97,1	98,3	92,7	92,7	92,7	93,8	94,2	94,1	94	94,5	96,8	94,8	97	96,9	96,8	96,9	97,6
12 A	93,6	95	97,7	97,3	93,4	93,4	93,4	94,8	94,8	95,1	94,9	95,1	96,4	95,1	96,8	96	96,4	96	97,3
12 B	94,1	95,4	98,3	98,3	93,7	93,7	93,7	95,1	95	95,4	95,2	95,8	97,1	96	97,2	97,3	97,1	97,3	98,9
13 B	93,4	94,4	97	97,4	92,9	92,9	92,9	94,1	94,1	94,6	94,4	94,8	97,1	95,9	98,1	97,2	97,1	97,2	97,7
13 C	93,3	94,8	99,7	97,4	93,1	93,1	93,1	94,6	94,7	95	94,8	94,9	96,4	95,7	96,6	96,5	96,4	96,5	97,7
14 C	93,5	94,8	97,6	97	93,4	93,4	93,4	94,6	94,5	95	94,8	94,9	97,6	95,8	97,8	96,8	97,6	96,8	97,4
14 D	93,3	94,6	99,7	97,4	93,1	93,1	93,1	94,4	94,5	94,8	94,6	94,9	96,4	95,4	96,6	96,5	96,4	96,5	97,7
15 A	93,8	95	96,8	96,9	93,7	93,7	93,7	94,8	94,8	95,4	95	95,1	98	96,3	99,8	97,3	98	97,3	97,3
15 B	93,8	94,9	96,6	96,6	93,7	93,7	93,7	94,7	94,8	95,4	94,9	95,1	97,5	96,2	99,5	97	97,5	97	97
16 D	93,7	94,9	97,9	98,4	93,3	93,3	93,3	94,7	94,7	95	94,9	95,5	96,8	95,3	97	97,2	96,8	97,2	98,6
16 E	94	95,4	97,7	97,1	93,5	93,5	93,5	95,1	94,9	95,5	95,3	95,2	97,5	96,2	98,3	97,3	97,5	97,3	97,5
17 A	93,5	94,9	97,4	97,4	93,3	93,3	93,3	94,9	94,7	95	94,8	95,2	96,2	95	96,5	96,1	96,2	96,1	97,4
17 B	93,4	94,8	97,3	97,3	93,2	93,2	93,2	94,8	94,6	94,9	94,7	95,1	96,1	94,9	96,4	96	96,1	96	97,3
18 D	93,6	94,7	97,6	97,3	93,2	93,2	93,2	94,5	94,3	94,8	94,6	95,2	96,6	95,6	97	97,2	96,6	97,2	98,1
18 E	93,8	94,9	97,9	97,5	93,4	93,4	93,4	94,7	94,5	95	94,8	95,5	96,9	95,8	97,2	97,4	96,9	97,4	98,3
19 F	93,5	94,7	97,9	97,7	93,3	93,3	93,3	94,5	94,4	94,7	94,7	94,9	97,4	95,5	97,7	97,2	97,4	97,2	98,3
19 G	93,8	95,2	97,5	97,5	93,6	93,6	93,6	95	95	95,4	95,1	95,4	96,5	95,4	96,9	96,2	96,5	96,2	97,5

Fortsetzung Tabelle 10: Identitäten der *Babesia bigemina*-Klone

	10 H	11 E	11 S	12 A	12 B	13 B	13 C	14 C	14 D	15 A	15 B	16 D	16 E	17 A	17 B	18 D	18 E	19 F	19 G
01 D	1,18	1,18	1,18	1,18	1,07	1,39	1,18	0,86	1,39	1,07	1,07	1,07	1,39	1,07	1,07	1,18	1,18	1,07	1,07
01 O	0,75	0,75	0,75	0,75	0,64	0,75	0,75	0,43	0,96	0,43	0,43	0,64	0,75	0,64	0,64	0,75	0,75	0,64	0,64
02 H	0,21	0,21	0,21	0,21	0,11	0,21	-	0,54	0,21	0,54	0,54	0,11	0,43	0,11	0,11	-	-	0,11	0,11
02 Q	-	-	0,21	0,21	0,11	-	0,21	0,43	0,32	0,32	0,32	0,32	-	0,11	0,11	0,21	0,21	0,11	0,11
03 C	1,18	1,18	1,18	1,18	1,07	1,18	1,18	0,86	1,39	0,86	0,86	1,07	1,18	1,07	1,07	1,18	1,18	1,07	1,07
03 E	1,18	1,18	1,18	1,18	1,07	1,18	1,18	0,86	1,39	0,86	0,86	1,07	1,18	1,07	1,07	1,18	1,18	1,07	1,07
04 A	1,18	1,18	1,18	1,18	1,07	1,18	1,18	0,86	1,39	0,86	0,86	1,07	1,18	1,07	1,07	1,18	1,18	1,07	1,07
04 R	0,75	0,75	0,75	0,75	0,64	0,75	0,75	0,43	0,96	0,43	0,43	0,64	0,75	0,64	0,64	0,75	0,75	0,64	0,64
05 A	0,75	0,75	0,75	0,75	0,64	0,75	0,75	0,43	0,96	0,43	0,43	0,64	0,75	0,64	0,64	0,75	0,75	0,64	0,64
05 B	0,75	0,75	0,75	0,75	0,64	0,75	0,75	0,43	0,96	0,43	0,43	0,64	0,75	0,64	0,64	0,75	0,75	0,64	0,64
06 L	0,86	0,86	0,86	0,86	0,75	0,86	0,86	0,54	1,07	0,54	0,54	0,75	0,86	0,75	0,75	0,86	0,86	0,75	0,75
06 M	2,42	2,42	2,42	2,21	2,32	2,42	2,42	2,11	2,63	2,11	2,11	2,32	2,42	2,32	2,32	2,42	2,42	2,32	2,32
07 O	0,64	0,64	0,86	0,86	0,75	0,64	0,86	0,32	1,07	0,32	0,32	0,75	0,86	0,75	0,75	0,86	0,86	0,75	0,75
07 Q	0,64	0,64	0,86	0,86	0,96	0,86	1,07	0,54	1,28	0,54	0,54	0,96	0,64	0,75	0,75	1,07	1,07	0,96	0,75
08 T	0,64	0,64	0,86	0,86	0,75	0,64	0,86	0,32	1,07	0,32	0,32	0,75	0,86	0,75	0,75	0,86	0,86	0,75	0,75
08 U	-	-	0,21	0,21	0,11	-	0,21	0,32	0,43	0,32	0,32	0,11	0,21	0,11	0,11	0,21	0,21	0,11	0,11
09 H	0,64	0,64	0,86	0,86	0,75	0,64	0,86	0,32	1,07	0,32	0,32	0,75	0,86	0,75	0,75	0,86	0,86	0,75	0,75
09 I	-	-	0,21	0,21	0,11	-	0,21	0,32	0,43	0,32	0,32	0,11	0,21	0,11	0,11	0,21	0,21	0,11	0,11
10 D	0,11	0,11	0,32	0,32	0,43	0,32	0,53	0,64	0,75	0,64	0,64	0,43	0,11	0,21	0,21	0,53	0,53	0,43	0,21
10 H		-	0,21	0,21	0,11	-	0,21	0,32	0,43	0,32	0,32	0,32	-	0,11	0,11	0,21	0,21	0,11	0,11
11 E	97,7		0,21	0,21	0,11	-	0,21	0,32	0,43	0,32	0,32	0,11	-	0,11	0,11	0,21	0,21	0,11	0,11
11 S	98,3	97,5		0,21	0,11	0,21	0,21	0,54	0,43	0,54	0,54	0,11	0,21	0,11	0,11	0,21	0,21	0,11	0,11
12 A	97,3	96,9	97,5		0,11	0,21	0,21	0,54	0,43	0,54	0,54	0,11	0,21	0,11	0,11	0,21	0,21	0,11	0,11
12 B	98,3	97,6	97,6	98,2		0,11	0,11	0,43	0,32	0,43	0,43	-	0,11	-	-	0,11	0,11	-	-
13 B	97,4	96,8	97,3	96,9	97,3		0,21	0,32	0,43	0,32	0,32	0,11	0,21	0,11	0,11	0,21	0,21	0,11	0,11
13 C	97,4	96,7	97	97,6	98,2	96,9		0,54	0,21	0,54	0,54	0,11	0,21	0,11	0,11	-	-	0,11	0,11
14 C	97	97	97	97,2	97,2	96,9	97,5		0,75	-	-	0,43	0,54	0,43	0,43	0,54	0,54	0,43	0,43
14 D	97,4	96,7	97	97,6	98,2	96,9	99,6	97,5		0,75	0,75	0,32	0,64	0,32	0,32	0,21	0,21	0,32	0,32
15 A	96,9	96,9	97	96,8	97,1	98,1	96,7	97,8	96,7		-	0,43	0,54	0,43	0,43	0,54	0,54	0,43	0,43
15 B	96,6	96,7	96,7	96,6	96,8	97,7	96,4	97,6	96,4	99,5		0,43	0,54	0,43	0,43	0,54	0,54	0,43	0,43
16 D	98,4	97,3	98,1	97,6	98,4	97,4	97,7	97,5	97,7	96,8	96,4		0,11	-	-	0,11	0,11	-	-
16 E	97,1	96,8	97	97,3	97,5	98,3	97,1	97,7	97,5	98,3	98,1	97,2		0,11	0,11	0,43	0,43	0,32	0,11
17 A	97,4	97	97,6	99,5	97,9	97	97,3	97	97,3	96,6	96,3	97,7	97		-	0,11	0,11	-	-
17 B	97,3	96,9	97,5	99,4	97,7	96,9	97,2	96,9	97,2	96,4	96,2	97,6	96,9	99,7		0,11	0,11	-	-
18 D	97,3	97,2	97,3	97,6	98,5	96,9	97,5	97,5	97,5	96,9	96,5	98	97,4	97,3	97,2		-	0,11	0,11
18 E	97,5	97,4	97,5	97,9	98,7	97,1	97,7	97,7	97,7	97,1	96,8	98,2	97,6	97,5	97,4	99,6		0,11	0,11
19 F	97,7	97,5	98,1	97,6	98,4	97,4	97,7	97,9	97,7	97,5	97,2	98,8	97,8	97,3	97,2	98,4	98,6		-
19 G	97,5	97,1	97,7	99,4	97,7	97,1	97,4	97,3	97,4	96,9	96,7	97,8	97,3	99,5	99,4	97,4	97,6	99,8	

Tabelle 11: Identitäten der *Babesia divergens*-Klone; Erklärung siehe Tabellen 9 und 10

	01 A	01 C	02 A	02 B	03 B	03 C	04 A	04 B	05 A	05 B	06 B
01 A		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01 C	99,9		-	-	-	-	-	-	-	-	-
02 A	99,8	99,7		-	-	-	-	-	-	-	-
02 B	99,6	99,7	99,4		-	-	-	-	-	-	-
03 B	99,7	99,6	99,5	99,7		-	-	-	-	-	-
03 C	99,7	99,6	99,5	99,7	100		-	-	-	-	-
04 A	99,9	99,8	99,7	99,5	99,8	99,8		-	-	-	-
04 B	99,8	99,7	99,6	99,6	99,7	99,7	99,9		-	-	-
05 A	99,9	99,8	99,7	99,7	99,6	99,6	99,8	99,9		-	-
05 B	100	99,9	99,8	99,6	99,7	99,7	99,9	99,8	99,9		-
06 B	99,8	99,9	99,6	99,8	99,5	99,5	99,7	99,8	99,9	99,8	
06 C	99,7	99,8	99,5	99,7	99,4	99,4	99,6	99,7	99,8	99,7	99,9
07 A	99,9	99,8	99,7	99,7	99,6	99,6	99,8	99,9	100	99,9	99,9
07 C	99,7	99,8	99,5	99,7	99,4	99,4	99,6	99,7	99,8	99,7	99,9
08 B	99,5	99,6	99,3	99,3	99,2	99,2	99,4	99,3	99,4	99,5	99,5
08 C	99,7	99,8	99,5	99,5	99,6	99,6	99,8	99,7	99,6	99,7	99,7
09 A	99,6	99,5	99,4	99,4	99,5	99,5	99,7	99,8	99,7	99,6	99,6
09 B	99,6	99,7	99,4	99,4	99,3	99,3	99,5	99,4	99,5	99,6	99,6
10 B	99,6	99,7	99,4	99,6	99,3	99,3	99,5	99,6	99,7	99,6	99,8
10 C	99,9	100	99,7	99,7	99,6	99,6	99,8	99,7	99,8	99,9	99,9
11 A	99,5	99,4	99,3	99,3	99,4	99,4	99,6	99,7	99,6	99,5	99,5
11 B	99,6	99,5	99,4	99,6	99,7	99,7	99,7	99,8	99,7	99,6	99,6

	06 C	07 A	07 C	08 B	08 C	09 A	09 B	10 B	10 C	11 A	11 B
01 A	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
01 C	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
02 A	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
02 B	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
03 B	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
03 C	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
04 A	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
04 B	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
05 A	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
05 B	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
06 B	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
06 C		-	-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
07 A	99,8		-	0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
07 C	100	99,8		0,2	-	-	-	0,2	0,2	-	-
08 B	99,6	99,4	99,6		0,2	0,2	0,2	-	-	0,2	0,2
08 C	99,8	99,6	99,8	99,6		-	-	0,2	0,2	-	-
09 A	99,7	99,7	99,7	99,3	99,7		-	0,2	0,2	-	-
09 B	99,7	99,5	99,7	99,5	99,7	99,4		0,2	0,2	-	-
10 B	99,7	99,7	99,7	99,3	99,5	99,4	99,4		-	0,2	0,2
10 C	99,8	99,8	99,8	99,6	99,8	99,5	99,7	99,7		0,2	0,2
11 A	99,4	99,6	99,4	99,9	99,4	99,5	99,1	99,3	99,4		-
11 B	99,5	99,7	99,5	99,1	99,5	99,6	99,2	99,4	99,5	99,5	

3.3. Intraspezies-Sequenzanalyse

Die Ergebnisse der phylogenetischen Untersuchungen, bei denen jeweils die ITS-Sequenzen einer Art aligniert und anhand von „Distanz-Matrix“- , „Maximum-Parsimony“- und „Maximum-Likelihood“-Methoden (Kapitel III 2.6.) analysiert wurden, sind in Form von Dendrogrammen in den Abbildungen 19-27 dargestellt. Die Sequenz des *B. ovata*-Klons „B ov01A“ diente dabei als Außengruppe; der zweite *B. ovata*-Klon „B ov01B“ wurde zusammen mit *B. bigemina* analysiert. Bei den Arten *B. bovis*, *B. bigemina* wurde eine Aufspaltung der Isolate nach geographischer Herkunft festgestellt.

Die drei Dendrogramme für *Babesia bovis*, die aus den unterschiedlichen Analysemethoden resultierten, sind in den Abbildungen 19-21 enthalten. Dabei zeigte sich in allen Dendrogrammen ein ähnliches Erscheinungsbild. Bei allen drei Analysemethoden identisch bildeten sich zwei Hauptgruppen. Innerhalb der ersten Hauptgruppe, die aus den asiatischen und nordafrikanischen Isolaten bestand, grenzten sich stets die Klone aus der Türkei ab. Die zweite Hauptgruppe bildeten die Isolate aus Nord-, Mittel- und Südamerika, Australien und Südafrika. Innerhalb dieser Isolate ließen sich drei Untergruppen abgrenzen: Die Isolate aus Brasilien, die restlichen Isolate des amerikanischen Kontinents und die Gruppe der australischen und südafrikanischen Isolate. Bei allen drei Analysen traten die brasilianischen Isolate in einer gemeinsamen Aufzweigung auf (Bootstrap-Werte 100 %). Die Gruppe der Isolate aus Südafrika und Australien fand sich im Cluster der restlichen amerikanischen Isolate wieder. Von diesen war sie in der „Maximum-Parsimony“ (Bootstrap-Wert 91 %) und der „Maximum-Likelihood“-Analyse gut abgrenzbar. Im Dendrogramm der „Distanz-Matrix“-Analyse jedoch teilte sich die zweite Hauptgruppe in zwei Äste, die sowohl amerikanische, als auch australische Isolate beinhalten. Dabei erschienen die beiden Klone der australischen Isolate „B bo04“ und „B bo06“, und des amerikanischen Isolates „B bo16“ weit über die zweite Hauptgruppe verteilt; dies spiegelt die Heterogenität dieser Isolate wieder.

Wie in den Abbildungen 22-24 ersichtlich, gruppierten sich die beiden Klone des *Babesia ovata*-Isolates zusammen und trennten sich klar von den *Babesia bigemina*-Klonen. Bei der letzten Spezies befanden sich die Isolate aus Australien und aus dem südlichen Afrika (Südafrika, Zimbabwe) stets in einer gemeinsamen Gruppe (Bootstrap-Werte von 100 % in der „Distanz-Matrix“- und 94 % in der „Maximum-Parsimony“-Analyse). Dabei ordneten sich die einzelnen Klone jedoch nicht nach Isolaten zusammen, lediglich die Klone der australischen Isolate „B bi03“ und „B bi05“ bildeten eine Ausnahme. In der dritten, größten Gruppe positionierten sich ein afrikanisches Isolat aus Kenia („B bi11“) und ein Isolat aus der Türkei („B bi10“) benachbart, innerhalb der amerikanischen Isolate, aber nicht deutlich getrennt von diesen. Die Klone der Isolate aus Amerika, der Türkei und Kenia waren sehr heterogen und gruppierten sich nicht nach Isolaten. Es traten nur die Klone der Isolate „B bi15“ (Uruguay), „B bi17“ (Mexiko) und „B bi18“ (Puerto Rico) zusammen auf.

Bei *Babesia divergens* (Abb. 25-27) zeigten sich mit allen drei Analysemethoden sehr kurze Astlängen der Dendrogramme. Bei den Isolaten, die ausschließlich aus Europa stammten, waren keine Gruppen von Klonen oder Isolaten erkennbar. Bootstrap-Werte für *B. divergens* wurden nicht angegeben.

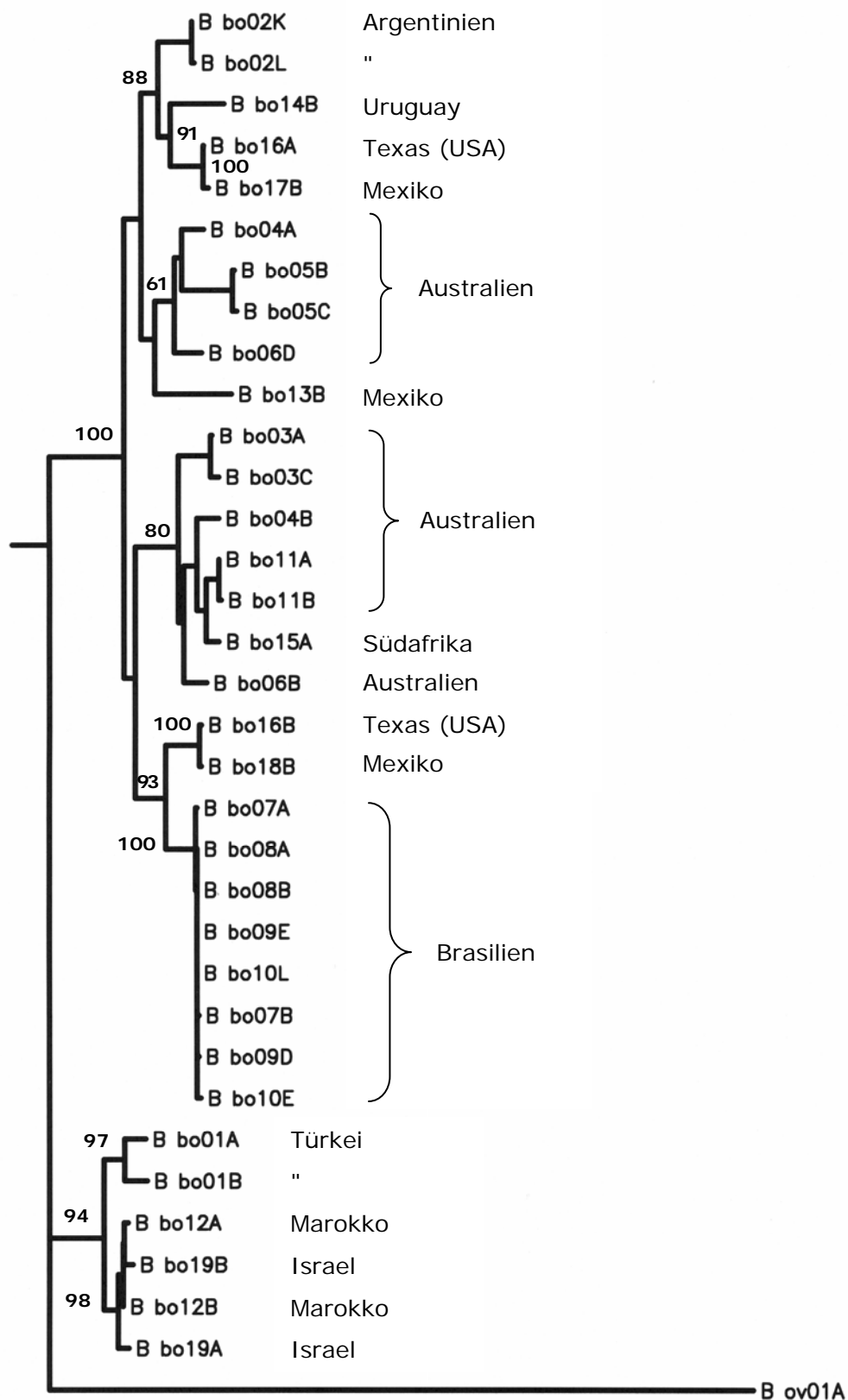


Abbildung 19: „Distanz-Matrix“-Dendrogramm der ITS-rDNA von *B. bovis*. Die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 100 Replikate in Prozentangaben dar.

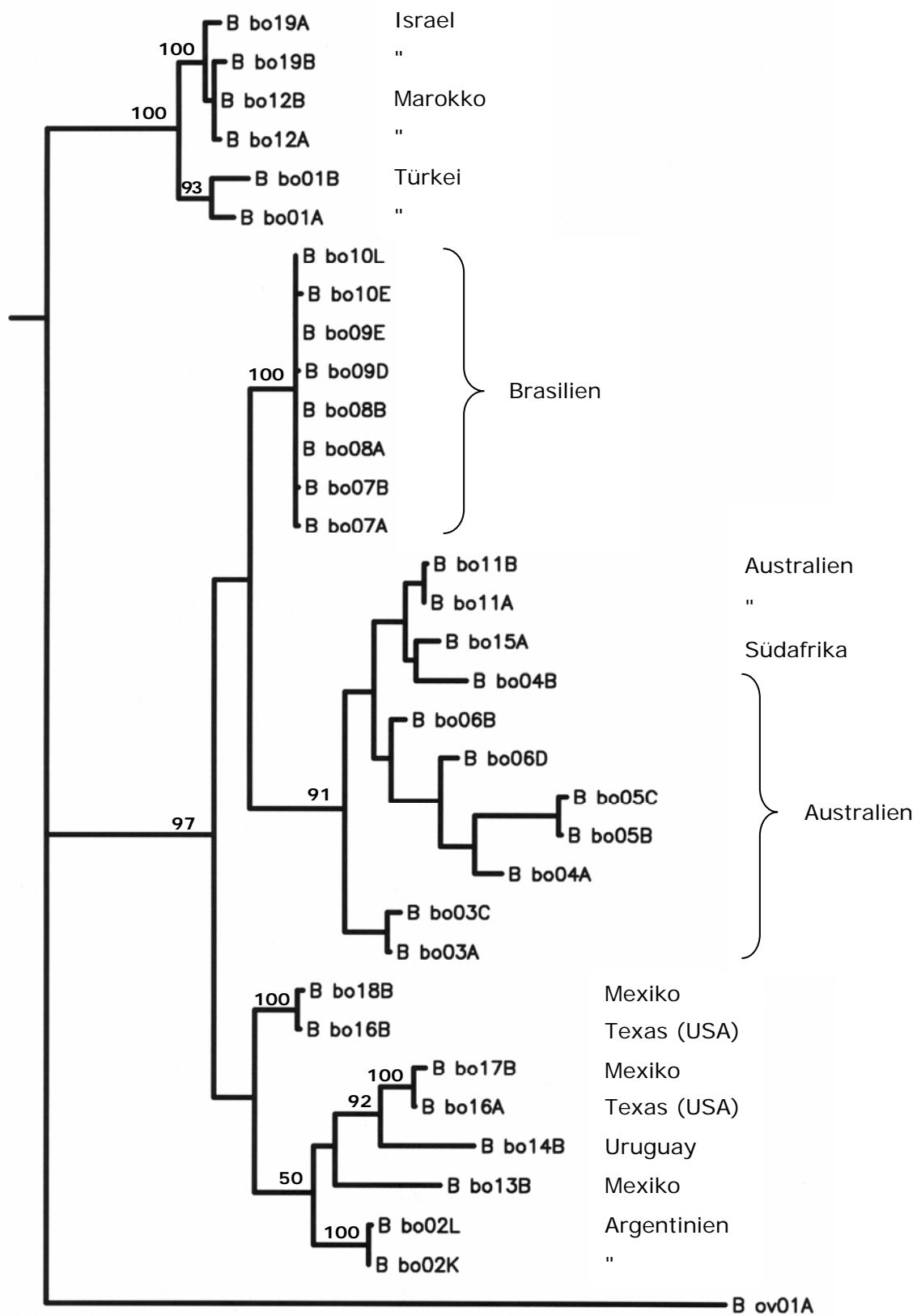


Abbildung 20: „Maximum-Parsimony“-Dendrogramm der ITS-rDNA von *B. bovis*. Die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 100 Replikate in Prozentangaben dar.

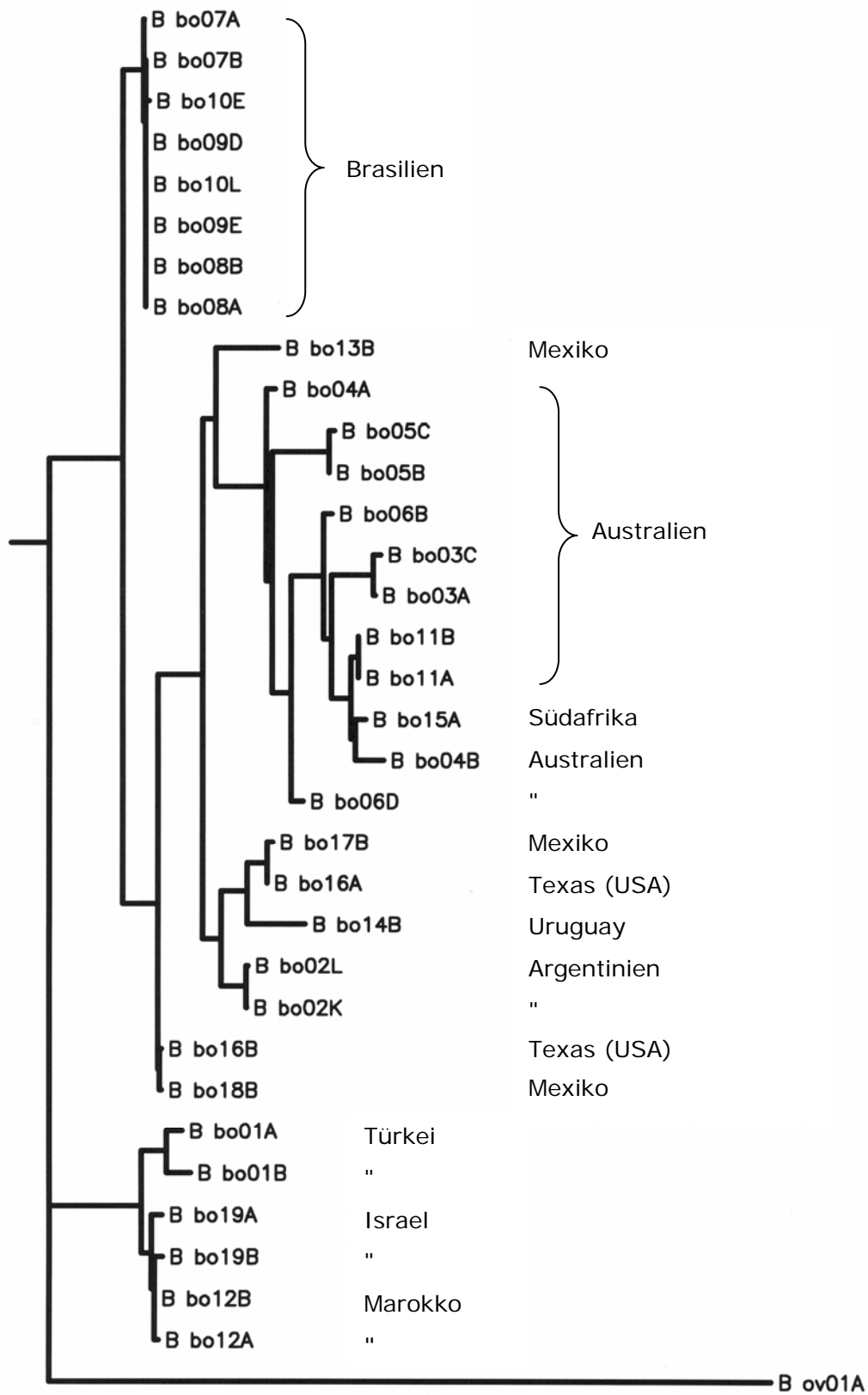


Abbildung 21: „Maximum-Likelihood“-Dendrogramm der ITS-rDNA von *B. bovis*

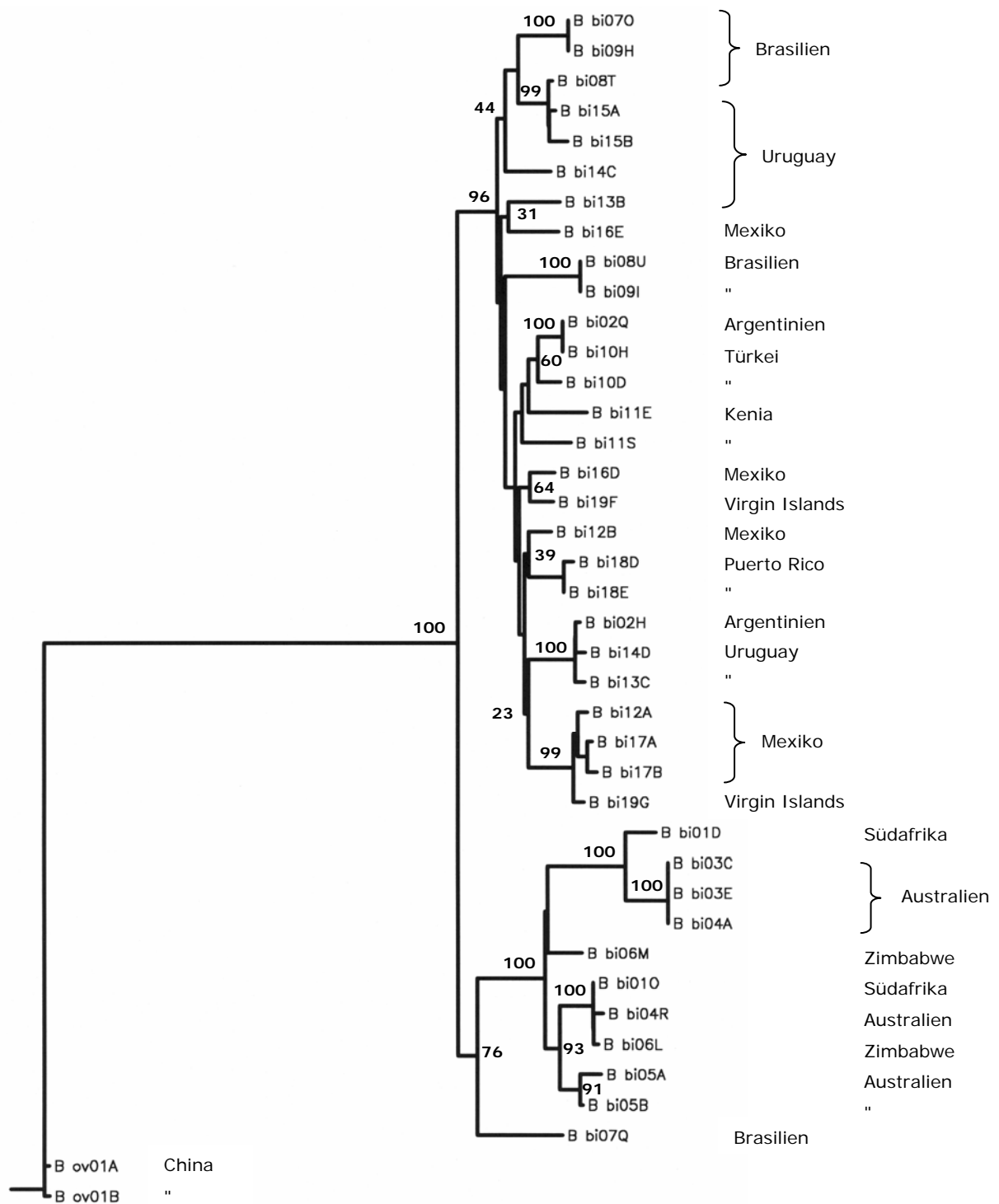


Abbildung 22: „Distanz-Matrix“-Dendrogramm der ITS-rDNA von *B. bigemina* und *B. ovata*. Die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 100 Replikate in Prozentangaben dar.

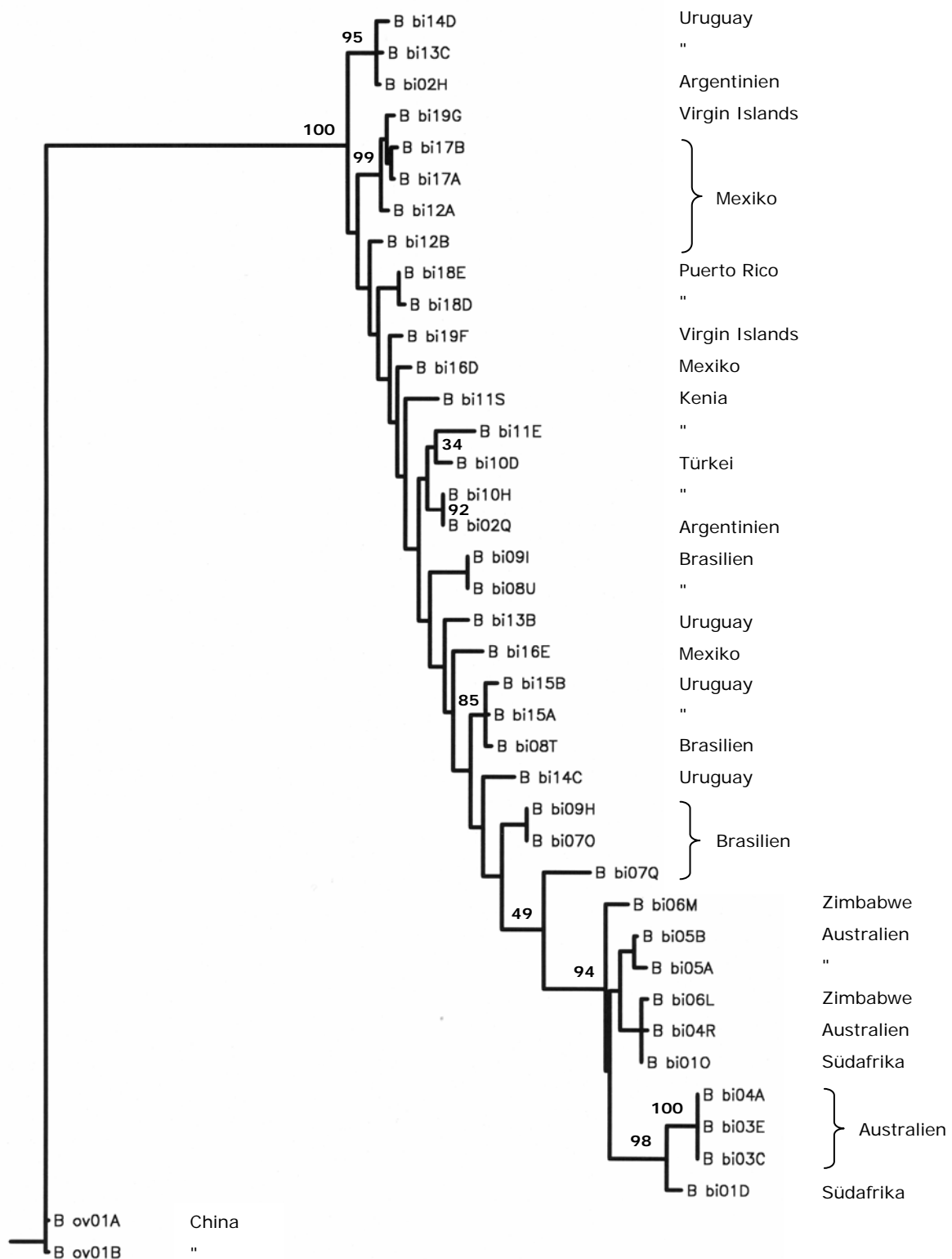


Abbildung 23: „Maximum-Parsimony“-Dendrogramm der ITS-rDNA von *B. bigemina* und *B. ovata*. Die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 98 Replikate in Prozentangaben dar.

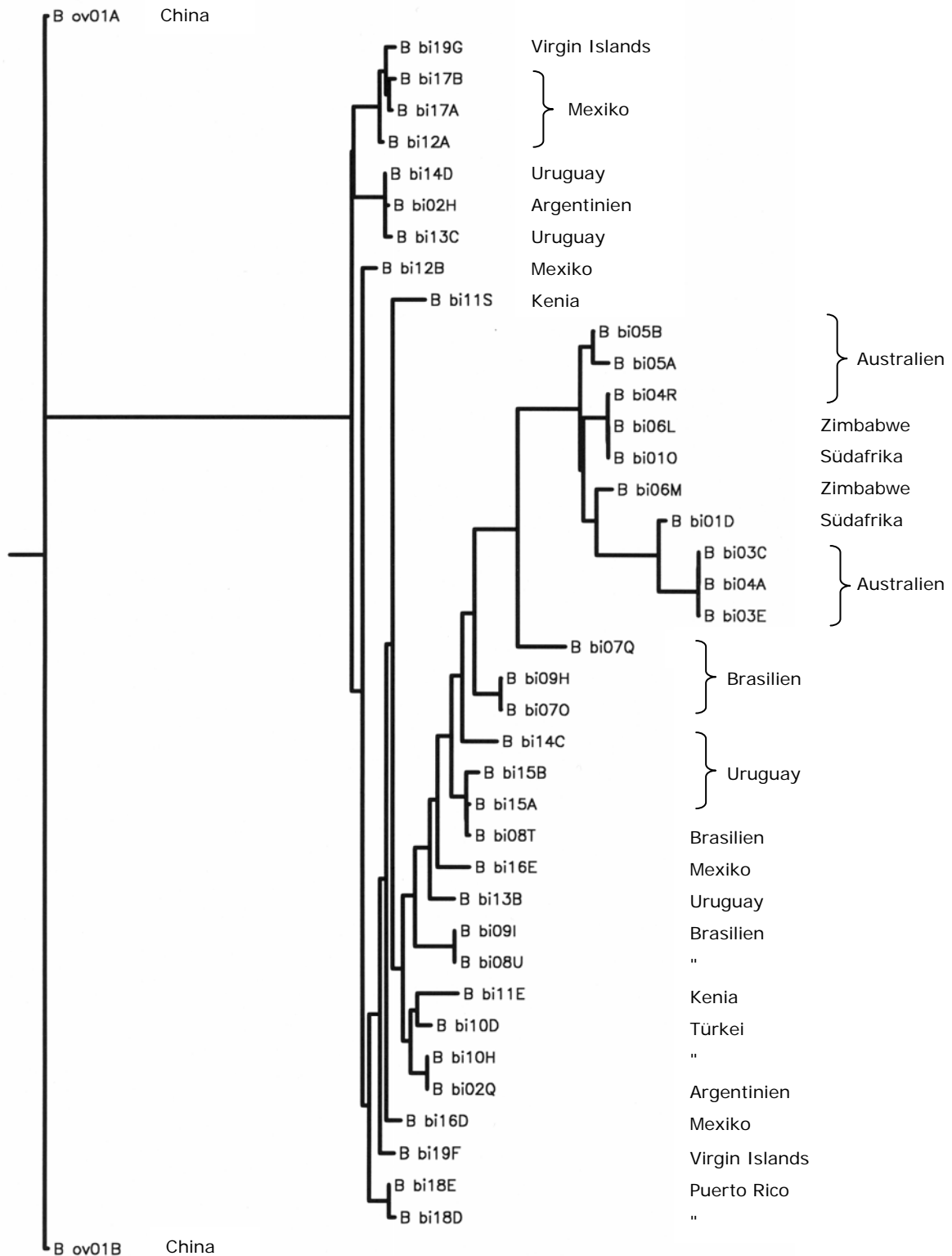


Abbildung 24: „Maximum-Likelihood“-Dendrogramm der ITS-rDNA von *B. bigemina* und *B. ovata*

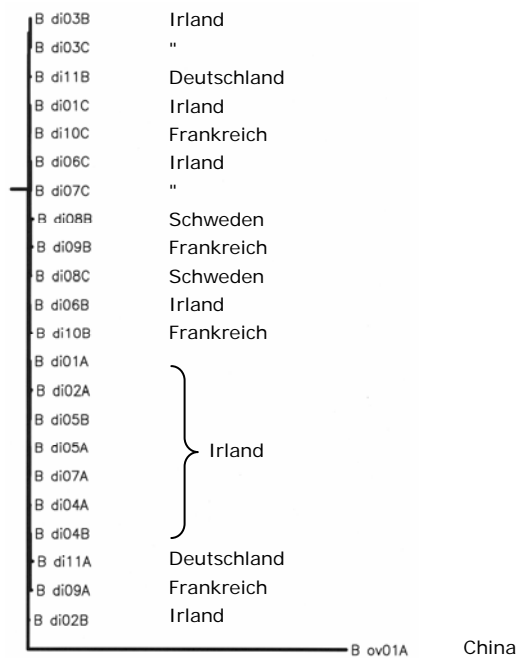


Abbildung 25: „Distanz-Matrix“
Dendrogramm, ITS-rDNA, *B. divergens*

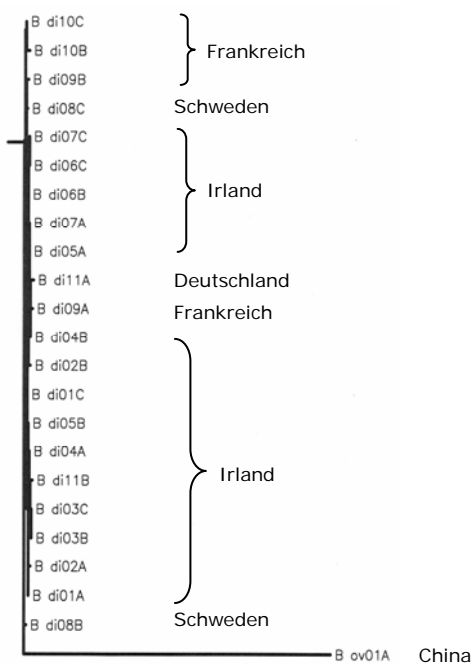


Abbildung 26: „Maximum-Parsimony“
Dendrogramm, ITS-rDNA, *B. divergens*

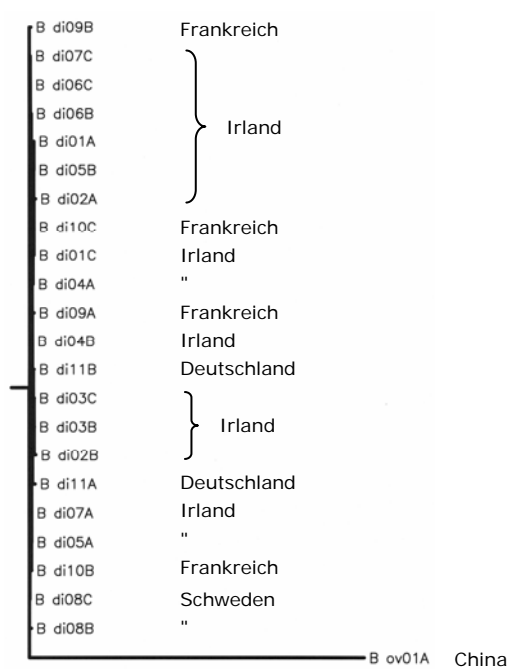


Abbildung 27: „Maximum-Likelihood“
Dendrogramm, ITS-rDNA, *B. divergens*

4. Mischinfektionen

Sowohl bei der Untersuchung der 18S-, als auch der ITS-Region traten bei einzelnen Isolaten Sequenzen oder Teilsequenzen auf, die sich nicht bestimmten Babesienarten zuordnen ließen. Sie wurden nicht in die bereits dargestellte phylogenetische Analyse einbezogen, sollen aber hier gesondert dargestellt werden.

4.1. 18S-Region

Bei einem als *B. bovis* eingesandten Isolat („B bo11“) wurde nach direkter Sequenzierung eine 18S-Sequenz ermittelt, die zu anderen *B. bovis*-Sequenzen lediglich eine Identität von 91,3 % zeigte. Ebenso waren die Sequenzen zweier *B. bigemina*-Isolate („B bi18“ und „B bi19“) zu anderen *B. bigemina*-Sequenzen nur zu 91,4 % („B bi18“) und 96,2 % („B bi19“) identisch. Die Sequenzen ordneten sich in phylogenetischen Untersuchungen auch nicht einer anderen Babesienart zu. Daraufhin wurden jeweils Partialsequenzen des 5'-Endes und des 3'-Endes, die mit den Sequenzierprimern RIB-41 bzw. RIB-20 produziert worden waren, separat untersucht. Diese Partialsequenzen ordneten sich unterschiedlichen Babesienarten zu. Die beiden RIB-41 und RIB-20 Sequenzen stammten dabei jeweils aus demselben PCR-Ansatz. Die im Vergleich mit *B. bovis* bzw. *B. bigemina* ermittelten Identitäten (Tabelle 12) bestätigten für die 5'-Teilsequenz bei allen drei Isolaten mit 99,6 bis 99,8 % die bei der Einsendung angegebene Babesienart. Die 3'-Partialsequenzen erreichten im Vergleich mit der entsprechenden Babesienart aber nur Übereinstimmungen zwischen 87,9 und 88,5 %; im Gegensatz dazu betrug die Identitäten der Isolate „B bi18“ und „B bi19“ mit *B. bovis* 98,7 bzw. 99 % und des Isolates „B bo11“ mit *B. bigemina* 99,1 %.

Tabelle 12: Identitäten der „Teilsequenzen“ mit den entsprechenden 18S-Sequenzen von *B. bigemina* und *B. bovis*

Isolat	„B bo11“		„B bi18“		„B bi19“	
Sequenzierprimer Seite	RIB-41 3'	RIB-20 5'	RIB-41 3'	RIB-20 5'	RIB-41 3'	RIB-20 5'
Länge (Basen)	888	353	793	860	433	848
Identität mit <i>B. bigemina</i>	99,2 %	88,8 %	87,9 %	99,8 %	88,6 %	99,6 %
Identität mit <i>B. bovis</i>	88 %	99,7 %	98,7 %	91,5 %	99 %	91,2 %

Zur Bestätigung der aus den Identitäten der 3'-Teilsequenzen abgeleiteten Artenzuordnung wurden diese Sequenzen zusammen mit *B. bigemina*, *B. bovis* und *B. divergens*-Sequenzen in einem Dendrogramm dargestellt (Abb. 28). In den Sequenzen der Isolate „B bo11“, „B bi18“ und „B bi19“ wurden die fehlenden Nukleotide der 5'-Bereiche jeweils durch ein „N“ ersetzt. Dabei ordneten sich die RIB-41 Sequenzen der drei Isolate ebenfalls der jeweils anderen Art zu.

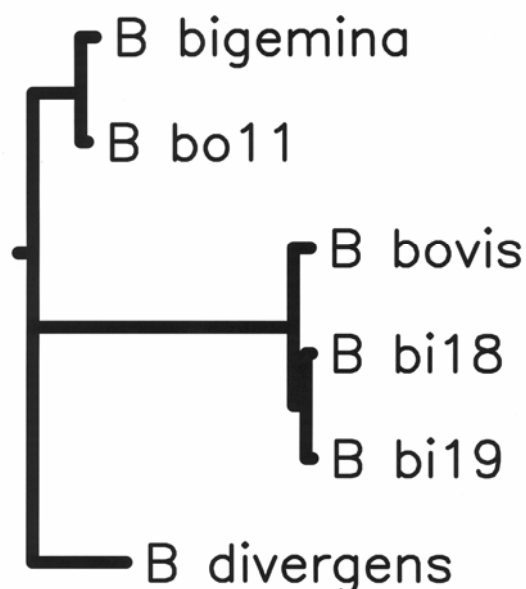


Abbildung 28: „Maximum-Likelihood“-Dendrogramm, basierend auf dem Vergleich von 3'-Teilsequenzen („B bo11“, „B bi18“, und „B bi19“) mit *B. bovis*-, *B. bigemina*- und *B. divergens*-Sequenzen

Um zu überprüfen, wie häufig bei Mischinfektionen und anschließender Direktsequenzierung von PCR-Produkten Mischsequenzen aus unterschiedlichen Babesienarten vorkommen, wurden weitere 10 unabhängige PCR-Produkte des Isolates „B bi18“ mit den Primern RIB-41 und RIB-20 sequenziert. Dabei wurden alle Sequenzen eindeutig der Art *B. bigemina* zugeordnet.

4.2. ITS-Region

Bei der Klonierung von ITS-Produkten wurden bei Isolat „B bi18“ ITS-Klone unterschiedlicher Größe und Sequenz, die sich unterschiedlichen Babesienarten zuordnen, erhalten. Die beiden *B. bigemina*-Klone „B bi18D“ und „B bi18E“ wurden in die phylogenetische Analyse einbezogen. Von einem weiteren PCR-Ansatz wurde jedoch ein Klon „B bi18F“ erzeugt, dessen Insert nicht, wie erwartet, eine Größe von ca. 1 kb besaß, sondern nur etwa 0,7 kb groß war (Abb. 29). Die Sequenzierung ergab eine Länge von 707 Basen und damit eine Größe, die für *B. bovis* charakteristisch ist. Bei paarweisen Alignments betrug die Identitäten mit den Sequenzen der *B. bigemina*-Klone „B bi18D“ und „B bi18E“ nur 71,1 bzw. 71,4 %, mit den *B. bovis*-Klonen „B bo16A“ und „B bo17B“ hingegen 97,3 und 96,8 %.

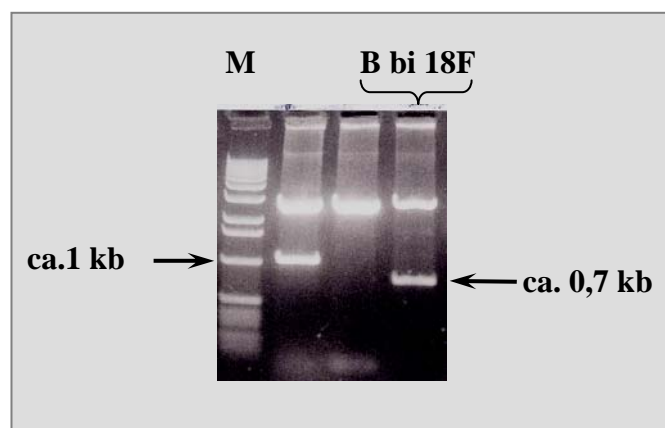


Abbildung 29: Gelelektrophoretische Auftrennung von Plasmid und Insert von drei Klonen derselben PCR, Isolat „B bi18“

M DNA-Größenstandard (1 kb-Leiter)

Eine phylogenetische Analyse unter Einbeziehung von *B. bigemina*-, *B. bovis*- und *B. divergens*-Isolaten (Abb. 30) zeigte ebenfalls die Verwandtschaft des Klon „B bi 18F“ mit den *B. bovis*-Isolaten. Er ordnete sich nicht bei den anderen *B. bigemina*-Klonen des Isolates „B bi18“ ein, sondern bildete eine Gruppe mit dem *B. bovis*-Klonen.

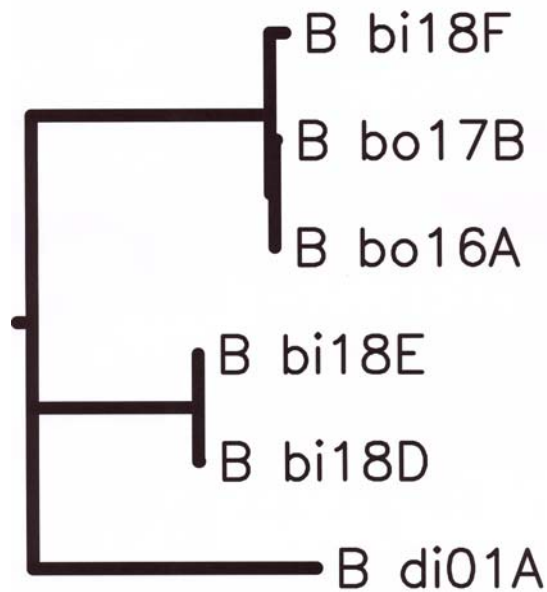


Abbildung 30: „Maximum-Likelihood“-Dendrogramm, basierend auf dem Vergleich von ITS-Klonen („B bi18D“, „B bi18E“ und „B bi18F“) des *B. bigemina*-Isolates „B bi18“ mit *B. bigemina*-, *B. bovis*- und *B. divergens*-Isolaten

V. Diskussion

1. Methodische Aspekte

Das in der Problemstellung geschilderte Ziel der Arbeit war, mit Anwendung einer molekular-phylogenetischen Methode, die bovinen Babesienarten durch die Analyse von Sequenzvergleichen eindeutig zu differenzieren. Weiterhin sollten genotypisch ähnliche Gruppen unterhalb des Artniveaus identifiziert und abgegrenzt werden. Im Gegensatz zu morphologischen und biologischen Methoden sind genotypische Merkmale weitgehend unabhängig von Umwelteinflüssen und damit objektiv beschreibbar. Daher spielen molekulare Techniken bei der Bestimmung und Einteilung von Parasiten eine immer größer werdende Rolle (Monis 1999).

Zielsequenzen:

Vorraussetzung für die Analyse von Verwandtschaftsbeziehungen ist die Auswahl geeigneter Zielsequenzen. So existieren im Erbgut DNA-Abschnitte, die sich im Laufe der Evolution unterschiedlich rasch verändern. Es gibt Regionen mit niedrigen und hohen Mutationsraten, anhand derer entfernt verwandte, bzw. nahe verwandte Taxa differenziert werden können (Monis et al. 2002). Da in der vorliegenden Arbeit sowohl die Beziehungen zwischen unterschiedlichen Babesienarten des Rindes, als auch die Verwandtschaft von Isolaten innerhalb einzelner Arten analysiert werden sollten, wurden zwei Abschnitte der nukleären rDNA (vgl. Kapitel II 5.) unterschiedlicher Konservierungsgrade ausgewählt: Mit der 18S-rDNA, die für die rRNA der kleinen Untereinheit der Ribosomen kodiert und deshalb stärker konserviert ist, wurden Beziehungen zwischen entfernt verwandten Spezies untersucht. Die Region der „Internen transkribierten Spacer“ (ITS) der rDNA, die den ITS1, den die 5,8S-rRNA kodierenden Abschnitt und den ITS2 umfasst, und vor allem im Bereich der Spacer-Regionen hochpolymorph ist, diente der Analyse naher verwandter Erreger, also innerhalb der Arten. Da die ITS-Region nicht kodierend ist, unterliegt sie keinem Selektionsdruck und kann im Laufe der Evolution ohne Beeinträchtigung einer biologischen Funktion Mutationen ansammeln. Solche Sequenzen werden auch als „neutrale DNA“ (Kunz 2002) bezeichnet. Schnell evolvierende oder neutrale Sequenzen variieren auch innerhalb von Arten und eignen sich deshalb für intraspezifische Untersuchungen (Barta 2001).

Beide Genabschnitte wurden bereits zur Differenzierung von verschiedenen Babesienarten eingesetzt: Anhand der 18S-rRNA wurden phylogenetische Vergleiche zwischen verschiedenen Babesien- und Theilerienspezies (Ellis et al. 1992, Allsopp et al. 1994, Mackenstedt et al. 1994, Kjemtrup et al. 2000, Criado-Fornelio et al. 2003) erstellt; bei den *Babesia bigemina*-, *B. bovis*- und *B. divergens*-Isolaten, die getrennt von der Theileriengruppe auftraten, grenzte sich *B. divergens* ab. Phylogenetische Analysen der 18S-rDNA ermöglichten die Differenzierung von *B. gibsoni*-Isolaten unterschiedlicher geographischer Herkunft (Zahler et al. 2000). Die nicht kodierenden Regionen der internen transkribierten Spacer, die eine höhere Variabilität besitzen, wurden in Untersuchungen unterhalb des Artneiveaus bei *B. canis* erfolgreich angewendet (Zahler et al. 1998).

Primer:

Die für die Amplifikation der ITS-Region verwendeten Primer RIB-3 und RIB-13 wurden ursprünglich für *Babesia canis* (Zahler et al. 1998) konstruiert und auch bei den bovinen Babesien eingesetzt, da ihre Sequenzen hochkonserviert sind. Der „Upstream“-Primer RIB-13 hybridisiert mit einem bei Babesienarten konservierten Sequenzabschnitt der 18S-rDNA. Der „Downstream“-Primer RIB-3 ist auf eine im Tier- und Pflanzenreich konservierte Region der 28S gerichtet. Bei der 18S-PCR wurde als „Upstream“-Primer RIB-19, der auf einen bei Eukaryonten konservierten Abschnitt der 18S gerichtet ist und als „Downstream“-Primer RIB-20, ein für mehrere Babesien- und Theilerienarten konservierter Primer der 18S-rDNA verwendet. Auch diese beiden Primer stammen aus einer Untersuchung über Hundebabesien (Zahler et al. 2000) und wurden für die Rinderbabesien eingesetzt, da Mutationen in diesen beiden Bereichen der 18S-rDNA eher unwahrscheinlich sind. Die beiden Primerpaare RIB-3/13 und RIB-19/20 besitzen den Vorteil, dass mindestens ein Primer pro Reaktion nicht auf Säuger-DNA passt und sie sich daher für Untersuchungen mit Wirbeltierblut eignen. Darüber hinaus erlaubt der Konservierungsgrad der Primersequenzen, die Amplifizierung aller Rinderbabesien mit einem Primerpaar, d.h. sie sind nicht für eine bestimmte Babesienart spezifisch. Somit würden auch bisher unbekannte Arten erfasst werden.

PCR-Optimierung:

Da für die direkte Sequenzierung, aber auch für die Klonierung ein PCR-Produkt möglichst hoher Qualität nötig ist, war zunächst die Optimierung der PCR-Bedingungen von vorrangigem Interesse. Vor allem die Erzeugung von Sequenzen aus klonierten ITS-Produkten besteht aus vielen Arbeitsschritten und ist damit sehr zeitaufwendig. Die

Wahrscheinlichkeit, dass unspezifische PCR-Produkte kloniert wurden, ist aber umso höher, je weniger gut die PCR optimiert ist. Dies wird jedoch häufig erst nach der Sequenzierung durch so genannte „Fremdsequenzen“ deutlich. Die Entstehung solcher unspezifischer PCR-Produkte kann durch verschiedene Faktoren, die Einfluss auf die Spezifität einer PCR-Reaktion besitzen, reduziert werden. Ein wichtiger Parameter ist die Annealingtemperatur, die in Abhängigkeit der Primer 55-70 °C beträgt. Je höher sie gewählt wird, desto spezifischer erfolgt die Primeranlagerung. Mit der sogenannten „Hot-start“-PCR, bei der eine initiale Denaturierung bei 96 °C über 2 min, vor Zugabe der Taq-Polymerase, erfolgt, wird die Abkühlung des Reaktionsansatzes auf Temperaturen unterhalb der Annealingtemperatur verhindert und eine stärkere Denaturierung der DNA erreicht. Durch Absenken der MgCl₂-Konzentration und der Zyklenzahl wird der Anlagerung und Amplifikation unspezifischer Produkte entgegengewirkt. Als Additiv eingesetzt, verstärkt DMSO die DNA-Denaturierung und beeinflusst die Sekundärstruktur, BSA kann Inhibitoren abschwächen.

Das Problem bei der Amplifizierung der ITS-Region bestand im Auftreten meist mehrerer unspezifischer Nebenbanden mit hoher Intensität. Als Ursachen kommen unterschiedliche PCR-Inhibitoren (Prichard & Tait 2001), die Basenabfolge und die Sekundärstruktur der zu amplifizierenden Sequenz in Frage. Wie aus den Abbildungen 6 und 7 (Kapitel IV 1.1.) deutlich hervorgeht, wurde bei der ITS-PCR zunächst durch Variation des MgCl₂-Gehaltes und der Zyklenzahl eine Produktbande der erwarteten Größe erzeugt und anschließend durch Zugabe von BSA und DMSO verstärkt. Ein positiver Einfluss von DMSO auf die Amplifizierung von ITS-Produkten wurde auch in anderen Untersuchungen festgestellt (Buckler et al. 1996). Einen starken Einfluss auf den Erfolg der PCR-Optimierung hatte auch BSA, mit dessen Einsatz unspezifische Nebenbanden verringert und somit die Spezifität erhöht wurde. Zur Verdeutlichung soll erwähnt werden, dass durch die PCR-Optimierung 60 % weniger Fremdsequenzen sequenziert wurden.

Sequenzierung:

Die Sequenzierung der PCR-Produkte kann auf zwei unterschiedlichen Wegen erfolgen. Entweder die Klonierung des Amplifikates in einem Vektor mit anschließender Sequenzierung oder die direkte Sequenzierung. Welche Methode gewählt wird, hängt letztendlich von der Fragestellung ab. Nachteil der Klonierung sind die vielen, zeitintensiven Arbeitsschritte; dafür ermöglicht sie, durch die Vermehrungszyklen des Vektors, die Untersuchung auch schwacher PCR-Produkte. Die Entscheidung für eine Klonierung der

Produkte aus der ITS-PCR erfolgte jedoch aus einem weiteren Grund. Bei der rDNA handelt es sich um ein multi-copy Gen, das im Genom von Eukaryonten in mehreren Kopien, die nicht immer identisch sein müssen, vorliegt (siehe Kapitel II 5.). Da die ITS Bereiche zu den hochpolymorphen Regionen der rDNA gehören, wird für die verschiedenen Kopien des rDNA Gens ebenfalls eine größere Variabilität in ihrer Basensequenz erwartet (Rosenthal 2001), als bei den stärker konservierten Bereichen. Durch die vorausgehende Klonierung eines einzigen Moleküls des PCR-Produktes, wird die Sequenzierung nur eines rDNA-Typs gesichert. Außerdem können auch verschiedene Individuen (Babesienzellen) eines Isolates Unterschiede in ihrer rDNA aufweisen. Um eventuell vorkommende unterschiedliche rDNA-Typen zu erfassen, wurden von jedem Isolat mehrere Klone aus unabhängigen PCR-Reaktionen sequenziert. Dabei wurden sowohl bei *B. bovis*, als auch bei *B. bigemina* große Intraisolat-Heterogenitäten festgestellt (Kapitel IV 3.1.). Bei *B. bovis* lagen die Intraisolat-Identitäten der Klone zwischen 93,7 und 100 %. Für *B. bigemina* wurden etwas höhere Identitäten von 95,8-100 % ermittelt. Im Gegensatz dazu stellten sich die *B. divergens*-Klone mit 99,4-100 % und die beiden *B. ovata*-Klone mit einer Identität von 100 % sehr homogen dar.

Bei der Sequenzierung der 18S-PCR wurde auf eine vorherige Klonierung der Produkte verzichtet. Zum einen ist die Sequenz stärker konserviert, und bei Untersuchungen mit *B. microti* zeigte sich, dass 18S-rDNA-Klone zu mehr als 99,9 % identisch waren (M. Zahler-Rinder, pers. Mitteilung). Andererseits sollte die Analyse dieser Sequenz in erster Linie der Artdifferenzierung von Babesienarten dienen, wobei die Erfassung von möglichen Heterogenitäten nicht dringend notwendig ist. Ein Vorteil dieses Vorgehens ist, dass die PCR-Produkte nach einem Reinigungsschritt unmittelbar sequenziert werden können. Wegen der Länge ihrer Sequenz von ca. 1,7 kb wurden die 18S-Produkte automatisch, durch einen kommerziellen Anbieter, sequenziert. Die Reproduzierbarkeit dieser automatisierten Methode wurde durch Sequenzierung von 7 PCR-Produkten desselben Isolates, die sich auf einer Länge von 1525 Basen in nur 7 Positionen unterschieden, bestätigt. Somit stellt sie, im Vergleich zur manuellen Sequenzierung, die qualitativ mindestens gleichwertige, schnellere, leichter auswertbare und inzwischen auch kostengünstigere Variante dar.

2. Molekular-phylogenetische Differenzierung boviner Babesienarten

Die phylogenetische Systematik wird als „Entdeckung und Begründung von Verwandtschaftsbeziehungen“ definiert. Sie wurde bereits 1950 von dem Entomologen und Theoretiker W. Hennig (1913-1976) begründet und ermöglicht die Einordnung der Organismen in einen Stammbaum (Wägele 2000). Obgleich in der phylogenetischen Systematik ursprünglich morphologische Merkmale verwendet wurden, können dafür ebenso molekulare Daten eingesetzt werden. In der vorliegenden Arbeit bilden Analysen von **18S-rDNA** Sequenzen die Grundlage, Verwandtschaftsverhältnisse bei bovinen Babesien zu beschreiben.

Von den nach derzeitiger Auffassung sieben validen Babesienarten des Rindes standen von *B. bovis* 19, von *B. bigemina* ebenfalls 19, von *B. divergens* 11 und von *B. ovata* ein Isolat zur Verfügung. Damit sind die wirtschaftlich bedeutendsten Arten *B. bovis* und *B. bigemina* zahlreich repräsentiert; ebenso *B. divergens*, eine Babesienart, die hauptsächlich für die mitteleuropäischen Länder, und dabei auch für Deutschland, von Bedeutung ist. Von *B. major* einer Art, die vereinzelt in Europa und Asien und damit im Verbreitungsgebiet von *B. divergens* / Europa (Zwart et al. 1968, Brocklesby & Barnett 1970, Liebisch et al. 1976, Findlay & Begg 1977) und *B. ovata* / Asien (Yin et al. 1996, 1997) nachgewiesen wurde, war kein PCR-Produkt verfügbar. Die in Südafrika beschriebene Art *B. occultans* (Gray & de Vos 1981, Thomas & Mason 1981), wurde ebenfalls nicht einbezogen, da keine Isolate zur Verfügung standen. Auch *B. jakimovi* konnte nicht beschafft werden. Diese Art ist bisher lediglich einmal und zwar im Jahr 1977 in Sibirien beschrieben (Nikolskii et al. 1977). Daher wurden in die phylogenetische Untersuchung vier Arten nämlich *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens* und *B. ovata* einbezogen.

Zur Differenzierung der einzelnen Arten wurden die Sequenzen der 18S-rDNA verwendet. Dabei wurden die alignierten Sequenzdaten der vier Babesienarten mit den Methoden „Distanz-Matrix“, „Maximum-Parsimony“ und „Maximum-Likelihood“ analysiert und in getrennten Dendrogrammen dargestellt. Damit wurden drei Analysemethoden angewendet, die auf unterschiedlichen Algorithmen basieren. Die daraus resultierenden phylogenetischen Beziehungen waren nahezu identisch, und dies unterstützt die Plausibilität des Ergebnisses.

In allen drei Dendrogrammen (Kapitel IV, Abb. 10-12) war eine, nach den einzelnen Arten, getrennte Aufzweigung aller Isolate ersichtlich. Damit wurde, bis auf eine Ausnahme, die bei der Einsendung der Proben angegebene Babesienart bestätigt. Zudem wurde, zumindest bei den hier untersuchten Isolaten, die derzeit angewendete Taxonomie und Abgrenzung von *B. divergens*, *B. bovis*, *B. bigemina* und wahrscheinlich auch *B. ovata* bestätigt. Die primär auf morphologischen und serologischen Merkmalen der Erreger beruhende Arteinteilung wurde bei der genotypischen Analyse klar reproduziert und in den „Distanz-Matrix“- und „Maximum-Parsimony“-Analysen durch hohe Bootstrap-Werte von je 100 % für die Arten *B. bovis*, *B. bigemina* und *B. divergens*, und 94 bzw. 70 % für *B. ovata* unterstützt. Auch die Reihenfolge der Aufzweigung war in allen drei Dendrogrammen identisch. Dabei spaltete sich zuerst *B. divergens* ab, während *B. bovis* und *B. bigemina* aus einem gemeinsamen Ast hervorgingen, was für eine größere Verwandtschaft dieser beiden Arten spricht.

Für *B. ovata* lässt sich in dieser 18S-Untersuchung die Validität des Artstatus nicht ganz eindeutig beurteilen. Es stand nur ein Isolat zur Verfügung, für das die 18S-Sequenz nicht vollständig ermittelt werden konnte. Daher wurde eine *B. ovata* Sequenz aus der Genbank (AY081192) in die Analyse mit einbezogen. In den verschiedenen Stammbäumen gruppieren sich beide Sequenzen stets zusammen, die Art des hier untersuchten Isolates wurde also korrekt identifiziert. Ob eine Abgrenzung der Art *B. ovata* von *B. bigemina* gerechtfertigt ist, kann anhand dieser 18S-Analyse nicht beurteilt werden, da in der „Maximum-Likelihood“-Analyse die beiden *B. ovata* Sequenzen innerhalb der *B. bigemina*-Gruppe lagen, sich also nicht klar abgrenzten. Diese genetische und auch die morphologische (Kapitel II. 1.6.) Ähnlichkeit könnte einen getrennten Artstatus in Frage stellen. Dieser Ansicht widersprechen jedoch die Ergebnisse der „Maximum-Parsimony“- und „Distanz-Matrix“-Analyse, bei der sich beide Arten klar, und durch hohe Bootstrap-Werte gestützt, abgrenzten. Für einen getrennten Artstatus spricht auch die serologische Differenzierbarkeit von *B. ovata*, *B. bigemina* und *B. major* (Fujinaga 1980a). Außerdem wird *B. ovata* durch *Haemaphysalis longicornis* übertragen, nicht aber durch *Boophilus*-Spezies, die Vektoren von *B. bigemina* (Higuchi et al. 1987b). Auf phylogenetischen Untersuchungen basierende Auffassungen zum Artstatus von *B. ovata* waren nicht zu ermitteln.

Das nicht vom Rind, sondern von einer Infektion des Menschen mit *B. divergens*, stammende Isolat „B di09“ aus Frankreich ist in der Analyse der 18S-rDNA in allen drei Dendrogrammen nicht von den anderen *B. divergens* Isolaten zu differenzieren. Dieses Isolat grenzte sich

jedoch durch eine Insertion von 17 Basen an Position 663 von den sonst sehr homogenen Sequenzen der 11 *B. divergens* Isolate ab (siehe Anhang IX 1.). Diese Abweichung kommt in keiner der anderen Sequenzen vor, auch nicht bei dem Isolat „B di10“ desselben Herkunftslandes. Dies spricht gegen die Möglichkeit einer geographisch bedingten Variante. Da *B. divergens* in Abhängigkeit von Wirt morphologisch variieren kann (siehe Kapitel II 1.3.), wäre auch eine Veränderung durch die Kultivierung des Erregers in Gerbilen denkbar. Allerdings müsste die Insertion dann auch beim Isolat „B di10“, das ebenfalls einer aus einer „Gerbil-Kultur“ stammt, nachweisbar sein. Ob die festgestellte Abweichung in der Sequenz des Isolates „B di09“ für humanpathogene Erreger spezifisch ist, konnte hier jedoch nicht abschließend geklärt werden.

Die phylogenetische Analyse bestätigte also die bei der Einsendung der Proben angegebene Babesienart. Nur bei einem als *B. bovis* gekennzeichneten Isolat wurde eine andere Art, nämlich *B. bigemina*, nachgewiesen und die Probe daraufhin als „B bi14“ bezeichnet. Als Erklärung für eine fehlerhafte Artdiagnose des Einsenders kommen serologische Kreuzreaktionen zwischen den beiden Arten und eine nach der Morphologie nicht eindeutig mögliche Diagnose (vgl. Kapitel II 4.1.) in Frage. Andererseits besteht auch die Möglichkeit einer Mischinfektion, die bei der verwendeten PCR-Nachweismethode eventuell unerkannt blieb. Für beide Babesienarten bestehen nämlich Überschneidungen bezüglich ihres Verbreitungsgebietes und ihrer Vektoren.

Hinweise auf das Vorkommen von Mischinfektionen, also von Infektionen mit mehreren Babesienarten wurden auch bei anderen Isolaten gewonnen. So wurde bei der Analyse der ITS-Region ein Klon des *B. bigemina*-Isolates „B bi18“ eindeutig als *B. bovis* identifiziert (vgl. Kapitel IV 4.2.). Zwei weitere Klone desselben Isolates hingegen ordneten sich der Art *B. bigemina* zu. Bei der Analyse der 18S rDNA wurden bei den Isolaten „B bi11“, „B bi18“ und „B bi19“ „Mischsequenzen“ ermittelt, deren 5'- und 3'-Abschnitte sich jeweils unterschiedlichen Arten zuordneten. Solche Phänomene wurden in der Vergangenheit schon beschrieben und von Pääbo et al. (1989) als „**jumping PCR**“ bezeichnet (Colgen 1993, Liu et al. 2002). Diese Effekte können zwischen ähnlichen Sequenzen, deren DNA während der Aufbewahrung oder Präparation beschädigt wurde, auftreten. Dabei wird bei der PCR nur ein Fragment der Sequenz amplifiziert, bindet im nächsten Zyklus an einen gemeinsamen Bereich einer anderen Sequenz und wird nach deren Vorlage weiter synthetisiert. Die dadurch entstandene rekombinante Sequenz wird in den nächsten Zyklen amplifiziert. Dies führt zur

Rekombination von ähnlichen, aber nicht identischen Sequenzen. Um die Häufigkeit des Auftretens einer „jumping PCR“ oder „bridging PCR“ (Liu et al. 2002) zu untersuchen, wurden 10 PCR-Produkte des Isolates „B bi18“ mit den auch zuvor verwendeten Primern RIB-41 und RIB-20 sequenziert. Die Sequenzen gehörten jedoch ausschließlich der Art *B. bigemina* an. Folglich ist das Ereignis einer „jumping PCR“ mit 7 % (3 von 41 Sequenzen) in dieser Arbeit nicht selten, lag jedoch vermutlich unter 10 %. Die Möglichkeit des Auftretens einer „jumping PCR“ würde für die Isolate „B bi11“, „B bi18“ und „B bi19“ jedoch bedeuten, dass Mischinfektionen mit *B. bigemina* und *B. bovis* vorlagen.

Die untersuchten Babesienarten des Rindes ließen sich anhand der 18S-rDNA eindeutig differenzieren. In diese Studie wurde jedoch erstmals für jede Art eine große Anzahl unterschiedlicher Isolate einbezogen. Es stellte sich daher die Frage, ob auch eine überlappungsfreie Abgrenzung der Rinderbabesienarten von Piroplasmen anderer Wirtstiere festzustellen ist. Um phylogenetische Beziehungen der bovinen Babesien zu verschiedenen Theilerienarten und Babesien anderer Tierarten darzustellen und auf eventuelle Überschneidungen zu prüfen, wurde daher ein „Distanz-Matrix“-Dendrogramm der 18S-rDNA (Abb. 30) erstellt. Dazu wurden, der Übersichtlichkeit halber, von jeder Babesienart des Rindes Sequenzen einiger Isolate ausgewählt, die unterschiedliche geographische Regionen repräsentieren. Diese wurden anschließend mit folgenden 18S-Sequenzen aus der Genbank verglichen: *Theileria parva* (Rind; L02366), *T. annulata* (Rind; M64243), *T. buffeli* (Büffel; AF236097), *T. equi* (Pferd; Z15105), *Babesia rodhaini* (Maus; M87565), *B. microti* (Maus; U09833), *B. ovis* (Schaf; AY150058), *B. caballi* (Pferd; Z15104), *B. canis* (Hund; L19079), *B. gibsoni* (Hund; AF175300) und *B. odocoilei* (Rentier; U16369). Dabei wurde analog Kapitel III 2.1. vorgegangen, die *Theileria parva*-Sequenz diente gleichzeitig als Außengruppe. An den Knotenpunkten des Dendrogrammes sind Bootstrap-Werte in Prozentangaben, die sich auf 100 Replikate beziehen, angezeigt.

Der aus diesen Sequenzvergleichen resultierende Stammbaum bestätigte die Abgrenzung aller einbezogenen Arten. Überlappungen von Arten der Rinderbabesien mit anderen Babesien- oder Theilerienarten wurden nicht festgestellt. Im Dendrogramm waren zwei große Äste ersichtlich, von denen der eine die verschiedenen Theilerienarten und die Babesienarten vom „Theilerientyp“ enthielt und der andere Ast die „klassischen“ (Mehlhorn & Schein 1984) Babesien. Alle hier untersuchten Rinderbabesienarten positionierten sich zusammen mit den „klassischen“ Babesien. *B. bovis* erschien in einer gemeinsamen Abzweigung mit *B. ovis*, und

die Babesienarten von Pferd (*B. caballi*), Hund (*B. canis* und *B. gibsoni*) und Rentier (*B. odocoilei*) waren enger mit *B. divergens* verwandt. Die Abspaltung der *B. divergens*-Isolate von *B. odocoilei* wurde mit einem hohen Bootstrap-Wert von 100 % gestützt. Dies bestätigt die Auffassung, dass die beiden sich sehr ähnlichen Erreger als getrennte Taxa aufzufassen sind. Frühere Untersuchungen, in denen die 18S-rDNA von *B. bigemina* und *B. bovis* (Ellis et al. 1992, Allsopp et al. 1994) und zusätzlich *B. divergens* (Mackenstedt et al. 1994, Kjemtrup et al. 2000, Criado-Fornelio et al. 2003) mit Theilerien oder Theilerien-ähnlichen Babesienarten verglichen wurden, bestätigten die Zuordnung der Rinderbabesien zu den „klassischen“ Babesien.

In der vorliegenden Arbeit konnten vier Babesienarten des Rindes durch die phylogenetische Analyse von 18S-Sequenzen der rDNA differenziert werden. Damit wurde die bisherige Taxonomie der bovinen Babesien bestätigt, ausgenommen die Arten *B. major*, *B. occultans* und *B. jakimovi*, über die aufgrund fehlender Isolate keine Aussage möglich ist. Gegenüber phänotypischen Merkmalen besitzen Sequenzen den Vorteil morphologisch sehr ähnliche Arten unterscheiden zu können und diese Unterschiede quantitativ zu erfassen. Dies ist vor allem bei lichtmikroskopisch nicht unterscheidbaren Erregern oder Isolaten mit serologischen Kreuzreaktionen von Bedeutung. Außerdem liefern genotypische Merkmale von Umwelteinflüssen unabhängige Verwandtschaftsdaten. Bei der Erzeugung und Verwendung molekularer Daten darf jedoch nicht unkritisch vorgegangen werden. So besitzt die PCR bekanntermaßen ein hohes Risiko für Kontaminationen und damit falschen Ergebnissen. Außerdem müssen extrem variable Sequenzbereiche sorgfältig aligniert werden, da sich unterschiedliche Alignments auf die Rekonstruktion der Dendrogramme auswirken können. Die oben genannten Vorteile und die schnelle und sichere Identifizierung der verschiedenen Arten aus geringen Mengen an Probenmaterial, machen molekulare Methoden zu einem wichtigen Werkzeug für die Ergründung phylogenetischer Zusammenhänge.

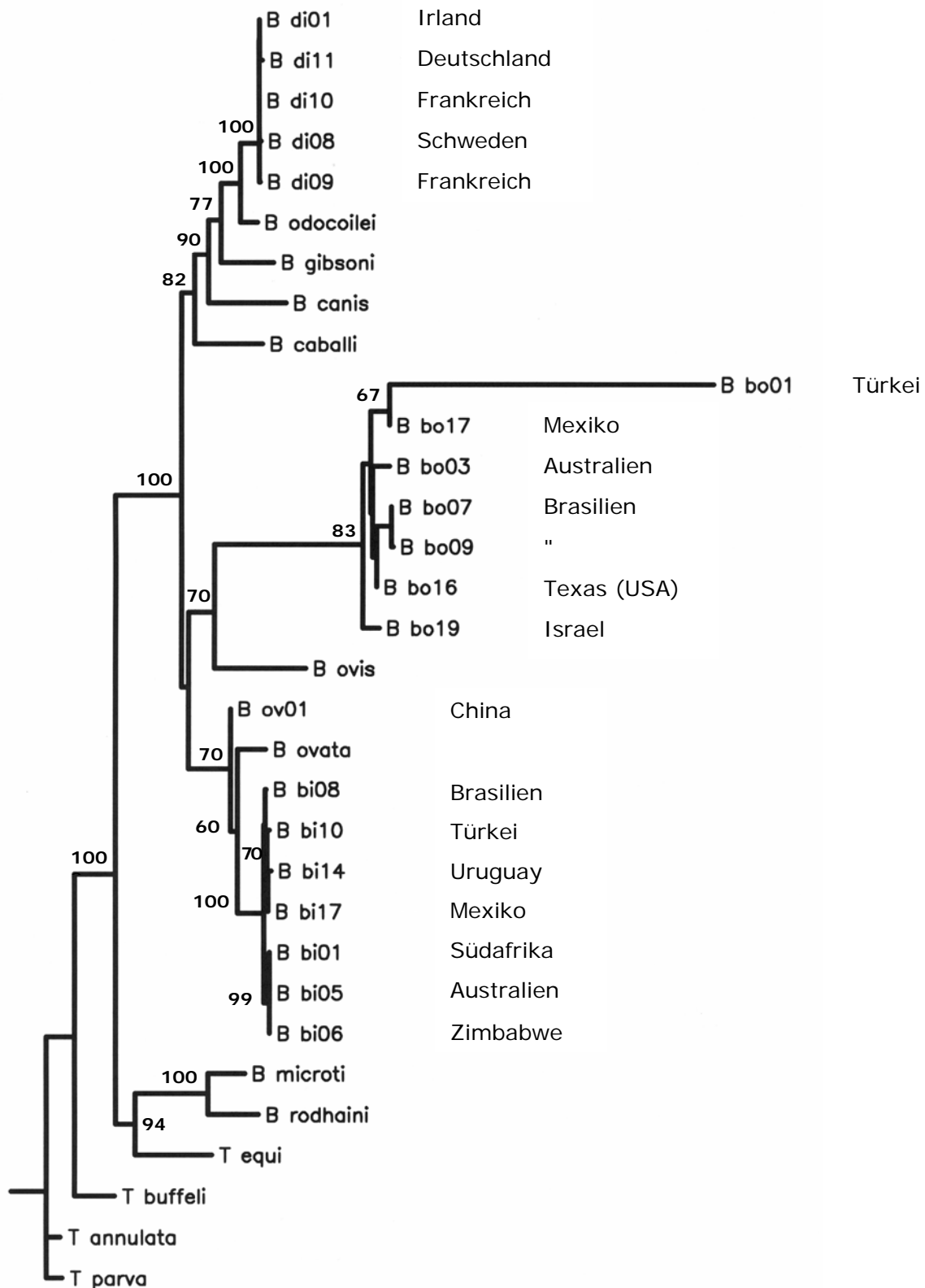


Abbildung 31: „Distanz-Matrix“-Dendrogramm, 18S-Region. Die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 100 Replikate in Prozentangaben dar.

3. Variabilität der Rinderbabesien

Der Begriff Biodiversität oder biologische Diversität beinhaltet die Variabilität unter lebenden Organismen jeglicher Herkunft und reicht von Artenreichtum, bis hin zur genetischen Vielfalt innerhalb von Arten (Taberlet 1998). Zur Untersuchung der Biodiversität innerhalb der einzelnen Babesienarten des Rindes wurde in dieser Arbeit erstmalig die **ITS-Region** von *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* und *B. ovata* und zwar von insgesamt 50 geographisch unterschiedlichen Isolaten sequenziert und phylogenetisch analysiert.

Innerhalb von Isolaten:

Aus den, durch paarweisen Sequenzvergleich ermittelten Identitäten der ITS-Region (siehe Kapitel IV 3.), gehen *B. bigemina* und *B. bovis* als sehr heterogene Arten hervor. Diese Heterogenität wurde sowohl bei Vergleichen zwischen Isolaten, als auch bei der Analyse von mehreren Sequenzen eines Isolates festgestellt. Sequenzen der Klone aus derselben Blutprobe unterschieden sich oft stärker, als Sequenzen, die aus verschiedenen Isolaten einer Art stammten. Bei *B. bovis* (Kapitel IV, Tab. 9) lagen die Intraisolat-Identitäten der Klone zwischen 93,7 und 100 % und bei *B. bigemina* (Tab. 10) zwischen 95,8 und 100 %. Dieses Ergebnis bekräftigt die Wichtigkeit der Klonierung der ITS-Sequenzen, ohne die diese Heterogenitäten nicht ersichtlich wären. Die Klone von *B. divergens* hingegen stellten sich mit Intraisolat-Identitäten von mindestens 99,4 % sehr homogen dar (Tab. 11); so wiesen die 22 Sequenzen im Alignment über 995 Basen insgesamt an nur 22 Positionen einzelne Unterschiede auf. Die beiden *B. ovata*-Sequenzen besaßen zwar eine Identität von 100 %, da aber nur ein Isolat dieser Art zur Verfügung stand, reicht dies nicht für eine Beurteilung aus.

Es stellt sich daher die Frage, warum die ITS-Sequenzen der Arten *B. bovis* und *B. bigemina* innerhalb der jeweiligen Art und sogar des selben Isolates so variabel sind, die von *B. divergens* hingegen nicht. Über den Ursprung dieser Diskrepanz kann nur spekuliert werden. Ursache dieser Heterogenitäten könnten verschiedene Kopien der rDNA sein, die auch im Genom von Babesien nachgewiesen wurden (siehe Kapitel II 5.), also echte intraindividuelle Unterschiede. Eine andere Erklärung dafür wäre eine Mischinfektion mit unterschiedlichen Genotypen einer Babesienart, demnach dann interindividuelle Unterschiede, die in der Blutprobe vorliegen. Bei Plasmodien, die wie die Babesien dem Stamm Apicomplexa angehören, wurde anhand von ITS-Sequenzen eine große Variabilität innerhalb eines Individuums ermittelt (Rogers et al. 1995). Die Annahme sehr heterogener

rDNA-Kopien bei Babesien widerspräche aber der Untersuchung von Reddy (1991), wonach sich von den drei rDNA-Kopien im Genom von *B. bigemina* und *B. bovis* nur eine leicht von den anderen beiden unterscheidet. Darüber hinaus sollen die rDNA-Gene in jeder Zelle zwar gelegentlich individuelle Mutationen aufweisen können, die jedoch im Laufe von Generationen weitgehend durch Verluste und Verdopplungen homogenisiert werden (Wägele 2000). Das Ereignis der Homogenisierung von Sequenzen wird auch als „concerted evolution“ bezeichnet. Aussagen über „Homogenisierungsraten“ sind jedoch ungenau und vermutlich speziesspezifisch. Bei *Drosophila melanogaster* wurde der Zeitraum, in dem heterogene rDNA-Kopien homogenisiert werden, mit mehr als 1 Mio. Generationen angegeben (Coen et al. 1982). Sollten die homogenen Sequenzen von *B. divergens* dennoch durch „concerted evolution“ entstanden sein, müsste es sich dabei im Vergleich zu *B. bigemina* und *B. bovis*, um eine evolutionsgeschichtlich ältere Babesienart handeln. Dafür würde eine, auf Untersuchungen von 18S-Sequenzen verschiedener Babesien- und Theilerienarten basierende, evolutionsgeschichtliche Theorie sprechen, in der sich eine Erregergruppe mit *B. divergens* von einer anderen Gruppe, in der *B. bigemina* und *B. bovis* enthalten war vor ca. 7 Mrd. Jahren getrennt haben soll (Criado-Fornelio et al. 2003). Auch wären, aus bisher nicht bekannten Gründen, wesentlich höhere Mutationsraten der Spacerregionen von *B. bigemina* und *B. bovis* im Vergleich zu *B. divergens* vorstellbar.

Die zweite Hypothese zur Intraisolat-Heterogenität bestand im Vorliegen von Mischinfektionen mit verschiedenen Genotypen von *B. bigemina* und *B. bovis*, also dem Bestehen von interindividuellen Unterschieden in einer Blutprobe. So wäre denkbar, dass dasselbe Rind mehrmals durch Zecken mit derselben Babesienart infiziert würde, aber jeweils mit unterschiedlichen Babesien-Genotypen. Es ließen sich jedoch für keine der beiden Arten konkret und häufiger vorkommende Genotypen identifizieren. In diesem Zusammenhang wäre es interessant den Intraisolat-Polymorphismus genauer zu quantifizieren, also zu ermitteln, wie viele unterschiedliche Klone bzw. Sequenzen eines Isolates existieren und mit welcher Häufigkeit diese vorkommen. Da in der vorliegenden Arbeit aus Blutproben, die mehrere bis viele Erreger enthielten, die Gesamt-DNA extrahiert wurde und nicht Babesienzellen einzeln untersucht wurden, waren die beiden Möglichkeiten, also ob intra- oder interindividuelle Unterschiede vorliegen, nicht voneinander abgrenzbar.

Innerhalb von Arten:

Im paarweisen Vergleich aller Klone einer Art erwies sich *B. divergens* als sehr homogen. Dabei betragen die geringsten Identitäten, die jeweils ein Klon zu den anderen Klonen besaß, 99,1-99,5 %. Die Werte dieser „Minimal-Identitäten“ waren bei den *B. bigemina*-Klonen mit 92,7-94,9 % und vor allem bei den *B. bovis*-Klonen mit nur 82,7-89,7 % wesentlich niedriger und deuteten auf sehr heterogene Arten hin. In die phylogenetische Analyse der ITS-Region wurde, aufgrund der breiten geographischen Streuung der Isolate, die Herkunft der Proben einbezogen und interpretiert. Besonderes Interesse galt dabei der Frage, ob intraspezifische Isolatgruppen der heterogenen Babesienarten *B. bigemina* und *B. bovis* bestimmte geographische Muster aufweisen. Der Zusammenhang von phylogenetischer Verwandtschaft innerhalb von Arten mit ihrer geographischen Verteilung wurde als „intraspecific phylogeography“ (Avice et al. 1987) bezeichnet.

Bei der intraspezifischen Analyse ging aus den für *B. divergens* erstellten Dendrogrammen (siehe Kapitel IV 3.3., Abb. 25-27) deutlich die Einheitlichkeit der Isolate hervor. Es variierte lediglich die Reihenfolge der einzelnen Sequenzen, was aber auf Unterschieden von nur einzelnen Basen beruht. Diese Homogenität ist zum Teil sicher auch auf die Tatsache, dass alle Isolate aus Europa stammten, das Verbreitungsgebiet von *B. divergens* also vergleichsweise klein ist, zurückzuführen. Außerdem wird diese Babesienart nur von der Zeckenart *Ixodes ricinus* übertragen und zeichnet sich durch eine geringere Pathogenität aus. Damit wäre ein geringerer Selektionsdruck für diese Babesienart vorstellbar, woraus folglich die Homogenität der Sequenzen resultiert. Die beiden Klone des „Humanisolates B di09“ befanden sich in allen Dendrogrammen auf einer Ebene mit den anderen Sequenzen. Auch im Alignment (vgl. Anhang IX.) sind keine Abweichungen in der Basenabfolge ersichtlich, die nicht auch in anderen Sequenzen zu finden waren. Demnach ergaben sich keine Anhaltspunkte dafür, dass die ITS-Region Strukturen aufweist, anhand derer *B. divergens*-Isolate vom Mensch und vom Rind unterschieden werden können. Bei ***B. bovis* und *B. bigemina*** fiel sofort die Heterogenität der Isolate auf. Auch war eine größere Verwandtschaft einiger Sequenzen mit anderen Isolaten zu erkennen, als mit der entsprechenden Sequenz desselben Isolates. Die beiden Arten sind über die tropischen und subtropischen Regionen aller Kontinente verbreitet, werden durch mehrere Zeckenarten der Gattung *Boophilus* übertragen und verursachen Erkrankungen unterschiedlicher Pathogenitätsgrade. Es wäre vorstellbar, diese heterogenen biologischen Eigenschaften

bestimmten Isolatgruppen zuordnen zu können, jedoch waren keine Informationen über Vektor und Krankheitsverlauf bzw. Pathogenität des jeweiligen Isolates verfügbar. Im Vergleich der Stammbäume von *B. bovis* (Abb. 19-21) ließen sich jedoch Gruppen nach der geographischen Herkunft abgrenzen, die sich in allen drei Dendrogrammen wiederfanden. Dabei bildeten die Isolate vier geographisch unterschiedliche Gruppierungen. Eine erste Gruppe fasste die Klone aus Israel, der Türkei und Marokko zusammen, eine zweite die Isolate aus Australien und Südafrika. Die Sequenzen der brasilianischen Isolate bildeten eine eigene dritte Gruppe; und die restlichen Isolate aus Nord-, Mittel- und Südamerika fanden sich in einer gemeinsamen vierten Aufzweigung wieder. Dieses geographische Verteilungsmuster war im Wesentlichen in allen drei Dendrogrammen ersichtlich und wurde durch hohe Bootstrap-Werte unterstützt. Eine Ausnahme stellte dabei lediglich die „Distanz-Matrix-Analyse“ dar, bei der einige Klone aus Australien in der Gruppe der Isolate des amerikanischen Kontinents auftraten. Bei *B. bigemina* (Abb. 22-24) traten in den ITS-Dendrogrammen ebenfalls einzelne Sequenzgruppen getrennt nach ihrer geographischen Herkunft auf. Die Aufspaltung nach geographischen Regionen war jedoch nicht ganz überlappungsfrei. Es ließen sich zwei große Isolatgruppen unterscheiden, von denen eine die Isolate aus Australien und Südafrika, die andere mittel- und südamerikanische Isolate enthielt. In der Gruppe aus Mittel- und Südamerika waren aber auch ein Isolat aus der Türkei und Kenia zu finden. Diese phylogenetischen Gruppierungen traten bei allen drei Analysemethoden der ITS-Region (Kapitel IV 3.3., Abb. 22-24) auf.

Demnach ließen sich in der phylogenetischen Analyse der ITS-Region von *B. bovis* und *B. bigemina* nach geographischer Herkunft verschiedene, durch unterschiedliche Algorithmen unterstützte, Isolatgruppen abgrenzen. Bei beiden Arten unterschieden sich die afrikanischen Isolate der Nord- und der Südhalbkugel in ihrer phylogenetischen Verwandtschaft. Die *B. bovis*-Sequenzen des Isolates aus Marokko gruppierten sich zu den Isolaten aus Israel und der Türkei. Ebenso waren die *B. bigemina*-Sequenzen des Isolates aus Kenia im Cluster der amerikanischen Isolate zu finden. Die südafrikanischen Isolate hingegen bildeten bei beiden Arten und in allen drei Analysen eine eigene Gruppierung mit den Isolaten aus Australien. Babesiose wurde in Australien erstmalig 1880 diagnostiziert und möglicherweise durch infizierte Rinder, die ursprünglich aus Indonesien stammten ausgelöst (Callow 1984). Einer anderen Theorie zufolge sollen Babesien durch Rinder europäischer Siedler nach Australien eingeführt worden sein (Criado-Fornelio et al. 2003). Die vorliegende phylogenetische

Untersuchung stützt weder die eine noch die andere Auffassung. Die nahe phylogenetische Verwandtschaft der Isolate aus Australien mit Babesien aus Südafrika würde eher dafür sprechen, dass Babesien aus dem südafrikanischen Raum nach Australien eingeschleppt wurden.

Die anhand der ITS-Sequenzen bei *B. bigemina* und *B. bovis* festgestellte Korrelation der Isolat-Verwandtschaft mit der geographischen Verteilung wird durch die Ergebnisse der 18S-rDNA-Analyse (Kapitel IV 2.2.) bestätigt. Dieser Genabschnitt wurde eigentlich zur Untersuchung der Beziehungen der verschiedenen Arten zueinander eingesetzt, zeigte jedoch auch bei Betrachtung der innerartlichen Beziehungen der Isolate zueinander weitgehend übereinstimmende Ergebnisse. In einer kürzlich publizierten Studie, die jedoch nur eine sehr geringe Anzahl von Isolaten beinhaltete, wurden anhand von 18S-rDNA-Analysen phylogenetische Beziehungen abgeleitet, die von den hier dargestellten abweichen. Neben verschiedenen Babesien- und Theilerienarten wurden fünf *B. bovis*-Isolate unterschiedlicher geographischer Herkunft (1 x Portugal, 1 x Mexiko, 1 x Australien und 2 x Südafrika) untersucht (Criado-Fornelio et al. 2003). Dabei zeigte sich die größte Verwandtschaft zwischen den beiden südafrikanischen und dem mexikanischen Isolat, gefolgt von dem Isolat aus Australien und zuletzt dem aus Portugal. Wegen der geringen Anzahl der Isolate, können aber nur vorsichtig geographische Rückschlüsse gezogen werden. Frühere molekularbiologische Untersuchungen deuteten bei *B. bovis* (Dalrymple 1990, Jasmer et al. 1990, Petchpoo et al. 1992) und auch bei *B. bigemina* (Carson et al. 1994) bereits geographische Unterschiede innerhalb der Arten an, bezogen sich aber ebenfalls nur auf wenige Isolate. Die Existenz phänotypischer Unterschiede zwischen Isolaten einer Art ist schon länger bekannt. So wurden intraspezifische Unterschiede in der Antigenität zwischen Stämmen unterschiedlicher geographischer Herkunft für verschiedene Arten beschrieben: für *B. bovis* (Kahl et al. 1982, Passos et al. 1998, Allred 2003), *B. bigemina* (De Vos & Potgieter 1994), *B. divergens* (Précigout et al. 1991, Phillips et al. 1986) und *B. ovata* (Arai et al. 1998, Tsuji et al. 1999). Diese Heterogenität in der Antigenstruktur kann sich auch auf die Ausbildung schützender Immunreaktionen auswirken. Unterschiede in der Immunogenität bei Isolaten unterschiedlicher geographischer Herkunft wurden bei *B. bovis* (Montenegro-James et al. 1985, Shkap et al. 1994 und Brizuela et al. 1998) und *B. bigemina* (Précigout et al. 1991) nachgewiesen. Ob eine direkte Korrelation zwischen genotypischer und phänotypischer Verwandtschaft besteht, ist derzeit noch unbekannt, da entsprechende Untersuchungen noch

fehlen. Es wäre jedoch denkbar, dass die in der vorliegenden Studie ermittelten Verwandtschaftsgruppen gemeinsame phänotypische Eigenschaften, wie z.B. hinsichtlich Antigenität, den beteiligten Pathomechanismen oder der Empfänglichkeit für Chemotherapeutika besitzen. In Bezug auf diese Erkenntnisse wäre es dann vorstellbar, dass zumindest bei *B. bovis* und *B. bigemina* ein Zusammenhang zwischen immunogenen Eigenschaften und geographischer Herkunft besteht. Folglich würden potentielle Vakzinen eher innerhalb der hier identifizierten Isolatgruppen wirken, als zwischen diesen Gruppen. Ein für Australien entwickelter Impfstoff hätte dann in Südafrika größere Erfolgchancen als in Südamerika.

Artabgrenzung:

Analog zur 18S stellte sich auch bei der Analyse der ITS-Sequenzen die Frage, ob sich die vier untersuchten Rinderbabesienarten von Babesien anderer Wirtstiere und von Theilerien überlappungsfrei abgrenzen lassen. Aus diesem Grund, und um Überschneidungen zwischen den Arten der Rinderbabesien auszuschließen, wurde ein „Distanz-Matrix“-Dendrogramm der ITS-rDNA (Abb. 32) erstellt. In dieses wurde eine repräsentative Auswahl an Sequenzen der untersuchten Rinderbabesien und ITS-Sequenzen anderer Babesien- und Theilerienarten einbezogen. Bei den in der Genbank verfügbaren ITS-Sequenzen handelte es sich um *B. caballi* (Pferd; AF394536), *B. canis* (Hund; AY272048), *B. rodhaini* (Maus; AF510201) und *B. microti* (Maus; AF510203). Eine Sequenz von *Theileria parva* (Rind; AF086734) wurde als Außensequenz eingesetzt. Die Bootstrap-Werte in Prozentangaben an den Knotenpunkten des Dendrogrammes, beziehen sich auf 100 Replikate.

Diese phylogenetische Analyse ergab keine Überlappungen zwischen den bovinen Babesienarten und bestätigte damit die Ergebnisse der 18S-Untersuchungen. Jede Babesienart des Rindes grenzte sich gleichzeitig eindeutig von den Babesien anderer Tierarten ab, die vier Arten des Rindes gruppieren sich jedoch nicht zusammen. *B. divergens* zeigte dabei die größte phylogenetische Verwandtschaft mit *B. caballi*, während *B. bigemina* und *B. ovata* mit *B. canis* am ähnlichsten waren. Für *B. bigemina* und *B. ovata* zeigte sich auch aus den ITS-Sequenzen eine nahe Verwandtschaft, die Auffassung von zwei getrennten Arten wurde aber deutlich bestätigt. So spalteten sie sich in einem gemeinsamen Ast von *B. canis* ab, die *B. bovis*-Isolate trennten sich dann aber gemeinsam von *B. ovata* ab, wobei die Aufspaltung durch einen hohen Bootstrap-Wert von 100 % gestützt wurde. Die beiden Arten unterschieden sich zudem stark in der Länge der ITS-Sequenzen, die bei *B. bigemina* 923 bis 934 Basen

betrug, bei den zwei *B. ovata*-Sequenzen hingegen nur 883 Basen. Für die Untersuchungen der Beziehungen zwischen diesen nahe verwandten Arten war die ITS-Region der 18S-rDNA überlegen, mit der die beiden Arten nicht mit solcher Deutlichkeit unterschieden werden konnten. Demnach bestätigen die erstellten phylogenetischen Stammbäume für *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* und *B. ovata* die derzeitige Einteilung der bovinen Babesienarten. Darüber hinaus wäre die Beziehung dieser Arten zu *B. major*, *B. jakimovi* und *B. occultans* interessant, deren Analyse in dieser Arbeit nicht möglich war.

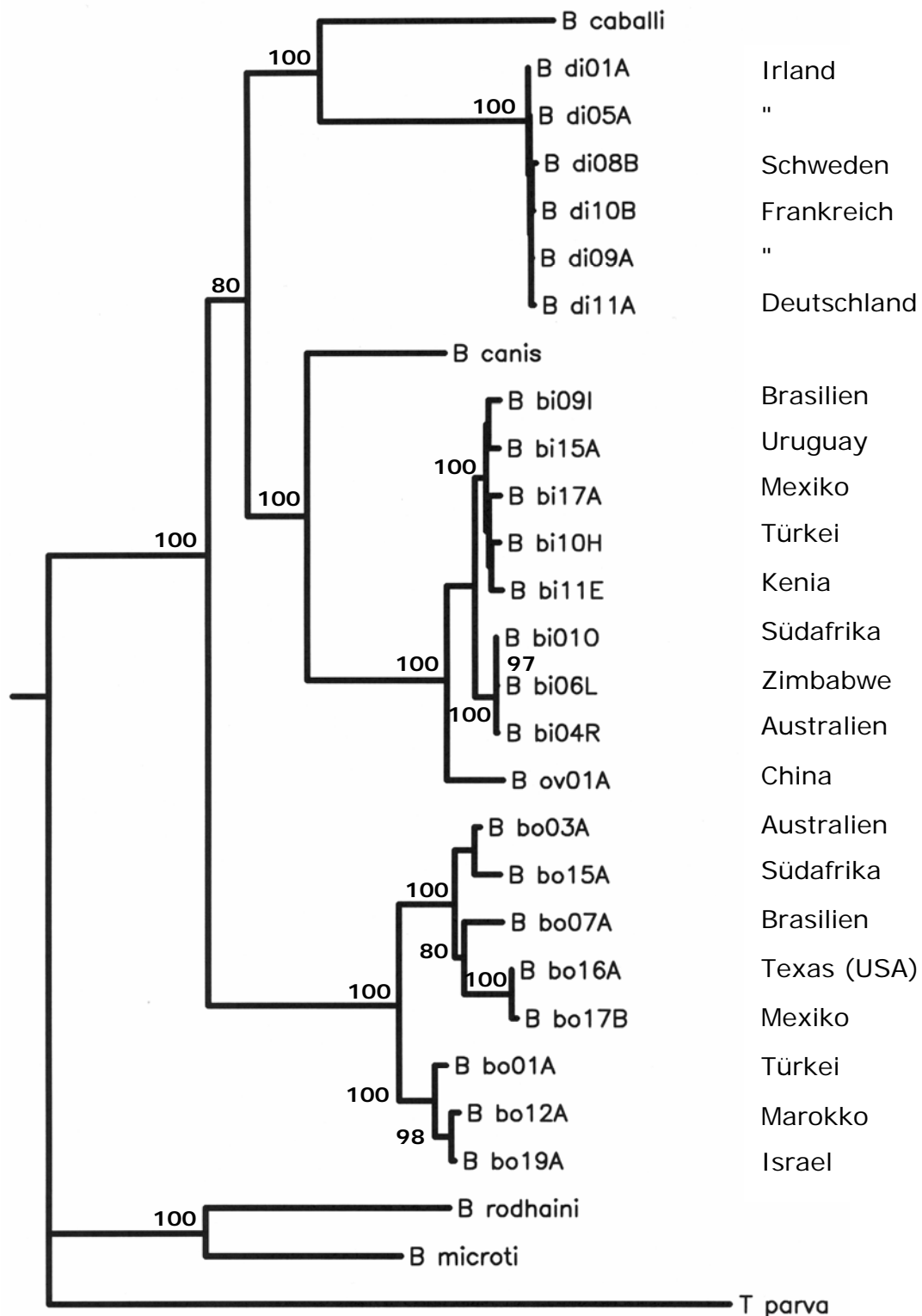


Abbildung 32: „Distanz-Matrix“-Dendrogramm, ITS-Region. Die Zahlen der Knotenpunkte stellen Bootstrap-Werte über 100 Replikate in Prozentangaben dar.

VI. Zusammenfassung

Molekular-phylogenetische Differenzierung von Babesien des Rindes

In der vorliegenden Arbeit wurden *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens* und *B. ovata*, vier veterinärmedizinisch bedeutende Babesienarten des Rindes, mit molekularbiologischen Methoden differenziert und Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb der Arten untersucht. Dazu wurden bei Babesien unterschiedlicher geographischer Herkunft zwei Genabschnitte der ribosomalen DNA (rDNA) mittels PCR amplifiziert und, nach anschließender Sequenzierung, phylogenetischen Analysen unterzogen.

Insgesamt wurden 50 Blutproben von Tieren mit natürlicher Infektion oder von Impfstämmen untersucht. Davon stammten 11 Isolate aus Europa, 22 aus Nord- und Südamerika, 5 aus Afrika, 4 aus Asien und 8 aus Australien. Die in den Proben enthaltenen Babesien waren zuvor anhand phänotypischer Merkmale einzelnen Arten zugeordnet worden.

Die Amplifizierung der 18S-rDNA mit den Primern RIB-19 und RIB-20 und der ITS-Region mit den Primern RIB-3 und RIB-13 erfolgte nach bereits bei Hundebabesien eingesetzten PCR-Protokollen. Diese wurden für *B. divergens* unverändert und, nach Optimierung von MgCl₂-, DMSO-, BSA-Konzentration und Zyklenzahl, modifiziert für die Arten *B. bovis*, *B. bigemina* und *B. ovata*, verwendet. Die Sequenzlängen der direkt sequenzierten PCR-Produkte der 18S-rDNA betragen bei *B. bovis* 1448-1552, bei *B. bigemina* 1481-1485, bei *B. divergens* 1516-1519 Basen, mit Ausnahme des einzigen vom Menschen stammenden Isolates mit 1535 Basen. Für *B. ovata* wurde eine Teilsequenz von 889 Basen erhalten. Vergleiche mit 18S-Sequenzen aus der Genbank bestätigten bis auf eine Ausnahme, die bei Einsendung der Proben angegebene Babesienart. Die Amplifikate der ITS-Region, die erst nach Klonierung sequenziert wurden, ergaben Sequenzlängen von 654-729 Basen für *B. bovis*, 883 Basen für *B. ovata*, 923-943 Basen für *B. bigemina* und 995-997 Basen für *B. divergens*. Obwohl die ITS-Sequenzlängen bei den Isolaten von *B. bovis* und *B. bigemina* sehr variabel waren, grenzten sich die einzelnen Arten anhand der Größe dieser Amplifikate voneinander ab. Dieser Genabschnitt wurde für Rinderbabesien in der vorliegenden Arbeit erstmals sequenziert und analysiert.

Die phylogenetische Analyse der 18S-Sequenzen ermöglichte eine Differenzierung der vier untersuchten Babesienarten des Rindes. In verschiedenen Dendrogrammen, die mit drei unterschiedlichen Methoden (Distanz-Matrix, Maximum-Parsimony und Maximum-Likelihood) erzeugt wurden, war eine nach den einzelnen Arten getrennte Aufzweigung aller Isolate ersichtlich. Hohe Bootstrap-Werte (Distanz-Matrix und Maximum-Parsimony) von je 100 % für die Arten *B. divergens*, *B. bovis* und *B. bigemina*, und 94 bzw. 70 % für *B. ovata* unterstützten dabei die Einteilung in vier getrennte Arten. Zudem grenzten sich in einer weiteren Analyse die Rinderbabesienarten auch von Piroplasmen anderer Wirtstiere überlappungsfrei ab. Damit wurde, bei den hier untersuchten Isolaten, die derzeit bestehende Taxonomie und Validität der Arten *B. divergens*, *B. bovis*, *B. bigemina* und wahrscheinlich auch *B. ovata* bestätigt. Das vom Menschen stammende *B. divergens*-Isolat war in der phylogenetischen Analyse nicht von den anderen *B. divergens* Isolaten, die alle sehr homogen waren, zu differenzieren. Aus den Dendrogrammen der, für *B. bovis* und *B. bigemina* zusätzlich durchgeführten, intraspezifischen Analyse der 18S-rDNA, ging deutlich die Heterogenität der beiden Arten hervor.

Die Analyse der ITS-Region basierte auf 95 Klonen der insgesamt 50 geographisch unterschiedlichen Isolate der Arten *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens* und *B. ovata*. Eine große genetische Variabilität innerhalb von Isolaten wurde bei *B. bovis* und *B. bigemina* festgestellt. Dies wurde durch Intraisolat-Identitäten von 93,7-100 % für *B. bovis* und 95,8-100 % für *B. bigemina* angezeigt. Die Intraisolat-Identitäten der Klone von *B. divergens* (99,4-100 %) und der beiden *B. ovata*-Sequenzen (100 %) dagegen waren sehr hoch. Bei Betrachtung der Variabilität zwischen Isolaten einer Art bestätigte der Sequenzvergleich aller Klone einer Art die Homogenität von *B. divergens* auch auf Artebene. Die geringste Identität zweier Sequenzen betrug 99,1 %. Bei *B. bigemina* und *B. bovis* lagen die entsprechenden Werte mit 92,7 % bzw. 82,7 % wesentlich niedriger. Die geringen Identitäten und die Tatsache, dass Klone unterschiedlicher Isolate höhere Identitäten besaßen, als die desselben Isolates, belegte die Heterogenität innerhalb der beiden Arten.

In der phylogenetischen Analyse der ITS-Sequenzen, bei der für jede Babesienart verschiedene Dendrogramme nach Distanz-Matrix, Maximum-Parsimony und Maximum-Likelihood-Methoden erstellt wurden, spiegelten sich die Heterogenitäten von *B. bovis* und *B. bigemina* in abgegrenzten Isolatgruppen wieder. Zudem wurde eine Korrelation dieser Gruppen mit ihrer geographischen Herkunft nachgewiesen. Vor allem die Isolate aus dem

südlichen Afrika und Australien besaßen eine hohe phylogenetische Verwandtschaft. Bei *B. bigemina* ließen sich zwei große Isolatgruppen unterscheiden, von denen eine die Isolate aus Australien und Südafrika, die andere Isolate aus Lateinamerika enthielt. Die *B. bovis*-Isolate verteilten sich auf vier geographisch unterschiedliche Gruppen: Eine erste Gruppe fasste die Klone aus Israel, der Türkei und Marokko zusammen, eine zweite die Isolate aus Australien und Südafrika. Die brasilianischen Isolate bildeten eine eigene dritte Gruppe und die restlichen Isolate aus Nord-, Mittel- und Südamerika fanden sich in einer gemeinsamen vierten Aufzweigung wieder. In den Dendrogrammen von *B. divergens* waren keine Isolatgruppen ersichtlich.

VI. Summary

Molecular phylogenetic differentiation of bovine *Babesia*

In the present study, *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens* and *B. ovata* were differentiated with molecular biological techniques. These are four babesia species of cattle which are important in veterinary medicine. In addition to that, relationships within species were investigated. Therefore, two ribosomal DNA (rDNA) genes from babesia of different geographical origin were amplified and sequenced and then analyzed with regard of their phylogenetic correlation.

Altogether 50 blood samples were examined, deriving from naturally infected animals or vaccine strains. 11 isolates originated from Europe, 22 from North- und South America, 5 from Africa, 4 from Asia and 8 from Australia. Previously, the Babesia contained in the samples had been assigned to the different species, using phenotypic characteristics.

For the PCR amplifications of the 18S gene using the primers RIB-19 and RIB-20 and of the ITS region with the primers RIB-3 and RIB-13 PCR protocols developed for babesia of dogs were used. These were directly applied for *B. divergens* and, after optimization of MgCl₂, DMSO, BSA concentrations and cycle number, with modifications also for *B. bovis*, *B. bigemina* and *B. ovata*. The length of the directly sequenced PCR products of the 18S rDNA was 1448 to 1552 base pairs for *B. bovis*, 1481 to 1485 bp for *B. bigemina* and 1516 to 1519 bp for *B. divergens*, except one isolate which originated from a human infection and had a length of 1535 bp. For *B. ovata*, only a partial sequence of 889 bp was obtained. Compared with corresponding genbank sequences, the declared babesia species was confirmed with exception of one isolate. The PCR products of the ITS region were sequenced after cloning and their length resulted in 654 to 729 bp for *B. bovis*, 883 bp for *B. ovata*, 923 to 943 bp for *B. bigemina* and 995 to 997 bp for *B. divergens*. Despite the variability of the ITS sequence length of the *B. bovis* und *B. bigemina* isolates, this feature indicates characteristic values for each species. In the present study the ITS region of bovine *Babesia* was sequenced and analysed for the first time.

With the phylogenetic analysis of the 18S sequences the four examined babesia species of the cattle could unequivocally be distinguished. Different phylogenetic trees (dendrograms)

generated with the algorithms Distance Matrix, Maximum Parsimony and Maximum Likelihood showed all isolates in separated species groups. High bootstrap values (Distance Matrix and Maximum Parsimony) of 100 % for *B. divergens*, for *B. bovis* and *B. bigemina*, and 94 % resp. 70 % for *B. ovata* support the classification in four species. An additional phylogenetic analysis including also piroplasms of other hosts demonstrated a separation of bovine babesia species without overlap. Thereby, the present taxonomy and validity of the species *B. divergens*, *B. bovis*, *B. bigemina* and probably *B. ovata* were confirmed for the isolates examined in this study. It was not possible to differentiate between the *B. divergens* isolate collected from a human and the other *B. divergens* isolates which were very homogeneous. An additional intraspecific analysis for *B. bovis* and *B. bigemina* represented the heterogeneity of these two species in different dendrograms.

The analysis of the ITS region was based on 95 clones, produced from 50 *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens* and *B. ovata* isolates of different geographic origin. Within the *B. bovis* and *B. bigemina* isolates an enormous variability was detected. This finding was indicated by intrasolate identities from 93,7 to 100 % for *B. bovis* and 95,8 to 100 % for *B. bigemina*. In contrast, the intrasolate identities of *B. divergens* clones (99,4 to 100 %) and the two *B. ovata* sequences (100 %) reached high values. On a species level, all clones within each species were compared. This procedure indicated the variability between isolates within each species. Thereby, the homogeneity of the *B. divergens* clones was confirmed by the identity of at least 99,1 % between two sequences. The corresponding values of *B. bigemina* (92,7 %) and *B. bovis* (82,7 %) turned out to be lower. The heterogeneity within the two species was confirmed by these identity scores and by the fact that clones from different isolates exhibited higher identities than clones from the same isolate.

In the phylogenetic analysis of ITS sequences dendrograms for each species were generated with the algorithms Distance Matrix, Maximum Parsimony und Maximum Likelihood. The heterogeneity within *B. bovis* and *B. bigemina* was reflected by the fact that separated groups of isolates occurred in the phylogenetic trees. In addition, these groups correlated with their geographical origin. The phylogenetic relationship between isolates from Southern Africa and Australia was remarkably high. *B. bigemina* isolates were separated into two groups: one included the isolates from Australia und South Africa, the other isolates from Latin America. Within *B. bovis* four isolate groups of different geographic origin were detected. The first included isolates from Israel, Turkey and Morocco, the second isolates from Australia and

South Africa. The Brazilian isolates appeared in the third group and the remaining isolates from the Americas in the fourth. There was no arrangement of isolates in phylogenetic trees of *B. divergens*.

VII. Literaturverzeichnis

- Ahmed, J., Yin, H., Schnittger, L. and Jongejan, F. (2002)** Ticks and tick-borne diseases in Asia with special emphasis on China
Parasitology Research **88**, S51-S55
- Akinboade, O.A. and Dipeolu, O.O. (1985)** Bovine babesiosis in Nigeria: The vectorial capability of *Boophilus decoloratus* and *Boophilus geigy* for *Babesia bigemina* and *Babesia bovis*
Acarologia **26**, 235-237
- Allred, D.R. (2001)** Antigenic variation in babesiosis: is there more than one 'why'?
Microbes and Infection **3**, 481-491
- Allred, D.R. (2003)** Babesiosis: persistence in the face of adversity
Trends in Parasitology **19**, 51-55
- Allsopp, M.T.E.P., Cavalier-Smith, T., de Waal D.T. and Allsopp, B.A. (1994)**
Phylogeny and evolution of the piroplasms
Parasitology **108**, 147-152
- Almería, S., Castellà, J., Ferrer, D., Sparagano, O. and Estrada-Peña, A. (2001)**
First report of *Babesia bovis* in Spain
Veterinary Record **149**, 716-717
- Arai, S., Tsuji, M., Kim, S.-J., Nakada, K., Kirisawa, R., Ohta, M. and Ishihara, C. (1988)** Antigenetic and genetic diversities of *Babesia ovata* in persistently infected Cattle
Journal of Veterinary Medicine Science **60**, 1321-1327
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A. and Saunders, N.C. (1987)** Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics
Annual Review of Ecological Systems **18**, 489-522
- Babès, V. (1888)** Sur l'hémoglobinurie bactérienne du boeuf
Comptes rendus de l'Académie des Sciences **107**, 692-694
- Babès, V. (1889)** Die Aetiologie der seuchenhaften Hämoglobinurie des Rindes
Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie **115**, 81-108

- Barta, J.R. (2001)** Molecular approaches for inferring evolutionary relationships among protistan parasites
Veterinary Parasitology **101**, 175-186
- Bock, R.E., Kingston, T.G. and deVos, A.J. (1999)** Effect of breed of cattle on transmission rate and innate resistance to infection with *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* transmitted by *Boophilus microplus*
Australian Veterinary Journal **7**, 461-464
- Bock, R.E., and de Vos, A.J. (2001)** Immunity following use of Australian tick fever vaccine: a review of the evidence
Australian Veterinary Journal **79**, 832-839
- Böse, R., Jorgensen, W.K., Dalgliesh, R.J., Friedhoff, K.T. and de Vos, A.J. (1995)** Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis
Veterinary Parasitology **57**, 61-74
- Boonchit, S., Xuan, X., Yokoyama, N., Goff, W.L., Wagner, G. and Igarashi, I. (2002)** Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant rhoptry-associated protein 1 antigen against *Babesia bovis* for the detection of specific antibodies in Cattle
Journal of Clinical Microbiology **40**, 3771-3775
- Bouattour, A. and Darghouth M.A. (1996)** First report of *Babesia divergens* in Tunisia
Veterinary Parasitology **63**, 161-165
- Brizuela, C.M., Ortellado, C.A., Sanabria, E., Torres, O. and Ortigosa, D. (1998)** The safety and efficacy of Australian tick-borne disease vaccine strains in cattle in Paraguay
Veterinary Parasitology **76**, 27-41
- Brocklesby, D.W. and Barnett, S. F. (1970)** Large *Babesia* species transmitted to splenectomised calves by field collections of British ticks (*Haemaphysalis punctata*)
Nature **228**, 1215
- Buckler, E.S. IV, Ippolito A. and Holtsford, T.P. (1997)** The Evolution of Ribosomal DNA: Divergent paralogues and phylogenetic implications
Genetics **145**, 821-832
- Cacciò, S., Cammà, C., Onuma, M. and Severini, C. (2000)** The β -tubulin gene of *Babesia* and *Theileria* parasites is an informative marker for species discrimination
International Journal for Parasitology **30**, 1181-1185

- Callow, L.L. (1984)** Bovine babesiosis in Australia
In Callow, L.L: Animal Health in Australia; Vol. 5: Protozoal and Rickettsial Diseases; Australian Government Publishing Services, Canberra 139-160
- Carrique-Mas, J.J., Widdowson, M.-A., Cuéllar, A.M., Ribera, H. and Walker, A.R. (2000)** Risk of babesiosis and anaplasmosis in different ecological zones of Santa Cruz Department, Bolivia
Veterinary Parasitology **93**, 29-38
- Carson, C.A., Brandt, H.M., Jensen, J.B., Bailey, C.W. and Allen G.K. (1994)** Use of random amplified polymorphic DNA analysis to compare *Babesia bovis* and *B. bigemina* isolates
Parasitology Research **80**, 312-315
- Chandrawathani, P., Tsuji, N., Kawazu, S., Ishikawa, M., Fujisaki, K. (1994)**
Seroepidemiological Studies of Bovine Babesiosis caused by *Babesia ovata*, *B. bigemina* and *B. bovis* in Peninsular Malaysia
Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science **56**, 929-932
- Coen, E., Strachan, T. and Dover, G. (1982)** Dynamics of concerted evolution of ribosomal DNA and histone gene families in the melanogaster species subgroup of *Drosophila*
Journal of Molecular Biology **158**, 17-35
- Colgan, D.J. (1993)** DNA Regeneration in the polymerase chain reaction
Journal of Theoretical Biology **162**, 289-307
- Collins, N.E. and Allsopp, B.A. (1999)** *Theileria parva* ribosomal internal transcribed spacer sequences exhibit extensive polymorphism and mosaic evolution: application to the characterisation of parasites from cattle and buffalo
Parasitology **118**, 541-551
- Cowman, A.F., Bernard, O., Stewart, N. and Kemp, D.J. (1984b)** Genes of the protozoan parasite *Babesia bovis* that rearrange to produce RNA species with different sequences
Cell **37**, 653-660
- Cowman, A.F., Timms, P. and Kemp, D.J. (1984a)** DNA polymorphisms and subpopulations in *Babesia bovis*
Molecular and Biochemical Parasitology **11**, 91-103

- Criado-Fornelio, A., Martinez-Marcos, A., Buling Saraña, A. and Barba-Carretero, J.C. (2003)** Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe Part II. Phylogenetic analysis and evolution history
Veterinary Parasitology **114**, 173-194
- Dalrymple, B.P. (1990)** Cloning and characterization of the rRNA genes and flanking regions from *Babesia bovis*: use of the genes as strain discrimination probes
Molecular and Biochemical Parasitology **43**, 117-124
- Dalrymple, B.P., Jorgensen, W.K., de Vos, A.J. and Wright, I.G. (1992)** Analysis of the composition of samples of *Babesia bovis* and the influence of different environmental conditions on genetically distinct subpopulations
International Journal for Parasitology **22**, 731-737
- Dalrymple, B.P., Dimmock, C.M., Parrodi, F. and Wright, I.G. (1992)** *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Babesia canis*, *Babesia microti* and *Babesia rodhaini*: Comparison of ribosomal RNA gene organisation
International Journal for Parasitology **22**, 851-855
- Dams, E., Hendriks, L., Van de Peer, Y., Neefs, J.M., Smiths, G., Vandentempt, I. and de Wachter, R. (1988)** Compilation of small ribosomal subunit RNA sequences
Nucleic Acids Research **16** (Suppl.), r87-r173
- De Vos, A.J. and Potgieter, F.T. (1994)** Bovine babesiosis
In: Infectious diseases of livestock, Southern Africa, 278-294
- Doolittle, W.F. (1999)** Phylogenetic classification and the universal Tree
Science **284**, 2124-2128
- Drössigk, U., Mielke, E. and Muluaem, A. (1993)** Morphologische Untersuchungen an *Babesia divergens* beim kontinuierlichen Transfer in *Meriones unguiculatus*.
Applied Parasitology **34**, 279-282
- Dubremetz, J.F., Garcia-Reguet, N., Conseil, N. and Fourmaux, M.N. (1998)** Apical organelles and host-cell invasion by Apicomplexa
International Journal for Parasitology **28**, 1007-1013
- El-Ghaysh, A., Sundquist, B., Christensson, D.A., Hilali, M. and Nassar, A.M. (1996)** Observations on the use of ELISA for detection of *Babesia bigemina* specific antibodies
Veterinary Parasitology **62**, 51-61

- Ellis, J., Hefford, Ch., Baverstock, P.R., Dalrymple, B.P. and Johnson, A.M. (1992)**
Ribosomal DNA sequence comparison of *Babesia* and *Theileria*
Molecular and Biochemical Parasitology **54**, 87-96
- Ellis, J.T., Morrison, D.A. and Jeffries, A.C. (1998)** The phylum Apicomplexa: an update on the molecular phylogeny
In Coombs, G.H., Vickermann, K., Sleigh, M.A. and Warren, A.: *Evolutionary Relationships Among Protozoa*, Chapman & Hall, London, 256-274
- Enigk, K., Friedhoff, K. und Wirahandiredja, S. (1963)** Die Piroplasmen der Wiederkäuer in Deutschland
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift **70**, 422-426
- Euzeby, J. (1990)** *Protozoologie medicale comparée*
Vol. III: Hémosporeidies, Collection fondation Marcel Merieux
- Felsenstein, J. (2002)** PHYLIP Phylogenie Inference Package, Version 3.6 (alpha3)
Distributed by the author
Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle
- Feng, D.F. and Doolittle, R.F. (1987)** Progressive sequence alignment as a prerequisite to correct phylogenetic trees
Journal of Molecular Evolution **25**, 351-360
- Figuroa, J.V., Chieves, L.P., Johnson, G.S. and Buening, G.M. (1992)** Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood
Veterinary Parasitology **50**, 69-81
- Findlay, C.R. and Begg, T.B. (1977)** Redwater in American bison caused by *Babesia major*
Veterinary Record **100**, 406
- Friedhoff K.T. (1988)** Transmission of *Babesia*
In Ristic, M: *Babesiosis of domestic animals and man*, CRC Press, Boca Raton, 23-52
- Fujinaga, T. (1980b)** Bovine Babesiosis in Japan: Clinical and clinico-pathological studies on cattle experimentally infected with *Babesia ovata*
Japanese Journal of Veterinary Science **43**, 803-813
- Fujinaga, T., Minami, T. and Ishihara, T. (1980a)** Serological relationship between a large *Babesia* found in Japanese cattle and *Babesia major*, *B. bigemina* and *B. bovis*
Research in Veterinary Science **29**, 230-234

- Georges, K., Loria, G.R., Riili, S., Greco, A., Caracappa, S., Jongejan, F. and Sparagano, O. (2001)** Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on the distribution of ticks in Sicily
Veterinary Parasitology **99**, 273-286
- Gerbi, S.A. (1986)** Evolution of ribosomal DNA
In *Molecular Evolutionary Genetics*; Edited by Ross J. Mac Intyre, 419-517
- Gern, L. et Brossard, M. (1986)** Evolution annuelle de l'infestation de bovins par la tique *Ixodes ricinus* L. et de l'infection de ces ectoparasites par *Babesia divergens* dans le Clos-du-Doubs (Jura, Suisse)
Schweizer Archiv für Tierheilkunde **128**, 361-363
- Gill, A.C., Cowman, A.F., Stewart, N.P., Kemp, D.J. and Timms, P. (1987)** *Babesia bovis*: Molecular and biological characteristics of cloned parasite lines
Experimental Parasitology **63**, 180-188
- Goff, W.L., Johnson, W.C., Parish, S.M., Barrington, G.M., Tuo, W. and Valdez, R.A. (2001)** The age-related immunity in cattle to *Babesia bovis* infection involves the rapid induction of interleukin-12, interferon- γ and inducible nitric oxide synthase mRNA expression in the spleen
Parasite Immunology **23**, 463-471
- Gonçalves Ruiz, P.M., Passos, L.M.F., Machado, R.Z. Lima, J.D. and Ribeiro, M.F.B. (2001)** Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Babesia bigemina* in cattle
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro **96**, 237-240
- Gonçalves, P.M., Passos, L.M.F., and Ribeiro, M.F.B. (1999)** Detection of IgM antibodies against *Babesia bovis* in cattle
Veterinary Parasitology **82**, 11-17
- Gorenflot, A., Moubri, K., Precigout, E., Carcy, B. and Schetters, T.P.M. (1998)** Human babesiosis
Annals of Tropical Medicine & Parasitology **92**, 489-501
- Gray, J.S. and de Vos, A.J. (1981)** Studies on a bovine *Babesia* transmitted by *Hyalomma marginatum rufipes* Koch, 1844
Onderstepoort Journal of Veterinary Research **48**, 215-223
- Gray, J., Harte, H. and Talty, P. (1996)** Decline of bovine babesiosis in Ireland
Irish Veterinary Journal **49**, 157

- Gray, J.S., Langley, R.J. and Murphy, T.M. (1985)** Morphological comparisons of the bovine Piroplasm, *Babesia divergens*, in cattle and jird (*Meriones unguiculatus*) erythrocytes
Journal of Parasitology **71**, 799-802
- Gray, J.S., Murphy, T.M., Taylor, S.M., Blewett, D.A., Harrington, R. (1990)**
Comparative morphological and cross transmission studies with bovine and deer babesiosis in Ireland
Preventive Veterinary Medicine **9**, 185-193
- Gubbels, J.M., de Vos, A.P., van der Weide, M., Viseras, J., Schouls, L.M., de Vries, E. and Jongejan, F. (1999)** Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blot hybridisation
Journal of Clinical Microbiology **37**, 1782-1789
- Guglielmo, A.A., Gaido, A.B. and Mangold, A.J. (1996)** Light microscopy diagnosis of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* kinetes in the haemolymph of artificially infected *Boophilus microplus* engorged female ticks
Veterinary Parasitology **61**, 15-20
- Higuchi, S., Ezura, K., Hamana, M., Itoh, H. and Kawamura, S. (1987a)** Studies on the degree of parasitemia and the morphological forms of *Babesia ovata* in peripheral blood
Kitasato Archive of Experimental Medicine **60**, 173-178
- Higuchi, S., Itoh, N., Kawamura, S. and Yasuda, Y. (1987b)** Observation on kinetes of *Babesia ovata* in the hemolymph of the vector tick *Haemaphysalis longicornis*
Japanese Journal of Veterinary Science **49**, 1145-1147
- Hildebrandt, P.K. (1981)** The organ and vascular pathology of babesiosis
In Ristic, M., Kreier, J.P: Babesiosis, Academic Press, 459-470
- Hillis, D.M. and Dixon, M.T. (1991)** Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference
The Quarterly Review of Biology **66**, 411-453
- Hinaidy, H.K. (1981)** Die Babesiose des Rindes in Österreich
Wiener tierärztliche Monatsschrift **2**, 52-57
- Hohenschild, S. (1999)** Babesiose – eine bedrohliche Infektion für splenektomierte Kinder und Erwachsene
Klinische Pädiatrie **211**, 137-140

- Homer, M.J., Aguilar-Delfin, I., Telford III, S.R., Krause, P.J. and Persing, D.H. (2000)** Babesiosis
Clinical Microbiology Reviews **13**, 451-469
- Hoyte, H.M.D. (1976)** The tick-fever parasites of cattle
The Proceeding of the Royal Society of Queensland **87**, v-xiii
- Huwer, M., Schwarzmeier, A., Hamel, D.-H. und Will, R. (1994)** Zum Vorkommen von *Babesia divergens* im Bezirk Freiburg i. Br. und Versuche zur Piroplasmose beim Rind
Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift **107**, 198-202
- Igarashi, I., Aikawa, M. and Kreier, J.P. (1988)** Host cell-parasite interactions in babesiosis
In Ristic, M: Babesiosis of domestic animals and man, CRC Press, Boca Raton, 53-70
- Jasmer, D.P., Reduker, D.W., Goff, W.L., Stiller, D. and McGuire, T.C. (1990)** DNA Probes distinguish geographical isolates and identify a novel DNA molecule of *Babesia bovis*
Journal of Parasitology **76**, 834-841
- Jinlin, Z., Jie, S., Gousheng, H. and Quan, W. (1997)** Studies on the comprehensive control of babesiosis in cattle and buffaloes
Tropical Animal Health and Production **29**, 66S-71S
- Jones, S.H., Lew, A.E., Jorgensen, W.E. and Barker, S.C. (1997)** *Babesia bovis*: genome size, number of chromosomes and telomeric probe hybridisation
International Journal for Parasitology **27**, 1569-1573
- Kahl, L.P., Anders, R.F., Rodwell, B.J., Timms, P. and Mitchell, G.F. (1982)** Variable and common antigens of *Babesia bovis* parasites differing in strain and virulence
Journal of Immunology **129**, 1700-1705
- Kakoma, I. and Mehlhorn, M. (1994)** Babesia of domestic animals
In Kreier, J.P: Parasitic Protozoa, Vol. 7, Academic Press, Inc., 141-216
- Katsande, T.C., More, S.J., Bock, R.E., Mabikacheche, L., Molloy, J.B. and Ncube, C. (1999)** A serological survey of bovine babesiosis in northern and eastern Zimbabwe
Onderstepoort Journal of Veterinary Research **66**, 255-263
- Kjemtrup, A.M., Thomford, J., Robinson, T. and Conrad, P.A. (2000)** Phylogenetic relationship of human and wildlife piroplasm isolates in the western United States inferred from the 18s nuclear small subunit RNA gene
Parasitology **120**, 587-493

- Kunz, W. (2002)** When is a parasite species a species?
Trends in Parasitology **18**, 121-124
- Kuttler, K.L. (1988)** World-wide impact of babesiosis
In Ristic, M: Babesiosis of domestic animals and man, CRC Press, Boca Raton, 1-22
- Levine, N.D. (1973)** Protozoan parasites of domestic animals and of man
Second Edition, Burgess Publishing Company, Minneapolis
- Levine, N.D. (1980)** A newly revised classification of the protozoa
The Journal of Protozoology **27**, 37-58
- Levine, N.D. (1985)** Apicomplexa: The piroplasms
In Levine N.D: Veterinary Protozoology, Iowa State University Press, Ames,
Chapter 11, 291-328
- Levine, N.D. (1988)** Blood parasites: The piroplasms
In Levine N.D: The phylum Apicomplexa, Vol II. CRC Press, Boca Raton, 35-45
- Levy, M.G., Clabaugh, G. and Ristic, M. (1982)** Age Resistance in Bovine Babesiosis:
Role of Blood Factors in Resistance to *Babesia bovis*
Infection and Immunity **37**, 1127-1131
- Lew, A.E., Bock, R.E., Croft, J.M., Minchin, C.M., Kingston, T.G. and Dalglish (1997b)** Genotypic diversity in field isolates of *Babesia bovis* from cattle with babesiosis after vaccination
Australian Veterinary Journal **75**, 575-578
- Lew, A.E., Dalrymple, B.P., Jeston, P.J. and Bock, R.E. (1997a)** PCR methods for the discrimination of *Babesia bovis* isolates
Veterinary Parasitology **71**, 223-237
- Lew, A.E., Dluzewski, A.R., Johnson, A.M. and Pinder, J.C. (2002)** Myosins of *Babesia bovis*: Molecular Characterisation, Erythrocyte Invasion and Phylogeny
Cell Motility and the Cytoskeleton **52**, 202-220
- L'Hostis, M. (1998)** Aspects vétérinaires des maladies transmises par les tiques: exemple de la babésiose bovine à *Babesia divergens*
Medicines et Maladies Infectieuses **28**, 359-362
- L'Hostis, M., Chauvin, A., Valentin, A., Marchand, A. and Gorenflot, A. (1995)** Large scale survey of bovine babesiosis due to *Babesia divergens* in France
The Veterinary Record **136**, 36-38

- Liebisch, A., Melfsen, J. und Rahman, M.S. (1976)** Zum Vorkommen der Zecke *Haemaphysalis punctata* (Can. et Franz., 1877) und von *Babesia major* beim Rind in Norddeutschland
Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift **89**, 477-480
- Liu, S., Thaler, D.S., Libchaber, A. (2002)** Signal and noise in bridging PCR
BMC Biotechnology **2**, 13
- Lucius, R. und Loos-Frank, B. (1997)** Parasitologie, Grundlagen für Biologen, Mediziner und Veterinärmediziner
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- Luo, J., Yin, H., Guan, G., Zhang, Q. and Lu, W. (2002)** Description of a new *Babesia* sp. infective for cattle in China
Parasitology Research **88**, S13-S15
- Machado, R.Z., Montassier, H.J., Pinto, A.A., Lemos, E.G., Machado, M.R., Valadao, I.F., Barci, L.G. and Malheiros, E.B. (1997)** An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against *Babesia bovis* in cattle
Veterinary Parasitology **71**, 17-26
- Mackenstedt, U., Gauer, M., Fuchs, P., Zapf, F., Schein, E. and Mehlhorn, H. (1995)** DNA measurements reveal differences in the life cycles of *Babesia bigemina* and *B. canis*, two typical members of the genus *Babesia*
Parasitology Research **81**, 595-604
- Mackenstedt, U., Gauer, M., Mehlhorn, H., Schein, E. and Hauschild, S. (1990)** Sexual cycle of *Babesia divergens* confirmed by DNA measurements
Parasitology Research **76**, 199-206
- Mackenstedt, U., Luton, K., Baverstock, P.R. and Johnson A.M. (1994)** Phylogenetic relationships of *Babesia divergens* as determined from comparison of small subunit ribosomal RNA gene sequences
Molecular and Biochemical Parasitology **68**, 161-165
- Mahoney, D.F., Wright, I.G., Goodger, B.V. (1979)** Immunity in cattle to *Babesia bovis* after single infections with parasites of various origins
Australian Veterinary Journal **55**, 10-12
- Mc Cosker, P.J. (1981)** The global importance of babesiosis
In Ristic, M., Kreier, J.P: Babesiosis, Academic Press, 1-2

- Mehlhorn, H. and Schein, E. (1984)** The piroplasms: Life cycle and sexual stages
In Baker, J.R. and Mueller, R.: *Advances in Parasitology* **23**, Academic Press, London,
37-103
- Melendez, R.D. (2000)** Future perspectives on veterinary hemoparasite research in the
tropics at the start of this century
Annals of the New York Academy of Sciences **849**, 253-258
- Molloy, J.B., Bowles, P.M., Jeston, P.J., Bruyeres, J.M., Bowden, J.M., Bock, R.E.,
Jorgensen, W.K., Blight, G.W. and Dalglish, R.J. (1998)** Development of an
enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Babesia*
bigemina in cattle
Parasitology Research **84**, 651-656
- Monis, P.T. (1999)** The importance of systematics in parasitological research
International Journal for Parasitology **29**, 381-388
- Monis, P.T., Andrews, R.H. and Saint, C.P. (2002)** Molecular biology techniques in
parasite ecology
International Journal for Parasitology **32**, 551-562
- Montenegro-James, S. (1992)** Prevalence and control of babesiosis in the Americas
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro **87**, Suppl. III, 27-36
- Montenegro-James, S., Toro Benitez, M., Leon, E., Lopez, R. and Ristic, M. (1985)**
Heterologous strain immunity in bovine babesiosis using a culture-derived soluble
Babesia bovis immunogen
Veterinary Parasitology **18**, 321-337
- Nevils, M.A., Figueroa, J.V., Turk, J.R., Canto, G.J., Le, V., Ellersieck, M.R., Carson,
C.A. (2000)** Cloned lines of *Babesia bovis* differ in their ability to induce
cerebral babesiosis in cattle
Parasitology Research **86**, 437-443
- Nikolskii, S.N., Nikiforenko, V.I. and Pozov, S.A. (1977)** Epizootiology of piroplasmosis
in Siberia.
Veterinariya, Moscow **4**, 71-75
- Ohta, M., Kawazu, S.-I., Tsuji, N., Terada, Y., Kamio, T. and Fujisaki, K. (1995a)**
DNA probes for detection of *Babesia ovata* or the *Babesia* sp.1,
A newly isolated bovine *Babesia* parasite in Japan
Journal of Protozoology Research **5**, 58-65

- Ohta, M., Kawazu, S.-I., Tsuji, N., Terada, Y., Kamio, T. and Fujisaki, K. (1995b)** Rapid and sensitive method for detection of newly isolated *Babesia* parasite (*Babesia* sp.1) in the anticipated vector-tick using polymerase chain reaction technique
Journal of Protozoology Research **5**, 108-117
- Ohta, M., Kawazu, S.-I., Terada, Y., Kamio, T. and Fujisaki, K. (1996)** Experimental transmission of *Babesia ovata oshimensis* n. var. of cattle in Japan by *Haemaphysalis longicornis*
Journal of Veterinary Medical Science **58**, 1153-1155
- Ohta, M., Tsuji, M., Tsuji, N. and Fujisaki, K. (1995c)** Morphological, serological and antigenetic characteristics, and protein profile of newly isolated bovine *Babesia* parasite with particular reference to those of *B. ovata*
Journal of Veterinary Medical Science **57**, 671-675
- Olsen, G.J. and Woese, C.R. (1993)** Ribosomal RNA: a key to phylogeny
FASEB Journal **7**, 113-123
- Papadopoulos, B., Brossard, M. and Marie Perié, N. (1996)** Piroplasms of domestic animals in the Macedonia region of Greece, 2. Piroplasms of cattle
Veterinary Parasitology **63**, 57-66
- Passos, L.M.F., Bell-Sakyi, L., Brown, C.G.D. (1998)** Immunochemical characterization of in vitro culture derived antigens of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*
Veterinary Parasitology **76**, 239-249
- Petchpoo, W., Tan-ariya, P., Boonsaeng, V., Brockelman C.R., Wilairat, P. and Panyim, S. (1992)** A specific DNA probe which identifies *Babesia bovis* in whole blood
Veterinary Parasitology **42**, 189-198
- Phillips, R.S., Reid, G.M., McLean, S.A. and Pearson, C.D. (1986)** Antigenic diversity in *Babesia divergens*: preliminary results with three monoclonal antibodies to the rat-adapted strain
Research in Veterinary Science **42**, 96-100
- Precigout, E., Gorenflot, A., Valentin, A., Bissuel, G., Carcy, B., Brasseur, P., Moreau, Y. and Schrevel, J. (1991)** Analysis of immune responses of different hosts to *Babesia divergens* isolates from different geographic areas and capacity of culture-derived exoantigens to induce efficient cross-protection
Infection and Immunity **59-8**, 2799-2805
- Prichard R. and Tait, A. (2001)** The role of molecular biology in veterinary parasitology
Veterinary Parasitology **98**, 169-194

- Purnell, R.E. (1981a)** Babesiosis in various hosts
In Ristic, M., Kreier, J.P: Babesiosis, Academic Press Inc., 25-63
- Purnell, R.E. (1981b)** Tick-borne diseases
British Veterinary Journal **137**, 221-240
- Ramirez, G.T., Jones, T.W., Brown, C.G.D., Dominguez, J.L.D. and Honhold, N. (1998)**
Bovine babesiosis in dual purpose calves in the state of Yucatan, Mexico
Tropical Animal Health and Production **30**, 45-52
- Ray, B.K., Bailey, C.W., Jensen, J.B. and Carson, C.A. (1992)** Chromosomes of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*
Molecular and Biochemical Parasitology **52**, 123-126
- Reddy G.R., Chakrabarti D., Yowell C.A. and Dame J.B. (1991)** Sequence microheterogeneity of the three small subunit ribosomal RNA genes of *Babesia bigemina*: expression in erythrocyte culture
Nucleic Acids Research **19**, 3641-3645
- Reddy, G.G., Mishra, A.K., Rao, J.R., Tewari, A.K. (1997)** Comparison of indirect immunofluorescence (IIF) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in detecting *Babesia bigemina* infection in cattle
Acta Veterinaria Hungarica **45**, 67-74
- Rogers, M.J., McConkey, G.A., Li, J. and McCutchan T.F. (1995)** The ribosomal DNA loci in *Plasmodium falciparum* accumulate mutations independently
Journal of Molecular Biology **254**, 881-891
- Rosenthal, B.M. (2001)** Defining and interpreting intraspecific molecular variation
Veterinary Parasitology **101**, 187-200
- Sahibi, H., Rhalem, A.B., Berrag, B. and Goff, W.L. (1998)** Bovine babesiosis: seroprevalence und ticks associated with cattle from two different regions of Morocco
Annals of the New York Academy of Sciences **849**, 213-218
- Sanger, F., Nicklein, S. and Coulson, A.R. (1977)** DNA sequencing with chainterminating inhibitors
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA **74**, 5463-5467
- Seddon, H.R. (1966)** Bovine babesiosis (Tick fever of cattle)
In Seddon, H.R: Diseases of domestic animals in Australia, Part 4: Protozoan and viral diseases; Commonwealth Department of Health, Canberra, Australia, 10-31

- Shkap, V., Pipano, E., McElwain, T.F., Herzberg, U., Krigel, Y., Fish, L. and Palmer, G.H. (1994)** Cross-protective immunity induced by *Babesia bovis* clones with antigenically unrelated variable merozoite surface antigens
Veterinary Immunology and Immunopathology **41**, 367-374
- Smeenk, I., Kelly, P.J., Wray, K., Musuka, G., Trees, A.J. and Jongejan, F. (2000)** *Babesia bovis* and *B. bigemina* DNA detected in cattle and ticks from Zimbabwe by polymerase chain reaction
Journal of the South African Veterinary Association **71**, 21-24
- Smith, R.D., Evans, D.E., Martins, J.R., Ceresér, V.H., Correa, B.L., Petraccia, C., Cardozo, H., Solari, M.A. and Nari, A. (2002)** Babesiosis (*Babesia bovis*): Stability in unstable environments
Annals of the New York Academy of Sciences **916**, 510-520
- Sogin, M.L. and Silberman, J.D. (1998)** Evolution of the protists and protistan parasites from the perspective of molecular systematics
International Journal for Parasitology **28**, 11-20
- Sonenshine, D.E. (1993)** Biology of ticks
Vol. 2, Oxford University Press, New York
- Sparagano, O., Loria, G.R., Gubbels, M.-J., de Vos, A.P., Caracappa, S. and Jongejan, F. (2000)** Integrated molecular diagnosis of theileria and babesia species of cattle in Italy
Annals of the New York Academy of Sciences **916**, 533-539
- Starcovici, C. (1893)** Bemerkungen über den durch Babes entdeckten Blutparasiten und die durch denselben hervorgebrachten Krankheiten, die seuchenhafte Hämoglobinurie des Rindes (Babès), das Texasfieber (Th. Smith) und der Carceag der Schafe (Babes)
Zentralblatt Bakt. I Abteilung Originalien **14**, 1-8
- Taberlet, P. (1998)** Biodiversity at the intraspecific level: The comparative phylogeographic approach
Journal of Biotechnology **64**, 91-100
- Thomas, S.E. and Manson, T.E. (1981)** Isolation and transmission of an unidentified *Babesia* sp. infective for cattle
Onderstepoort Journal of Veterinary Research **48**, 155-158
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. (1994)** CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice
Nucleic Acids Research **22**, 4673-4680

- Todorovic, R.A., Wagner, G.G. and Kopf, M. (1981)** Ultrastructure of *Babesia bovis* (Babes 1888)
Veterinary Parasitology **8**, 277-290
- Tsuji, M., Arai, S., Nakamura, Y., Kim, S.-J., Cho, S.-H., He, F.-Q. and Ishihara, C. (1999)** Preparation of Antibodies Directed to the *Babesia ovata*- or *Theileria serengeti*-parasitized Erythrocytes
Journal of Veterinary Medical Science **61**, 73-76
- Turner, M. J. (1984)** Antigenetic variation in parasites
Parasitology **88**, 613-621
- Uilenberg, G. (1995)** International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health
Veterinary Parasitology **57**, 19-41
- Ullmann, B., Centurion, C., Weiland, G. und Boch, J. (1984)** Ein Beitrag zur Rinderbabesiose im westlichen Allgäu
Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift **97**, 265-269
- Wägele, J.-W. (2000)** Grundlagen der Phylogenetischen Systematik
Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München
- Weiland, G., Reif, L., Schmidt, M. und Boch, J. (1980)** Serologische Untersuchungen zum Nachweis der *Babesia divergens*-Infektion des Rindes
Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift **93**, 261-264
- Wright, I.G. and Goodger B.V. (1988b)** Pathogenesis of babesiosis
In Ristic, M: Babesiosis of domestic animals and man, CRC Press, Boca Raton, 99-118
- Wright, I.G., Kerr, J.D. (1974)** The preferential invasion of young erythrocytes in acute *B. bigemina* infections
Zeitschrift für Parasitenkunde **43**, 63-69
- Wright, I.G. et al. (1988a)** Immunopathophysiology of *Babesia bovis* and *Plasmodium falciparum* infections
Parasitology Today **4**, 214-218
- Yin, H., Lu, W., Luo, J., Zhang, Q., Lu, W. and Dou, H. (1996)** Experiments on the transmission of *Babesia major* and *Babesia bigemina* by *Haemaphysalis punctata*
Veterinary Parasitology **67**, 89-98

- Yin, H., Lu, W., Luo, J. (1997)** Babesiosis in China
Tropical Animal Health and Production **29**, 11S-15S
- Young, A.S. (1988)** Epidemiology of Babesiosis
In Ristic, M: Babesiosis of domestic animals and man, CRC Press, Boca Raton, 82-89
- Young, A.S. and Morzaria, S.P. (1986)** Biology of *Babesia*
Parasitology Today **2**, 211-219
- Zahler, M., Gothe, R. and Rinder, H. (1995)** Genetic evidence against a morphologically suggestive conspecificity of *Dermacentor reticulatus* and *D. marginatus* (Acari: Ixodidae)
International Journal for Parasitology **25**, 1413-1419
- Zahler, M., Rinder, H. and Gothe, R. (2000)** '*Babesia gibsoni*' of dogs from North America and Asia belong to different species
Veterinary Parasitology **89**, 241-248
- Zahler, M., Schein, E., Rinder, H. and Gothe, R. (1998)** Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs
Parasitology Research **84**, 544-548
- Zarlenga, D.S. and Higgins, J. (2001)** PCR as a diagnostic and quantitative technique in veterinary parasitology
Veterinary Parasitology **101**, 215-230
- Zhongling, L., Junlong, Z., Lihua, M. and Baoan, Y. (1997)** Studies on buffalo babesiosis in Hubei province, China
Tropical Animal Health and Production **29**, 33S-36S
- Zuckermandl, E. and Pauling, L. (1965)** Molecules as documents of evolutionary history
Journal of Theoretical Biology **8**, 357-366
- Zwart, D., Van den Ende, M.C., Kouwenhoven, B. and Buys, J. (1968)** The difference between *B. bigemina* and a Dutch strain of *B. major*
Tijdschrift voor Diergeneeskunde **93**, 126-140

VIII. Abkürzungen

Amp	Ampicillin
APS	Ammoniumpersulfat
<i>Bam</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
bp	Basenpaare
BSA	Bovines Serumalbumin
dATP	2'-Desoxyadenosin-5'-triphosphat
dCTP	2'-Desoxycytosin-5'-triphosphat
ddATP	2'-Didesoxyadenosin-5'-triphosphat
ddCTP	2'-Didesoxycytosin-5'-triphosphat
ddGTP	2'-Didesoxyguanosin-5'-triphosphat
ddTTP	2'-Didesoxythymidin-5'-triphosphat
demin.	demineralisiert
dGTP	2'-Desoxyguanosin-5'-triphosphat
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (=DNS)
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
DTT	Dithiothreitol
dTTP	2'-Desoxythymidin-5'-triphosphat
<i>Eco</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EtBr	Ethidiumbromid
H ₂ O	Wasser
HEPES	N-[2-Hydroxyethyl]piperazin-N'-[2-ethan-sulfonsäure]
IPTG	Isopropyl-β-D-thiogalactopyranosid
ITS	Interner transkribierter Spacer

kb	Kilobasen
KCl	Kaliumchlorid
LB-Medium	Luria-Bertrani-Medium
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MgSO ₄	Magnesiumsulfoxid
NaCl	Natriumchlorid
NaI	Natriumiodid
NaOH	Natronlauge
PCR	Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction)
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
rpm	rounds per minute
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
SDS	Natriumdodecylsulfat
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TE	Tris-EDTA
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin
Tet	Tetracyclin
Tris	Tris[hydroxymethyl]methylamin
Tris·HCl	Tris[hydroxymethyl]methylaminhydrochlorid
UV	Ultraviolett
Vol	Volumen
<i>Xba</i>	<i>Xanthomonas badrii</i>
X-Gal	5-Brom-4-chlor-3-indolyl-β-D-galactopyranosid
<i>Xho</i>	<i>Xanthomonas holcicola</i>

IX. Anhang

1. 18S-rDNA Sequenzen

Spezies: *Babesia bovis*

Anzahl: 11

Länge (b/max.): 1452

B bo01	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTTTGCATGGATAAACCGTGCTAATTGTATGGCTA	70
B bo03	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTT . GCTATGGATAAACCGcGCTAATTGTgTGGCTA	69
B bo05	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTT . GCTATGGATAAACCGcGCTAATTGTgTGGCTA	69
B bo07	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTT . GCTATGGATAAACCGcGCTAATTGTgTGGCTA	69
B bo08	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTT . GCTATGGATAAACCGcGCTAATTGTgTGGCTA	69
B bo09	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTT . GCTATGGATAAACCGcGCTAATTGTgTGGCTA	69
B bo10	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTT . GCTATGGATAAACCGcGCTAATTGTgTGGCTA	69
B bo16	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTT . GCTATGGATAAACCGcGCTAATTGTgTGGCTA	69
B bo17	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTT . GCTATGGATAAACCGcGCTAATTGTgTGGCTA	69
B bo18	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTT . GCTATGGATAAACCGcGCTAATTGTgTGGCTA	69
B bo19	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCACTTTTGCATGGATAAACCGTGCTAATTGTATGGCTA	70
Consensus	ctcattacaacagttatagtttctttggagttcacttt gctatggataaacg gctaattgt tggcta	
B bo01	ATACACGTTTGAGGTTATTTCAACCGGTTTACTGGTTTTTCGTTGATTTACAGTAACCTGCCAGTCCCT	140
B bo03	ATACACGTTTGAGGTTtTc . . . ACCGCGTTTACTGGTTTTg . . . TGATTTACAGTAACCTGCgAcTCgC .	132
B bo05	ATACACGTTTGAGGTTtTc . . . ACCGCGTTTACTGGTTTTg . . . TGATTTACAGTAACCTGCgAcTCgC .	132
B bo07	ATACACGTTTGAGGgTtTT . . . ACCGCGTTTACTGGTcTTg . . . TGATTTACAGTAACCTGCgAcTCgC .	132
B bo08	ATACACGTTTGAGGTTATT . . . cCCGCGTTTACTGGTcTTg . . . TGATTTACAGTAACCTGCgAcTCgC .	132
B bo09	ATACACGTTTGAGGgTtTT . . . ACCGCGTTTACTGGTcTTg . . . TGATTTACAGTAACCTGCgAcTCgC .	132
B bo10	ATACACGTTTGAGGgTtTT . . . cCCGCGTTTACTGGTcTTg . . . TGATTTACAGTAACCTGCgAcTCgC .	132
B bo16	ATACACGTTTGAGGTTATT . . . ACCGCGTTTACTGGTcTTg . . . TGATTTACAGTAACCTGCgAcTCgC .	132
B bo17	ATACACGTTTGAGGTTATT . . . ACCGCGTTTACTGGTcTTg . . . TGATTTACAGTAACCTGCgAcTCgC .	132
B bo18	ATACACGTTTGAGGTTATT . . . ACCGCGTTTACTGGTcTTg . . . TGATTTACAGTAACCTGCgAcTCgC .	132
B bo19	ATACACGTTTGAGGTTgnn . . . nnnnnnnnnnnnnnnnnnn . . . nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnn	134
Consensus	atacacgtttgagg t	
B bo01	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCNN	210
B bo03	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	202
B bo05	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	202
B bo07	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	202
B bo08	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	202
B bo09	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	202
B bo10	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	202
B bo16	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	202
B bo17	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	202
B bo18	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTTCTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	202
B bo19	TTTTTGGGATATCCATTCAAGTTtTGACCCatcagcttgacggtagggatattggcctcccagggcatc	204
Consensus	tttttgggatattccattcaagttt tgaccc	
B bo01	NN	280
B bo03	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatctaaggaa	272
B bo05	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatctaaggaa	272
B bo07	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatctaaggaa	272
B bo08	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatctaaggaa	272
B bo09	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatctaaggaa	272
B bo10	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatctaaggaa	272
B bo16	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatctaaggaa	272
B bo17	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatctaaggaa	272
B bo18	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatctaaggaa	272
B bo19	gacgggtaacggggaattagggttcगतtccggagagggagcctgcgagacggctaccacatttaaggaa	274
Consensus		
B bo01	NN	350
B bo03	ggcagcaggcgcgcaaattaccaatcctgacacagggaggtagtgacaagaaataccaatacggggcta	342
B bo05	ggcagcaggcgcgcaaattaccaatcctgacacagggaggtagtgacaagaaataccaatacggggcta	342
B bo07	ggcagcaggcgcgcaaattaccaatcctgacacagggaggtagtgacaagaaataccaatacggggcta	342
B bo08	ggcagcaggcgcgcaaattaccaatcctgacacagggaggtagtgacaagaaataccaatacggggcta	342
B bo09	ggcagcaggcgcgcaaattaccaatcctgacacagggaggtagtgacaagaaataccaatacggggcta	342

B bo07	TTTGTGCATGACGCACGACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGACGCTTCCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGG	758
B bo08	TTTGTGCATGACGCACGACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGACGCTTCCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGG	758
B bo09	TTTGTGCATGACGCACGACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGACGCTTCCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGG	758
B bo10	TTTGTGCATGACGCACGACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGACGCTTCCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGG	760
B bo16	TTTGTGCATGACGCACGACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGACGCTTCCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGG	760
B bo17	TTTGTGCATGACGCACGACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGACGCTTCCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGG	761
B bo18	TTTGTGCATGACGCACGACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGACGCTTCCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGG	760
B bo19	TTTGTGCATGACGCACGACTGCGAAAGCATT.GCGCAAGGACGCTTCCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGG	759
Consensus	tttgtgcgatgacgcacgactgcgaaagcatt gccaaggacgcttccatthaatcaagaacgaaagttagg	
B bo01	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACGATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	831
B bo03	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACGATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	829
B bo05	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACGATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	828
B bo07	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACcATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	828
B bo08	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACcATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	828
B bo09	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCgTAACCTTAAACcATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	828
B bo10	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACcATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	830
B bo16	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACcATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	830
B bo17	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACcATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	831
B bo18	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACcATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	830
B bo19	GGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCTTAAACGATGCCGACTAGGGATTGGTGGTCGTC	829
Consensus	ggatcgaagacgatcagataccgctcgtagtc taacctaaac atgccgactagggattgggtggtcgtc	
B bo01	GCTTTGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	901
B bo03	aC.TcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	898
B bo05	aC.TcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	897
B bo07	GCcTcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	898
B bo08	GCcTcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	898
B bo09	GCcTcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	898
B bo10	GCcTcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	900
B bo16	GCcTcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	900
B bo17	GCcTcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	901
B bo18	GCcTcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	900
B bo19	GCcTcGACTCCGTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTC	899
Consensus	c t gactccgctcagcaccttgagagaaatcaaagtctttgggttctgggggagtatggtcgcaagtc	
B bo01	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	971
B bo03	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	968
B bo05	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	967
B bo07	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	968
B bo08	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	968
B bo09	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	968
B bo10	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	970
B bo16	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	970
B bo17	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	971
B bo18	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	970
B bo19	TGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	969
Consensus	tgaaaacttaaaggaattgacggaagggcaccaccaggcgtggagcctgcggttaatttgactcaacacg	
B bo01	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1041
B bo03	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1038
B bo05	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1037
B bo07	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1038
B bo08	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1038
B bo09	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1038
B bo10	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1040
B bo16	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1040
B bo17	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1041
B bo18	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1040
B bo19	GGGAACCTCACCAGGTCAGACAGCGTAAGGATTGACAGGTTGATTGTCTTTCTTGATTCTCTGGGTAG	1039
Consensus	gggaacctcaccaggctcagacagcgttaaggattgacaggttgattgtcctttcttgattctctgggtag	
B bo01	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1111
B bo03	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1108
B bo05	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1107
B bo07	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1108
B bo08	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1108
B bo09	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1108
B bo10	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1110
B bo16	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1110
B bo17	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1111
B bo18	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1110
B bo19	TGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAAC	1109
Consensus	tgggtgcattggccgttcttagttgggtggagtgattgtctggttaattccggttaacgaacgagaccttaac	

B bo01	CTGCTATTTAGTCGCACTGACCGCGTCCGTGCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1181
B bo03	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtGtGTCCGcGCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1178
B bo05	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtCtCGTCCGcGCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1177
B bo07	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtCtGTCCGcGCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1178
B bo08	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtCtGTCCGcGCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1178
B bo09	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtCtGTCCGcGCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1178
B bo10	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtCtGTCCGcGCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1180
B bo16	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtCtGTCCGTCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1180
B bo17	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtCtGTCCGTCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1181
B bo18	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtCtGTCCGTCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1180
B bo19	CTGCTATTTAGTCGCGcGgGtCtCtGTCCGTCGCACTTCATAGAGGGACTCTGCGGCGTCAAGCTGCGGT	1179
Consensus	ctgctatTTAGTCgc c g c gtcg gcgacttcataagggactctgcgcgcaagctgcggt	
B bo01	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1251
B bo03	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1248
B bo05	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1247
B bo07	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1248
B bo08	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1248
B bo09	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1248
B bo10	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1250
B bo16	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1250
B bo17	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1251
B bo18	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1250
B bo19	GAGGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGCTACACTGATGC	1249
Consensus	gaggTTTAAGGcaataacaggtctgtgatGCCCTTAGATGTCCTGGGCTGCACGCGCGctacactgatgc	
B bo01	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGATAGGCCCGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1321
B bo03	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGAcAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1318
B bo05	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGAcAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1317
B bo07	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGATAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1318
B bo08	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGATAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1318
B bo09	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGATAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1318
B bo10	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGATAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1320
B bo16	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGATAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1320
B bo17	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGATAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1321
B bo18	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGATAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1320
B bo19	TTGCCTCGTGTTTACCCTCGGCCGATAGGCCctGGTAACCCCTAGTCTGCATCGTGTGGGATTGATCT	1319
Consensus	ttgcctcgTgtttaccctCGGCCGATAGGCCctGGTAACCCCTAGTctgcatcgTgttgggattgatct	
B bo01	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1391
B bo03	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1388
B bo05	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1387
B bo07	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1388
B bo08	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1388
B bo09	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1388
B bo10	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1390
B bo16	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1390
B bo17	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1391
B bo18	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1390
B bo19	TTGCAATTCTAGATCATGAACGAGGAATGCCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCC	1389
Consensus	ttgcaattctagatcatgaacgaggaatgCCTAGTATgCGcaagtcatacagcttgtgcagattacgtccc	
B bo01	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1452
B bo03	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1449
B bo05	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1448
B bo07	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1449
B bo08	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1449
B bo09	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1449
B bo10	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1451
B bo16	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1451
B bo17	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1452
B bo18	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1451
B bo19	TGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTTCGGA	1450
Consensus	tgccctttgtacacacCGCCCGTCgctcctaccgatcgagtgatccggTgaattatttcgga	

Spezies: *Babesia bigemina*

Anzahl: 17

Länge (b/max.): 1485

B bi01	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi02	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi03	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi04	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi05	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi06	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi07	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi08	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi09	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi10	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi11	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi12	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi14	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi16	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi17	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi18	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B bi19GGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	28
Consensus	ggataaccgtgctaattgtagggcta	
B bi01	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi02	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi03	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi04	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi05	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi06	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi07	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi08	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi09	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi10	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi11	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi12	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi14	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi16	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi17	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi18	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	140
B bi19	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGGCGTTTATTAGTTCCTTAACCACTTTTTCTGGTGATTTCATAATAAACT	98
Consensus	acaagttcgaggccttttggcggcgctttattagtttc ttaaccactttttctggtgatttcataataaaact	
B bi01	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi02	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi03	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi04	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi05	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi06	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi07	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi08	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi09	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi10	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi11	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi12	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi14	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi16	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi17	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi18	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	210
B bi19	TGCGAATCGCTTTTGCATGTTCCATTCAAGTTTCTGCCCATCAGCTTGACGGTAGGGTATTGGCCTAC	168
Consensus	tgcgaatcgcttttgcgatgttccattcaagtttctgccccatcagcttgacggtagggatttggcctac	
B bi01	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi02	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi03	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi04	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi05	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi06	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi07	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi08	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi09	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi10	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi11	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280

B bi12	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi14	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi16	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi17	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi18	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	280
B bi19	CGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACA	238
Consensus	cgaggcagcaacgggtaacggggaattagggttcgattccggagagggagcctgagaaacggctaccaca	
B bi01	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi02	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi03	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi04	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi05	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi06	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi07	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi08	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi09	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi10	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi11	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi12	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi14	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi16	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi17	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi18	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	350
B bi19	TCTAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAAT	308
Consensus	tctaaggaaggcagcagggcgcgcaaatacccaatcctgacacagggaggtagtgacaagaaataacaat	
B bi01	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi02	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi03	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi04	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi05	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi06	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi07	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi08	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi09	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	420
B bi10	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi11	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi12	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi14	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi16	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi17	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi18	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	419
B bi19	ACAGGGCTTTCGCTTTGTAATTGGAATGATGGTGATGTACAACCTCACCAGAG . TACCAATGGAGGGCA	377
Consensus	acagggctttcgtctttgtaattggaatgatggtgatgtacaacctcaccagag . taccaatggagggca	
B bi01	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi02	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi03	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi04	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi05	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi06	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi07	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi08	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi09	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	490
B bi10	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi11	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi12	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi14	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi16	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi17	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi18	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	489
B bi19	AGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAACTTGTTGCAGTTAAAAAGC	447
Consensus	agtctggtgccagcagccgcgtaattccagctccaatagcgtatattaaacttgttgcagttaaaaagc	
B bi01	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTTGTGTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTCTTTTACTTT	559
B bi02	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTGgGTTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi03	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTTGTGTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi04	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTTGTGTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTCTTTTACTTT	559
B bi05	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTTGTGTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTCTTTTACTTT	559
B bi06	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTTGTGTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi07	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTTtTTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi08	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTTtTTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi09	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTTtTgTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	560
B bi10	TCGTAGTTGTATTTACGCTCGCGTTTTTCCCTTtTgTTGGGTCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559

B bi11	TCGTAGTTGTATTTTCAGCCTCGCGTTTTTCCCTTgGTTTGGGTCCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi12	TCGTAGTTGTATTTTCAGCCTCGCGTTTTTCCCTTtTgTTGGGTCCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi14	TCGTAGTTGTATTTTCAGCCTCGCGTTTTTCCCTTtTgTTGGGTCCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi16	TCGTAGTTGTATTTTCAGCCTCGCGTTTTTCCCTTtTgTTGGGTCCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi17	TCGTAGTTGTATTTTCAGCCTCGCGTTTTTCCCTTtTgTTGGGTCCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi18	TCGTAGTTGTATTTTCAGCCTCGCGTTTTTCCCTTtTgTTGGGTCCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	559
B bi19	TCGTAGTTGTATTTTCAGCCTCGCGTTTTTCCCTTtTgTTGGGTCCTTTTCGCTGGCTTTtTTTTACTTT	517
Consensus	tcgtagttgtatTTTCAGCCTCGCGTTTTTCCCT t ttgggtcttttcgctggcttt tttttacttt	
B bi01	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi02	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi03	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi04	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi05	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi06	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi07	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi08	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi09	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	630
B bi10	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi11	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi12	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi14	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi16	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi17	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi18	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	629
B bi19	GAGAAAATTAGAGTGTTC AAGCAGACTTTTGCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAGAGTAGGACCT	587
Consensus	gagaaaattagagtgtttcaagcagacttttTgcttgaatacttcagcatggaataatagagtaggacct	
B bi01	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATT . AAC	698
B bi02	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi03	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi04	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi05	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi06	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi07	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi08	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi09	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	700
B bi10	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi11	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi12	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi14	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi16	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi17	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	699
B bi18	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTgATAGGAACGGTTGGGGGCATTCcTATTtAAC	699
B bi19	TGGTTCATTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTTAATAGGAACGGTTGGGGGCATTCGTATTtAAC	657
Consensus	tggttctatTTTGTGGTTTCGAGCCTTGGTAATGGTT ataggaacggttgggggcatTC tatt aac	
B bi01	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATT . GCCAAGGACGTTTTCA	767
B bi02	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	769
B bi03	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	769
B bi04	TGTCAGAGGTGAA . TTCTTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	768
B bi05	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	769
B bi06	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	769
B bi07	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATT . GCCAAGGACGTTTTCA	768
B bi08	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	769
B bi09	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACcGACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	770
B bi10	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACcGACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTT . CA	768
B bi11	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACcGACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	769
B bi12	TGTCAGAGGTGAA . TTCTTAGATTTGTTAA . GACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	767
B bi14	TGTCAGAGGTGAA . TTCTTAGATTTgtTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATT . GCCAAGGACGTTTTCA	767
B bi16	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAA . GACGAACCACTGCGAAAGCATT . GCCAAGGACGTTTTCA	767
B bi17	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAA . GACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	768
B bi18	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	769
B bi19	TGTCAGAGGTGAAATTCCTAGATTTGTTAAAGACGAACCACTGCGAAAGCATTtGCCAAGGACGTTTTCA	727
Consensus	tgtcagaggtgaa ttcttagatt ttaa gacgaac actgcgaaagcatt gccaaaggacgttt ca	
B bi01	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAACTATGC	837
B bi02	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAACTATGC	839
B bi03	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAACTATGC	839
B bi04	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAACTATGC	838
B bi05	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAACTATGC	839
B bi06	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAACTATGC	839
B bi07	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAACTATGC	838
B bi08	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGG . ATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAACTATGC	838
B bi09	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAACTATGC	840

B bi10	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGC	838
B bi11	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGC	839
B bi12	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGC	837
B bi14	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGG . ATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGC	836
B bi16	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGC	837
B bi17	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGC	838
B bi18	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGC	839
B bi19	TTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGC	797
Consensus	ttaatcaagaacgaaagttaggg atcgaagacgatcagataccgctcgtagtcctaaccataaaactatgc	
B bi01	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	907
B bi02	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	909
B bi03	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	909
B bi04	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	908
B bi05	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	909
B bi06	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	909
B bi07	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	908
B bi08	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	908
B bi09	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	910
B bi10	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	908
B bi11	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	909
B bi12	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	907
B bi14	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	906
B bi16	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	907
B bi17	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	908
B bi18	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	909
B bi19	CGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTT	867
Consensus	cgactagggattggaggctcgtcattttccgactccttcagcaccttgagagaaatcaaagtctttgggtt	
B bi01	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	977
B bi02	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	979
B bi03	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	979
B bi04	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	978
B bi05	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	979
B bi06	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	979
B bi07	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	978
B bi08	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	978
B bi09	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	980
B bi10	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	978
B bi11	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	979
B bi12	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	977
B bi14	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	976
B bi16	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	977
B bi17	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	978
B bi18	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	979
B bi19	CTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCC	937
Consensus	ctgggggagtatggtcgcaagtctgaaacttaaaggaattgacggaagggcaccaccaggcgtggagcc	
B bi01	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1047
B bi02	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1049
B bi03	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1049
B bi04	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1048
B bi05	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1049
B bi06	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1049
B bi07	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1048
B bi08	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1048
B bi09	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1050
B bi10	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1048
B bi11	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1049
B bi12	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1047
B bi14	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1046
B bi16	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1047
B bi17	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1048
B bi18	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1049
B bi19	TGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATTGATA	1007
Consensus	tgcggcttaatttgactcaacacggggaacctcaccaggtccagacagagtaaggattgacagattgata	
B bi01	GCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1117
B bi02	GCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1119
B bi03	GCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1119
B bi04	GCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1118
B bi05	GCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1119
B bi06	GCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1119
B bi07	GCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1118
B bi08	GCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1118

B bi09	GCTCTTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1120
B bi10	GCTCTTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1118
B bi11	GCTCTTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1119
B bi12	GCTCTTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1117
B bi14	GCTCTTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1116
B bi16	GCTCTTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1117
B bi17	GCTCTTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1118
B bi18	GCTCTTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1119
B bi19	GCTCTTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAAT	1077
Consensus	gctctttcttgattctttgggtgggtggatgcccgttcttagttgggtggagtgattgtctggttaat	
B bi01	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1187
B bi02	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1189
B bi03	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATgTtGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1189
B bi04	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1188
B bi05	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1189
B bi06	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1189
B bi07	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1188
B bi08	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1188
B bi09	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1190
B bi10	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATgTtGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1188
B bi11	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1189
B bi12	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATgTtGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1187
B bi14	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATgTtGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1186
B bi16	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATTTGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1187
B bi17	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATgTtGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1188
B bi18	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATgTtGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1189
B bi19	TCCGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGATgTtGTCCTCGTTTGCCTTCTTAGAGG	1147
Consensus	tccgttaacgaacgagaccttaacctgctaaactagctgcttggatttgtcctcgtttgccttcttagagg	
B bi01	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1257
B bi02	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1259
B bi03	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1259
B bi04	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1258
B bi05	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1259
B bi06	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1259
B bi07	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1258
B bi08	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1258
B bi09	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1260
B bi10	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1258
B bi11	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1259
B bi12	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1257
B bi14	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1256
B bi16	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1257
B bi17	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1258
B bi18	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1259
B bi19	GACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTAAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGG	1217
Consensus	gactcctgtgcttcaagcgtgggggaagtttaaggcaataaacaggtctgtgatgcccttagatgtcctgg	
B bi01	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1327
B bi02	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1329
B bi03	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1329
B bi04	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1328
B bi05	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1329
B bi06	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1329
B bi07	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1328
B bi08	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1328
B bi09	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1330
B bi10	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1328
B bi11	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1329
B bi12	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1327
B bi14	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1326
B bi16	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1327
B bi17	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1328
B bi18	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1329
B bi19	GCTGCACGCGCCTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCAGAAAGGGTTGGGTAATCTTTAGT	1287
Consensus	gctgcacgcgctacactgatgcacatccatcgagtttgtcctgtcccgaagggttgggtaatctttagt	
B bi01	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTGAATTTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1397
B bi02	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTGAATTTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1399
B bi03	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTGAATTTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1399
B bi04	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTGAATTTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1398
B bi05	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTGAATTTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1399
B bi06	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTGAATTTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1399
B bi07	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTGAATTTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1398

B bi08	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1398
B bi09	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1400
B bi10	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1398
B bi11	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1399
B bi12	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1397
B bi14	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1396
B bi16	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1397
B bi17	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1398
B bi18	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1399
B bi19	GTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	1357
Consensus	gtgcatcgtgtcgggattgatTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTC	
B bi01	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1467
B bi02	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1469
B bi03	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1469
B bi04	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1468
B bi05	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1469
B bi06	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1469
B bi07	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1468
B bi08	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1468
B bi09	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1470
B bi10	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1468
B bi11	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1469
B bi12	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1467
B bi14	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1466
B bi16	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1467
B bi17	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1468
B bi18	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1469
B bi19	ATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	1427
Consensus	atcagcttgtgcagattacgtccctgccctTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCC	
B bi01	GGTGAATTATTTCGGA	1482
B bi02	GGTGAATTATTTCGGA	1484
B bi03	GGTGAATTATTTCGGA	1484
B bi04	GGTGAATTATTTCGGA	1483
B bi05	GGTGAATTATTTCGGA	1484
B bi06	GGTGAATTATTTCGGA	1484
B bi07	GGTGAATTATTTCGGA	1483
B bi08	GGTGAATTATTTCGGA	1483
B bi09	GGTGAATTATTTCGGA	1485
B bi10	GGTGAATTATTTCGGA	1483
B bi11	GGTGAATTATTTCGGA	1484
B bi12	GGTGAATTATTTCGGA	1482
B bi14	GGTGAATTATTTCGGA	1481
B bi16	GGTGAATTATTTCGGA	1482
B bi17	GGTGAATTATTTCGGA	1483
B bi18	GGTGAATTATTTCGGA	1484
B bi19	GGTGAATTATTTCGGA	1442
Consensus	ggtgaattatttcgga	

Spezies: *Babesia divergens*

Anzahl: 11

Länge (b/max.): 1535

B di01	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di02	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di03	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di04	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di05	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di06	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di07	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di08	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di09	CTCATTACAACAGTTATAGTATCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di10	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B di11	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGTATTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
Consensus	ctcattacaacagttatagt tctttggatattcgTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	
B di01	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di02	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di03	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di04	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di05	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di06	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di07	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di08	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di09	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di10	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
B di11	ACAAGTTCGAGGCCTTTTGGCGCGCTTTATTAGTTCATAAACCATCCCTTTTGGTTTTTCGGTGATTCATA	140
Consensus	acaagttcgaggccttttggcgcgctttattagttctataaaccatcccttttggTTTTTCGGTGATTCATA	
B di01	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di02	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di03	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di04	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di05	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di06	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di07	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di08	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di09	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di10	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
B di11	ATAAACTTGCGAATCGCAATTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	210
Consensus	ataaaacttgcaatcgcaatTTTGGCGATGGACCATTCAAGTTTCTGACCCATCAGCTTGACGGTAGGG	
B di01	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di02	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di03	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di04	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di05	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di06	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di07	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di08	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di09	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di10	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
B di11	TATTGGCCTACCGAGGCAGCAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	280
Consensus	tattggcctaccgaggcagcaacgggtaacggggaattagggTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAA	
B di01	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di02	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di03	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di04	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di05	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di06	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di07	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di08	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di09	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di10	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
B di11	CGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAA	350
Consensus	cggctaccacatccaaggaaggcagcagggcgcgcaaattacccaatcctgacacagggaggttagtgacaa	
B di01	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCTCACCAGAGTAACAA	420
B di02	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCTCACCAGAGTAACAA	420
B di03	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCTCACCAGAGTAACAA	420

B di04	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCCTCACCAGAGTAACAA	420
B di05	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCCTCACCAGAGTAACAA	420
B di06	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCCTCACCAGAGTAACAA	420
B di07	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCCTCACCAGAGTAACAA	420
B di08	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCCTCACCAGAGTAACAA	420
B di09	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCCTCACCAGAGTAACAA	420
B di10	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCCTCACCAGAGTAACAA	420
B di11	GAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAAATTGGAATGATGGTGACCTAAACCCCTCACCAGAGTAACAA	420
Consensus	gaaataacaatacagggcaattgtcttgtaaattggaatgatggtgacctaaacccctcaccagagtaacaa	
B di01	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di02	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di03	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di04	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di05	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di06	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di07	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di08	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di09	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di10	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
B di11	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAACTTGTGTGCA	490
Consensus	ttggagggcaagtctggtgccagcagccgcgtaattccagctccaatagcgtatatttaaacttgtgtgca	
B di01	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di02	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di03	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di04	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di05	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di06	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di07	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di08	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di09	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di10	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
B di11	GTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	560
Consensus	gttaaaaagctcgtagttgaatTTTTTCGCTGGTGTAAATATTGACTAATGTCGAGATTGCACCTTCGCTTT	
B di01	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di02	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di03	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di04	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di05	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di06	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di07	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di08	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di09	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di10	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
B di11	TGGGATTTATCCCTTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	630
Consensus	tgggatttatccctTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAG	
B di01	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	700
B di02	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	700
B di03	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	700
B di04	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	698
B di05	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTA . TGGTAAATAGGAA	699
B di06	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	700
B di07	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	700
B di08	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	700
B di09	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	700
B di10	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	700
B di11	CATGGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	700
Consensus	catggaataatagagtaggactttggttctatTTTGTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAA	
B di01	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCAGAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAAAGACGAAC	762
B di02	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCAGAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAAAGACGAAC	762
B di03	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCAGAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAAAGACGAAC	759
B di04	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCaAAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAAAGACGAAC	760
B di05	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCAGAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAA . GACGAAC	760
B di06	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCAGAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAAAGACGAAC	762
B di07	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAAaCTGTCAGAGGTGAA . TTCTTAGATTGTTAAAGACGAAC	762
B di08	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCaAAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAAAGACGAAC	762
B di09	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCAGAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAAAGACGAACtactgcy	769
B di10	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCAGAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAAAGACGAAC	762
B di11	CGGTTGGGGGCATTCGTATTTAA . CTGTCAGAGtGAAATCCTTAGATT . GTTAAAGACGAAC	761
Consensus	cggttgggggcattcgtatTTTAA . CTGTCAGAGGTGAAATCCTTAGATTGTTAAAGACGAAC	

B di01TACTGCGAAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	822
B di02TACTGCGAAAGCATT.GCCAAGGACGTTTca..TAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	819
B di03TACTGCGAAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	819
B di04TACTGCGAAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	820
B di05TACTGCGAAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	820
B di06TACTGCGtAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	822
B di07TACTGCGAAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	821
B di08TACTGCGAAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	822
B di09	aaagacgaacTACTGCGAAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	839
B di10TACTGCGAAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	822
B di11TACTGCGAAAGCATTGGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG	821
Consensus	tactgcg aagcatt gccaaaggacgttt taatcaagaacgaaagttaggg atcg	
B di01	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	892
B di02	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	889
B di03	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	889
B di04	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	890
B di05	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	890
B di06	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	892
B di07	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	891
B di08	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	892
B di09	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT.	908
B di10	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	892
B di11	AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCATTTTT	891
Consensus	aagacgatcagataccgctcgtagtcctaaccataaaactatgccgactagggattggaggtcgctcatttt	
B di01	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	962
B di02	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	959
B di03	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	959
B di04	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	960
B di05	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	960
B di06	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	962
B di07	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	961
B di08	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	962
B di09	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	978
B di10	CCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	962
B di11	CCGACTCCTTCAGCACCT.GAGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGA	960
Consensus	ccgactccttcagcacct gagagaaatcaaagtctttgggttctgggggagtatggtcgcaaggctga	
B di01	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1032
B di02	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1029
B di03	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1029
B di04	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1030
B di05	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1030
B di06	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1032
B di07	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1031
B di08	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1032
B di09	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1048
B di10	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1032
B di11	AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGG	1030
Consensus	aaactaaaggaattgacggaagggcaccaccaggcgtggagcctgcggttaatTTGACTCAACACGGGG	
B di01	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1102
B di02	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1099
B di03	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1099
B di04	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1100
B di05	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1100
B di06	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1102
B di07	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1101
B di08	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1102
B di09	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1118
B di10	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1102
B di11	AAACTCACCAGGTCCAGACAATGTTAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTCTTGATTCTTTGGGTGGTGG	1100
Consensus	aaactcaccaggtccagacaatgttaggattgacagattgatagctcttcttgattctttgggtgggtgg	
B di01	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1172
B di02	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1169
B di03	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1169
B di04	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1170
B di05	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1170
B di06	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1172
B di07	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1171
B di08	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1172
B di09	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1188
B di10	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1172

B di11	TGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	1170
Consensus	tgcatggccggttcttagttggtggagtgatTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTG	
B di01	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1242
B di02	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1239
B di03	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1239
B di04	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1240
B di05	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1240
B di06	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1242
B di07	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1241
B di08	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1242
B di09	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1258
B di10	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1242
B di11	CTAACTAGTGTCCGTAAAAAGGTTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	1240
Consensus	ctaactagtgtccgtaaaaaggTTCGTCCGTTACGGTTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGCGGCTCTAAGCC	
B di01	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1312
B di02	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1309
B di03	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1309
B di04	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1310
B di05	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1310
B di06	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1312
B di07	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1311
B di08	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1312
B di09	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1328
B di10	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1312
B di11	GCAAGGAAGTTTAAAGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	1310
Consensus	gcaaggaagtttaaggcaataacaggTCTGTGTATGCCCTTAGATGTCTGGGCTGCACGCGCTACACT	
B di01	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1382
B di02	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1379
B di03	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1379
B di04	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1380
B di05	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1380
B di06	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1382
B di07	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1381
B di08	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1382
B di09	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1398
B di10	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1382
B di11	GATGCATTATCGAGTTTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	1380
Consensus	gatgcattatcgagtttTATCCCTTCCCGAAAAGGGCTGGGTAATCTTTAGTATGCATCGTGACGGGGAT	
B di01	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1452
B di02	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1449
B di03	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1449
B di04	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1450
B di05	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1450
B di06	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1452
B di07	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1451
B di08	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1452
B di09	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1468
B di10	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1452
B di11	TGATTTTTCGAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	1450
Consensus	tgatTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGCAAGTCATCAGCTTGTGCAGATTA	
B di01	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1519
B di02	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1516
B di03	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1516
B di04	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1517
B di05	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1517
B di06	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1519
B di07	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1518
B di08	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1519
B di09	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1535
B di10	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1519
B di11	CGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	1517
Consensus	cgtccctgccctTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGTGATCCGGTGAATTATTCCGGA	

Spezies: *Babesia ovata*

Anzahl: 2

Länge (b/max.): 1488

B ov01	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
B ovata	CTCATTACAACAGTTATAGTTTCTTTGGAGTTCGTTTTCCATGGATAACCGTGCTAATTGTAGGGCTAAT	70
Consensus	ctcattacaacagttatagtttctttggagttcgttttccatggataaccgtgctaattgtagggcta	
B ov01	ACAAGTTCGAGGCNN	140
B ovata	ACAAGTTCGAGGCcaatttttttggcggcgtttattagttcttaaccgactttctcggtgattcataata	140
Consensus	acaagttcgaggc	
B ov01	NN	210
B ovata	aaacttgcgaatcgcttttgcgatgttccattcaagttctgccccatcagcttgacggtagggtattggc	210
Consensus		
B ov01	NN	280
B ovata	ctaccgagcagcaacgggtaacggggaattagggttcgattccggagagggagcctgagaaacggctac	280
Consensus		
B ov01	NN	350
B ovata	cacatctaaggaaggcagcagcgcgcaaatacccaatcctgacacagggaggtagtacaagaaataa	350
Consensus		
B ov01	NN	420
B ovata	caatacagggctttcgtcttgaattggaatgatggcgacgtaaaagctcgccagagtaccaattggagg	420
Consensus		
B ov01	NN	490
B ovata	gcaagtctggtgccagcagccgcggaattccagctcaatagcgtatattaaacttgttgcagttaaaa	490
Consensus		
B ov01	NN	560
B ovata	agctcgtagttgtatctcagcctttcgcacttttccccatttttcgggttttcgctcgcgggcctattttta	560
Consensus		
B ov01	NN	630
B ovata	ctttgagaaaattagagtgtttcaagcagacttttgccttgaatacttcagcatggaataatagagtagg	630
Consensus		
B ov01	NN	700
B ovata	accttggttctattttctggttttagtgccttggttaattaggaacggttgggggcatctcgatt	700
Consensus		
B ov01	NN	769
B ovata	taactgtcagaggtgaaattcttagattgttaaagacgaactactgcGAAAGCATTtGCCAAGGACGTT	770
Consensus	gaaagcatt gccaaggacgtt	
B ov01	TCCATTATTCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACT	839
B ovata	TtCATTAAaTCAAGAACGAAAGTTAGGG . ATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCCTAACCATAAACT	839
Consensus	t catta tcaagaacgaaagttaggg atcgaagacgatcagataaccgtcgtagtcctaaccataaa	
B ov01	ATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTG	909
B ovata	ATGCCGACTAGGGATTGGAGGTCGTCAATTTCCGACTCCTTCAGCACCTTGAGAGAAATCAAAGTCTTTG	909
Consensus	atgccgactagggttggaggtcgtcattttccgactccttcagcaccttgagagaaatcaaagtcctt	
B ov01	GGTTCGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGG	979
B ovata	GGTTCGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGG	979
Consensus	ggttctgggggagatggtcgcgaagtctgaaacttaaggaattgacggaagggcaccaccaggcgtgg	
B ov01	AGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATT	1049
B ovata	AGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAACCTCACCAGGTCCAGACAGAGTAAGGATTGACAGATT	1049
Consensus	agcctgcggcttaatttgactcaacacggggaaacctcaccaggtccagacagagtaaggattgacagatt	
B ov01	GATAGCTCTTTCTTGATTCCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGCTGGT	1119
B ovata	GATAGCTCTTTCTTGATTCCTTTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTtGTGGAGTGATTTGCTGGT	1119
Consensus	gatagctctttcttgattctttgggtggtggtgcacggcgttcttagtt gtggagtgatttctggt	
B ov01	TAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGGATTG . CTCTTGCTTGCTTCTT	1188
B ovata	TAATTCGGTTAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAACTAGCTGCTTGGGATTGtCTCTTGCTTGCTTCTT	1189
Consensus	taattcggttaacgaacgagaccttaacctgctaactagctgcttgggatttg ctcttgcttgcttctt	

B ov01	AGAGGGACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGT	1258
B ovata	AGAGGGACTCCTGTGCTTCAAGCGTGGGGGAAGTTTAAGGCAATAACAGGTCTGTGATcCCCTTAGATGT	1259
Consensus	agagggactcctgtgcttcaagcgtgggggaagtttaaggcaataacaggtctgtgat cccttagatgt	
B ov01	CCTGGGCTGCACGCGCTTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCGAAAGGGTTGGGTAATCT	1328
B ovata	CCTGGGCTGCACGCGCTTACACTGATGCATCCATCGAGTTTGTCTGTCCCGAAAGGGTTGGGTAATCT	1329
Consensus	cctgggctgcacgcgcttacctgatgcatccatcgagtttgcctgtcccgaaagggttgggtaatct	
B ov01	TTAGTGTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGC	1398
B ovata	TTAGTGTGCATCGTGTGCGGGATTGATTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGC	1399
Consensus	ttagtgtgcatcgtgtcggggattgatTTTTGCAATTCTAAATCATGAACGAGGAATGCCTAGTATGCGC	
B ov01	AAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGT	1468
B ovata	AAGTCATCAGCTTGTGCAGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGT	1469
Consensus	aagtcatcagcttgtgcagattacgtccctgccctTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATCGAGT	
B ov01	GATCCGGTGAATTATTCGGA	1488
B ovata	GATCCGGTGAATTATTCGGA	1489
Consensus	gatccggtgaattatttcgga	

2. ITS-rDNA Sequenzen

Spezies: *Babesia bovis*

Anzahl: 33

Länge (b/max.): 729

B bo01A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATGGCCCTCGTCAA	70
B bo01B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATGGCCCTCGTCAA	70
B bo02K	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo02L	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo03A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo03C	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo04B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo04A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo05B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo05C	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo06B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo06D	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo07A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo07B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo08A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo08B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo09D	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo09E	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo10E	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo10L	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo11A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo11B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo12A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGtTGGCCCTCGTCAA	70
B bo12B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATGGCCCTCGTCAA	70
B bo13B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo14B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo15A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo16A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo16B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo17B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	69
B bo18B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATaGCCTCGTAcA	70
B bo19A	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATGGCCCTCGTCAA	70
B bo19B	AGGGGAATCATGGTTATTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAgTTCAGCGGATGGCCCTCGTCAA	70
Consensus	aggggaatcatggttatTTTCTTGTCTGCCGCTTAGTTATATGCTTAAATTCAGCGGATGGCCCTCGTCAA	a
B bo01A	TTTCAGGAATAATA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGTG.AGGGT.CACCTTGTGCTCCCGT	134
B bo01B	TTTCAGGAATAATA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGGaa.AaGGg.tACCTTGTGcCCCGT	134
B bo02K	TcTCAGGAaAaggaAaaa.GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGTG.AaGGg.CAcTtTGTg.cCCcCag	136
B bo02L	TcTCAGGAaAaggaAaaa.GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGTG.AaGGg.CAcTtTGTg.cCCcCag	136
B bo03A	TcTCAGGAaAATA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgGgAaaGggCACccCGT.gcCCcCag	135
B bo03C	TcTCAGGAaAATA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgGgAaaGggCACccCGT.gcCCcCag	135
B bo04B	TcTCAGGAaAaAgTA...GTGGTcCcccaAgGGg.G.aCTcT.GgGgAaGGg.CAcTccGT.gcCCcCag	130
B bo04A	TcTCAGGAaAaAgTA...GTGGCACGGTcGAGGACCGTGCTCTAGgGgAaGGg.CAcTccGT.gcCCcCag	134
B bo05B	TcTCAGGAaAaAg.A...GTGGTcC.cCcAaGgggGgaCTcTgGgaagaaGg.CAcTccGT.gcCCcCag	131
B bo05C	TcTCAGGAaAaAg.A...GTGGTcC.cCcAaGgggGgaCTcTgGgaagaaGg.CAcTccGT.gcCCcCag	131
B bo06B	TcTCAGGAaAaATA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgaggaGGg.CAcTccGT.gcCCcCag	134
B bo06D	TcTCAGGAaAaAa...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTgagGgAaGGg.CAcTccGT.gcCCcCaT	134
B bo07A	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	133
B bo07B	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	133
B bo08A	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	133
B bo08B	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	133
B bo09D	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	133
B bo09E	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	133
B bo10E	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	133
B bo10L	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	133
B bo11A	TcTCAGGAaAaATA...GTGGTcCcccaAgGGg.GgaCTcT.GgGgAaGggCACtccGT.gcCCcCag	132
B bo11B	TcTCAGGAaAaATA...GTGGTcCcccaAgGGg.GgaCTcT.GgGgAaGggCACtccGT.gcCCcCag	132
B bo12A	TTTCAGGAaAaA.A...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTgGTG.AaGGg.CACCTTGTGcCCCGT	132
B bo12B	TTTCAGGAaAaA.A...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTgGTG.AaGGg.CACCTTGTGcCCCGT	132
B bo13B	TcTCAGGAaAaAgA...GTGGT.CcccCAAGGgggGgaCTcCAGgG.gaGGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	132
B bo14B	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CACacTGTcactgCaa	134
B bo15A	TcTCAGGAaAaATA...GTGGTcCcccaAgGGg.GgaCTcT.GgGgAaAaGg.CAcTccGT.gcCCcCag	131
B bo16A	TcTCAGGAaAaAggAaaaGTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGTg.gaGGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	137
B bo16B	TcTCAGGAaAaAggA...GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG.AGaGg.CAcTtTGTg.cCCcCaT	133

B bo17B	TcTCAGGAAaAggAaaaaGTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGTa . gaGGg . CACtTTGT . gcCCCaT	136
B bo18B	TcTCAGGAAaAggA . . . GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGgG . AGaGg . CACtTTGT . gcCCCaT	133
B bo19A	TTTCAGGAAaagATA . . . GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTAGTc . AaGg . CACCTTGTGcCCCaT	134
B bo19B	TTTCAGGAAaAA . A . . . GTGGCACGGTCAAGGACCGTGCTCTgGTG . AaGG . . CACCTTGTGcCCCGGT	132
Consensus	t tcaggaa a gtgg c g g ctc g ac gt	
B bo01A	TGACACTTTG . . . AATCTACCGTGTGCGGGAGCGCGGGGTGCTTATATAGAGGCAGC . . GCCTGTGGCGC	199
B bo01B	. GgCACTTTG . . . gATCTAtCGTGTGCGGGAGCGCGGGGTGCTTAcgTAGAGGCAGC . . GCCTGTGGCGC	198
B bo02K	TGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtGTGCcT . . . cTAGtaGgAGCagGgCTaTcGCcC	200
B bo02L	TGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtGTGCcT . . . cTAGtaGgAGCagGgCTaTcGCcC	200
B bo03A	gGACACTgTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGgaGtGTcCTc . . . TgGgacaAGCggtgtaGaGGCaC	198
B bo03C	gGACACTgTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGgaGtGTcCTc . . . TgGgacaAGCggtgtaGaGGCaC	198
B bo04B	TGACACTgTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGgaGtGTcCTc . . . TAGgacaAGCagtgtaGaGGCaC	193
B bo04A	TGACACTgTG . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGgaGtGTcCTc . . . TgGgacaAGCagGgCTaacGCcC	197
B bo05B	TGACACTgTagtaAATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGtaGtGcttTcc . . . TtGgacaAGCagGgCTaacGCcC	198
B bo05C	TGACACTgTagtaAATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGtaGtGcttTcc . . . TtGgacaAGCagGgCTaacGCcC	198
B bo06B	gGACACTgTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGgaGtGTcCTc . . . TAGgacaAGCggtgtaGaGGCaC	197
B bo06D	gGACACTgTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGgaGtGTcCTc . . . TAGgacaAGCagGgCTaacGCcC	197
B bo07A	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtagtgTccTcgtGAaGgAGCggtgtaGaGGCaC	199
B bo07B	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtagtgTccTcgtGAaGgAGCggtgtaGaGGCaC	199
B bo08A	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtagtgTccTcgtGAaGgAGCggtgtaGaGGCaC	199
B bo08B	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtagtgTccTcgtGAaGgAGCggtgtaGaGGCaC	199
B bo09D	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtagtgTccTcgtGAaGgAGCggtgtaGaGGCaC	199
B bo09E	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtagtgTccTcgtGAaGgAGCggtgtaGaGGCaC	199
B bo10E	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtagtgTccTcgtGAaGgAGCggtgtaGaGGCaC	199
B bo10L	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtagtgTccTcgtGAaGgAGCggtgtaGaGGCaC	199
B bo11A	TGACACTgTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGgaGtGTcCTc . . . TAGgacaAGCggtgtaGaGGCaC	195
B bo11B	TGACACTgTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGgaGtGTcCTc . . . TAGgacaAGCggtgtaGaGGCaC	195
B bo12A	gGACACTTTG . . . AATCTACCGTGTGCGGGAGCGCGGGGTGCTTATATAGAGGCAGC . . GCCTGTGGCGC	197
B bo12B	gGACACTTTG . . . AATCTACCGTGTGCGGGAGCGCGGGGTGCTTATATAGAGGCAGC . . GCCTGTGGCGC	197
B bo13B	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtGaGCcT . . . cTgGgacaAGCagGgCTaacGCcC	196
B bo14B	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtGTGCcTccTgGAaGgAGCagGgCTGacGCcC	200
B bo15A	TGACACTgTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . AGCGgaGtGTcCTc . . . TgGgacaAGCggtgtaGaGGCaC	194
B bo16A	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGtGTGCcT . . . cTAGtaagAGCagGgCTGacGCcC	201
B bo16B	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGt . . . gtgacctctg . GgacaAGCagGgCTaacGCcC	197
B bo17B	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCataGtGTGCcT . . . cTAGtaagAGCagGgCTGacGCcC	200
B bo18B	gGACACTaTa . . . AATCTAtCGTGTGCGGG . gtCaCaGt . . . gtgacctctg . GgacaAGCagGgCTaacGCcC	197
B bo19A	gGACACTTTG . . . AATCTAtCGTGTGCGGGAGCGCGGGGTGCTTATATAGAGGCAGC . . GCCTGTGGCGC	199
B bo19B	gGACACTTTG . . . AATCTACCGTGTGCGGGAGCGCGGGGTGCTTATATAGAGGCAGC . . GCCTGTGGCGC	197
Consensus	g cact t atcta cgtgtggg c g g agc gc c	
B bo01A	TGCAGGGGGCGGCTCACACGA . . . AGTGTGTACGCCATGGAA . GG . ATTCACTGAAATGGACGTACAA	263
B bo01B	TGCAGGGGGCGGCTCACACGA . . . AGTGTGTACGCCATGGAA . GG . ATTCACTGAAATGGACGTACAA	262
B bo02K	TGCcatGGCGGCaT t gtGCCATactggaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	251
B bo02L	TGCcatGGCGGCaT t gtGCCATactggaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	251
B bo03A	cGCcatGGCGGtGcaACACact . . . tgGTGTGTACaCCATactggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	265
B bo03C	cGCcatGGCGGtGcaACACact . . . tgGTGTGTACaCCATactggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	265
B bo04B	cGCcaagGGCGGtGcaACACact . . . tgGTGTGTACaCCATactggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	260
B bo04A	TGCcattaCGGCaT t gtGCCATactgaaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	249
B bo05B	TGCcattaCGGCaT t gtGCCATactgaaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	249
B bo05C	TGCc . ttaCGGCaT t gtGCCATactgaaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	248
B bo06B	cGCcaagGGCGGtGcaACACactggtgtGTGTGTACaCCATactgaaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	266
B bo06D	TGCcattaCGGCaT t gtGCCATactgaaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	248
B bo07A	cGCcaaGGCGGtGcaACACactagtgtGTGTGTACaCCATaatggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	268
B bo07B	cGCcaaGGCGGtGcaACACactagtgtGTGTGTACaCCATaatggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	268
B bo08A	cGCcaaGGCGGtGcaACACactagtgtGTGTGTACaCCATaatggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	268
B bo08B	cGCcaaGGCGGtGcaACACactagtgtGTGTGTACaCCATaatggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	268
B bo09D	cGCcaaGGCGGtGcaACACactagtgtGTGTGTACaCCATaatggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	268
B bo09E	cGCcaaGGCGGtGcaACACactagtgtGTGTGTACaCCATaatggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	268
B bo10E	cGCcaaGGCGGtGcaACACactagtgtGTGTGTACaCCATaatggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	268
B bo10L	cGCcaaGGCGGtGcaACACactagtgtGTGTGTACaCCATaatggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	268
B bo11A	cGCcatGGCGGtGcaACACactggtgtGTGTGTACaCCATactggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	264
B bo11B	cGCcatGGCGGtGcaACACactggtgtGTGTGTACaCCATactggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	264
B bo12A	TGCAGGGGGCGGCTCACACGA . . . AGTGTGTACGCCATGGAAAtGG . ATTCACTGAAATGGACGTACAA	262
B bo12B	TGCAGGGGGCGGCTCACACGA . . . AGTGTGTACGCCATGGAAAtGG . ATTCACTGAAATGGACGTACAA	262
B bo13B	TGCcatGGCGGCaT t gaGCCATatggaaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	247
B bo14B	TGCcatGGCGGCaT t gtGCCATaatggaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAt	251
B bo15A	cGCcatGGCGGtGcaACACactggtgtGTGTGTACaCCATactggGG . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	263
B bo16A	TGCcatGGCGGCaT t gtGCCATatggaaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	252
B bo16B	TGCcatGGCGGCa t TtgtGCCATactggaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	248
B bo17B	TGCcatGGCGGCaT t gtGCCATatggaaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	251
B bo18B	TGCcatGGCGGCa t TtgtGCCATactggaa . ATTCACTGAgATGGACGTACAA	248
B bo19A	TGCAGGGGGCGGCTCACACGA . . . AGTGTGTACGCCATGGAAAtGG . ATTCACTGAAATGGACGTACAA	264
B bo19B	TGCAGGGGGCGGCTCACACGA . . . AGTGTGTACGCCATGGAAAtGG . ATTCACTGAAATGGACGTACAA	262
Consensus	gc cgg ccat attcactga atgg cg aca	

B bo01A	G .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTGGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	332
B bo01B	G .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTGGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	331
B bo02K	t .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	320
B bo02L	t .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	320
B bo03A	.gAGTGTGcTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGaatATCGCACTT	334
B bo03C	.gAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGaatATCGCACTT	334
B bo04B	.gAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	329
B bo04A	G .cGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	318
B bo05B	G .cGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	318
B bo05C	G .cGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	317
B bo06B	.gAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	335
B bo06D	G .cGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	317
B bo07A	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	338
B bo07B	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	338
B bo08A	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	338
B bo08B	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	338
B bo09D	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	338
B bo09E	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	338
B bo10E	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	338
B bo10L	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	338
B bo11A	agAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	334
B bo11B	agAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	334
B bo12A	G .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTGGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGaatATCGCACTT	331
B bo12B	G .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTGGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGcATATCGCACTT	331
B bo13B	G .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	316
B bo14B	a .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	320
B bo15A	.gcGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	332
B bo16A	agAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	322
B bo16B	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	318
B bo17B	agAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCAaGCTGGATATCGCACTT	321
B bo18B	aaAGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTaGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGGATATCGCACTT	318
B bo19A	G .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTGGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGcATATCGCACTT	333
B bo19B	G .AGTGTGTTGGTTACGTTTCAGAGGTCCTGGCAATCGCAAGAAGTTGCAAATCATGCTGcATATCGCACTT	331
Consensus	gtgtg tggttacgttcagaggtct gcaatcgcaagaagttgcaaatca gctg ata cgcactt	
B bo01A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAGTAAGT. . . .TAGATGT	398
B bo01B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTaAAAGT. . . .TAGgTGT	395
B bo02K	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTtAGgtAGTgtaatggtcTag	390
B bo02L	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTtAGgtAGTgtaatggtcTag	390
B bo03A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTgt .agtCagTGc	403
B bo03C	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTgt .agtCagTGc	403
B bo04B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTgt .agtCagTGT	398
B bo04A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTgt .agtCagTGc	387
B bo05B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTg . .atTgagTag	386
B bo05C	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTg . .atTgagTag	385
B bo06B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTgt .agtCagTGT	404
B bo06D	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTgt .agtCagTGT	386
B bo07A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	408
B bo07B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	408
B bo08A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	408
B bo08B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	408
B bo09D	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	408
B bo09E	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	408
B bo10E	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	408
B bo10L	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	408
B bo11A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTgt .agtCagTGc	403
B bo11B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTgt .agtCagTGc	403
B bo12A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAGTAAGTAagTGT	395
B bo12B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAGTAAGTAagTGT	395
B bo13B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTgtAGTg . .atTgtgTg	381
B bo14B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTtAGgtAGTgtaatggtcTag	390
B bo15A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGgaatAGTgt .agtCagTGT	401
B bo16A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTtAGgtAGTgtaatggtcTag	392
B bo16B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	388
B bo17B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTtAGgtAGTgtaatggtcTag	391
B bo18B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGgGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAaatAGTgtaatggtcTag	388
B bo19A	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCaAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAGTAAGTAagTGT	397
B bo19B	TGCTGCGTCCTTCATCGAGGCGCGAGCCGAGGCATCCATCGCTGGGAGTTGAGTAAGTAagTGT	395
Consensus	tgtcgtccttcacatcgaggcgcg gcc aggcacccatcgctgggagtt agt t	
B bo01A	GGGGTTG .TGTGAGCCCTGGCGGGCTGTGGCACCCCTGAGGGTGCATCTCGCC	450
B bo01B	GGGaTTG .cGTcAGCCCTGGCGGGCTGTGGCACCCCT .AGGGTGCATCTCGCC	446
B bo02K	tGa .gtGGTTG .TGccAGCCCTAaaAGGCTGgaaaggCACCCcAaAaa .ggGGTGCATCTCGCC	453
B bo02L	tGa .gtGGTTG .TGccAGCCCTAaaAGGCTGgaaaggCACCCcAaAaa .ggGGTGCATCTCGCC	453
B bo03A	GG .agtaGTTaaTGccAGCCCTaGaGGGCTGgaaagCACCCcAaggGGTGCATCTCGCC	463

B bo03C	GG.agtaGTTaaTGccAGCCCTaGaGGGCTGgaagg...CACCCcaA...gaGGGTGCATCTCGCC	463
B bo04B	G...gtGGTTaaTGccAGCCCTGaaGGGCTGgaGgg...CACCCcaA...ggGGGTGCATCTCGCC	456
B bo04A	tGtggtGTTG.TGccAGCCCTaGaGGGCTGgaagg...CACCCcaA...ggGGGTGCATCTCGCC	447
B bo05B	tGttgtaGTTG.TGccAGCCCTaGaGGGCTGgaGgg...CACCCcaGA...ggGGGTGCATCTCGCC	446
B bo05C	tGttgtGTTa.TGccAGCCCTaGaGGGCTGgaGgg...CACCCcaGA...ggGGGTGCATCTCGCC	445
B bo06B	tGtggttaGTTa.TGccAGCCCTaGaGGGCTGgaGgg...CACCCcaA...ggGGGTGCATCTCGCC	464
B bo06D	tGtggttaGTTa.TGccAGCCCTaGaGGGCTGgaGgg...CACCCcaA...ggGGGTGCATCTCGCC	446
B bo07A	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaa...ggCACCCcTtttg...ggGGGTGCATCTCGCC	469
B bo07B	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaa...ggCACCCcTtttg...ggGGGTGCATCTCGCC	469
B bo08A	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaa...ggCACCCcTtttg...ggGGGTGCATCTCGCC	469
B bo08B	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaa...ggCACCCcTtttg...ggGGGTGCATCTCGCC	469
B bo09D	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaa...ggCACCCcTtttg...ggGGGTGCATCTCGCC	469
B bo09E	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaa...ggCACCCcTtttg...ggGGGTGCATCTCGCC	469
B bo10E	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaa...ggCgCCCcTtttg...ggGGGTGCATCTCGCC	469
B bo10L	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaa...ggCACCCcTtttg...ggGGGTGCATCTCGCC	469
B bo11A	tGtggttaGTTa.TGccAGCCCTaGaGGGCTGgaGgg...CACCCcaA...ggGGGTGCATCTCGCC	463
B bo11B	tGtggttaGTTa.TGccAGCCCTaGaGGGCTGgaGgg...CACCCcaA...ggGGGTGCATCTCGCC	463
B bo12A	GG...GGTTG.cGTaAGCCCTGGCGGGCTGTGG...CACctca.A...GGGTGCATCTCGCC	446
B bo12B	GG...GGTTG.cGTaAGCCCTGGCGGGCTGTGG...CACctca.A...GGGTGCATCTCGCC	446
B bo13B	tGgtgtaaTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaagg...CACCCcaAaaaaggGGGTGCATCTCGCC	445
B bo14B	tGa.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGtaagaaggCACCCcaAaaa.ggGGGTGCATCTCGCC	457
B bo15A	t...gtaGTTa.TGccAGCCCTaGaGGGCTGgaagg...CACCCcaA...ggGGGTGCATCTCGCC	458
B bo16A	tGa.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaagaaaggCACCCcaAaaa.ggGGGTGCATCTCGCC	459
B bo16B	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaatgaaaggCACCCcaAaaa.ggGGGTGCATCTCGCC	455
B bo17B	tGa.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaagaaaggCACCCcaAaaa.ggaGGTGCATCTCGCC	458
B bo18B	tGg.gtGGTTG.TGccAGCCCTaaaGGGCTGgaatgaaaggCACCCcaAaaa.ggGGGTGCATCTCGCC	455
B bo19A	GG...GGTTG.cGTaAGCCCTGGCGGGCTGTGG...CACctca.A...GGGTGCATCTCGCC	448
B bo19B	GG...GGTTG.cGTaAGCCCTGGCGGGCTGTGG...CACctca.A...GGGTGCATCTCGCC	446
Consensus	tt g agccct gggctg c cc ggtgcatctcgcc	
B bo01A	AAAGCGAGCTTAACCCGGGCCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.TGCAACGGGGGCAAGCCCCAG	519
B bo01B	AAAGCGAGCTTAACCCGGGCCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.TGCAACGGGGGCAAGCCCCAG	515
B bo02K	gAgCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCAAagCCCca	522
B bo02L	gAgCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCAAagCCCca	522
B bo03A	gAgCGAGCTTAACCCGGGtCaTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	532
B bo03C	gAgGCGAGCTTAACCCGGGtCaTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	532
B bo04B	gAgGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	525
B bo04A	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	516
B bo05B	gAgGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCAgagCCCca	515
B bo05C	gAgGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCAgagCCCca	514
B bo06B	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	533
B bo06D	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	515
B bo07A	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	538
B bo07B	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	538
B bo08A	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	538
B bo08B	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	538
B bo09D	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	538
B bo09E	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	538
B bo10E	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	538
B bo10L	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	538
B bo11A	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	532
B bo11B	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	532
B bo12A	AAAGCGAGCTTAACCCGGGCCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.TGCAACGGGGGCAgCCCCAG	515
B bo12B	AAAGCGAGCTTAACCCGGGCCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.TGCAACGGGGGCAgCCCCAG	515
B bo13B	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	514
B bo14B	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCAgagCCCca	527
B bo15A	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	527
B bo16A	gAgaCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	528
B bo16B	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	524
B bo17B	gAgaCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	527
B bo18B	gggGCGAGCTTAACCCGGGtCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.gAACAACGGGGGCGgagCCCca	524
B bo19A	AAAGCGAGCTTAACCCGGGCCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.TGCAACGGGGGCAgCCCCAG	517
B bo19B	AAAGCGAGCTTAACCCGGGCCGTGGCAGTACGGCCCTCGGGGTGGGG.TGCAACGGGGGCAgCCCCAG	515
Consensus	cgagcttaaccggg c tggcagtcacggccctcggggtgggg gcaacggggggc ccc	
B bo01A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCAGA.....G	550
B bo01B	ACCGGCTA.aTAGGGTAGCCGGCGTTGCAGA.....G	546
B bo02K	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCagatcgccgcaaggcgatc.....gagtG	574
B bo02L	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCagatcgccgcaaggcgatc.....gagtG	574
B bo03A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCagatcgccgcaaggcgatc.....gggtG	583
B bo03C	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCagatcgccgcaaggcgatc.....gggtG	583
B bo04B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCagatcgcca.aaggcgatc.....gggtG	576
B bo04A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCagatcgccgcaaggcgatc.....gggtG	567
B bo05B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCagatcgcca.aaggcgatc.....gggtG	566
B bo05C	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCagatcgcca.aaggcgatc.....gggtG	565

B bo06B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.....tagtG	568
B bo06D	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.....tagtG	550
B bo07A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	591
B bo07B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	591
B bo08A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	591
B bo08B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	591
B bo09D	ACCGGCTA.CTAGGGTgGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	591
B bo09E	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	591
B bo10E	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	591
B bo10L	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	591
B bo11A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.....tagtG	567
B bo11B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.....tagtG	567
B bo12A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCAGA.....G	546
B bo12B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCAGA.....G	546
B bo13B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCcagatcgccg.aaggcgatc.....agtG	564
B bo14B	ACCGGCTaCTAGGGTAGCCGGCGTTGCcAaAtcgccgaaggcgatc.....gagtG	580
B bo15A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCcagatcgcca.aaggcgatcggtggcaccggaggtgcccagtG	595
B bo16A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCcagatcgccg.aaggcgatc.....gagtG	579
B bo16B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	577
B bo17B	ACCGGCTAaCTAGGGTAGCCGGCGTTGCcagatcgccg.aaggcgatc.....gagtG	579
B bo18B	ACCGGCTAaCTAGGGTAGCCGGCGTTGCTag.tagtggcaccggaggtg.....ccagtG	578
B bo19A	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCAGA.....G	548
B bo19B	ACCGGCTA.CTAGGGTAGCCGGCGTTGCAGA.....G	546
Consensus	accggt taggt gccggcgttcg g	
B bo01A	GCACCGAGGTGCCGC.....GAGCACGTG.....GTGCCAGTGC	585
B bo01B	GCACCGAGGTGCCGC.....GAGCACGTG.....GTGCCAGTGC	581
B bo02K	GCACCGAGGTGCCcagtgcacaaagtgcctcaggtggaagctGtgCtTccactgggtgtgGTGCTAGTGC	644
B bo02L	GCACCGAGGTGCCcagtgcacaaagtgcctcaggtggaagctGtgCtTccactgggtgtgGTGCTAGTGC	644
B bo03A	agcaCGGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	633
B bo03C	agcaCGGAGtgctCag.....gtgggagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	633
B bo04B	agcaCGGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	626
B bo04A	agcaCGGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	617
B bo05B	agcaCGGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	616
B bo05C	agcaCGGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	615
B bo06B	agcaCGGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	618
B bo06D	agcaCGGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	600
B bo07A	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	641
B bo07B	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	641
B bo08A	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	641
B bo08B	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	641
B bo09D	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	641
B bo09E	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	641
B bo10E	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	641
B bo10L	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	641
B bo11A	agcaCaGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	617
B bo11B	agcaCaGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	617
B bo12A	GCACCGAGGTGCCGC.....GAGCACGaGtgctcgg.gaaGCggGgct	589
B bo12B	GCACCGAGGTGCCGC.....GAGCACGaGtgctcgg.gaaGCggGgct	589
B bo13B	GCACCGAGGTGCCGt.gagcacggagtgctcaggtggaagctatgCtTccactgggtgtgGTGCTAGTGC	633
B bo14B	GCACCGAGGTGCCGa.....gtggaagctGtgCtTccactgggtgtgGTGCTAGTGC	632
B bo15A	agcaCGGAGtgctCag.....gtggaagctGtgCtTccactgggt.gGTGCTAGcGC	645
B bo16A	GCACCGaAGGTGCCGa.....gtggaagctGtgCtTccactgggtgtgGTGCTAGTGC	631
B bo16B	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	627
B bo17B	GCACCGaAGGTGCCGa.....gtggaagctGtgCtTccactgggtgtgGTGCTAGTGC	631
B bo18B	agcaCGGAGtgctCtg.....gtggaagcttCgCtTccactgggt.gGTGCTAGTGC	628
B bo19A	GCACCGAGGTGCCGC.....GAGCACGaGtgctcgg.gaaGCggGgct	591
B bo19B	GCACCGAGGTGCCGC.....GAGCACGaGtgctcgg.gaaGCggGgct	589
Consensus	c ag c c g g	
B bo01A	ACCACT.....GGTACGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	643
B bo01B	ACCACT.....GGTACGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGgAACCTTGTACGACT	639
B bo02K	cCCACacacagtgcactgaagAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	714
B bo02L	cCCACacacagtgcactgaagAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	714
B bo03A	cCCACa.....ctagaaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	695
B bo03C	cCCACa.....ctagaaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTcCTACGGAAACCTTGTACGACT	695
B bo04B	ACCACa.....ctagaaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	688
B bo04A	cCCACa.atag.....aaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	679
B bo05B	ACCACa.ctag.....aaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	678
B bo05C	ACCACa.ctag.....aaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	677
B bo06B	ACCAC.....tggaaaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	679
B bo06D	ACCAC.tgga.....aaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	661
B bo07A	cCCACa.....ctagaaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	703
B bo07B	cCCACa.....ctagaaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	703
B bo08A	cCCACa.....ctagaaaAtGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACT	703

Spezies: *Babesia bigemina*

Anzahl: 38

Länge (b/max.): 943

B bi01D	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi01O	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi02H	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi02Q	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi03C	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi03E	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi04A	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi04R	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi05A	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi05B	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi06L	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi06M	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi07O	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi07Q	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi08T	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi08U	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi09H	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi09I	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi10D	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	68
B bi10H	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi11E	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi11S	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi12A	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi12B	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCaCAC . CC	69
B bi13B	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi13C	AcGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi14C	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi14D	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCACaTc	70
B bi15A	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi15B	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi16D	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi16E	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi17A	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi17B	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi18D	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi18E	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi19F	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
B bi19G	AAGGGAATCATGGTTATTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCAC . CC	69
Consensus	a ggggaatcatggttatTTTT tttctgcccgttaattata gcttaaattcggcggatggcc cac c	
B bi01D	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCACAGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi01O	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCACAGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi02H	GATCTCAGGAGCAAAAgTAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgCaAGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi02Q	GATCTCAGGAGCAAAAggAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgCaAGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi03C	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCACtGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi03E	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCACtGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi04A	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCACtGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi04R	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCACAGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGcGCGAAAGT	139
B bi05A	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCACAGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi05B	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCACAGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi06L	GATCTCAGGAGCAAAAAA . GACGGCACAGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGAGCGAAAGT	138
B bi06M	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCACAGCCGCAAAACCACCAGCGCGGACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi07O	GATCTCAGGAGCAAAgAAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi07Q	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCcCAGCCGCAAAACgCaAGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi08T	GATCTCAGGAGCAAAAgcAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi08U	GATCTCAGGAGCAAAgTAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi09H	GATCTCAGGAGCAAAgAAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi09I	GATCTCAGGAGCAAAgTAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi10D	GATCTCAGGAGCAAAAAAgAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgCaAGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	138
B bi10H	GATCTCAGGAGCAAAAggAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgCaAGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi11E	GATCTCAGGAGCAAAAAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgACgCgCGCGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi11S	GATCTCAGGAGCAAAAggAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgCaAGCGCaGaACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi12A	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCcCAGCCGCAAAACgCaAGCGCGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi12B	GATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCcCAGCCGCAAAACCACaAGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi13B	GATCTCAGGAGCAAAgAAaACGGCcCAGCCGCAAAACCACacGCGCaGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi13C	GATCTCAGGAGCAAAgTAAaACGGCcCAGCCGCAAAACCACaAGCGCGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi14C	GATCTCAGGAGCAAAAgTAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi14D	GATCTCAGGAGCAAAgTAAaACGGCcCAGCCGCAAAACCACaAGCGCGcACC GCGACAGGAGCGAAAGT	140

B bi15A	GATCTCAGGAGCAAAGcAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCaGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi15B	GATCTCAGGAGCAAAGcAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCtGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi16D	GATCTCAGGAGCAAAGgAAaACGGCcCAGCCGCAAAACcCaAGCGCaGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi16E	GATCTCAGGAGCAAAGgAAaACGGCcCAGCCGCAAAACgCaCAGCGCGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi17A	GATCTCAGGAGCAAAAAGACGGCcCAGCCGCAAAACagCaAGCGCGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi17B	GATCTCAGGAGCAAAAAGACGGCcCAGCCGCAAAACagCaAGCGCGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi18D	GATCTCAGGAGCAAAAAGACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCaGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi18E	GATCTCAGGAGCAAAAAGACGGCcCAGCCGCAAAACgACacGCGCaGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi19F	GATCTCAGGAGCAAAGgAAaACGGCcCAGCCGCAAAACcCaAGCGCaGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
B bi19G	GATCTCAGGAGCAAAAAGACGGCcCAGCCGCAAAACgCaAGCGCGCACCGCGACAGGAGCGAAAGT	139
Consensus	gatctcaggagcaaa acggc c gccgcaaaa gcgc g accgagacagg gcgaaagt	
B bi01D	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi01O	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi02H	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi02Q	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi03C	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi03E	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi04A	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi04R	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi05A	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi05B	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi06L	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	208
B bi06M	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi07O	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTgGG	209
B bi07Q	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTgGG	209
B bi08T	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi08U	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi09H	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTgGG	209
B bi09I	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi10D	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	208
B bi10H	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi11E	GAGTAGcAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi11S	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi12A	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi12B	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi13B	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi13C	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi14C	GAGTAGAAgCTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi14D	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCcCAGAAATTAGG	210
B bi15A	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi15B	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi16D	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACcGAAATTAGG	209
B bi16E	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi17A	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi17B	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAgAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi18D	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi18E	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi19F	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
B bi19G	GAGTAGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTTCACAGAAATTAGG	209
Consensus	gagtag a ctacagcaggcgctccaacacgtgcaggccca agccgcaagcgttc c gaatt gg	
B bi01D	GCGACATGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCGACATTGATAAC . . .ACTCGAGCGAGGATTAACA	275
B bi01O	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCGACATccAaAgCagcaACTGaaAaCGcatcaaAgCA	279
B bi02H	GCGACAaaaCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaaAaCGcactagAgCA	279
B bi02Q	GCGACATaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaaAaCGcaccagggCA	279
B bi03C	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCGACATTGATAAC . . .ACTCGAGCGAGGAcTAGCA	275
B bi03E	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCGACATTGATAAC . . .ACTCGAGCGAGGAcTAGCA	275
B bi04A	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCGACATTGATAAC . . .ACTCGAGCGAGGAcTAGCA	275
B bi04R	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCGACATccAaAgCagcaACTGaaAaCGcatcaaAgCA	279
B bi05A	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCGACATccAaAgCagcaACTGaaAaCGcatcaaAgCA	279
B bi05B	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCGACATccAaAgCagcaACTGaaAaCGcatcaaAgCA	279
B bi06L	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCGACATccAaAgCagcaACTGaaAaCGcatcaaAgCA	278
B bi06M	GCGACATGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCaACAcTtAcCagcaACTGaaAaCGcatcaaAgCA	279
B bi07O	GCGACATGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcaACTGaaAaCGcat tagAgCA	279
B bi07Q	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGCaACATcGATAgCagcaACcgaAaCGcactaaAgCA	279
B bi08T	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcaACTGaaAaCGcattaaAgCA	279
B bi08U	GCGACATaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagACcgaAaCGcGt tagAgCA	279
B bi09H	GCGACATGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcaACTGaaAaCGcat tagAgCA	279
B bi09I	GCGACATaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagACcgaAaCGcGt tagAgCA	279
B bi10D	GCGACATaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaaAaCGcaccagggCA	278
B bi10H	GCGACATaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaaAaCGcaccagggCA	279
B bi11E	GCGACATaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAgCagcagCTGaaAaCGcactaaggCA	279
B bi11S	GCGACATaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcaACTGaaAaCGcact tagAgCA	279
B bi12A	GCGACAaGGCGACGCCACTCGCGAGGAGctCGGacACATTcAaAcCagcagCTGaaAaCGcat tacAgCA	279

B bi12B	GCGACATaGCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcactagAgCA	279
B bi13B	GCGACAaaGGCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcaACTGaAaCGcat taaAgCA	279
B bi13C	GCGACAaaaCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATccAaAcCagcagCTGaAaCGcactagAgCA	279
B bi14C	GCGACAaaaCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcat tagAgCA	279
B bi14D	GCGACAaaaCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcactagAgCA	280
B bi15A	GCGACAaaGGCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcaACTGaAaCGcat taaAgCA	279
B bi15B	GCGACAaaGGCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcaACTGaAaCGcat taaAgCA	279
B bi16D	GCGACATaGCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcat cagAgCA	279
B bi16E	GCGACAaaGGCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAgCagcaACTGaAaCGcat taaAgCA	279
B bi17A	GCGACAaaGGCGACGCCCACTCGCGAGGAGctCGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcat tacAgCA	279
B bi17B	GCGACAaaGGCGACGCCCACTCGCGAGGAGctCGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcat tacAgCg	279
B bi18D	GCGACATaGCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcat tagAgCA	279
B bi18E	GCGACATaGCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcat tagAgCA	279
B bi19F	GCGACATaGCGACGCCCACTCGCGAGGAGCACGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcat tagAgCA	279
B bi19G	GCGACAaaGGCGACGCCCACTCGCGAGGAGctCGGacACATTcAaAcCagcagCTGaAaCGcat tacAgCA	279
Consensus	gcgaca cgacgcccactcgcgaggagc cgg aca a a c c a cg c	
B bi01D	CGCACGGGCTTTATCAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	345
B bi01O	CtCAataGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi02H	CtCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi02Q	CtCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi03C	CGCACGGGCTTTATCAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	345
B bi03E	CGCACGGGCTTTATCAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	345
B bi04A	CGCACGGGCTTTATCAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	345
B bi04R	CtCAataGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi05A	CtCAataGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi05B	CtCAataGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi06L	CtCAataGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	348
B bi06M	CtCAataGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi07O	CcCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi07Q	CtCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi08T	CcCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi08U	CcCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi09H	CcCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi09I	CcCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi10D	CtCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	348
B bi10H	CtCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi11E	CtCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi11S	CtCAgcaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi12A	CtCAacaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi12B	CtCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi13B	CcCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi13C	CtCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi14C	CtCAgcaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi14D	CtCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	350
B bi15A	CcCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi15B	CcCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi16D	CtCAgcaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi16E	CcCAgtaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi17A	CtCAacaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi17B	CtCAacaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi18D	CtCAgcaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi18E	CtCAgcaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi19F	CtCAgcaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
B bi19G	CtCAacaGCTgTtataAAATGGGCCGGGGCCTCAGGATTGGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCG	349
Consensus	c ca gc t aaatgggcccggg cctcaggattgggggctcactgaaacgggagtagccgctgcg	
B bi01D	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	415
B bi01O	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi02H	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi02Q	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi03C	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	415
B bi03E	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	415
B bi04A	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	415
B bi04R	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi05A	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi05B	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi06L	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	418
B bi06M	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi07O	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi07Q	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi08T	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi08U	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi09H	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi09I	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419

B bi10D	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	418
B bi10H	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi11E	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi11S	AGCAGAGGCGGTGT . TTTGTTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	418
B bi12A	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGcTGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi12B	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi13B	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi13C	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi14C	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi14D	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAA . TCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi15A	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi15B	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi16D	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi16E	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi17A	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi17B	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi18D	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi18E	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi19F	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
B bi19G	AGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTACAGAGGCTGGTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTA	419
Consensus	agcagaggcgggtgt t gttacgttacagaggctggtaa tgcgc gaa tctgcaagtcatactgcgta	
B bi01D	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	485
B bi01O	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	489
B bi02H	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi02Q	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi03C	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	485
B bi03E	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	485
B bi04A	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	485
B bi04R	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	489
B bi05A	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	489
B bi05B	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	489
B bi06L	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	488
B bi06M	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACAG	489
B bi07O	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGaTTACaA	489
B bi07Q	TtGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi08T	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi08U	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTAAaAa	489
B bi09H	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGaTTACaA	489
B bi09I	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTAAaAa	489
B bi10D	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	488
B bi10H	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi11E	TCGCAATTCGCTGCGTCcATCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi11S	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	488
B bi12A	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACgA	489
B bi12B	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi13B	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi13C	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi14C	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi14D	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi15A	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi15B	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi16D	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi16E	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi17A	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACgA	489
B bi17B	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACgA	489
B bi18D	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi18E	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi19F	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
B bi19G	TCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAAGACATCCATCGCTGAAAGTTTAAAGTTTACaA	489
Consensus	t gcaatcgcctgcgtcc tcacggtgtgtgagccaagacatccatcgctgaaagtttaaag tta	
B bi01D	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAGGCGAGCCGAGACACAGCAACGCTGA . GGCAC . . .	550
B bi01O	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAatACCAAAGGCGAGCCGAGACgCAGCAACGCTGA . GaCAC . . .	554
B bi02H	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAGGCGAGCCGAGACgCAGCAACGCTGA . taCAC . . .	554
B bi02Q	AGACGCCAgA . GGCAGGAGTTGCAACAACCAAAGGCGAGCCGAGACgCACAGCAAGCTGA . GaCAC . . .	553
B bi03C	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAGGCGAGCCGAGACACAGCAACGCTGA . GaCAC . . .	550
B bi03E	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAGGCGAGCCGAGACACAGCAACGCTGA . GaCAC . . .	550
B bi04A	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAGGCGAGCCGAGACACAGCAACGCTGA . GaCAC . . .	550
B bi04R	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAatACCAAAGGCGAGCCGAGACgCAGCAACGCTGA . GaCAC . . .	554
B bi05A	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAGGCGAGCCGAGACACAGCAACGCTGA . caCAC . . .	554
B bi05B	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAGGCGAGCCGAGACACAGCAACGCTGA . caCAC . . .	554
B bi06L	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAatACCAAAGGCGAGCCGAGACgCAGCAACGCTGA . GaCAC . . .	553
B bi06M	AGACGCCAAAAGGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAGGCGAGCCGAGACACAGCAACGCTGA . GaCACagca	558
B bi07O	AGACGCCAgA . GGCAGGAGTTGCAACAACCAgAAGGCGAGCCGAGACgCACAGCAACGCTGA . GtCAC . . .	553

B bi07Q	AaACGCCAgA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAGgCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi08T	AGACGCCAcA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAGgCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi08U	AGACGCCAgA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi09H	AGACGCCAgA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAGgCACAGCAACGCTGA .GtCAC . . .	553
B bi09I	AGACGCCAgA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi10D	AGACGCCAgA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	552
B bi10H	AGACGCCAgA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAaGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi11E	AGACGCCAgA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi11S	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi12A	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGAaGaCAC . . .	555
B bi12B	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	554
B bi13B	AGACGCCAcA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GtCAC . . .	553
B bi13C	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .taCAC . . .	554
B bi14C	AGACGCCAgA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAGgCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi14D	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .taCAC . . .	554
B bi15A	AGACGCCAcA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAGgCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi15B	AGACGCCAcA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAGgCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi16D	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	554
B bi16E	AGACGCCAcA .GGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAGgCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	553
B bi17A	AGACGCCAAAAGCGCgAGGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	554
B bi17B	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	554
B bi18D	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	554
B bi18E	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAgcCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	554
B bi19F	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAGgCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	554
B bi19G	AGACGCCAAAAGCGCGGAGTTGCAACAACCAAAAGGCAGCCGAGgCACAGCAACGCTGA .GaCAC . . .	554
Consensus	a acgcca a ggcg gagttgca acc aaggcagccga c cagcaa gctga cac	
B bi01D GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	608
B bi01O GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	612
B bi02H GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACgCGG	612
B bi02Q GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi03C GGCGCTCGCTtGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	608
B bi03E GGCGCTCGCTtGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	608
B bi04A GGCGCTCGCTtGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	608
B bi04R GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	612
B bi05A GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	612
B bi05B GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	612
B bi06L GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	611
B bi06M	acgctgagacagGGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGACGCCAGACCACACGG	628
B bi07O GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi07Q GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi08T GG . . aCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	608
B bi08U GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi09H GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi09I GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi10D GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	610
B bi10H GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi11E GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi11S GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi12A GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	613
B bi12B GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	612
B bi13B GGCGgaCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi13C GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACgCGG	612
B bi14C GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACgCGG	611
B bi14D GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACgCGG	612
B bi15A GGCGgaCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi15B GGCGgaCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi16D GGCaCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	612
B bi16E GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	611
B bi17A GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	612
B bi17B GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	612
B bi18D GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	612
B bi18E GGCGCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	612
B bi19F GGCaCTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	612
B bi19G GGCGgTCGCTCGCACAAACGGCGCAGCGACATCCCCCGACCGGtGCCAGACgACACGG	612
Consensus	gg cgct gcacaa cggcgagcgacatcccccgaccg gccaga c cgg	
B bi01D	CACGAAGCCCGGACATACTAGCGACGGAGCGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAATAG . . CG	675
B bi01O	CACGAAGCCCGGACATACTAGCGACGGAGCGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAAAAG . . CG	679
B bi02H	CAaTAaCCCGGACATgCTAGCGACGGAGCGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCGCatCAacGacaCG	682
B bi02Q	CAacAAaCCCGGACATgCTAGCGACGGAGCGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCGCatCAacGacaCG	681
B bi03C	CACGAaCCCGGACATeacAGCGACGGAGCGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAATAG . . CG	675
B bi03E	CACGAaCCCGGACATeacAGCGACGGAGCGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAATAG . . CG	675
B bi04A	CACGAaCCCGGACATeacAGCGACGGAGCGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAATAG . . CG	675
B bi04R	CACGAAGCCCGGACATACTAGCGACGGAGCGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAAAAG . . CG	679

B bi05A	CACGAAGCCGCGACATcaTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAATAG...CG	679
B bi05B	CACGAAGCCGCGACATcaTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAATAG...CG	679
B bi06L	CACGAAGCCGCGACATACTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAAAAG...CG	678
B bi06M	CACGAAGCCGCGACATACTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAATAG...CG	695
B bi07O	CAaaAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAAgAG...CG	678
B bi07Q	CAatAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAAgAG...CG	678
B bi08T	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	678
B bi08U	CACGAAaCCGCGACATgCTAGCGACcGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	681
B bi09H	CAaaAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCTGCAAgAG...CG	678
B bi09I	CACGAAaCCGCGACATgCTAGCGACcGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	681
B bi10D	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	680
B bi10H	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	681
B bi11E	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	681
B bi11S	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	681
B bi12A	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	683
B bi12B	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
B bi13B	CAacAAaCCGCGACATgCTgGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	681
B bi13C	CAatAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
B bi14C	CAatAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	681
B bi14D	CAatAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
B bi15A	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGgGACGAtCAacGacaCG	681
B bi15B	CAacAtaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacgCG	681
B bi16D	CAatAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
B bi16E	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCaCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	681
B bi17A	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
B bi17B	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
B bi18D	CAatAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
B bi18E	CAatAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
B bi19F	CAatAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
B bi19G	CAacAAaCCGCGACATgCTAGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGCAGCAtCAacGacaCG	682
Consensus	ca a ccgcga at gcgac gacgggggc gaaccgctc cag gcacgc ca g cg	
B bi01D	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	745
B bi01O	ACGACAACCGGAGCtCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAtCGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	749
B bi02H	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi02Q	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi03C	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	745
B bi03E	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAaAG	745
B bi04A	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAaAG	745
B bi04R	ACGACAACCGGAGCtCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAtCGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	749
B bi05A	ACGACAACCGGAGCAaGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAtCGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	749
B bi05B	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	749
B bi06L	ACGACAACCGGAGCtCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAtCGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	748
B bi06M	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	765
B bi07O	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	748
B bi07Q	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAgAACGCCGGGCGACCCGAGCAAaAg	748
B bi08T	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	748
B bi08U	ACGACAACCGGAGCgCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi09H	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	748
B bi09I	ACGACAACCGGAGCgCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi10D	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	750
B bi10H	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi11E	ACGACAACCGGAGCAaGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi11S	ACGACAACCGGAGCAaGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi12A	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	753
B bi12B	ACGACAACCGGAGCgCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi13B	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAaAg	751
B bi13C	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi14C	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi14D	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi15A	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi15B	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi16D	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi16E	ACGACAACCGGAGCgCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	751
B bi17A	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi17B	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi18D	ACGACAACCGGAGCgCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi18E	ACGACAACCGGAGCgCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGATAAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi19F	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
B bi19G	ACGACAACCGGAGCAGCGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGCGAaAACGCCGGGCGACCCGAGCAAACAG	752
Consensus	acgacaacgcgag ggggtgggaggaggcaacgccccagcga a cgccgggagcccgagcaaa g	
B bi01D	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGAAGCCCAAA.GGGAACGCATACT...AAGACGCGCCGG	811
B bi01O	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGAAGCCCAAA.GGGAACGCATcCT...AAGACGCGCCGG	815
B bi02H	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGAAGCCCAAAaGGGAACGCATtTagaAAaACGCGCCGG	822

B bi02Q	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	820
B bi03C	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAA .GGGAACGCATcCT . . .AAGACGCGCCGG	811
B bi03E	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAA .GGGAACGCATcCT . . .AAGACGCGCCGG	811
B bi04A	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAA .GGGAACGCATcCT . . .AAGACGCGCCGG	811
B bi04R	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAA .GGGAACGCATcCT . . .AAGACGCGCaCG	815
B bi05A	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAA .GGGAACGCATcCT . . .AAGACGCGCCGG	815
B bi05B	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAA .GGGAACGCATcCT . . .AAGACGCGCCGG	815
B bi06L	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAA .GGGAACGCATcCT . . .AAGACGCGCCGG	814
B bi06M	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAA .GGGAACGCATACT . . .AAGACGCGCCGG	831
B bi07O	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATcC . . .aAgGACGCGCCGG	814
B bi07Q	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGaAGCAGTGGAAAGCCCAAA .GGGAACGCATcCT . . .AAGACGCGCCGG	814
B bi08T	CAAGGGCGCGTTGCTGcCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATcC . . .aAgGACGCGCCGG	814
B bi08U	CAAGGGCGCGTTGCTGcCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	820
B bi09H	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATcC . . .aAgGACGCGCCGG	814
B bi09I	CAAGGGCGCGTTGCTGcCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	820
B bi10D	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	819
B bi10H	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	820
B bi11E	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	820
B bi11S	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	820
B bi12A	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtagaAAaACGCGCCGG	822
B bi12B	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtagaAAaACGCGCCGG	821
B bi13B	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	820
B bi13C	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAAaGGGAACGCATtTtagaAAaACGCGCCGG	822
B bi14C	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATcC . . .aAgGACGCGCCGG	817
B bi14D	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAAaGGGAACGCATtTtagaAAaACGCGCCGG	822
B bi15A	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATcC . . .aAgGACGCGCCGG	817
B bi15B	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATcC . . .aAgGACGCGCCGG	817
B bi16D	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	821
B bi16E	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtagaAAaACGCGCCGG	820
B bi17A	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCaCG	821
B bi17B	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCaCG	821
B bi18D	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAAaGGGAACGCATtTtagaAAaACGCGCCGG	822
B bi18E	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAAAaGGGAACGCATtTtagaAAaACGCGCCGG	822
B bi19F	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCActTtagaAAaACGCGCCGG	821
B bi19G	CAAGGGCGCGTTGCTGGCGCAAGACGCAGTGGAAAGCCCAgA .GGGAACGCATtTtaacAAaACGCGCCGG	821
Consensus	caagggcgcggttgctg cgcaaga gcaagtggaaagccca a gggaaacgca a cgcg cgg	
B bi01D	ACGAGTCCCACCACCTGCGACAAGCGCACGCCGAAACGGCAAGAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	881
B bi01O	ACGAGTCCCACCACCTGCGACAAGCGCACGCCGAAACGGCAAcAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	885
B bi02H	ACGAGTCCCcACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	892
B bi02Q	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	890
B bi03C	ACGAaTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAcAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	881
B bi03E	ACGAaTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAcAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	881
B bi04A	ACGAaTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAcAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	881
B bi04R	ACGAGTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAcAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	885
B bi05A	ACGAGTCCCACCACCTGCaACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAGAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	885
B bi05B	ACGAGTCCCACCACCTGCaACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAGAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	885
B bi06L	ACGAGTCCCACCACCTGCGACAAGCGCACGCCGAAACGGCAAcAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	884
B bi06M	ACGAGTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAAGAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	901
B bi07O	ACGAaTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	884
B bi07Q	ACGAGTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAcaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	884
B bi08T	ACGAaTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	884
B bi08U	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	890
B bi09H	ACGAaTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	884
B bi09I	ACGAGTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	890
B bi10D	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	889
B bi10H	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	890
B bi11E	ACGAaTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAa caAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	890
B bi11S	ACGAaTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAa caAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	890
B bi12A	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	892
B bi12B	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	891
B bi13B	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	890
B bi13C	ACGAGTCCCcACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	892
B bi14C	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	887
B bi14D	ACGAGTCCCcACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	892
B bi15A	ACGAaTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	887
B bi15B	ACGAaTCCCACCACCTGCGACcAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	887
B bi16D	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAcAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	891
B bi16E	ACGAGTCCCcACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAcAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	890
B bi17A	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	891
B bi17B	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	891
B bi18D	ACGAGTCCCcACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	892
B bi18E	ACGAGTCCCcACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	892
B bi19F	ACGAaTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	891
B bi19G	ACGAGTCCCACCACCTGCGgCgAGCGCACGCCGAAACGGCAAAaAaAAATGTGAATGATCCTTCCGCAGG	891

Consensus	acga tccc accactgc c agcgcacgccgaaacggcaa	aaatgtgaatgatccttccgcagg	
B bi01D	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		923
B bi01O	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		927
B bi02H	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		934
B bi02Q	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTtTCCTTCCTTTAAG		932
B bi03C	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		923
B bi03E	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		923
B bi04A	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		923
B bi04R	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		927
B bi05A	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		927
B bi05B	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		927
B bi06L	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		926
B bi06M	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		943
B bi07O	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		926
B bi07Q	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		926
B bi08T	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		926
B bi08U	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		932
B bi09H	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		926
B bi09I	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		932
B bi10D	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		931
B bi10H	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTtTCCTTCCTTTAAG		932
B bi11E	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		932
B bi11S	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		932
B bi12A	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		934
B bi12B	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		933
B bi13B	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		932
B bi13C	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		934
B bi14C	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		929
B bi14D	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		934
B bi15A	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		929
B bi15B	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		929
B bi16D	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		933
B bi16E	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		932
B bi17A	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		933
B bi17B	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		933
B bi18D	TTCACCTActGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		934
B bi18E	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		934
B bi19F	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		933
B bi19G	TTCACCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG		933
Consensus	ttcacctac gaaaccttggtacgactt tccttcctttaag		

B di11A	GCAATAGTAATTCTAGCCGCACATCTCAAAGAAGCCTAGAGTAATAAATTACAACAAGAAGCTTtGAG	210
B di11B	GCAATAGTAATTCTAGCCGCACATCTCAAAGAAGCCTAGAGTAATAAATTACAACAAGAAGCTTCGAG	210
Consensus	gcaatagta ttctagccgcacatctcaaagaagcctagagtaataaattacaacaagaagctt gag	
B di01A	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di01C	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di02A	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di02B	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di03B	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di03C	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di04A	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di04B	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di05A	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di05B	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di06B	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di06C	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di07A	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di07C	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di08B	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di08C	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di09A	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di09B	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di10B	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di10C	ATCACACGTGGCGATACCCGGgAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di11A	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
B di11B	ATCACACGTGGCGATACCCGGTAGCATGCTATGGAAATTAAGGTGATTGTCACAACACCCACTCGCAAAG	280
Consensus	atcacacgtggcgataccggg agcatgctatggaaat taaggtgattgtcacaacacccactcgcaaag	
B di01A	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di01C	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di02A	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di02B	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di03B	GACTAACCATACTAcTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di03C	GACTAACCATACTAcTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di04A	GACTAACCATACTAcTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di04B	GACTAACCATACTAcTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di05A	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di05B	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di06B	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di06C	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di07A	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di07C	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di08B	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di08C	GACTAACCATACTAcTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di09A	GACTAACCATACTAcTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di09B	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di10B	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di10C	GACTAACCATACTATTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di11A	GACTAACCATACTAcTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
B di11B	GACTAACCATACTAcTACCAGGAGTAAAAGTGTGGTTCTTTAGGAAAGGGGGCTCACTGAAACGGGAGT	350
Consensus	gactaaccatacta taccaggagtaaagtggttcttttaggaaagggggctcactgaaacgggagt	
B di01A	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di01C	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di02A	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di02B	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di03B	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di03C	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di04A	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di04B	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di05A	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di05B	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di06B	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di06C	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di07A	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di07C	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di08B	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGcTTGTTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di08C	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di09A	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di09B	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di10B	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di10C	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di11A	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
B di11B	ACCGCATGCGAGCAGAGGCGGTGTGTTTGTACGTTTCAGAGGTCTGTTAAATCGCAGAAGTCTGCAAGTC	420
Consensus	accgcatgcgagcagagggcggtgtgtttgttacgtttcagaggtctgtttaaatacgcagaagtctgcaagtc	

B di02B	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACaGCATAACCCAAG	698
B di03B	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACaGCATAACCCAAG	698
B di03C	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACaGCATAACCCAAG	698
B di04A	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di04B	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di05A	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di05B	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di06B	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di06C	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di07A	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di07C	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di08B	CTGTAGCACTAACCAACTCagaAAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	700
B di08C	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di09A	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di09B	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di10B	CTGTAGCACTAACCAACTCagaAAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	700
B di10C	CTGTAGCACTAACCAACTCagaAAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	700
B di11A	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
B di11B	CTGTAGCACTAACCAACTCA..AAGAGCAATCACTAGTAACATCAGTATCGACACGGCATAACCCAAG	698
Consensus	ctgtagcactaaccaactca aagagcaatcactagtaacatcagtatcgacac gcataaccaag	
B di01A	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di01C	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di02A	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di02B	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACAcACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di03B	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACAcACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di03C	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACAcACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di04A	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di04B	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di05A	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di05B	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di06B	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di06C	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di07A	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di07C	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di08B	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	770
B di08C	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di09A	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di09B	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di10B	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	770
B di10C	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	770
B di11A	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACATACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
B di11B	TGTACGCCAACTACAGTAGTTACACCGCAGTAAACAcACACCCGGTGGGGTGGGAGGGGGCAACGTCCCA	768
Consensus	tgtacgccaaactacagtagttacacccgcagtaaaaca acaccgggtggggtgggagggggcaacgtccca	
B di01A	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di01C	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di02A	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di02B	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di03B	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di03C	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di04A	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di04B	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di05A	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di05B	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di06B	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di06C	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di07A	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di07C	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di08B	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	840
B di08C	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di09A	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di09B	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di10B	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	840
B di10C	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCAGGGCAACGACAAATACGAAAC	840
B di11A	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAagACGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
B di11B	CGCAAAAGCGCAGGGATGGAACCGGAACAAGACCAGAACCCAGTCGCCatGGCAACGACAAATACGAAAC	838
Consensus	cgcaaaagcgcagggatggaaccggaacaagaccgaaaccagtcgcca ggcaacgacaaatacgaaac	
B di01A	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAAATGCCGAAGCCGA	908
B di01C	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAAATGCCGAAGCCGA	908
B di02A	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAAATGCCGAAGCCGA	908
B di02B	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAAATGCCGAAGCCGA	908
B di03B	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAAATGCCGAAGCCGA	908
B di03C	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAAATGCCGAAGCCGA	908

B di04A	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di04B	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di05A	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di05B	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di06B	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di06C	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di07A	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di07C	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di08B	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	910
B di08C	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di09A	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di09B	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAgGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di10B	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	910
B di10C	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	910
B di11A	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
B di11B	CACCAAAAGTGGACCATGACGTAGAGTACAGCTGCAAGCAAGCTTACACAACGTAATGCCGAAGCCGA	908
Consensus	caccaaaagtggaccatgacgtagagtcacagctgcaagcaagcttacacaacgtaaatgcccgaagccga	
B di01A	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di01C	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di02A	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di02B	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di03B	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di03C	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di04A	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di04B	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di05A	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di05B	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di06B	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di06C	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di07A	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di07C	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di08B	GCACTATTGTGCAAGGGTAcTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	980
B di08C	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di09A	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di09B	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di10B	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	980
B di10C	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	980
B di11A	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
B di11B	GCACTATTGTGCAAGGGTATTCAATGTGAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTTACGA	978
Consensus	gcactattgtgcaagggta tcaatgtga tgatccttccgcaggttcacctacggaaaccttgttacga	
B di01A	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di01C	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di02A	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di02B	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di03B	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di03C	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di04A	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di04B	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di05A	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di05B	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di06B	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di06C	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di07A	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di07C	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di08B	CTTCTCCTTCCTTTAAG	997
B di08C	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di09A	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di09B	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di10B	CTTCTCCTTCCTTTAAG	997
B di10C	CTTCTCCTTCCTTTAAG	997
B di11A	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
B di11B	CTTCTCCTTCCTTTAAG	995
Consensus	cttctccttcctttaag	

Spezies: *Babesia ovata*

Anzahl: 2

Länge (b): 883

B ov01A	GGGGGAATCATGGTTATTTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCACCCG	70
B ov01B	GGGGGAATCATGGTTATTTTCTTTTCTGCCGCTTAATTATATGCTTAAATTCGGCGGATGGCCTCACCCG	70
Consensus	gggggaatcatggttatTTTTCTTTTCTGCCGCTtaattatATgctTAAATTCGGCGGatggcctCACCCG	
B ov01A	ATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCCAGCCGCAAAAACACCAGCGCAGCACCCGCAAAGGAGCTCAAATGT	140
B ov01B	ATCTCAGGAGCAAAAAAGACGGCCAGCCGCAAAAACACCAGCGCAGCACCCGCAAAGGAGCTCAAATGT	140
Consensus	atctcaggagcaaaaaagacggccagccGCAAAAACaccagcgCAGCACccGCAAAGGagctCAAATGT	
B ov01A	AGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTCACAGAAATTAGGGCGA	210
B ov01B	AGAAACTACAGCAGGCGCTCCAACACGTGCAGGGCCAAAGCCGCGCAAGCGTTCACAGAAATTAGGGCGA	210
Consensus	agaaactacagcaggcgctccaacacgtgcagggccAAAGCCGCGCAAGCGTTCACAGAAATTAGGGCGA	
B ov01A	CAACACGACGCCAATCGCGAGGAACACGGCACAAATGCTGAGAGCAAATGGGGCCGAGGCCTCAGGACG	280
B ov01B	CAACACGACGCCAATCGCGAGGAACACGGCACAAATGCTGAGAGCAAATGGGGCCGAGGCCTCAGGACG	280
Consensus	caacacgacgcccaatcgcgaggaAACACGGCACAAATGCTGAGAGCAAATGGGGCCGAGGCCTCAGGACG	
B ov01A	GGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCAGAGCAGAGGCGGTGTGTTGTTACGTTACAGAGTCTGGT	350
B ov01B	GGGGGCTCACTGAAACGGGAGTACCGCGTGCAGAGCAGAGGCGGTGTGTTGTTACGTTACAGAGTCTGGT	350
Consensus	gggggctcactgaaacgggagTACCGCGTGCAGAGCAGAGGCGGTGTGTTGTTACGTTACAGAGTCTGGT	
B ov01A	AAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTATCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAA	420
B ov01B	AAATCGCAGAAGTCTGCAAGTCATACTGCGTATCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAA	420
Consensus	aaatcgcagaagTctgcaagTcataCTGCGTATCGCAATTCGCTGCGTCCTTCATCGTTGTGTGAGCCAA	
B ov01A	GACATCCATCGCTGAAAGTTTAAATGTTTACAAAACGCCTAAAAAGCGCGGAGTTGCAACCACAAAAGGC	490
B ov01B	GACATCCATCGCTGAAAGTTTAAATGTTTACAAAACGCCTAAAAAGCGCGGAGTTGCAACCACAAAAGGC	490
Consensus	gacatccatcgctgaaagTTTAAATGTTTACAAAACGCCTAAAAAGCGCGGAGTTGCAACCACAAAAGGC	
B ov01A	ACAGCCAAGCACAGCAACGCTGCACGAGGCAAGACGCTGGCACAACCGGCACAGCGACATCCCCGACCG	560
B ov01B	ACAGCCAAGCACAGCAACGCTGCACGAGGCAAGACGCTGGCACAACCGGCACAGCGACATCCCCGACCG	560
Consensus	acagccaagcacagcaacgctgcacgagGCAAGACGCTGGCACAACCGGCACAGCGACATCCCCGACCG	
B ov01A	ACGCGAGCACCACGGAAAACCGCAGAAAACAGGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGGCCAAA	630
B ov01B	ACGCGAGCACCACGGAAAACCGCAGAAAACAGGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGGCCAAA	630
Consensus	acgcgagcaccacggAAAACCGCAGAAAACAGGCGACGGACGGGGGCGGAACCCGCTCGCAGAGGCCAAA	
B ov01A	AGAGGCAACAACCGCAGCAAGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGACAAAGCCGGGCAGCCGAGGCAAAA	700
B ov01B	AGAGGCAACAACCGCAGCAAGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGACAAAGCCGGGCAGCCGAGGCAAAA	700
Consensus	agaggcaacaacCGCAGCAAGGGGTGGGAGGAGGCAACGCCCCAGACAAAGCCGGGCAGCCGAGGCAAAA	
B ov01A	AGCCGAGGCGCGTTGCTGGCGGCGAGACAGTGGAGGCCAGACAACGGGAACGCGTTGCAACAACGCGC	770
B ov01B	AGCCGAGGCGCGTTGCTGGCGGCGAGACAGTGGAGGCCAGACAACGGGAACGCGTTGCAACAACGCGC	770
Consensus	agcc aggcgcttgctggcgGCGAGACAGTGGAGGCCAGACAACGGGAACGCGTTGCAACAACGCGC	
B ov01A	CGGACGAGTCCCGACCGCTGAATCGACGCCCGCCCGAAGGCAAAAACAAAATGTGAATGATCCTTCCGCAG	840
B ov01B	CGGACGAGTCCCGACCGCTGAATCGACGCCCGCCCGAAGGCAAAAACAAAATGTGAATGATCCTTCCGCAG	840
Consensus	cggacgagTCCCGACCGCTGAATCGACGCCCGCCCGAAGGCAAAAACAAAATGTGAATGATCCTTCCGCAG	
B ov01A	GTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG	883
B ov01B	GTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG	883
Consensus	gttacctacggAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCCTTTAAG	

Frau Priv.-Doz. Dr. Monika Rinder danke ich für die Vergabe des Dissertationsthemas und die Einweisung in die molekularbiologische Laborarbeit. Herzlich möchte ich mich für ihre stets freundliche Unterstützung bei der Erstellung und der Korrektur dieser Arbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Kurt Pfister für die Bereitstellung der Einrichtungen des Institutes und seine freundliche Anteilnahme.

Bei Frau Angelika Thomschke aus der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München möchte ich mich für ihr Interesse an meiner Arbeit, ihre hilfreichen Anregungen und ihre unermüdliche Diskussionsbereitschaft bedanken.

Ein ganz besonderer Dank geht an alle Mitarbeiter des Institutes für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie für die Verbreitung guter Laune, für ihren Humor und besonders für ihre Kollegialität.

Ein herzliches Dankeschön an Stephanie Würth für ihre moralische Unterstützung und die vielen gelachten Tränen während unserer gemeinsamen Doktorandenzeit.

Für die Überlassung von Probenmaterial möchte ich mich recht herzlich bei allen Einsendern bedanken.

Auch sei der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Förderung meiner Arbeit gedankt.

Mein persönlicher Dank gilt allen Mitgliedern meiner Familie und meinen Freunden, die mich in allen Belangen unterstützt haben und immer für mich da waren.