

DNA-Barcoding und Next-Generation-Sequencing zur Aufklärung von Pflanzenvergiftungen bei Tieren

von
Aleyna Aksu

Hochschule Bonn-Rhein-Sieg
Fachbereich Angewandte Naturwissenschaften

Zur Erlangung des akademischen Grades

Bachelor of Science

in

**Naturwissenschaftliche
Forensik**

2025

Vorgelegt am 03.09.2025

Beginn am 03.07.2025

Genehmigt:

Prof. Dr. Christopher Volk

Name Erstprüfer(in)

Prof. Dr. Peter Nick

Name Zweitprüfer(in)

Prof. Dr. Dieter Reinscheid

Vorsitzende(r) des Prüfungsausschusses

Erklärung:

Ich bin damit einverstanden, dass meine Abschlussarbeit als Belegexemplar von der Hochschule Bonn-Rhein-Sieg einbehalten wird.

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Bachelorarbeit selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe angefertigt habe. Es wurden nur die in der Arbeit ausdrücklich benannten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut habe ich als solches kenntlich gemacht.

Ort, Datum

Name

Unterschrift

Danksagung

In erster Linie möchte ich mich herzlich bei Professor Dr. Peter Nick vom Joseph-Gottlieb-Kölreuter-Institut (JKIP) am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) bedanken. Er hat mir die Möglichkeit gegeben, meine Bachelorarbeit am KIT durchzuführen, und mir durch seine Unterstützung und Vermittlung den Kontakt zum CVUA Freiburg ermöglicht. Auch für die Themenfindung und die Betreuung während des gesamten Projekts bin ich ihm sehr dankbar.

Ebenso danke ich meinem betreuenden Professor, Herrn Professor Dr. Christopher Volk von der Hochschule Bonn-Rhein-Sieg (H-BRS), für die fachliche Begleitung und die Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank geht an meinen Supervisor im Labor, Dr. Sascha Wetters, der mich durch seine Einführung, seine hilfreichen Erklärungen und seine kontinuierliche Unterstützung wesentlich begleitet hat. Er hat mir gezeigt, wie ich eigenständig an meinem Projekt arbeiten kann, und mir damit von Anfang an Sicherheit und Orientierung gegeben. Zudem hat er mir auch wertvolle Anmerkungen im Laufe der Arbeit gegeben.

Darüber hinaus danke ich Herrn Dr. Michael Suntz und Herrn Dr. Klaus Pietsch vom Chemischen und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg (CVUA), die mir die Proben zur Verfügung gestellt haben und mir durch ihre Einführung einen praxisnahen Einblick in ihre Arbeit ermöglichten.

Nicht zuletzt danke ich dem gesamten Laborteam für das freundliche Arbeitsumfeld und die angenehme Atmosphäre, die meine Praxisphase sehr bereichert haben.

Abschließend möchte ich meiner Familie und meinen Freunden danken, die mich mit ihrer Unterstützung, Motivation und ihrem Verständnis stets begleitet haben.

Abstract

Plant poisoning poses a serious risk to livestock and wild animals and can have serious health consequences. However, it often remains unclear exactly which plants were the cause of death, as the plant residues in the stomach are severely decomposed by digestive processes and can hardly be identified morphologically.

The aim of this study was to find out whether molecular biological methods such as DNA barcoding in conjunction with next-generation sequencing (NGS) can help to identify plant species from stomach content samples. A total of 38 samples from various animal species, such as cattle, sheep, goats, horses, deer and other hoofed game, were analysed.

The focus was on analysing the ITS1 region, a frequently used DNA target region in plant barcoding. The sequencing was carried out using a paired-end run, in which around 100 000 reads with a length of 301 base pairs each were generated per sample. The raw data were then analysed using the DADA2 software in RStudio, and ASV tables were created, which were sorted for sequence abundance and then compared with entries in the NCBI database using Nucleotide BLAST.

Despite the partially degraded DNA samples, it was possible to clearly identify numerous plant DNA sequences. In some cases, however, only fungal DNA or no plant sequences at all were found, which is presumably due to highly decomposed stomach contents or empty stomachs. The most frequently identified genus was *Rubus* (bramble), which appeared in 13 samples. In addition, genera known to contain potentially toxic compounds were detected, including *Prunus* (plum) and *Rumex* (dock/sorrel).

The results show that DNA barcoding, combined with NGS, can in principle be a useful tool for the elucidation of plant poisoning but at the same time reaches its limits when the sample material is severely degraded. Overall, this approach makes an important contribution to diagnostics and prevention in veterinary practice.

Zusammenfassung

Pflanzenvergiftungen stellen ein ernsthaftes Risiko für Nutz- und Wildtiere dar und können schwere gesundheitliche Folgen haben. Oft bleibt jedoch unklar, welche Pflanzen genau die Ursache sind, da die Pflanzenreste im Magen durch Verdauungsvorgänge stark zersetzt werden und sich morphologisch kaum noch bestimmen lassen. Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob molekularbiologische Methoden wie *DNA-Barcoding* in Verbindung mit *Next-Generation-Sequencing* (NGS) dabei helfen können, Pflanzenarten aus Mageninhaltsproben zu identifizieren. Insgesamt wurden 38 Proben untersucht, die von verschiedenen Tierarten wie Rind, Schaf, Ziege, Pferd, Reh und anderem Schalenwild stammten.

Im Fokus stand dabei die Analyse der ITS1-Region, einer häufig genutzten Zielregion beim Pflanzen-*Barcoding*. Die Sequenzierung erfolgte über *einen Paired-End-Run*, bei dem pro Probe etwa 100.000 *Reads* mit einer Länge von jeweils 301 Basenpaaren erzeugt wurden. Anschließend wurden die Rohdaten mit der Software DADA2 in RStudio ausgewertet und ASV-Tabellen erstellt, die auf Abundanz sortiert und anschließend per Nucleotide-BLAST mit Einträgen in der NCBI-Datenbank verglichen wurden.

Trotz der teils degradierten DNA-Proben gelang es, viele pflanzliche DNA-Sequenzen eindeutig zu identifizieren. In manchen Fällen wurden jedoch nur Pilz-DNA oder gar keine pflanzlichen Sequenzen gefunden, was vermutlich auf stark zersetzte Mageninhalte oder leere Mägen zurückzuführen ist. Besonders häufig wurde die Gattung *Rubus* (Brombeeren/Himbeeren) identifiziert, die in 13 Proben vorkam. Darüber hinaus konnten auch Gattungen nachgewiesen werden, die potenziell toxische Substanzen enthalten, darunter *Prunus* (Pflaumen) und *Rumex* (Ampfer).

Die Ergebnisse zeigen, dass *DNA-Barcoding*, kombiniert mit NGS, grundsätzlich ein nützliches Werkzeug zur Aufklärung von Pflanzenvergiftungen sein kann, gleichzeitig aber an seine Grenzen stößt, wenn das Probenmaterial stark degradiert ist. Insgesamt leistet dieser Ansatz einen wichtigen Beitrag zur Diagnostik und Prävention in der tiermedizinischen Praxis.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	8
1.1. Giftpflanzen und ihre Relevanz in der Tiermedizin	8
1.2. Metagenomik und DNA- <i>Barcoding</i>	9
1.3. Forschungsstand und Anwendungen	10
1.4. Methodische Grundlagen	11
2. Zielsetzung	12
3. Materialien	13
3.1. Proben	13
3.2. Chemikalien	14
3.3. Lösungen	15
3.4. Primer	15
3.5. Verbrauchsmaterialien	15
3.6. Instrumente	16
3.7. Software	16
4. Methoden	17
4.1. DNA-Extraktion	17
4.2. Überprüfung auf pflanzliche DNA mittels PCR	18
4.3. PCR und <i>Next-Generation-Sequencing</i>	20
4.4. Bioinformatische Auswertung mit DADA2 in RStudio	21
4.5. Auswertung der Sequenzen	22
5. Ergebnisse	24
5.1. Ergebnisse der DNA-Extraktion	24
5.2. Nachweis pflanzlicher DNA	24
5.3. Sequenzverarbeitung mit DADA2	26
5.4. Taxonomische Zuordnung und Pflanzenvielfalt in den Proben	28
6. Diskussion	33
6.1. Erfolgreiche DNA-Extraktion trotz schwieriger Probenmatrix	33
6.2. PCR bestätigt pflanzliche DNA in allen Proben	34
6.3. Starke Unterschiede in <i>Reads</i> und <i>ASVs</i> spiegeln Heterogenität der Proben wider	35
6.4. Kann NGS die pflanzliche Ernährung von Weidetieren erfassen?	36

6.5. Toxische Pflanzen im Magen – Nachweis oder Zufallsbefund?	38
7. Fazit/Schlussfolgerung.....	40
8. Literatur-, Abbildungs- & Tabellenverzeichnis.....	42
Literaturverzeichnis	42
Tabellenverzeichnis.....	44
9. Anhang	45
9.1. Nanodrop Ergebnisse	45
9.2. Agarosegelbilder	46
9.3. RStudio Code.....	47
9.4. BLAST Ergebnisse der Proben	49

Abkürzungsverzeichnis

ASV - *Amplicon Sequence Variant*
Abb. - Abbildung
BLAST - *Basic Local Alignment Search Tool*
BLASTn - *Basic Local Alignment Search Tool* (Nukleotidvergleich)
BSA - Bovines Serumalbumin
BTV - Blauzungenvirus
bp - Basenpaar(e)
cDNA - komplementäre DNA
CTAB - Cetyltrimethylammoniumbromid
CVUA - Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt
DNA - Desoxyribonukleinsäure
dNTP - Desoxyribonukleosid-Triphosphat
E. coli - *Escherichia coli*
EDTA - Ethylendiamintetraessigsäure
FASTQ - Dateiformat für Sequenzdaten (enthält Basen und Qualitätswerte)
HCN - Blausäure
H-BRS - Hochschule Bonn-Rhein-Sieg
Hz - Hertz
ITS - *internal transcribed spacer*
JKIP - Joseph-Gottlieb-Kölreuter-Institut für Pflanzenwissenschaften
kb - Kilobasenpaar(e)
KIT - Karlsruher Institut für Technologie
matK - Maturase K (Barcoding-Marker)
NCBI - *National Center for Biotechnology Information*
NGS - *Next-Generation-Sequencing*
PCR - Polymerase-Kettenreaktion
ppm - *parts per million* (entspricht 1 mg pro kg)
qPCR - quantitative Polymerase-Kettenreaktion
Q30 - Qualitätswert 30 (Illumina-Standard)
rbcL - Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (Barcoding-Marker)
RNA - Ribonukleinsäure
rRNA - ribosomale Ribonukleinsäure
rpm - *revolutions per minute* (Umdrehungen pro Minute)
Tab. - Tabelle
TAE - Tris-Acetat-EDTA
TBE - Tris-Borat-EDTA
UV - Ultraviolett
V - Volt
vgl. - vergleiche
µL - Mikroliter
µM - Mikromolar

1. Einleitung

Pflanzenvergiftungen bei Tieren sind ein bedeutendes Problem in der Tiermedizin und Landwirtschaft. Sie können schwerwiegende gesundheitliche Folgen für die betroffenen Tiere haben und stellen sowohl für Tierärztinnen und Tierärzte als auch für Landwirtinnen und Landwirte eine Herausforderung dar. In den häufigsten Fällen bleibt die genaue Ursache einer Vergiftung unklar, da die Pflanzenreste im Mageninhalt der Tiere oftmals stark degradiert sind. Dies erschwert eine eindeutige Identifikation anhand morphologischer Merkmale. Daher besteht ein sehr hoher Bedarf an neuen Methoden, welche unabhängig von den erkennbaren pflanzlichen Strukturen arbeiten und dennoch eine präzise Bestimmung ermöglichen. Eine vielversprechende Technik ist das *DNA-Barcoding*. Diese Methode nutzt kurze DNA-Sequenzen, um Pflanzenarten zu bestimmen. Zusammen mit *Next-Generation-Sequencing* (NGS) werden selbst stark zersetzte Proben analysiert. Diese Technologie erlaubt zudem die Untersuchung von mehreren Proben gleichzeitig. Selbst kleinste DNA-Spuren können erfasst werden. *DNA-Barcoding* und NGS werden in anderen Bereichen bereits erfolgreich angewendet, jedoch existiert bislang nur eine geringe Anzahl an Studien, welche die Analyse von Mageninhaltsproben auf diese Weise zum Gegenstand haben.

1.1. Giftpflanzen und ihre Relevanz in der Tiermedizin

Giftpflanzen stellen eine bedeutende Ursache für Vergiftungsfälle bei Weidetieren dar und sind deshalb von hoher veterinärmedizinischer und forensischer Relevanz. Zahlreiche Arten enthalten toxische Inhaltsstoffe, die bereits in geringen Mengen klinische Symptome hervorrufen oder zum Tod führen können. Besonders problematisch ist, dass die Aufnahme von Giftpflanzen oft unbemerkt erfolgt und die Symptome unspezifisch sind, sodass sie nicht eindeutig einer bestimmten Ursache oder Erkrankung zugeordnet werden können. Zudem sind morphologische Pflanzenreste im Mageninhalt meist so stark degradiert, dass eine sichere Bestimmung mit klassischen Methoden kaum möglich ist.

Zu den relevanten Giftpflanzen in Mitteleuropa/Deutschland gehören der Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*), dessen Samen und Keimlinge den toxischen Stoff

Hypoglycin A enthalten, sowie Arten der Gattung *Prunus*, die cyanogene Glykoside aufweisen und dadurch Vergiftungen hervorrufen können^{1,2,3,4}.

Diese Beispiele verdeutlichen, dass Vergiftungen durch Giftpflanzen regelmäßig auftreten und mit erheblichen gesundheitlichen und wirtschaftlichen Folgen verbunden sind. Gleichzeitig fehlen jedoch häufig direkte Nachweise im Mageninhalt, da das Pflanzenmaterial durch den Verdauungsprozess stark verändert wird. Hier setzt der Einsatz molekularbiologischer Methoden wie *DNA-Barcoding* und *Next-Generation-Sequencing* an, die auch in stark degradierten Proben eine eindeutige Identifikation der aufgenommenen Pflanzenarten ermöglichen.

1.2. Metagenomik und DNA-Barcoding

Metagenomik ist ein molekularbiologisches Verfahren zur Analyse der genetischen Zusammensetzung von Mikroorganismen direkt aus Umwelt- oder biologischen Proben, ohne dass eine Kultivierung notwendig ist. Sie erlaubt es, die in einer Probe enthaltene gesamte DNA, also die kollektiven Genome aller Organismen, zu erfassen und auszuwerten⁵.

Zu einer häufig verwendeten Technik innerhalb der Metagenomik zählt das *DNA-Barcoding*. Es dient der schnellen und standardisierten Artenidentifikation auf Grundlage kurzer, charakteristischer DNA-Abschnitte. Diese Barcodes sind innerhalb einer Art in der Regel relativ stabil, unterscheiden sich jedoch meist deutlich zwischen verschiedenen Arten. Bei Pflanzen werden häufig Abschnitte wie ITS (*internal transcribed spacer*), *rbcL* (*Ribulose-1,5-bisphosphate-Carboxylase/Oxygenase*) oder *matK* (*Maturase K*) verwendet. Der Vergleich dieser Sequenzen mit bestehenden Referenzdatenbanken ermöglicht eine eindeutige Zuordnung zu bereits bekannten Arten⁶.

Eine spezielle Anwendung des *DNA-Barcodings* ist das sogenannte *Metabarcoding*. Dabei werden Barcode-Sequenzen aus komplexen Proben gewonnen, zum Beispiel aus Boden, Wasser oder Mageninhalten. Durch Vergleich mit Datenbanken kann dann bestimmt werden, welche Arten in einer Probe vorhanden sind².

Metagenomik und DNA-*Barcoding* folgen gemeinsamen Grundprinzipien, die selbst in komplexen oder degradierten Proben zuverlässige Artidentifikationen ermöglichen. Dabei ist es wichtig, geeignete Marker, zuverlässige Datenbanken und passende Analysewerkzeuge auszuwählen⁵.

1.3. Forschungsstand und Anwendungen

In den letzten Jahren wurde DNA-*Barcoding* zunehmend in veterinärmedizinischen und forensischen Kontexten eingesetzt, um Pflanzenintoxikationen aufzuklären oder Ernährungsgewohnheiten von Tieren zu rekonstruieren. Bereits in der Forschungsgruppe Nick am Joseph-Gottlieb-Kölreuter-Institut (JKIP) wurde dieses Verfahren erfolgreich angewendet. In der Masterarbeit von Sandra Schweikle (2023) konnte gezeigt werden, dass DNA-*Barcoding* auch aus stark degradiertem Mageninhalt verstorbener Tiere eine eindeutige Identifikation von Pflanzen ermöglicht⁷. Damit liegt ein praxisnahes Beispiel vor, das die Anwendbarkeit der Methode unter realistischen Bedingungen verdeutlicht.

Weitere Arbeiten berichten über den erfolgreichen Einsatz von DNA-*Barcoding* bei der Aufklärung tödlicher Vergiftungen durch toxische Pflanzenarten in der Nutztierhaltung und in forensischen Untersuchungen. Hierbei konnten unter anderem Arten wie *Nerium oleander* (Rosenlorbeer) oder *Robinia pseudoacacia* (gewöhnliche Robinie) eindeutig identifiziert werden, obwohl morphologische Reste im Mageninhalt nicht mehr erkennbar waren⁸.

Parallel dazu haben sich NGS-basierte *Metabarcoding*-Ansätze etabliert, die es ermöglichen, komplexe Proben wie Magen- oder Kotinhalte simultan auf viele Pflanzenarten hin zu analysieren. In einer Fallserie aus der Rinderhaltung wurde gezeigt, dass DNA-Daten aus *Metabarcoding* in Kombination mit chemischen Analysen Hinweise auf kontaminiertes Futter lieferten und retrospektiv mit Krankheits- und Todesfällen in Verbindung gebracht werden konnten⁹.

Auch die Wahl geeigneter Marker spielt eine wichtige Rolle. Besonders kurze DNA-Fragmente wie der *trnL-P6-Loop*, ein Abschnitt des trnL-(UAA)-Introns im Chloroplastengenom, haben sich als besonders robust für stark fragmentierte DNA erwiesen, da sie selbst in stark degradiertem Material zuverlässig amplifiziert werden können¹⁰. Die taxonomische Auflösung ist hierbei jedoch häufig auf die

Gattungsebene beschränkt. Im Gegensatz dazu ermöglichen ITS-Marker in vielen Fällen eine höhere Auflösung bis auf Gattungs- oder Artniveau, sind aber aufgrund ihrer Länge weniger tolerant gegenüber degradiertem Ausgangsmaterial.

Der aktuelle Forschungsstand weist darauf hin, dass *DNA-Barcoding* und NGS-basierte Verfahren auch in stark degradiertem Material vielversprechende Ergebnisse liefern können. Welche Aussagekraft diese Ansätze speziell für die Analyse von Mageninhaltsproben besitzen, ist jedoch bislang nur unzureichend erforscht.

1.4. Methodische Grundlagen

Für die Bearbeitung der Fragestellung dieser Arbeit kamen etablierte molekularbiologische Verfahren zum Einsatz. Dazu gehörten die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum gezielten Nachweis und zur Vervielfältigung pflanzlicher DNA-Fragmente sowie die Gelelektrophorese, die zur qualitativen Kontrolle der Amplifikate diente.

Für die eigentliche Analyse wurde ein *Next-Generation-Sequencing*- (NGS) Ansatz eingesetzt, der auch stark fragmentierte DNA erfasst und eine umfassende Charakterisierung komplexer Proben ermöglicht. Die anschließende bioinformatische Auswertung erfolgte mit der Software DADA2, die Sequenzfehler modelliert, *Amplicon Sequence Variants* (ASVs) generiert und so eine hochauflösende taxonomische Zuordnung erlaubt.

Detaillierte Beschreibungen der einzelnen Arbeitsschritte sind im Methodenteil (Kapitel 4) dargestellt.

2. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, zu untersuchen, wie effektiv die Kombination aus DNA-*Barcoding* und *Next-Generation-Sequencing* (NGS) zur Identifikation von Pflanzenarten in Mageninhaltsproben genutzt werden kann. Dabei soll auch ermittelt werden, ob diese Methoden selbst unter erschwerten Bedingungen, wie sie etwa durch degradierte DNA auftreten, zuverlässige Ergebnisse liefern. Darüber hinaus werden mögliche Grenzen und Herausforderungen des gewählten Analyseansatzes aufgezeigt.

3. Materialien

3.1. Proben

Für die Untersuchung wurden Pflanzenmaterialien aus dem Panseninhalt verstorbener Tiere verwendet. Diese Proben wurden vom Chemischen Veterinär- und Untersuchungsamt (CVUA) Freiburg zur Verfügung gestellt.

Tabelle 1: Übersicht der 38 Proben mit Probennummern und Befunden

Probennummer	Tier	Befunde
306374	Rind	vermutete allergische Reaktion (anaphylaktischer Schock), Lungenödem
286773	Rind	Akute Pneumonie, Clostridienenterotoxämie, Pansenegel
289483	Rind	Akute Bleivergiftung, eitrige Bronchopneumonie
386337	Ziege	Kachexie, Mastitis, Hämonchose, Kokzidien
390980	Schaf	Hämonchose
402864	Schaf	Enteritis, Lungenwürmer, Kokzidiose, Salmonellen
405096	Schaf	Schlundverstopfung
405176	Pferd	Arthrosen, Cholesteringranulome im Gehirn, Endometritis, Clostridien, <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)
407215	Reh	Kachexie, bakterielle Enteritis, Kokzidien
407236	Schaf	Hämonchose, Enterotoxämie möglich
408642	Schaf	Hämonchose, BTV-3
408898	Schaf	BTV-3, eitrige Mastitis
415056	Pferd	Strangulation mit Zungenbeinfraktur, akutes Herz-Kreislaufversagen, Spulwürmer
416880	Schaf	Hämonchose, Kokzidien, Leberegel
417155	Schaf	Hämonchose, Leberegel, Kokzidien
417161	Schaf	Hämonchose, Kokzidien
419360	Schaf	stark autolytisch, Hämonchose
419363	Schaf	BTV-3
419618	Schaf	Hämonchose, Bandwürmer, Kokzidien, Leberegel
419624	Schaf	Hämonchose, Kokzidien
419707	Schaf	Hämonchose, Lungenwürmer, BTV-3
419720	Schaf	Hämonchose, Lungenwürmer, BTV-3
419812	Schaf	BTV-3, Hämonchose
421137	Schaf	Hämonchose, BTV-3, Hautveränderungen
421139	Schaf	Hämonchose, BTV-3, Hautveränderungen
421517	Schaf	Hämonchose, BTV-3, Leberabszesse, Pneumonie
421521	Schaf	Hämonchose, BTV-3, Leberabszesse, Pneumonie
424122	Schaf	Hämonchose, BTV-3, Dermatitis
424126	Schaf	Hämonchose, BTV-3, Dermatitis
426548	Reh	Enteritis, Clostridien/ <i>E. coli</i> , Strongyliden

426549	Schaf	Hämonchose, Hautveränderung (Photosensibilität)
426841	Schaf	Hämonchose, BTV-3 fraglich/sicher, Clostridien
426846	Schaf	Hämonchose, BTV-3 fraglich/sicher, Clostridien
429166	Schaf	Hämonchose, Anämie
431288	Schaf	Hämonchose, BTV-3
432767	Reh	Hämonchose, Leberegel, Anämie
460842	Schaf	Hämonchose, Clostridien, BTV-3
461035	Schalenwild	Hämonchose, Kachexie, BTV negativ

3.2. Chemikalien

Tabelle 2: Verwendete Chemikalien

Bezeichnung	Hersteller	Anwendung
Stickstoff flüssig	Carl Roth GmbH	DNA-Extraktion
Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB)	Carl Roth GmbH	DNA-Extraktion
Chloroform:Isoamylalkohol (24:1)	AppliChem GmbH	DNA-Extraktion
Nukleasefreies Wasser	Biozym Scientific GmbH	DNA-Extraktion/ PCR
2-Propanol	Carl Roth GmbH	DNA-Extraktion
Ethanol	VWR Chemicals	DNA-Extraktion
10x ThermoPol-Reaktionspuffer	New England Biolabs	PCR
Bovines Serumalbumin (BSA)	Carl Roth GmbH	PCR
dNTPs	New England Biolabs	PCR
Taq-Polymerase	New England Biolabs	PCR
Agarose NEEQ Ultra-Quality	Carl Roth GmbH	Gelelektrophorese
Essigsäure	Carl Roth GmbH	Gelelektrophorese
Ethylendiamintetraessigsäure EDTA	Carl Roth GmbH	Gelelektrophorese
Tris-HCl	Merck KGaA	Gelelektrophorese
Midori Green Xtra	NIPPON Genetics	Gelelektrophorese
100 bp DNA-Leiter	New England Biolabs	Gelelektrophorese
1 kb DNA-Leiter	New England Biolabs	Gelelektrophorese

3.3. Lösungen

Tabelle 3: Verwendete Lösungen

Lösungen	Zusammensetzung
2 % CTAB	2 % CTAB 100 mM Tris-HCl 20 mM EDTA 1,4 M NaCl
TAE-Puffer Stammlösung (pH = 8)	2 M Tris-HCl 1 M Essigsäure 0,05 M EDTA
TAE-Puffer 0,5x	TAE-Puffer Stammlösung/ demineralisiertes Wasser (1/20)
Ladepuffer 6x	50 ml nukleasefreies Wasser 50 ml Glycerin 50 mg Bromphenolblau 50 mg Xylencyanol

3.4. Primer

Tabelle 4: Verwendete Primer

Primer	Vorwärts/Rückwärts	Sequenz
ITSA	Vorwärts	5´-GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG-3´
ITSB	Rückwärts	5´-CTTTCCTCCGCTTATTGATATG-3´

3.5. Verbrauchsmaterialien

Tabelle 5: Verwendete Verbrauchsmaterialien

Materialien	Hersteller
Reaktionsgefäß Safe Lock 2 mL	Eppendorf
Reaktionsgefäß 1,5 mL	Eppendorf
Reaktionsgefäß 2 mL	Eppendorf
Pipettenspitzen	VWR International GmbH Carl Roth GmbH AHN Biotechnologie
PCR-Tubes	Biozym

3.6. Instrumente

Tabelle 6: Verwendete Instrumente

Geräte	Modell	Hersteller
Waage	Analytical plus	OHAUS Europe GmbH
TissueLyser	TissueLyser	QIAGEN
Vortexer	VortexGenie	Bender and Hobein AG
Thermocycler	FlexCycler Biometra T-Gradient	Analytik Jena AG Biometra
Schüttler	IKA KS 260 Schüttler	Merck KGaA
Zentrifuge	Micro Star 17 Heraeus Pico 17	VWR International GmbH Thermo Fisher Scientific
Vakuumzentrifuge	Concentrator 5301	Eppendorf
Elektrophoresekammer	Mupid®One	NIPPON Genetics
Gel Scanner	Safe Imager	Invitrogen
Thermocycler	FlexCycler	Analytik Jena AG
Spektrophotometer Nanodrop	NanoDrop ND 1000	Thermo Fisher Scientific

3.7. Software

Tabelle 7: Verwendete Software

Software	Hersteller	Verwendung
NanoDrop-1000	Thermo Fisher Scientific	Konzentrations- und Reinheitsbestimmung
DADA-2	Callahan Lab	Qualitätskontrolle, Fehlerkorrektur und ASV-Generierung aus NGS-Daten
R Studio 2024.12.1+563	Posit PBC	Ausführungsumgebung für R-Skripte zur bioinformatischen Datenanalyse
NCBI	National Library of Medicine	BLAST Funktion der Sequenzen in der Genbank

4. Methoden

4.1. DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion erfolgte nach einem angepassten CTAB-Protokoll basierend auf Doyle und Doyle (1987), das im Verlauf der Arbeit speziell auf die Eigenschaften der Mageninhaltsproben abgestimmt wurde. Die Proben wurden durch das Chemische und Veterinäruntersuchungsamt (CVUA) Freiburg bereits homogenisiert zur Verfügung gestellt. Aus diesen Proben wurden jeweils 100 mg Material auf einer Präzisionswaage eingewogen und in ein 2 mL *Safe-Lock*-Reaktionsgefäß überführt. Anschließend wurden die Proben in flüssigem Stickstoff schockgefroren und mithilfe eines TissueLyser (Qiagen) für 30 Sekunden bei 23 Hz mechanisch zerkleinert.

Zu jeder Probe wurden 900 µL vorerhitzter 2-%iger CTAB-Puffer hinzugegeben. Die Inkubation erfolgte bei 65 °C für 3 Stunden in einem Thermomixer bei 300 rpm. Danach wurden 630 µL Chloroform:Isoamylalkohol (24:1) zugegeben und die Proben 15 min lang horizontal bei 150 rpm geschüttelt. Anschließend wurden sie 10 min bei 13.300 rpm zentrifugiert und 700 µL des Überstands (obere Phase) wurden in ein neues 2 mL Reaktionsgefäß überführt.

Die DNA wurde durch Zugabe von 450 µL eiskaltem Isopropanol gefällt und 15 min bei 13.300 rpm zentrifugiert. Das resultierende Pellet wurde zweimal mit jeweils 900 µL 70-%igem Ethanol gewaschen, wobei nach jedem Waschschrift 5 min bei 13.300 rpm zentrifugiert wurde. Nach dem Entfernen des Überstands wurde das *Pellet* für 20 min in einer Vakuumzentrifuge getrocknet.

Im letzten Schritt wurde die DNA in 50 µL nukleasefreiem Wasser gelöst, woraufhin die spektrophotometrische Messung der DNA-Konzentration und -Reinheit mit dem NanoDrop-Spektrometer erfolgte. DNA weist ein Absorptionsmaximum bei 260 nm auf, während Verunreinigungen durch Proteine bei 280 nm und durch organische Verbindungen sowie Salze bei 230 nm absorbieren. Die Qualität der isolierten DNA wurde anhand der 260/280- und 260/230-Verhältnisse beurteilt. Anschließend wurden die Proben über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt und am nächsten Tag bei –20 °C eingelagert.

4.2. Überprüfung auf pflanzliche DNA mittels PCR

Bevor die Proben zur Sequenzierung versendet wurden, wurde zunächst überprüft, ob pflanzliche DNA in den extrahierten Mageninhaltsproben vorhanden ist. Dazu wurde eine PCR mit ITS-Primern durchgeführt, die gezielt auf pflanzliche DNA ausgerichtet sind. Ziel war es, vorab festzustellen, ob eine erfolgreiche Amplifikation möglich ist und sich die Proben grundsätzlich für eine nachfolgende Sequenzierung eignen.

Die ITS-Region liegt innerhalb der ribosomalen DNA zwischen den konservierten Bereichen der Gene 18S, 5.8S und 28S (Abb. 1). Sie umfasst die beiden variablen Abschnitte ITS1 und ITS2, die durch das 5.8S-rRNA-Gen getrennt sind. Aufgrund der hohen Variabilität zwischen Arten eignet sich diese Region besonders für die taxonomische Zuordnung pflanzlicher DNA^{5,11}. In dieser Arbeit wurde ein Primerpaar eingesetzt, das die gesamte ITS-Region abdeckt.

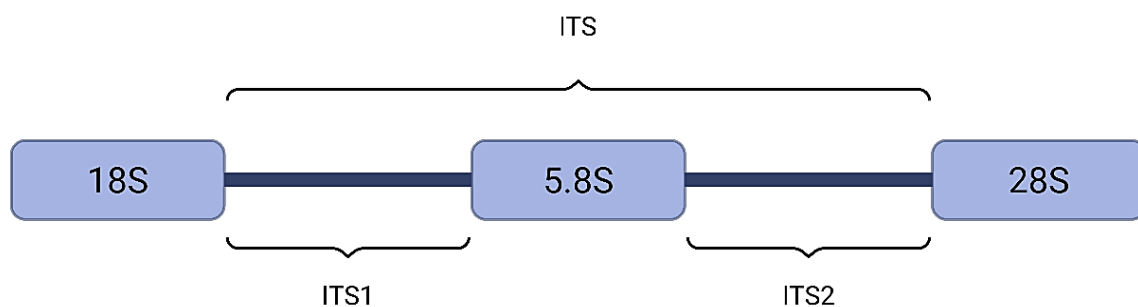


Abbildung 1: ITS-Region innerhalb der ribosomalen DNA. Abgebildet ist die ITS-Region mit den ITS1- und ITS2-Bereichen, welche zwischen den konservierten rRNA-Genen 18S, 5.8S und 28S liegen. Erstellt mit BioRender.

Zur Durchführung der PCR wurde ein Mastermix aus nukleasefreiem Wasser, ThermoPol-Puffer, BSA, dNTPs, den Primern ITSA und ITSB sowie Taq-Polymerase hergestellt und gemeinsam mit extrahierter DNA in einem Reaktionsvolumen von jeweils 10 µL pro Probe eingesetzt (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: PCR-Ansatz 10 μ L

Materialien/Chemikalien	Volumen [μ L] pro 10 μ L Ansatz	Konzentration
Nukleasefreies Wasser	6,8	-
ThermoPol-Puffer	1,0	1x
BSA	1,0	10 mg/ml
dNTPs	0,2	200 μ M
ITSA - Primer	0,2	10 μ M
ITSB - Primer	0,2	10 μ M
Taq-Polymerase	0,1	0.05 U/ μ m
DNA	0,5	

Die anschließende Amplifikation erfolgte in einem Thermocycler unter Verwendung eines abgestimmten Temperaturprogramms (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: PCR-Temperaturprogramm

Schritt	Temperatur [$^{\circ}$ C]	Dauer [min]
Initiale Denaturierung	95	2:00
Denaturierung	94	0:30
Annealing	57	0:30
Elongation	68	1:00
Finale Elongation	68	5:00
Lagerung	10	∞

Die PCR-Produkte wurden zur Auswertung mittels Gelelektrophorese aufgetrennt. Dazu wurde ein 1,5-%iges Agarosegel in 0,5 x TAE-Puffer hergestellt und mit Midori Green Xtra (0,006 %) gefärbt (2,4 μ L Midori Green Xtra in 40 mL 0,5 x TAE-Puffer mit 0,6 g Agarose). Zur Größenzuordnung wurden jeweils 2 μ L einer 100 bp-Leiter für PCR-Produkte und einer 1 kb-Leiter für DNA aufgetragen. Die Proben wurden im Verhältnis 1:5 mit Ladepuffer gemischt, und jeweils 10 μ L der beschwerten Ansätze wurden auf das Gel aufgetragen. Die Elektrophorese wurde bei 100 V für 25 Minuten in einer mit 0,5 x TAE-Puffer gefüllten Kammer durchgeführt. Die Banden wurden anschließend unter UV-Licht sichtbar gemacht und dokumentiert.

In allen untersuchten Proben konnte durch die ITS-PCR ein Amplifikationsprodukt detektiert werden, was auf das Vorhandensein pflanzlicher DNA hinweist und die Grundlage für die nachfolgende Sequenzierung bildete.

4.3. PCR und *Next-Generation-Sequencing*

Die PCR der Zielregion sowie die anschließende Hochdurchsatzsequenzierung (NGS) wurden durch den externen Dienstleister Macrogen Europe (Amsterdam, Niederlande) organisiert. Die Proben wurden zunächst nach Amsterdam versendet und anschließend zur Analyse an das Hauptlabor von Macrogen in Seoul, Südkorea, weitergeleitet. Insgesamt wurden 38 DNA-Proben übermittelt. Ziel war die Amplifikation der ITS1-Region, wobei die PCR unter Verwendung des Macrogen-internen Standardprotokolls mit 25 Zyklen durchgeführt wurde.

Vor der Bibliotheksvorbereitung erfolgte eine umfassende Qualitätskontrolle der eingesandten DNA. Die Quantifizierung wurde mittels QuantiFluor dsDNA System (Promega) am Victor Nivo Multimode Microplate Reader (PerkinElmer) durchgeführt. Die Fragmentlänge und Integrität der PCR-Produkte wurden mithilfe der Agilent TapeStation (D1000 Kit) analysiert. Ergänzend wurde die Reinheit über das NanoPhotometer N120 (IMPLEN) anhand der 260/280- und 260/230-Verhältnisse beurteilt.

Die Bibliothekspräparation erfolgte unter Verwendung des Nextera-XT-Index-Kits v2 und basierte auf dem *Illumina-16S-Metagenomic-Sequencing-Library-Preparation*-Protokoll. Nach erfolgter PCR wurden die Bibliotheken mittels qPCR (Illumina-Standardprotokoll) quantifiziert und erneut mit der Agilent TapeStation (D1000) hinsichtlich ihrer Fragmentgrößen analysiert.

34 der 38 Proben erreichten die geforderte Mindestkonzentration von 5 ng/μL und wurden direkt für die Sequenzierung verwendet. Vier Proben mit geringerer Konzentration wurden trotz potenzieller Einschränkungen sequenziert, um ein möglichst vollständiges Datenset zu erhalten.

Die Sequenzierung erfolgte auf einem Illumina-MiSeq-System im *Paired-End*-Modus mit einer *Read*-Länge von 2 x 301 bp. Bei dieser Technologie werden fluoreszenzmarkierte Nukleotide in den sich verlängernden DNA-Strang eingebaut und in jedem Zyklus optisch erfasst, wodurch Millionen *Reads* parallel erzeugt werden können. Die durchschnittlichen Qualitätswerte (Q30) der *Reads* lagen bei über 70 %, was auf eine hohe Datenqualität hinweist.

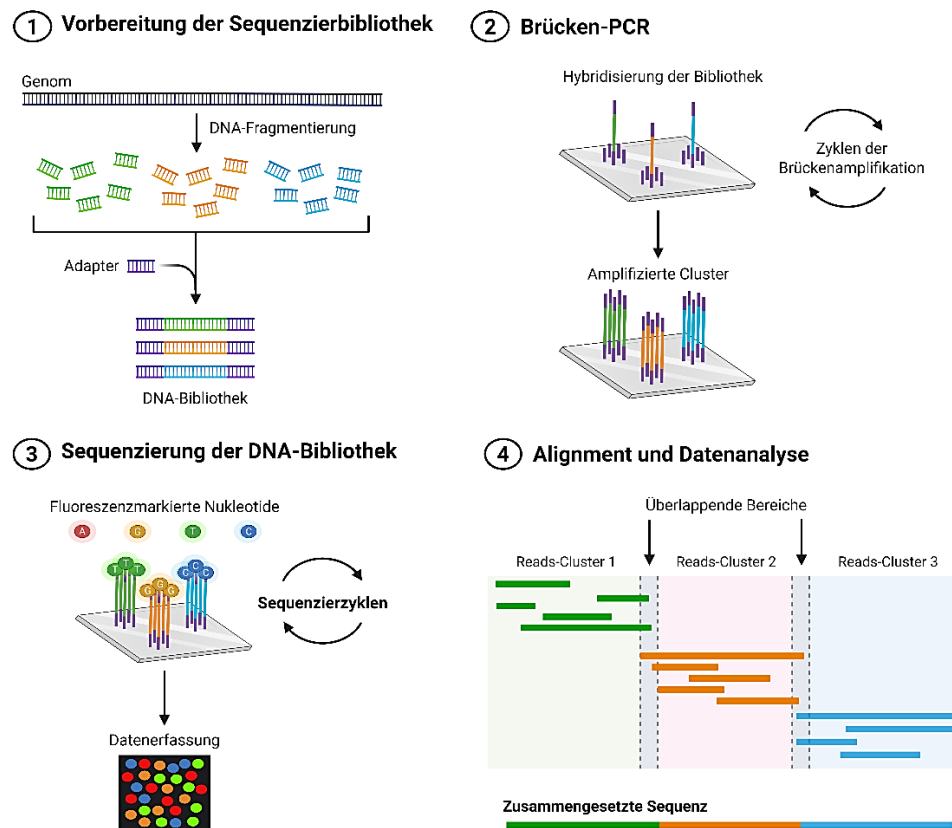


Abbildung 2: Schritte einer Illumina-Sequenzierung. Die Abbildung zeigt den Ablauf der Illumina-Sequenzierung von der Bibliotheksvorbereitung über die Brücken-PCR und Sequenzierung bis zur Datenanalyse. Erstellt mit BioRender.

4.4. Bioinformatische Auswertung mit DADA2 in RStudio

Nach Abschluss der Sequenzierung wurde ein interaktiver Auswertungsbericht von Macrogen bereitgestellt, der unter anderem einen Download-Link zu den Rohdaten enthielt. Für jede der 38 Proben standen jeweils zwei komprimierte FASTQ-Dateien zur Verfügung, eine für den Vorwärts-Read („_1.fastq.gz“) und eine für den Rückwärts-Read („_2.fastq.gz“). Diese Dateien stellen sogenannte *Paired-End-Reads* dar, also zwei zugehörige Sequenzfragmente pro DNA-Molekül.

Die bioinformatische Auswertung erfolgte mithilfe des R-Pakets DADA2 in der Software RStudio. Ziel der Auswertung war die Erstellung von ASVs (*Amplicon Sequence Variants*), also eindeutig definierten Sequenzvarianten. Der Analyseworkflow in DADA2 umfasste das Einlesen und Sortieren der FASTQ-Dateien sowie die Erstellung von Qualitätsprofilen. Anschließend wurden die Sequenzen gefiltert und getrimmt, wobei unter anderem niedrige Qualitätswerte

entfernt wurden. Auf dieser Basis wurden Fehlermodelle für beide Lesestränge erlernt, die zur Korrektur von Sequenzierungsfehlern dienten. Danach erfolgte die Dereplikation, bei der die identischen Sequenzen innerhalb jeder Probe zusammengefasst wurden, gefolgt von der Anwendung des DADA-Algorithmus zur Fehlerkorrektur. Anschließend wurden die *Paired-End-Reads* überlappend zusammengeführt, und im letzten Schritt wurden chimäre Sequenzen erkannt und entfernt.

Das Ergebnis war eine ASV-Tabelle, in der jede Zeile eine Probe und jede Spalte eine eindeutige Sequenzvariante darstellt. Diese Tabelle bildete die Grundlage für die nachfolgende Abundanzanalyse. Zusätzlich wurden alle ASVs in eine FASTA-Datei exportiert und mit dem NCBI Nucleotide BLAST Tool (BLASTn) abgeglichen, um eine taxonomische Zuordnung der Sequenzen zu ermöglichen. BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) ist ein bioinformatisches Vergleichsverfahren, mit dem Nukleotidsequenzen mit Referenzdatenbanken abgeglichen werden, um die bestmöglichen Übereinstimmungen („Top Hits“) zu ermitteln. Für jede Probe wurden anschließend die sechs am häufigsten vorkommenden ASVs ausgewählt und mit den entsprechenden BLAST-Ergebnissen dokumentiert, um die enthaltene Pflanzen-DNA im Mageninhalt der Tiere zu identifizieren. Der zur Analyse verwendete R-Code ist im Anhang dokumentiert (siehe 9.3.).

4.5. Auswertung der Sequenzen

Für jede der 38 untersuchten Proben wurden die sechs ASVs mit der höchsten Abundanz ausgewählt und einzeln analysiert. Die Abundanz gibt dabei an, wie häufig eine bestimmte Sequenz in einer Probe auftritt. Für jede dieser Sequenzen wurden die drei besten Treffer („Top Hits“) aus den BLAST-Ergebnissen ausgewertet.

Die Bewertung der Treffer erfolgte anhand mehrerer Kriterien. Dazu zählten die prozentuale Übereinstimmung mit den Referenzeinträgen, der *E-Value*, die *Alignment*-Länge und der *Bit-Score*. Der *E-Value* (Erwartungswert) gibt an, wie wahrscheinlich ein Treffer zufällig zustande kommt. Je kleiner der Wert, desto höher die Aussagekraft. Die *Alignment*-Länge beschreibt, über wie viele Basenpaare die Sequenz mit dem Referenzeintrag übereinstimmt. Der *Bit-Score* fasst die Qualität

des *Alignments* zusammen und berücksichtigt sowohl Länge als auch Genauigkeit der Übereinstimmung.

Eine ASV galt als eindeutig zugeordnet, wenn alle drei Top-Hits derselben Pflanzengattung entsprachen. Bei abweichenden Gattungen oder nicht pflanzlichen Treffern wurde die Sequenz als „Taxon unklar“ eingestuft. Die Ergebnisse wurden in einer Übersichtstabelle im Anhang (siehe 9.4., Tab. 13) dokumentiert.

Zur Erfassung der pflanzlichen Zusammensetzung der Proben wurde ermittelt, welche Pflanzengattungen vertreten waren. Dabei wurde jede Gattung pro Probe nur einmal gezählt, unabhängig davon, ob sie in mehreren ASVs derselben Probe vorkam. Die Ergebnisse sind in einem Tortendiagramm dargestellt, das die Häufigkeit der nachgewiesenen Gattungen über alle Proben hinweg veranschaulicht (siehe 5.4. Abb. 5). Zusätzlich wurde eine Übersichtstabelle erstellt, in der die identifizierten Pflanzenarten sowie die Tierarten, in deren Proben sie vorkamen, dokumentiert sind (siehe 5.4. Tab. 11). Jede Pflanzenart wurde pro Probe nur einmal gezählt.

Der für die bioinformatische Auswertung genutzte R-Code basiert auf etablierten DADA2-Workflows. Zur Strukturierung und Optimierung wurde ein KI-gestütztes Sprachmodell (ChatGPT, OpenAI) herangezogen. Der Code wurde jedoch eigenständig geprüft, angepasst und an die spezifischen Anforderungen der Sequenzdaten angepasst.

5. Ergebnisse

5.1. Ergebnisse der DNA-Extraktion

Insgesamt wurden 38 Proben nach der CTAB-Methode extrahiert und mit einem NanoDrop-Spektrophotometer quantifiziert. Die DNA-Konzentrationen zeigten deutliche Unterschiede und reichten von 213,34 ng/μL (Probe 407215) bis 3.334,47 ng/μL (Probe 402684).

Auch die Qualitätskennzahlen variierten zwischen den Proben. Das 260/280 nm Verhältnis, ein Indikator für Proteinverunreinigungen, lag zwischen 1,55 (Probe 426548) und 2,14 (Probe 421521). Das 260/230 nm Verhältnis, welches Hinweise auf organische oder salzhaltige Verunreinigungen liefert, zeigte Werte zwischen 1,35 (Probe 289483) und 2,55 (Probe 286773).

Eine vollständige Übersicht aller Messwerte befindet sich im Anhang 9.1. (siehe Tabelle 12).

5.2. Nachweis pflanzlicher DNA

Vor der Sequenzierung wurde überprüft, ob sich in den extrahierten Mageninhaltproben pflanzliche DNA nachweisen lässt. Dazu wurde eine PCR mit den Primern ITS A und ITS B durchgeführt, die auf die *internal transcribed spacer* (ITS)-Region in pflanzlicher DNA abzielen. Die Amplifikate wurden anschließend durch eine Gelelektrophorese auf einem Agarosegel sichtbar gemacht (Abb. 3).

Insgesamt wurden 38 Proben getestet. Das Ergebnis zeigte bei allen Proben deutliche bis schwache Banden im Gel, was auf das Vorhandensein pflanzlicher DNA hindeutet. Die Stärke der Banden variierte dabei zwischen den Proben. In einigen Fällen waren die Banden sehr intensiv ausgeprägt, beispielsweise bei den Proben 390980, 461035 und 421521, was auf eine hohe Konzentration amplifizierbarer pflanzlicher DNA schließen lässt. In anderen Proben waren die Banden hingegen schwächer, wie etwa bei 386337 und 415056, was möglicherweise auf eine geringere DNA-Konzentration oder eine stärkere Degradierung des Ausgangsmaterials zurückzuführen ist.

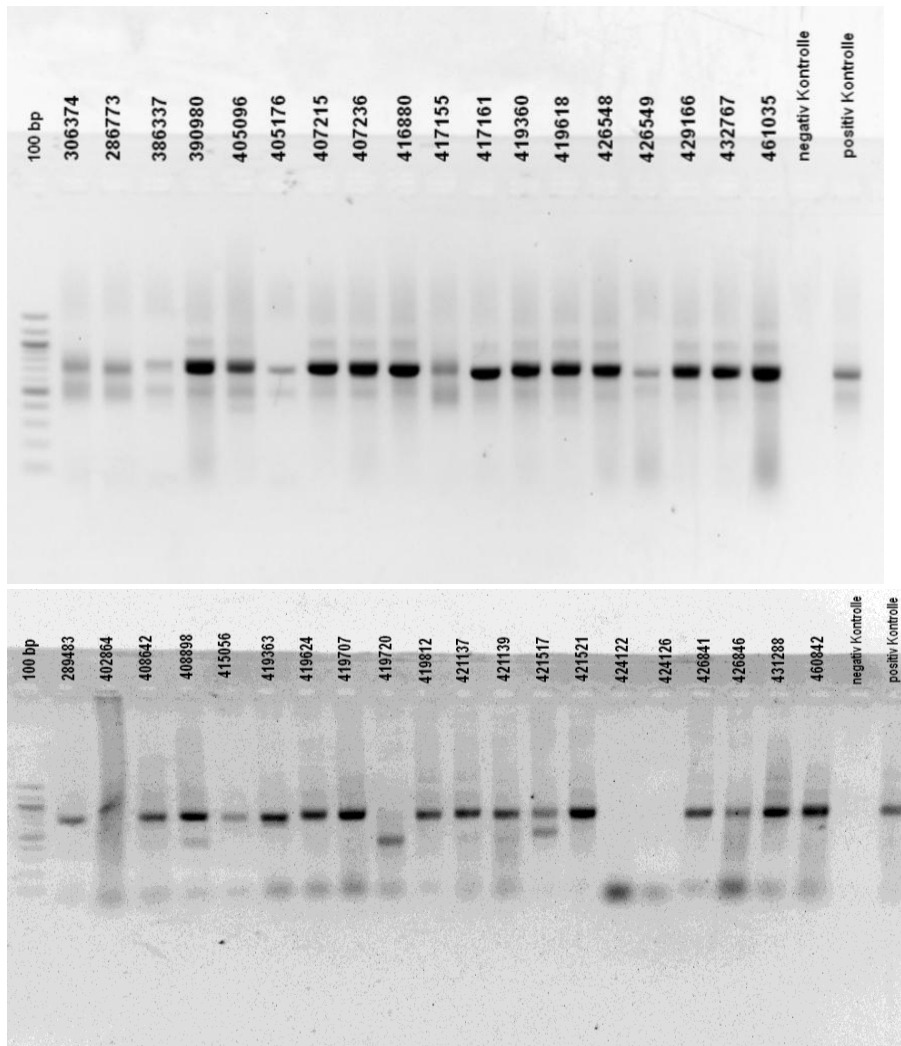


Abbildung 3: Agarosegelbilder mit PCR-Produkten der 38 Mageninhaltproben. Abgebildet sind zwei Agarosegele mit den PCR-Produkten der insgesamt 38 Proben, welche mit ITS-A/B-Primern amplifiziert wurden.

Bei vier Proben (402864, 419720, 424122 und 424126) waren die Banden nicht deutlich erkennbar. Diese Proben wurden daher erneut mittels PCR amplifiziert, und die Gelbilder sind entsprechend im Anhang 9.2. (Abb. 6 und 7) ergänzt. Abbildung 6 zeigt die vier genannten Proben, von denen drei nach der erneuten PCR deutliche Banden lieferten, während bei Probe 402864 zunächst keine Banden sichtbar waren. Abbildung 7 zeigt ein zuvor aufgenommenes Agarosegel mit mehreren Proben. Für die Auswertung ist dabei vor allem Probe 402864 relevant, da hier eine deutliche, jedoch verbreiterte und verschmierte Bande sichtbar wurde, was auf stark degradierte, aber dennoch vorhandene DNA hinweist.

Insgesamt konnte bei allen Proben pflanzliche DNA nachgewiesen werden, was bestätigt, dass die verwendeten ITS-Primer zuverlässig amplifizieren. Auf dieser Basis wurden alle Proben zur Sequenzierung weiterverarbeitet.

5.3. Sequenzverarbeitung mit DADA2

Nachdem in allen Proben pflanzliche DNA erfolgreich nachgewiesen werden konnte, wurden die amplifizierten Produkte an Macrogen zur Sequenzierung weitergegeben. Die erhaltenen *Amplicon*-Sequenzdateien bildeten anschließend die Grundlage für die bioinformatische Auswertung, die mithilfe des R-Pakets DADA2 in RStudio durchgeführt wurde. Ziel war es, eindeutige Sequenzvarianten, sogenannte *Amplicon Sequence Variants* (ASVs), zu identifizieren, die auf Einzelbasenunterschieden beruhen.

Die Ausgangsdaten bestanden aus den sequenzierten *Paired-End-Reads* von 38 Mageninhaltproben. Ein *Read* entspricht einer einzelnen DNA-Sequenz, die beim Sequenzieren ausgelesen wurde. Nach der Qualitätskontrolle, dem Entfernen von Artefakten und dem Zusammenführen der *Read*-Paare konnten pro Probe unterschiedlich viele *Reads* weiterverarbeitet werden.

Die Anzahl verwertbarer *Reads* pro Probe lag zwischen 0 (dies betraf ausschließlich Probe 289483) und 136.206 (Probe 405096), bei einem Mittelwert von 75.528 *Reads*. Diese Variationen spiegeln unter anderem Unterschiede in der Ausgangskonzentration und -qualität der DNA wider sowie mögliche Verluste während der PCR oder Sequenzierung.

Nach dem *Denoising*-Schritt und der Entfernung von Chimären wurden die eindeutigen ASVs bestimmt, die als Grundlage für die spätere taxonomische Analyse dienen. Lediglich Probe 289483 ergab keine ASVs, während die übrigen Proben Werte bis zu 967 ASVs (Probe 460842) aufwiesen. Der Mittelwert betrug 532 ASVs, insgesamt wurden 20.199 verschiedene ASVs detektiert.

Eine einzelne Probe lieferte keine verwertbaren *Reads* und konnte entsprechend auch keine ASVs erzeugen. Sie wurde dennoch in die Gesamtauswertung aufgenommen. Die vollständige Übersicht aller 38 Proben mit zugehörigen *Read*- und ASV-Zahlen ist in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Gesamtübersicht aller 38 Proben mit Read- und ASV-Werten

Probe	Tier	Anzahl der Reads	Anzahl der ASVs
286773	Rind	68437	534
289483	Rind	0	0
306374	Rind	73218	415
386337	Ziege	95272	215
390980	Schaf	57540	631
402864	Schaf	107756	349
405096	Schaf	136206	826
405176	Pferd	104318	501
407215	Reh	90183	421
407236	Schaf	75417	599
408642	Schaf	86066	806
408898	Schaf	55697	703
415056	Pferd	121749	340
416880	Schaf	81642	555
417155	Schaf	66914	920
417161	Schaf	91509	490
419360	Schaf	91061	644
419363	Schaf	102529	360
419618	Schaf	84536	708
419624	Schaf	71521	157
419707	Schaf	80622	501
419720	Schaf	80015	645
419812	Schaf	61949	592
421137	Schaf	74437	583
421139	Schaf	73459	661
421517	Schaf	58867	549
421521	Schaf	60625	805
424122	Schaf	98376	467
424126	Schaf	58128	888
426548	Reh	39613	238
426549	Schaf	54310	236
426841	Schaf	17272	494
426846	Schaf	71749	632
429166	Schaf	92762	416
431288	Schaf	71238	652
432767	Reh	51192	269
460842	Schaf	114149	967
461035	Schalenwild	49727	430

5.4. Taxonomische Zuordnung und Pflanzenvielfalt in den Proben

Die Sequenzen bzw. ASVs wurden mithilfe des Online-Tools BLASTn, das über die *Nucleotide*-Datenbank des *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) arbeitet, einer bestimmten Pflanzengattung oder Art zugeordnet. Für jede Probe wurden die sechs ASVs mit der höchsten Abundanz ausgewählt und analysiert. Insgesamt ergab sich so eine Datenbasis von 228 Sequenzen, für die jeweils die drei besten BLAST-Treffer (Top-Hits) ausgewertet wurden.

Die Abundanzwerte variierten stark zwischen den Proben und lagen im Bereich von 286 bis 45410 *Reads*. Die BLAST-Ergebnisse wurden auf Basis mehrerer Kriterien bewertet. Neben der prozentualen Übereinstimmung der Sequenz mit den Datenbankeinträgen wurde auch der sogenannte *E-Value* berücksichtigt. In dieser Untersuchung lagen die *E-Values* zwischen $9e-172$ und 0.

Ein weiteres Kriterium war die *Alignment*-Länge. Hier lagen die Werte zwischen 219 und 395 Basen. Zusätzlich wurde der sogenannte *Bit-Score* herangezogen, welcher sich zwischen 281 und 730 Punkten bewegte.

In den meisten Fällen konnte eine eindeutige Zuordnung getroffen werden. Eine ASV wurde dann als eindeutig klassifiziert, wenn alle drei Top-Hits im BLAST-Ergebnis derselben Pflanzengattung zugeordnet werden konnten. Von insgesamt 228 ausgewerteten ASVs konnten 92 auf diese Weise eindeutig einer Pflanzengattung zugeordnet werden. In 126 Fällen wichen die Treffer voneinander ab oder ließen keine klare pflanzliche Zuordnung zu, sodass diese Sequenzen der Kategorie „Taxon unklar“ zugeordnet wurden. Zusätzlich traten 14 ASVs auf, bei denen unter den drei Top-Hits der Eintrag „*Magnoliophyta environmental*“ aufgeführt war. In diesen Fällen wurde dieser Treffer nicht berücksichtigt und stattdessen die nächstfolgende eindeutige Pflanzengattung herangezogen. Ein Beispiel hierfür ist Probe 286773, ASV6. Der erste Treffer lautete „*Magnoliophyta* (Bedecktsamer) *environmental*“, während der zweite und dritte Treffer beide *Trifolium pratense* (Rotklee) ergaben. Für die Auswertung wurde daher die Gattung *Trifolium* (Klee) herangezogen.

In einigen Fällen gab es jedoch auch Auffälligkeiten. Zum Beispiel konnte bei der Probe 426841 für die vierte ASV trotz ausreichender Abundanz kein verwertbarer BLAST-Treffer ermittelt werden. Eine weitere ASV derselben Probe wurde sogar

einem Bakterium zugeordnet. Diese Sequenz hatte mit 286 *Reads* außerdem die niedrigste Abundanz im gesamten Datensatz.

Eine vollständige Übersicht aller analysierten Proben mit den entsprechenden Sequenzdaten und BLAST-Ergebnissen befindet sich im Anhang 9.4. (Tabelle 13).

Probe	ASV Nummer	Abundanz	Top BLAST Hit	Gruppe	Accessionnr.	Übereinstimmung	E-value	Alignment (nt)	Score	Zugeordnete Gattung
286773	ASV1	26427	Plantago lanceolata	Pflanze	KY968842.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	Plantago
			Plantago lanceolata	Pflanze	AY101898.1	99.41%	2e-173	339/341	621 bits(336)	
			Plantago lanceolata	Pflanze	MW139236.1	99.41%	7e-173	339/341	619 bits(335)	
	ASV2	7258	Plantago lanceolata	Pflanze	MW139236.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	Plantago
			Plantago lanceolata	Pflanze	AJ548985.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	
			Plantago lanceolata	Pflanze	AJ548984.1	95.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	
	ASV3	3437	Rumex pulcher	Pflanze	KT438760.1	98.30%	3e-141	289/294	514 bits(278)	Rumex
			Rumex sanguineus	Pflanze	MT937131.1	97.96%	1e-139	288/294	508 bits(275)	
			Rumex conglomeratus	Pflanze	KT438752.1	97.96%	1e-139	288/294	508 bits(275)	
	ASV4	2598	Rumex sanguineus	Pflanze	MT937131.1	99.66%	2e-148	293/294	538 bits(291)	Rumex
			Rumex conglomeratus	Pflanze	KT438752.1	99.66%	2e-148	293/294	538 bits(291)	
			Rumex pulcher	Pflanze	KT438760.1	99.32%	8e-147	292/294	532 bits(288)	
	ASV5	2349	Anaeromyces sp. FFE4	Pilz	FJ483846.1	95.21%	3e-151	338/355	547 bits(296)	Taxon unklar
			Anaeromyces sp. AF CTS-RUA1	Pilz	GQ857634.1	93.79%	3e-142	332/354	518 bits(280)	
			uncultured fungus	Pilz	GU909922.1	97.26%	2e-134	284/292	492 bits(266)	
	ASV6	2127	Magnoliophyta environmental	Pflanze	FJ554461.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)	Trifolium
			Trifolium pratense	Pflanze	KY860927.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)	
			Trifolium pratense	Pflanze	MT610968.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)	

Abbildung 4: Bildausschnitt aus Tabelle 13 (Anhang 9.4.). Dargestellt sind die BLAST-Ergebnisse der Probe 286773.

Am häufigsten konnte die Gattung *Rubus* (Brombeeren/Himbeeren) identifiziert werden. Sie wurde in insgesamt 13 der 38 Proben eindeutig nachgewiesen. *Trifolium* (Klee) kam in acht Proben vor. Jeweils fünf Nachweise gab es für *Potentilla* (Fingerkräuter) und *Juglans* (Walnuss) sowie vier Nachweise für *Geum* (Nelkenwurz) und *Lathyrus* (Platterbsen). *Plantago* (Wegeriche) wurde in drei Proben identifiziert. In jeweils zwei Proben waren *Lysimachia* (Gilbweideriche), *Quercus* (Eichen), *Avena* (Hafer) und *Lolium* (Lolche) vertreten. Einmal nachgewiesen wurden *Rumex* (Ampfer), *Fagus* (Buchen), *Agrimonia* (Odermennige), *Prunus* (Pflaumen), *Salix* (Weiden), *Pisum* (Erbsen), *Rosa* (Rosen), *Luzula* (Hainsimsen), *Juncus* (Binsen), *Sanguisorba* (Wiesenknöpfe), *Corylus* (Hasel) und *Lotus* (Hornklee).

Um die Häufigkeit der nachgewiesenen Gattungen anschaulicher darzustellen, wurde zusätzlich ein Kreisdiagramm (Abb. 5) erstellt. Diese zeigt, wie oft jede Gattung über alle Proben hinweg vorkam, wobei jede Gattung pro Probe nur einmal gezählt wurde.

Häufigkeit der Pflanzengattungen

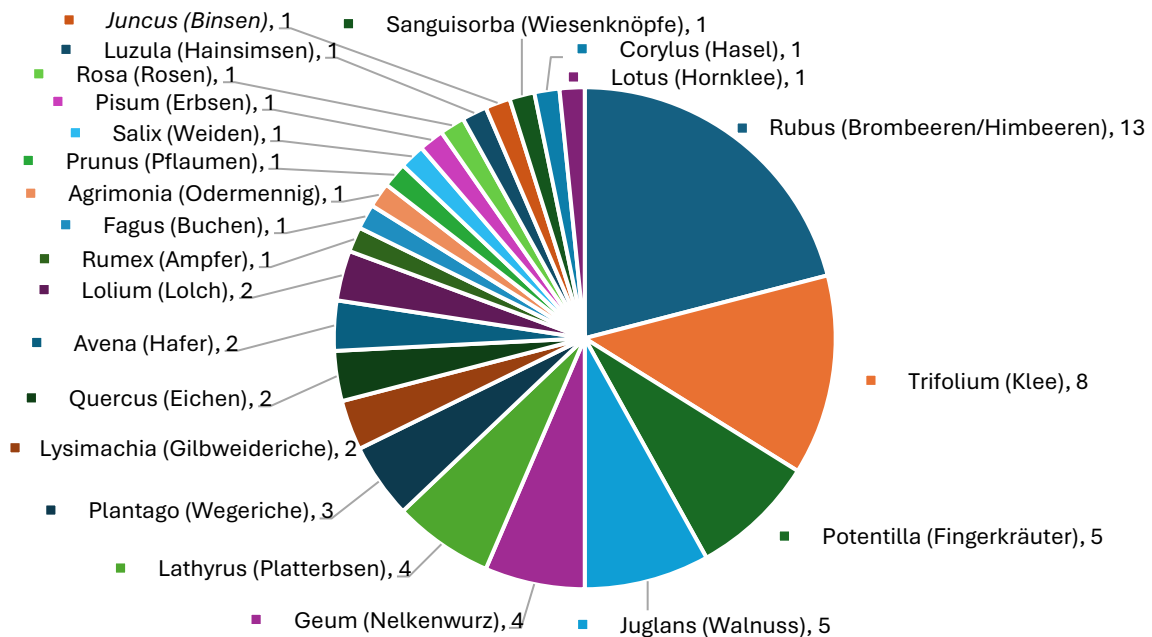


Abbildung 5: Häufigkeit der eindeutig zugeordneten Pflanzengattungen aus den 38 Proben. Dargestellt ist die Verteilung der Häufigkeit, mit der jede Gattung über alle Proben hinweg identifiziert wurde. Pro Gattung wurde je Probe ein Nachweis gezählt.

Neben der Auswertung auf Gattungsebene wurde auch untersucht, welche Pflanzenarten in den Proben vorkamen. Dabei wurde jede Art pro Probe nur einmal gezählt, unabhängig von der Anzahl der ASVs. Es wurden ausschließlich die Pflanzenarten berücksichtigt, deren Gattung eindeutig zugeordnet werden konnte. Zudem wurde dokumentiert, in welchen Tierarten die jeweilige Pflanzenart nachgewiesen werden konnte.

Die häufigste Art war *Rubus picticaulis* (buntstängelige Haselblattbrombeere), die in zwölf Proben identifiziert wurde, darunter in sieben Schafproben, drei Rehproben, einer Rinderprobe und einer Schalenwildprobe. Ebenfalls häufig vertreten war *Rubus tibethanus* (tibetische Brombeere) mit elf Nachweisen, überwiegend in Schaf- (sieben) und Rehproben (drei) sowie ebenfalls in einer Schalenwildprobe. Auch *Rubus allegheniensis* (Allegheny-Brombeere) und *Rubus mesogaeus* (Brombeere) waren mit jeweils acht Nachweisen vor allem in Schaf- und Rehproben vertreten.

Unter den Nicht-Rubus-Arten traten *Trifolium pratense* (Rotklee) in fünf Schafproben sowie *Juglans regia* (echte Walnuss) in fünf Proben, darunter

überwiegend bei Schafen, besonders hervor. Seltener nachgewiesene Arten, wie *Geum aleppicum* (Aleppo-Nelkenwurz), *Lathyrus pratensis* (Wiesen-Platterbse) oder *Plantago lanceolata* (Spitzwegerich), waren jeweils nur in einzelnen Proben vertreten.

Eine detaillierte Übersicht aller identifizierten Pflanzenarten mit Häufigkeit und den jeweiligen Tierarten ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Identifizierte Pflanzenarten mit Häufigkeit und Verteilung auf die untersuchten Tierarten

Pflanzenart	Häufigkeit	Rind	Schaf	Reh	Pferd	Ziege	Schalenwild
<i>Rubus picticaulis</i>	12	1	7	3	-	-	1
<i>Rubus thibetanus</i>	11	-	7	3	-	-	1
<i>Rubus allegheniensis</i>	8	-	6	2	-	-	-
<i>Rubus mesogaeus</i>	8	-	6	2	-	-	-
<i>Trifolium pratense</i>	7	1	6	-	-	-	-
<i>Juglans regia</i>	5	-	5	-	-	-	-
<i>Geum aleppicum</i>	4	-	4	1	-	-	-
<i>Lathyrus pratensis</i>	4	-	4	-	-	-	-
<i>Potentilla anglica</i>	4	-	4	-	-	-	-
<i>Potentilla hebiichigo</i>	4	-	4	-	-	-	-
<i>Potentilla reptans</i>	4	-	4	-	-	-	-
<i>Plantago lanceolata</i>	3	1	1	1	-	-	-
<i>Rubus canescens</i>	3	-	3	-	-	-	-
<i>Avena clauda</i>	2	1	-	-	1	-	-
<i>Avena sativa</i> × <i>Avena macrostachya</i>	2	1	-	-	1	-	-
<i>Lolium perenne</i>	2	1	-	-	1	-	-
<i>Plantago leiopetala</i>	2	-	1	1	-	-	-
<i>Agrimonia eupatoria</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Agrimonia pilosa</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Avena sativa</i>	1	-	-	-	1	-	-
<i>Corylus avellana</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Corylus heterophylla</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Fagus longipetiolata</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Fagus orientalis</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Fagus sylvatica</i> subsp. <i>sylvatica</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Juncus articulatus</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Juncus wallichianus</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Lotus pedunculatus</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Luzula echinata</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Luzula effusa</i>	1	-	1	-	-	-	-

<i>Luzula pallescens</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Lysimachia azorica</i>	1	-	-	-	-	-	1
<i>Lysimachia cf. monelli TL-2023</i>	1	-	-	-	-	-	1
<i>Lysimachia nemorum</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Lysimachia nummularia</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Lysimachia savranii</i>	1	-	-	-	-	-	1
<i>Pisum sativum</i>	1	-	-	-	-	1	-
<i>Pisum sativum subsp. elatius</i>	1	-	-	-	-	1	-
<i>Potentilla alba</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Potentilla apennina var. apennina</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Prunus × dasycarpa</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Prunus salicina</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Quercus canariensis</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Quercus frainetto</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Quercus hartwissiana</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Quercus vulcanica</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Rosa canina</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Rosa hybrid cultivar</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Rosa kwangtungensis</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Rubus bohemicola</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Rubus dollnensis</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Rubus foliosus</i>	1	-	-	-	-	-	-
<i>Rubus sp. MS-2014i</i>	1	-	-	1	-	-	1
<i>Rumex conglomeratus</i>	1	1	-	-	-	-	-
<i>Rumex pulcher</i>	1	1	-	-	-	-	-
<i>Rumex sanguineus</i>	1	1	-	-	-	-	-
<i>Salix caesia</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Salix cupularis</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Salix myrsinifolia</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Sanguisorba alpina</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Sanguisorba officinalis</i>	1	-	1	-	-	-	-

Die Ergebnisse zeigen deutliche Unterschiede in der Pflanzenzusammensetzung zwischen den Proben, die im folgenden Diskussionsteil im Hinblick auf potenzielle Ursachen und biologische Bedeutung eingeordnet werden.

6. Diskussion

6.1. Erfolgreiche DNA-Extraktion trotz schwieriger Probenmatrix

Die DNA-Extraktion aus Mageninhaltsproben stellte eine besondere Herausforderung dar, da es sich hierbei nicht um klassisches Pflanzenmaterial handelte, sondern um komplexe und teilweise bereits degradierte Mischproben. Aus diesem Grund konnte kein Standardprotokoll verwendet werden, sondern es war notwendig, das ursprünglich von Doyle und Doyle (1987) beschriebene CTAB-Protokoll an die Eigenschaften des Probenmaterials anzupassen (vgl. Ergebnisse, Kapitel 5.1.).

Ein wesentlicher Schritt war dabei die Probenvorbereitung. Zwar wurden die Proben vom CVUA Freiburg bereits homogenisiert, sodass ein gewisser Grad an Durchmischung gewährleistet war, dennoch bleibt Mageninhalt trotz Homogenisierung eine heterogene Mischung. Die geringe Ausgangsmenge von nur 100 mg wirft daher die Frage auf, ob tatsächlich alle aufgenommenen Pflanzenarten in dieser Teilmenge vertreten sind. Dieses Problem ließe sich künftig beispielsweise durch die Verwendung größerer Ausgangsmengen oder durch die Analyse mehrerer Aliquots pro Probe ausgleichen. Auch wiederholte Extraktionen derselben Probe könnten dazu beitragen, ein vollständigeres Bild der Pflanzenzusammensetzung zu erhalten.

Im weiteren Verlauf der Extraktion kam es bei einzelnen Proben zu Schwierigkeiten. So war nach der Fällung und dem Zentrifugieren teilweise ein deutliches Pellet im Reaktionsgefäß sichtbar. Nach dem Trocknen und der anschließenden Messung am Nanodrop konnten jedoch keine oder nur sehr geringe DNA-Konzentrationen nachgewiesen werden. Wahrscheinlich handelte es sich bei dem sichtbaren Pellet nicht ausschließlich um DNA, sondern auch um mit ausgefällte Substanzen wie Proteine, Polysaccharide oder Salze.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die DNA-Extraktion zwar nicht ohne Schwierigkeiten verlief, die Anpassung des CTAB-Protokolls jedoch zielführend war und letztlich zuverlässige Ergebnisse lieferte. Trotz des komplexen und teilweise degradierten Ausgangsmaterials konnte DNA in ausreichender Konzentration und mit akzeptabler Qualität isoliert werden, die die Grundlage für die anschließende

PCR und Sequenzierung bildete. Damit wurde ein Verfahren etabliert, das auch für zukünftige Analysen von Mageninhaltsproben geeignet ist und zur Standardisierung entsprechender Untersuchungen beitragen könnte.

6.2. PCR bestätigt pflanzliche DNA in allen Proben

Die PCR mit den ITS-Primern hat gezeigt, dass in allen untersuchten Proben amplifizierbare DNA vorhanden war, auch wenn die Sichtbarkeit der Banden im Gel variierte (siehe 5.2. Abb. 3). Die unterschiedliche Intensität der Banden lässt sich wahrscheinlich durch Unterschiede in der Ausgangsqualität und Konzentration der DNA erklären. Besonders stark ausgeprägte Banden, wie sie bei den Proben 390980, 461035 und 421521 zu beobachten waren, deuten auf eine höhere Menge an intakter pflanzlicher DNA hin. Schwächere oder diffuse Banden, wie beispielsweise bei den Proben 386337 und 415056, sprechen hingegen eher für eine teilweise degradierte DNA oder eine insgesamt geringere Konzentration.

Dass bei einigen Proben die Banden zunächst nicht oder nur sehr schwach sichtbar waren, zeigt, dass die PCR-Ergebnisse nicht ausschließlich von der eigentlichen DNA-Menge abhängen, sondern auch von Faktoren wie der Homogenität der Probe oder der Effizienz der Amplifikation beeinflusst werden können. Die erneute PCR dieser Proben und die letztlich doch sichtbaren Banden belegen, dass selbst bei schwierigem Ausgangsmaterial noch pflanzliche DNA nachweisbar war. Besonders die verbreiterte und verschmierte Bande der Probe 402864 (siehe 9.2. Abb. 7) verdeutlicht, dass auch stark degradierte DNA-Fragmente erfolgreich amplifiziert werden können, wenn auch in eingeschränkter Qualität.

Insgesamt unterstreichen die Ergebnisse, dass die gewählten ITS-Primer für den Nachweis pflanzlicher DNA geeignet sind und eine zuverlässige Grundlage für die anschließende Sequenzierung bilden. Gleichzeitig wird aber auch deutlich, dass die Gelelektrophorese nur eine begrenzte Aussagekraft besitzt. Sie erlaubt zwar die qualitative Bestätigung der Amplifikation, liefert jedoch weder quantitative Informationen noch eine taxonomische Zuordnung. Damit diene sie in dieser Arbeit in erster Linie als Kontrollschritt, um die Eignung der Proben für die Weiterverarbeitung zu überprüfen.

6.3. Starke Unterschiede in *Reads* und ASVs spiegeln Heterogenität der Proben wider

Die bioinformatische Verarbeitung der Sequenzdaten mit DADA2 hat gezeigt, dass die Anzahl der verwertbaren *Reads* und der daraus resultierenden ASVs stark zwischen den Proben variierte. Solche Unterschiede sind bei komplexem Ausgangsmaterial wie Mageninhaltsproben nicht ungewöhnlich. Sie können sowohl auf die Qualität und Konzentration der extrahierten DNA zurückgeführt werden als auch auf Verluste während der PCR oder Sequenzierung. Dass einzelne Proben, wie beispielsweise Probe 289483, überhaupt keine verwertbaren *Reads* lieferten (vgl. 5.3. Tab. 10), verdeutlicht, dass nicht jede Extraktion und Amplifikation trotz identischem Vorgehen den gleichen Erfolg erzielt. Methodische Effekte, aber auch biologische Faktoren wie ein hoher Anteil nicht-pflanzlicher DNA können hierzu beitragen.

Die Bandbreite der *Reads* reichte von wenigen Zehntausend bis über 136.000 (Probe 405096). Diese Unterschiede spiegeln die starke Heterogenität des Materials wider, das sowohl durch Verdauungseinflüsse als auch durch individuelle Nahrungsaufnahme geprägt war. Gleichzeitig zeigen die Daten, dass auch Proben mit vergleichsweise wenigen *Reads* (z. B. 386337 mit 95.272 *Reads*) dennoch eine relevante Anzahl an ASVs enthalten können. Dies macht deutlich, dass nicht allein die absolute Zahl der *Reads* entscheidend ist, sondern auch deren Qualität und die Diversität der darin enthaltenen Sequenzen.

Ähnlich groß war die Variation in der Anzahl der bestimmten ASVs. Während einige Proben nur relativ wenige ASVs enthielten (z. B. 419624 mit 157 ASVs), wiesen andere eine sehr hohe Vielfalt auf (z. B. 460842 mit 967 ASVs). Diese Spannweite unterstreicht, dass sich in den Mageninhaltsproben eine sehr heterogene pflanzliche Zusammensetzung widerspiegelt. Gleichzeitig deutet sie darauf hin, dass einzelne Tiere eine deutlich breitere Palette an Pflanzen aufgenommen haben könnten als andere. Methodisch ist jedoch auch zu berücksichtigen, dass Unterschiede in der DNA-Qualität und im Grad der Fragmentierung zu Verzerrungen in der ASV-Anzahl geführt haben können.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich DADA2 als leistungsstarkes bioinformatisches Werkzeug erwiesen hat. Durch die Fehlerkorrektur und die Entfernung von

Chimären konnten robuste ASVs gewonnen werden, die die Grundlage für die anschließende taxonomische Analyse bilden. Trotz der methodischen Grenzen wie der teilweise degradierten DNA, möglichen PCR-Verzerrungen und der begrenzten Referenzdatenbank ließen sich aus den meisten Proben eindeutige Sequenzvarianten bestimmen, die eine detaillierte Auswertung der pflanzlichen Zusammensetzung ermöglichen.

6.4. Kann NGS die pflanzliche Ernährung von Weidetieren erfassen?

Die Auswertung der 38 Mageninhaltsproben umfasste insgesamt 228 Sequenzen, die jeweils die sechs abundantesten ASVs pro Probe widerspiegeln (siehe 9.4, Tab. 13). Von diesen konnten 92 Sequenzen eindeutig einer Pflanzengattung zugeordnet werden. Die übrigen 136 Sequenzen erlaubten zwar keine eindeutige pflanzliche Einordnung, lieferten jedoch klare Hinweise auf pilzliche Organismen. Damit verdeutlicht der Ansatz nicht nur die Möglichkeit, Pflanzen im Mageninhalt zu identifizieren, sondern auch, Pilze nachzuweisen, die vermutlich entweder durch natürliche Kontamination des Futters, durch mikrobielle Prozesse im Verdauungstrakt oder durch Umweltkontakt in die Proben gelangt sind. Dies zeigt, dass die Methode nicht ausschließlich pflanzliche Sequenzen erfasst. Um die Aussagekraft der Ergebnisse vollständig einordnen zu können, ist eine genauere Untersuchung des hohen Anteils pilzlicher Sequenzen erforderlich.

Im nächsten Schritt wurden die am häufigsten nachgewiesenen Pflanzengattungen genauer betrachtet. Die Gattung *Rubus* (Brombeeren/Himbeeren) war dabei besonders häufig vertreten und wurde in 13 Proben nachgewiesen (siehe 5.4, Abb. 5). Darunter traten *Rubus picticaulis* (12 Proben, davon 7 Schafproben), *Rubus thibetanus* (11 Proben, davon 7 Schafproben), *Rubus allegheniensis* (8 Proben, davon 6 Schafproben) und *Rubus mesogaeus* (8 Proben, davon 6 Schafproben) besonders häufig auf (vgl. 5.4 Tab. 11). Die häufigen Nachweise von *Rubus*-Arten (Brombeeren und Himbeeren) in den Schafproben passen gut zu Beobachtungen, dass Schafe neben Gras auch Sträucher wie Brombeeren fressen können¹⁴. Methodisch zeigt sich hier zugleich eine Stärke der Sequenzanalyse, da selbst innerhalb einer Gattung mehrere Arten differenziert werden konnten. Dies zeigt,

dass die Methode nicht nur grobe Gattungszuordnungen ermöglicht, sondern auch eine feine Auflösung innerhalb einzelner Pflanzengruppen leisten kann.

Allerdings dürfen die Ergebnisse nicht unkritisch interpretiert werden. Die Beschränkung auf die sechs häufigsten ASVs pro Probe war eine bewusste Entscheidung, um die Datenmenge übersichtlich zu halten. Damit besteht jedoch das Risiko, dass seltenere Pflanzenarten nicht berücksichtigt wurden, obwohl sie aufgenommen sein könnten. Zudem hängt die Genauigkeit der BLAST-Zuordnung stark von der Datenbankabdeckung ab. Während für *Rubus* zahlreiche Referenzsequenzen vorhanden sind, gilt die Taxonomie dieser Gattung als besonders komplex und teilweise ungeklärt. Dies erklärt, warum in der Analyse auch Artenbezeichnungen wie *Rubus thibetanus* auftraten, deren natürliche Verbreitung nach *Plants of the World Online* in Nord- und Südzentralchina sowie in Tibet liegt. Solche Befunde unterstreichen, dass die Ergebnisse insbesondere bei taxonomisch schwierigen Gattungen mit Vorsicht betrachtet werden müssen.

Ein auffälliges Ergebnis zeigt sich in einzelnen Proben mit sehr eingeschränkter Diversität. So wurde in Probe 407215 (Reh) fast ausschließlich *Rubus* und *Fagus* nachgewiesen. Dies könnte darauf hindeuten, dass das Reh zu diesem Zeitpunkt bevorzugt Brombeeren und Buchen aufgenommen hat oder dass die hohe DNA-Konzentration dieser Pflanzen im Mageninhalt andere, seltener vertretene Arten überdeckt hat.

Bei Probe 408642 fiel zudem auf, dass neben *Prunus* auch ein Pilz (*Buwchfawromyces*) unter den sechs häufigsten Sequenzen nachgewiesen wurde. Diese Pilzsequenz gehört zu den anaeroben Pansenpilzen, die natürlicherweise im Verdauungstrakt von Wiederkäuern vorkommen¹². Dass Pilz-DNA in den Top 6 vertreten war, weist darauf hin, dass sie in dieser Probe vergleichsweise stark präsent war und andere, seltener vorkommende Pflanzenarten dadurch in der Auswertung nicht berücksichtigt wurden. Warum dieser Nachweis nur in dieser einen Rinderprobe erfolgte und nicht in weiteren Proben derselben Tierart, lässt sich anhand der vorliegenden Daten nicht eindeutig klären. Mögliche Erklärungen wären individuelle Unterschiede in der Pansenmikrobiota, eine höhere Abundanz des Pilzes zum Zeitpunkt der Probenahme oder technische Faktoren wie PCR-Bias und zufällige Überrepräsentation.

Insgesamt zeigen diese Befunde, dass NGS ein geeignetes Werkzeug ist, um Rückschlüsse auf die pflanzliche Ernährung von Weidetieren zu ziehen. Eindeutige Zuordnungen zu Futterpflanzen, wie der Nachweis von *Rubus*-Arten bei Schafen, bestätigen, dass sich Ernährungsgewohnheiten mit molekularbiologischen Ansätzen zuverlässig nachvollziehen lassen. Die Ergebnisse spiegeln den Nahrungszustand der Tiere zum Zeitpunkt ihres Todes wider und liefern damit wertvolle Einblicke in die aufgenommene Flora.

6.5. Toxische Pflanzen im Magen – Nachweis oder Zufallsbefund?

In den BLAST-Ergebnissen wurde *Prunus* (Pflaumen) ausschließlich in einer Schafprobe (408642) identifiziert. In fünf der ausgewerteten Sequenzen dieser Probe war *Prunus* nachweisbar, während eine weitere Sequenz einem Pilz zugeordnet wurde (siehe Anhang 9.4. Tab. 13). Pflanzen dieser Gattung enthalten cyanogene Glykoside, die im Verdauungstrakt von Wiederkäuern zur Freisetzung von Blausäure (HCN) führen können^{13,14}. Laut Literatur liegt die toxische Schwelle für Schafe und Rinder bei etwa 2 mg HCN pro kg Körpergewicht. Pflanzen mit einem Gehalt von mehr als 200 ppm (entspricht 200 mg/kg Pflanzenmaterial) gelten daher als potenziell gefährlich¹⁵. Der Nachweis von *Prunus* zeigt somit lediglich, dass diese Pflanzen im Mageninhalt vorhanden waren, erlaubt jedoch keine Aussage darüber, ob die aufgenommene Menge ausgereicht hat, um eine Intoxikation hervorzurufen. Im pathologischen Befund war für dieses Tier eine Infektion mit dem Blauzungenvirus Serotyp 3 (BTV 3) sowie eine hochgradige Hämorrhagie dokumentiert. Beide Erkrankungen sind bekannte Ursachen schwerer klinischer Verläufe bei Schafen und können unabhängig von der Aufnahme von *Prunus* auftreten^{16,17}.

Rumex (Ampfer) wurde ebenfalls in einer Rinderprobe nachgewiesen. Ampfer-Arten enthalten Oxalsäure, die bei hohen Mengen metabolische Störungen verursachen können¹⁸. Toxische Effekte treten nach Literaturangaben ab etwa 2 % löslicher Oxalate in der Trockenmasse auf, was bei Wiederkäuern zu Nierenschäden und weiteren Stoffwechselstörungen führen kann¹⁹. In diesem Fall lagen jedoch klare pathologische Ursachen für die Erkrankung vor (akute Pneumonie, Clostridienenterotoxämie, Pansenegle), sodass der Nachweis von *Rumex* als

irrelevant für den Krankheitsverlauf zu bewerten ist. Insgesamt zeigen die Befunde, dass potenziell toxische Pflanzenarten zwar im Mageninhalt vorhanden sein können, dass NGS jedoch keine quantitativen oder toxikologischen Rückschlüsse erlaubt. Der Nachweis bestätigt ausschließlich die Präsenz von Pflanzen-DNA, nicht jedoch deren physiologische Wirkung. Im Abgleich mit den dokumentierten Todesursachen sind keine Hinweise auf pflanzenbedingte Vergiftungen zu erkennen.

Die Befunde aus der Tierpathologie zeigten keine Hinweise auf pflanzenbedingte Intoxikationen. Da viele toxische Pflanzen charakteristische Organveränderungen hervorrufen, die pathologisch diagnostizierbar sind, wäre eine klinisch relevante Vergiftung vermutlich erkannt worden. Gleichzeitig ist zu berücksichtigen, dass nicht jede Pflanze eindeutige morphologische Veränderungen hinterlässt. Dazu zählen zum Beispiel Schädigungen an Organen wie Leber oder Nieren oder charakteristische Veränderungen des Blutbildes. Toxikologische Analysen werden zudem in der Regel nur bei konkretem Verdacht durchgeführt. Somit bestätigt die pathologische Untersuchung, dass in den untersuchten Fällen keine klar nachweisbaren pflanzenbedingten Vergiftungen vorlagen, auch wenn eine Aufnahme kleinerer Mengen potenziell toxischer Pflanzen nicht ausgeschlossen werden kann.

Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, wie die Nachweise im Mageninhalt letztlich zu bewerten sind. Sie liefern wertvolle Informationen darüber, welche Pflanzenbestandteile tatsächlich aufgenommen wurden, erlauben jedoch keine direkte Schlussfolgerung über eine toxische Wirkung. Damit bewegen sich die Ergebnisse zwischen Nachweis und möglichem Zufallsbefund. Dies unterstreicht, dass die Interpretation solcher Daten immer im Zusammenspiel mit pathologischen Befunden und den molekularbiologischen Ergebnissen erfolgen muss.

7. Fazit/Schlussfolgerung

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Möglichkeiten des DNA-*Barcodings* in Kombination mit *Next-Generation-Sequencing* zur Analyse von Mageninhaltproben von Tieren zu untersuchen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Methode auch bei teils stark degradiertem Material erfolgreich angewendet werden kann. Durch eine angepasste DNA-Extraktion und den Einsatz von ITS-Markern konnte pflanzliche DNA in allen Proben nachgewiesen werden, was die Grundlage für eine umfassende Sequenzanalyse bildete.

Die bioinformatische Auswertung mit DADA2 führte zur Identifizierung von insgesamt 228 Sequenzen, von denen 92 eindeutig einer Pflanzengattung zugeordnet werden konnten. Besonders häufig wurden *Rubus*-Arten nachgewiesen, vor allem in Schafproben. Damit konnte gezeigt werden, dass sich aus Mageninhaltproben mit dieser Methode detaillierte Aussagen über die pflanzliche Zusammensetzung der aufgenommenen Nahrung ableiten lassen. Gleichzeitig wurde deutlich, dass seltenere Arten durch die Begrenzung auf die sechs häufigsten ASVs nicht erfasst werden und die Genauigkeit der taxonomischen Zuordnung stark von der Referenzdatenbank abhängt.

Ein wichtiger Aspekt war die Untersuchung potenziell toxischer Pflanzen. Zwar konnten Gattungen wie *Prunus*, *Quercus* und *Rumex* identifiziert werden, jedoch ergaben die pathologischen Befunde keine Hinweise auf pflanzenbedingte Intoxikationen. Todesursachen wie Blauzungenvirus, Hämonchose oder parasitäre Infektionen konnten unabhängig von pflanzlichen Befunden erklärt werden. Somit liefert die Methode zwar wertvolle Informationen über die pflanzliche Ernährung, erlaubt aber keine direkten Rückschlüsse auf die Toxizität oder auf aufgenommene Mengen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass NGS-basierte DNA-Analysen ein wertvolles Instrument sind, um die pflanzliche Zusammensetzung im Mageninhalt von Tieren aufzuklären. Für die Praxis eröffnet dies neue Möglichkeiten, Ernährungsgewohnheiten und potenzielle Risiken systematisch zu erfassen. Gleichzeitig bleibt weiterer Forschungsbedarf bestehen, etwa hinsichtlich quantitativer Ansätze, erweiterter Referenzdatenbanken und der Kombination mit

toxikologischen Verfahren. Langfristig könnte die hier angewandte Methodik nicht nur ein wichtiger Baustein für die veterinärmedizinische Diagnostik und die Prävention von Vergiftungen werden, sondern auch für die veterinärmedizinische Forensik. Darüber hinaus besitzt der Ansatz auch eine hohe Relevanz für die Botanik und die molekulare Pflanzenforschung, da er zeigt, wie sich pflanzliche DNA selbst aus komplexen und degradierten Proben rekonstruieren und taxonomisch zuordnen lässt. Damit leistet die Arbeit einen interdisziplinären Beitrag, der sowohl die Veterinärmedizin als auch die Forensik und die Pflanzenwissenschaften berührt.

8. Literatur-, Abbildungs- & Tabellenverzeichnis

Literaturverzeichnis

- [1] Baise, E. et al.: Seasonal Pasture Myopathy in Horses in Belgium: Epidemiological, Clinical and Pathological Findings. *Equine Veterinary Journal*, 48(3) (2016), 348–352.
- [2] Bochnia, M. et al.: Hypoglycin A Content of Seeds and Seedlings of *Acer pseudoplatanus* and Its Relevance for the Diagnosis of Atypical Myopathy in Horses. *PLOS ONE*, 10(8) (2015), e0136785.
- [3] Kennedy, A. et al.: Cyanide poisoning in cattle associated with ingestion of *Prunus laurocerasus* (cherry laurel). *Irish Veterinary Journal*, 74(1) (2021), 17.
- [4] Radi, Z.A. et al.: *Prunus serotina* (black cherry) intoxication in goats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 16(6) (2004), 562–564.
- [5] Christensen, H.: Einführung in die Bioinformatik in der Mikrobiologie. Cham: Springer Nature Switzerland (2025).
- [6] Ahmad, A., Shuja, M. Z. (Hrsg.): DNA Barcoding and Molecular Phylogeny. 2. Aufl. Cham: Springer International Publishing (2020).
- [7] Schweikle, S. et al.: DNA barcoding as new diagnostic tool to lethal plant poisoning in herbivorous mammals. *PLOS ONE*, 18(11) (2023), e0292275.
- [8] Nithaniyal, S. et al.: Forensic application of DNA barcoding in the identification of commonly occurring poisonous plants. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 78 (2021), 102126.
- [9] Cook, D. et al.: DNA data (genome skims and metabarcodes) paired with chemical data to resolve suspected plant poisonings in livestock. *Toxicon*, 256 (2025), 108285.
- [10] Taberlet, P. et al.: Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research*, 35(3) (2007), e14.
- [11] Hahn, M.: Einführung in die Bioinformatik in der Mikrobiologie. Cham: Springer Nature (2022).
- [12] Callaghan, T. M., Podmirseg, S. M., Hohlweck, D. u. a.: *Buwchfawromyces eastonii* gen. nov., sp. nov.: a new anaerobic fungus (Neocallimastigomycota) isolated from buffalo faeces. *MycKeys*, 9 (2015), 11–28.

- [13] Knight, A. P., Walter, R. G.: *Plants Poisonous to Livestock in the Western United States*. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Information Bulletin No. 415 (2001).
- [14] Tewe, O. O., Iyayi, E. A.: Cyanogenic Glycosides. In: Cheeke, P. R. (Hrsg.): *Toxicants of Plant Origin. Vol. II – Glycosides*. CRC Press, Boca Raton (1989), 43–60.
- [15] Merck Veterinary Manual (2025): *Cyanide Poisoning in Animals*. Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA.
- [16] Friedrich-Loeffler-Institut (FLI): *Blauzungenkrankheit*, Tierseuchengeschehen, Stand 18. August 2025.
- [17] Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz (LuA RLP): *Wurmbefall bei Schaf und Ziege*, Merkblatt, 2018.
- [18] Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL): *Wichtige Giftpflanzen des Grünlandes – Bildtafel zur Giftpflanzenbestimmung*. Thüringer Landesamt für Vermessung und Geoinformation, Jena (2014).
- [19] Rahman, M. M., et al. (2013): *Oxalate accumulation in forage plants and its effect on grazing animals: A review*. Journal of Agricultural Science, **5**(5), 1–10.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: ITS-Region innerhalb der ribosomalen DNA.....	18
Abbildung 2: Schritte einer Illumina-Sequenzierung.....	21
Abbildung 3: Agarosegelbilder mit PCR-Produkten der 38 Mageninhaltproben.....	25
Abbildung 4: Bildausschnitt aus Tabelle 13 (Anhang 9.4.)	29
Abbildung 5: Häufigkeit der eindeutig zugeordneten Pflanzengattungen aus den 38 Proben.....	30
Abbildung 6: Agarosegelbild ausgewählter PCR-Produkte.....	46
Abbildung 7: Wiederholung der PCR für Probe 402864	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der 38 Proben mit Probennummern und Befunden.....	13
Tabelle 2: Verwendete Chemikalien.....	14
Tabelle 3: Verwendete Lösungen	15
Tabelle 4: Verwendete Primer.....	15
Tabelle 5: Verwendete Verbrauchsmaterialien.....	15
Tabelle 6: Verwendete Instrumente	16
Tabelle 7: Verwendete Software	16
Tabelle 8: PCR-Ansatz 10 µL.....	19
Tabelle 9: PCR-Temperaturprogramm.....	19
Tabelle 10: Gesamtübersicht aller 38 Proben mit Read- und ASV-Werten.....	27
Tabelle 11: Identifizierte Pflanzenarten mit Häufigkeit und Verteilung auf die untersuchten Tierarten.....	31
Tabelle 12: Nanodrop Ergebnisse der Proben nach der CTAB-Extraktion	45
Tabelle 13: Übersicht der BLAST-Ergebnisse aller 38 Proben	49

9. Anhang

9.1. Nanodrop Ergebnisse

Tabelle 12: Nanodrop Ergebnisse der Proben nach der CTAB-Extraktion

Probe	ng/μL	260/280 nm	260/230 nm
306374	843,05	2,11	2,20
286773	571,83	2,12	2,55
289483	437,50	1,71	1,35
386337	336,30	1,95	1,95
390980	585,28	2,01	2,00
402864	3.334,47	1,94	2,31
405096	251,08	1,94	2,19
405176	300,22	2,01	2,17
407215	213,34	1,91	1,93
407236	768,01	2,01	2,26
408642	849,79	2,06	2,01
408898	383,36	1,94	2,23
415056	304,76	1,92	1,81
416880	1.536,80	1,94	2,19
417155	621,10	2,00	2,12
417161	709,53	2,05	2,05
419360	1.687,56	2,06	2,33
419363	646,36	2,05	2,13
419618	843,05	1,97	2,18
419624	571,83	2,01	2,24
419707	703,50	1,98	2,20
419720	571,61	2,05	1,97
419812	320,01	2,02	2,36
421137	715,10	2,01	2,22
421139	641,43	2,03	2,12
421517	225,69	1,76	1,66
421521	307,56	1,76	1,72
424122	1.798,77	2,14	2,21
424126	485,01	1,95	2,07
426548	231,36	2,03	2,29
426549	881,66	1,55	1,48
426841	432,06	1,98	2,33
426846	1.637,59	2,03	2,29
429166	321,24	2,04	2,23
431288	728,33	1,98	2,01
432767	614,81	2,00	1,84
460842	1.081,90	2,05	2,23
461035	676,94	2,03	1,91

9.2. Agarosegelbilder

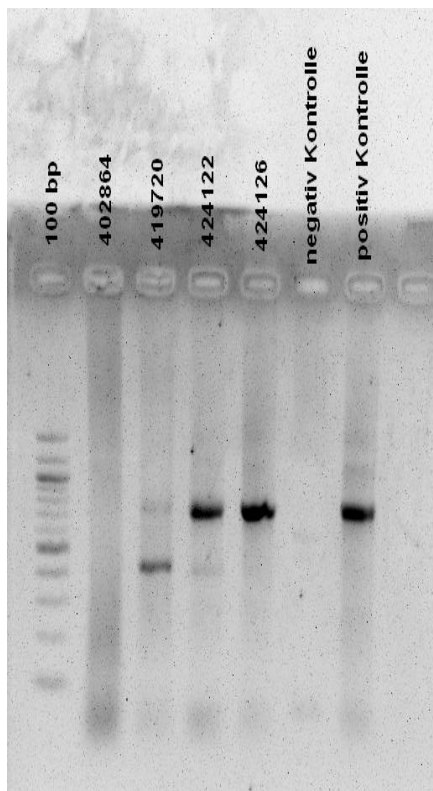


Abbildung 6: Agarosegelbild ausgewählter PCR-Produkte. Dargestellt sind die PCR-Produkte der Proben 402864, 419720, 424122 und 424126, deren Banden in Abbildung 5 nur schwach oder undeutlich sichtbar waren. Während bei drei Proben deutliche Signale erkennbar wurden, zeigte Probe 402864 keine sichtbare Bande.

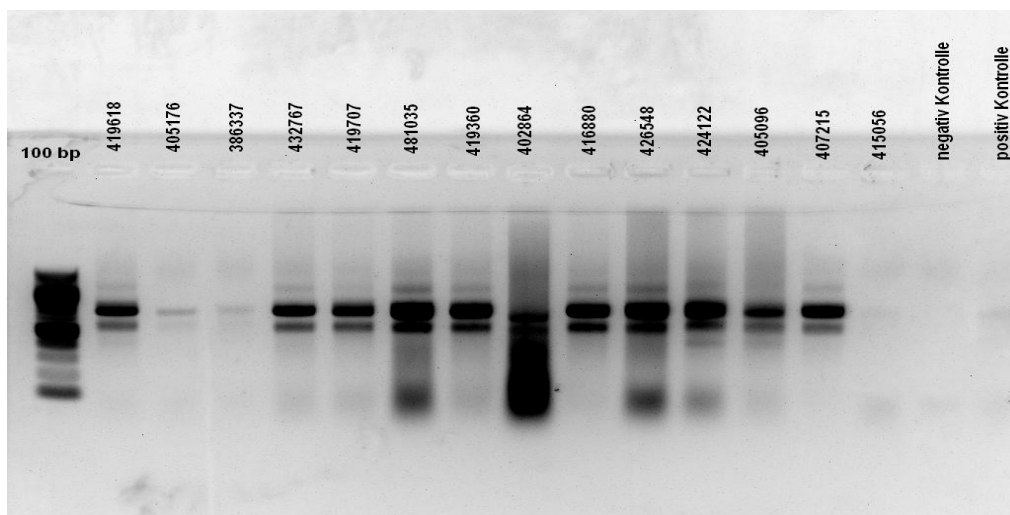


Abbildung 7: Wiederholung der PCR für Probe 402864. Abgebildet ist ein zuvor aufgenommenes Agarosegel, auf dem mehrere Proben dargestellt sind. Für die Auswertung ist vor allem Probe 402864 relevant, bei der hier eine deutliche Bande sichtbar wurde.

9.3. RStudio Code

```
# Download Rtools
https://cran.r-project.org/bin/windows/Rtools/
Download der Version passend zur verwendeten Rstudio Version:
R 4.4 → Rtools44
R 4.3 → Rtools43
R 4.2 → Rtools42

# Verifizierung in Rstudio
pkgbuild::find_rtools()
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")

# Installierung von dada2 und tidyverse
BiocManager::install("dada2")
install.packages("tidyverse")
install.packages("rlang") # only if not already installed

# Veraltete Packages Aktualisieren
install.packages("cli")
update.packages(ask = FALSE, checkBuilt = TRUE)

# Pakete laden
library(dada2)
library(tidyverse)

# Arbeitsverzeichnis setzen
setwd("/Users/Name/Desktop/Dateiname")

# Dateinamen festlegen
sample.name <- "Probennamen"
fnFs <- paste0(sample.name, "_1.fastq")
fnRs <- paste0(sample.name, "_2.fastq")

# Gefilterte Dateien vorbereiten
filtFs <- file.path("filtered", paste0(sample.name, "_F_filt.fastq"))
filtRs <- file.path("filtered", paste0(sample.name, "_R_filt.fastq"))

# Dateien filtern und trimmen
out <- dada2::filterAndTrim(fnFs, filtFs,
                           fnRs, filtRs,
                           truncLen=c(240,200),
                           maxN=0, maxEE=c(2,2), truncQ=2, rm.phix=TRUE,
                           compress=FALSE, multithread=FALSE)

# Fehler lernen
errF <- learnErrors(filtFs, multithread=FALSE)
errR <- learnErrors(filtRs, multithread=FALSE)

# Dereplikation
derepF <- derepFastq(filtFs)
derepR <- derepFastq(filtRs)
```



```

names(derepF) <- sample.name
names(derepR) <- sample.name

# DADA-Modell
dadaF <- dada(derepF, err=errF, multithread=FALSE)
dadaR <- dada(derepR, err=errR, multithread=FALSE)

# Paired-End Reads zusammenführen
mergers <- mergePairs(dadaF, derepF, dadaR, derepR, verbose=TRUE)

# ASV-Tabelle erstellen
seqtab <- makeSequenceTable(mergers)

# Chimeren entfernen
seqtab.nochim <- removeBimeraDenovo(seqtab, method="consensus",
multithread=FALSE, verbose=TRUE)

# ASV-Tabelle speichern
saveRDS(seqtab.nochim, file=paste0("seqtab_", sample.name, ".rds"))

# Abundanz pro Sequenz berechnen
asv_seqs <- colnames(seqtab.nochim)
asv_counts <- colSums(seqtab.nochim)

asv_table <- tibble(Sequence = asv_seqs, Abundance = asv_counts)

# Nach Abundanz sortieren
asv_table_sorted <- asv_table %>% arrange(desc(Abundance))

# Top 6 Sequenzen extrahieren und als FASTA-Datei speichern
top6 <- head(asv_table_sorted, 6)

# FASTA schreiben
fasta_file <- paste0("top6_", sample.name, ".fasta")
con <- file(fasta_file, "w")
for(i in 1:nrow(top6)) {
  writeLines(paste0(">ASV", i, "_", top6$Abundance[i]), con)
  writeLines(top6$Sequence[i], con)
}
close(con)
# Ausgabe zur Kontrolle
print("Top 6 Sequenzen für BLAST gespeichert in:")
print(fasta_file)
print("ASV-Tabelle gespeichert unter:")
print(paste0("seqtab_", sample.name, ".rds"))

asv_counts <- colSums(seqtab.nochim)
asv_table <- tibble(Sequence = asv_seqs, Abundance = asv_counts)
asv_table_sorted <- asv_table %>% arrange(desc(Abundance))
write.csv(top6, file = paste0("top6_abundance_", sample.name, ".csv"), row.names =
FALSE)

```

9.4. BLAST Ergebnisse der Proben

Tabelle 13: Übersicht der BLAST-Ergebnisse aller 38 Proben

Probe	ASV Nummer	Abundanz	Top BLAST Hit	Gruppe	Accessionnr.	Übereinstimmung	E-value	Alignment (nt)	Score	Zugeordnete Gattung
286773	ASV1	26427	Plantago lanceolata	Pflanze	KY968842.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	Plantago
			Plantago lanceolata	Pflanze	AY101898.1	99.41%	2e-173	339/341	621 bits(336)	
			Plantago lanceolata	Pflanze	MW139236.1	99.41%	7e-173	339/341	619 bits(335)	
	ASV2	7258	Plantago lanceolata	Pflanze	MW139236.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	Plantago
			Plantago lanceolata	Pflanze	AJ548985.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	
			Plantago lanceolata	Pflanze	AJ548984.1	95.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	
	ASV3	3437	Rumex pulcher	Pflanze	KT438760.1	98.30%	3e-141	289/294	514 bits(278)	Rumex
			Rumex sanguineus	Pflanze	MT937131.1	97.96%	1e-139	288/294	508 bits(275)	
			Rumex conglomeratus	Pflanze	KT438752.1	97.96%	1e-139	288/294	508 bits(275)	
	ASV4	2598	Rumex sanguineus	Pflanze	MT937131.1	99.66%	2e-148	293/294	538 bits(291)	Rumex
			Rumex conglomeratus	Pflanze	KT438752.1	99.66%	2e-148	293/294	538 bits(291)	
			Rumex pulcher	Pflanze	KT438760.1	99.32%	8e-147	292/294	532 bits(288)	
ASV5	2349	Anaeromyces sp. FFEX4	Pilz	FJ483846.1	95.21%	3e-151	338/355	547 bits(296)	Taxon unklar	
		Anaeromyces sp. AF-CTS-RUA1	Pilz	GQ857634.1	93.79%	3e-142	332/354	518 bits(280)		
		uncultured fungus	Pilz	GU909922.1	97.26%	2e-134	284/292	492 bits(266)		
ASV6	2127	Magnoliophyta environmental	Pflanze	FJ554461.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)	Trifolium	
		Trifolium pratense	Pflanze	KY860927.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)		
		Trifolium pratense	Pflanze	MT610968.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)		
289483	ASV1	27682	Filipendula ulmaria	Pflanze	MT796533.1	99.73%	0.0	374/375	688 bits(372)	Taxon unklar
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM515204.1	99.72%	0.0	362/363	665 bits(360)	
			uncultured fungus	Pilz	OU938987.1	99.69%	1e-165	324/325	595 bits(322)	
	ASV2	23657	Pseudozyma pruni	Pilz	MT635317.1	99.67%	1e-155	306/307	562 bits(304)	Taxon unklar
			Pseudozyma sp.	Pilz	MW534877	99.66%	2e-149	295/296	542 bits(293)	
			uncultured fungus	Pilz	KF800438.1	95.36%	2e-149	329/345	542 bits(293)	
	ASV3	21786	Lolium perenne	Pflanze	MT937119.1	99.70%	9e-172	335/336	616 bits(333)	Lolium
			Lolium perenne	Pflanze	ON243860.1	99.70%	9e-172	335/336	616 bits(333)	
			Lolium perenne	Pflanze	MT923972.1	99.70%	3e-171	334/335	614 bits(332)	
	ASV4	16399	Avena clauda	Pflanze	OK273931.1	100%	7e-173	335/335	619 bits(335)	Avena
			Avena sativa x Avena macrostachya	Pflanze	PP314384.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)	
			Avena sativa x Avena macrostachya	Pflanze	PP314383.1	100%	7e-173	335/335	619 bits(335)	
ASV5	16048	uncultured fungus	Pilz	AB222611.1	100%	7e-137	270/270	499 bits(270)	Taxon unklar	
		uncultured Cryptococcus	Pilz	HG936835.1	100%	7e-137	270/270	499 bits(270)		
		Filobasidium sp.	Pilz	PQ540064.1	100%	7e-137	270/270	499 bits(270)		
ASV6	15118	Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)	Rubus	
		Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)		
		Rubus picticaulis	Pflanze	AF362724.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)		
306374	ASV1	15619	Anaeromyces sp. FFEX4	Pilz	FJ483846.1	95.20%	1e-150	337/354	545 bits(295)	Taxon unklar
			Anaeromyces sp. AF-CTS-RUA1	Pilz	GQ857634.1	93.77%	1e-141	331/353	516 bits(279)	
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	GU909922.1	97.25%	6e-134	283/291	490 bits(265)	
	ASV2	7418	Anaeromyces sp. FFEX4	Pilz	FJ483846.1	95.48%	3e-152	338/345	551 bits(298)	Taxon unklar
			Anaeromyces sp. AF-CTS-RUA1	Pilz	GQ857634.1	94.05%	2e-143	332/353	521 bits(282)	
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	GU909922.1	97.59%	1e-135	284/291	496 bits(268)	
	ASV3	5399	Cylamyces sp. CB3B1	Pilz	EU043229.1	95.81%	4e-135	297/310	494 bits(267)	Taxon unklar
			Caecomycetes sp.	Pilz	MK036722.1	94.44%	5e-134	306/324	490 bits(265)	
			Cylamyces sp. AF-CTS-CHC1	Pilz	FJ501277.1	95.45%	3e-132	294/308	484 bits(262)	
	ASV4	4618	Caecomycetes sp. CR4	Pilz	AB334759.1	100%	2e-173	336/336	621 bits(336)	Taxon unklar
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	GU910251.1	98.60%	7e-138	282/286	503 bits(272)	
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	GU910225.1	99.62%	1e-131	263/264	483 bits(261)	
ASV5	2586	uncultured Neocallimastigales	Pilz	EU414767.1	100%	5e-149	292/292	540 bits(292)	Taxon unklar	
		Cylamyces aberensis	Pilz	FJ483845.1	97.45%	9e-147	306/314	532 bits(288)		
		uncultured Neocallimastigales	Pilz	EU414765.1	96.96%	1e-134	287/296	492 bits(266)		
ASV6	2286	uncultured Neocallimastigales	Pilz	EU414760.1	100%	4e-150	294/294	544 bits(294)	Taxon unklar	
		uncultured Neocallimastigales	Pilz	EU414761.1	99.66%	2e-148	293/294	538 bits(291)		
		uncultured Neocallimastigales	Pilz	EU414762.1	99.66%	2e-148	293/294	538 bits(291)		
386337	ASV1	43500	uncultured eukaryote	-	KF800147.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)	Taxon unklar
			Triticum aestivum	Pflanze	MN787123.1	99.40%	6e-169	332/334	606 bits(328)	
			Triticum aestivum	Pflanze	MN787122.1	99.10%	2e-168	331/33	604 bits(327)	
	ASV2	26291	uncultured fungus	Pilz	KF800524.1	99.41%	3e-171	336/338	614 bits(332)	Taxon unklar
			Triticum aestivum	Pflanze	MN787126.1	99.11%	2e-169	335/338	608 bits(329)	
			x Elythordeum kirbyi	Pflanze	MW142526.1	99.11%	2e-169	335/338	608 bits(329)	
	ASV3	14725	Cylamyces sp. CB3B1	Pilz	EU043229.1	95.81%	4e-135	297/310	494 bits(267)	Taxon unklar
			Caecomycetes sp.	Pilz	MK036722.1	94.44%	5e-134	306/324	490 bits(265)	
			Cylamyces sp. AF-CTS-CHC1	Pilz	FJ501277.1	95.45%	3e-132	294/308	484 bits(262)	
	ASV4	1331	uncultured eukaryote	-	KF800147.1	99.41%	3e-171	336/338	614 bits(332)	Taxon unklar
			Triticum aestivum	Pflanze	MN787123.1	99.70%	1e-170	333/334	612 bits(331)	
			uncultured fungus	Pilz	KF800524.1	98.82%	7e-168	334/338	603 bits(326)	
ASV5	1100	uncultured eukaryote	-	KF800147.1	99.41%	3e-171	336/338	614 bits(332)	Taxon unklar	
		Triticum aestivum	Pflanze	MN787124.1	99.40%	4e-170	333/335	610 bits(330)		
		Triticum aestivum	Pflanze	MN787126.1	99.11%	2e-169	335/338	608 bits(329)		
ASV6	416	Pisum sativum	Pflanze	GQ260108.1	99.70%	1e-170	333/334	612 bits(331)	Pisum	
		Pisum sativum subsp. elatius	Pflanze	KU678608.1	99.40%	3e-167	329/331	601 bits(325)		
		Pisum sativum subsp. elatius	Pflanze	KU678568.1	99.40%	3e-167	329/331	601 bits(325)		
390980	ASV1	4123	uncultured fungus	Pilz	KF977131.1	100%	4e-114	229/229	424 bits(229)	Taxon unklar
			uncultured fungus	Pilz	JN904841.1	100%	1e-113	228/228	422 bits(228)	
			uncultured fungus	Pilz	GQ521023.1	99.56%	2e-112	228/229	418 bits(226)	
	ASV2	3437	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	96.77%	6e-174	360/372	623 bits(337)	Rubus
			Rubus canescens	Pflanze	KM037249.1	99.71%	2e-173	338/339	621 bits(336)	
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.52%	2e-173	354/363	621 bits(336)	
	ASV3	3266	Rubus thibetanus	Pflanze	AF362723.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)	Rubus
			Rubus canescens	Pflanze	AF362725.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)	
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362724.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)	
	ASV4	3101	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.59%	6e-179	364/373	640 bits(346)	Rubus
			Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.32%	1e-176	363/373	632 bits(342)	
			Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.31%	4e-176	362/372	630 bits(341)	
ASV5	2945	Juglans regia	Pflanze	MH712684.1	99.74%	0.0	377/378	693 bits(375)	Juglans	
		embryophyte environmental sample	Pflanze	KM514966.1	99.73%	0.0	366/367	673 bits(364)		
		Juglans regia	Pflanze	AF399876.1	99.72%	0.0	361/362	664 bits(359)		
ASV6	2749	Potentilla reptans	Pflanze	FN430815.1	99.73%	0.0	368/369	676 bits(366)	Potentilla	
		Potentilla heblchigo	Pflanze	KT985640.1	98.37%	0.0	363/369	649 bits(351)		
		Potentilla anglica	Pflanze	FN430829.1	98.10%	5e-180	362/369	643 bits(348)		
390980	ASV1	32207	Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049143.1	92.92%	2e-133	315/339	488 bits(264)	Taxon unklar
			Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049135.1	92.92%	2e-133	315/339	488 bits(264)	
			Chytridiomycota sp. MS-2020a	Pilz	MW049135.1	92.92%	2e-133	315/339	488 bits(264)	
	ASV2	7718	Buwchfawromyces eastonii	Pilz	NR_131998.1	96.33%	9e-147	315/327	532 bits(288)	Taxon unklar
			Buwchfawromyces eastonii	Pilz	EU414755.1	96.33%	9e-147	315/327	532 bits(288)	
			Buwchfawromyces eastonii	Pilz	EU414755.1	96.33%	9e-147	315/327	532 bits(288)	
	ASV3	7284	Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049142.1	96.47%	2e-153	328/340	555 bits(300)	Taxon unklar
			Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049143.1	95.87%	2e-149	325/339	542 bits(293)	

402864	ASV4	6127	Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049143.1	95.87%	2e-149	325/339	542 bits(293)	Taxon unklar	
			Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049143.1	93.22%	5e-135	316/339	494 bits(267)		
			Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049135.1	93.22%	5e-135	316/339	494 bits(267)		
	ASV5	5682	Chytridiomycota sp. MS-2020a	Pilz	MW049135.1	93.22%	5e-135	316/339	494 bits(267)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX184652.1	97.26%	9e-152	320/329	549 bits(297)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184582.1	97.26%	9e-152	320/329	549 bits(297)		
	ASV6	4533	Buwchfawromyces eastonii	Pilz	EU414756.1	95.11%	5e-139	311/327	507 bits(274)	Taxon unklar	
			Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049142.1	96.76%	4e-155	329/340	560 bits(303)		
			Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049143.1	96.17%	3e-151	326/339	547 bits(296)		
	405096	ASV1	23563	Aestipascuomyces dupliciliberan	Pilz	MW049143.1	96.17%	3e-151	326/339	547 bits(296)	Taxon unklar
				Pseudozyma pruni	Pilz	MT635317.1	99.67%	1e-155	306/307	562 bits(304)	
				Pseudozyma sp. uncultured fungus	Pilz	MW534877.1	99.66%	2e-14	295/296	542 bits(293)	
ASV2		5088	Pseudozyma pruni	Pilz	MT635317.1	99.35%	6e-154	305/307	556 bits(301)	Taxon unklar	
			Pseudozyma sp. uncultured fungus	Pilz	MW534877.1	99.32%	7e-148	294/296	536 bits(290)		
			uncultured fungus	Pilz	KF800438.1	95.07%	7e-148	328/345	536 bits(290)		
ASV3		4188	Chrysozyma flava	Pilz	NR_174798.1	96.01%	3e-131	289/301	481 bits(260)	Taxon unklar	
			Chrysozyma flava fungal sp.	Pilz	MK050440.1	96.01%	3e-131	289/301	481 bits(260)		
			uncultured fungus	Pilz	MH624532.1	91.86%	2e-108	271/295	405 bits(219)		
ASV4		3921	uncultured fungus	Pilz	KF800473.1	99.69%	2e-162	318/319	584 bits(316)	Taxon unklar	
			dothideomycete sp. 7667	Pilz	EU680536.1	99.06%	2e-158	316/319	571 bits(309)		
			Microspheeropsis sp.	Pilz	KY305064.1	98.75%	9e-157	315/319	566 bits(306)		
ASV5	2844	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ554461.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)	Trifolium		
		Trifolium pratense	Pflanze	KY860927.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)			
		Trifolium pratense	Pflanze	MT610968.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)			
ASV6	2806	fungal sp.	Pilz	MH624532.1	99.31%	4e-145	289/291	527 bits(285)	Taxon unklar		
		uncultured fungus	Pilz	KF221754.1	98.14%	8e-127	264/269	466 bits(252)			
		Chrysozyma flava	Pilz	NR_174798.1	90.43%	7e-103	274/303	387 bits(209)			
405176	ASV1	21214	Lolium perenne	Pflanze	MT937119.1	99.70%	9e-172	335/336	616 bits(333)	Lolium	
			Lolium perenne	Pflanze	ON243860.1	99.70%	9e-172	335/336	616 bits(333)		
			Lolium perenne	Pflanze	MT923972.1	99.70%	3e-171	334/335	614 bits(332)		
	ASV2	6595	uncultured fungus	Pilz	AB222611.1	100%	7e-137	270/270	499 bits(270)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	HG936835.1	100%	7e-137	270/270	499 bits(270)		
			Filobasidium sp.	Pilz	PQ540064.1	100%	7e-137	270/270	499 bits(270)		
	ASV3	6069	Vishniacozyma victoria	Pilz	PQ540128.1	100%	2e-126	251/251	464 bits(251)	Taxon unklar	
			uncultured Cryptococcus	Pilz	HG937193.1	100%	2e-126	251/251	464 bits(251)		
			uncultured Cryptococcus	Pilz	KC753404.1	100%	2e-126	251/251	464 bits(251)		
	ASV4	4287	uncultured Debaryomyces	Pilz	MK407115.1	100%	2e-162	316/316	584 bits(316)	Taxon unklar	
			uncultured Debaryomyces	Pilz	MK406683.1	100%	2e-162	316/316	584 bits(316)		
			uncultured Debaryomyces	Pilz	KC525743.1	100%	2e-162	316/316	584 bits(316)		
ASV5	2762	Trifolium repens	Pflanze	MT784074.1	99.72%	0.0	352/353	647 bits(350)	Trifolium		
		Trifolium repens	Pflanze	KY968960.1	99.72%	0.0	352/353	647 bits(350)			
		Trifolium repens	Pflanze	MT735335.1	99.72%	0.0	352/353	647 bits(350)			
ASV6	2443	uncultured fungus	Pilz	KF800238.1	100%	0.0	364/364	673 bits(364)	Taxon unklar		
		Ustilago nunavutica	Pilz	MW472237.1	100%	0.0	364/364	673 bits(364)			
		fungal sp.	Pilz	MH624786.1	99.72%	0.0	362/363	665 bits(360)			
407215	ASV1	24953	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.85%	1e-180	364/372	645 bits(349)	Rubus	
			Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.58%	2e-178	363/372	638 bits(345)		
			Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.57%	8e-178	362/371	636 bits(344)		
	ASV2	20872	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.04%	1e-175	361/372	628 bits(340)	Rubus	
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)		
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)		
	ASV3	5442	Rubus sp. MS-2014i	Pflanze	KM037189.1	99.71%	2e-173	338/339	621 bits(336)	Rubus	
			Rubus bohemicola	Pflanze	KM037222.1	99.71%	2e-173	338/339	621 bits(336)		
			Rubus dollnensis	Pflanze	KM037298.1	99.71%	2e-173	338/339	621 bits(336)		
	ASV4	2641	Fagus longipetiolata	Pflanze	AY232949.1	99.73%	0.0	373/374	686 bits(371)	Fagus	
			Fagus sylvatica subsp. sylvatica	Pflanze	AY232985.1	99.73%	0.0	373/374	686 bits(371)		
			Fagus orientalis	Pflanze	AY232968.1	99.73%	0.0	373/374	686 bits(371)		
ASV5	2104	Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	99.46%	0.0	370/372	676 bits(366)	Rubus		
		Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	99.19%	0.0	369/372	673 bits(364)			
		Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	99.92%	0.0	367/371	664 bits(359)			
ASV6	1769	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.85%	6e-179	363/372	640 bits(346)	Rubus		
		Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.13%	1e-176	362/372	632 bits(342)			
		Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.30%	4e-176	361/371	630 bits(341)			
407236	ASV1	14969	Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)	Rubus	
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)		
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362724.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)		
	ASV2	8612	Plantago lanceolata	Pflanze	KY968842.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	Plantago	
			Plantago lanceolata	Pflanze	AY101898.1	99.41%	2e-173	339/341	621 bits(336)		
			Plantago lanceolata	Pflanze	MW139236.1	99.41%	7e-173	339/341	619 bits(335)		
	ASV3	5058	Potentilla reptans	Pflanze	FN430815.1	99.73%	0.0	368/369	676 bits(366)	Potentilla	
			Potentilla heblchigo	Pflanze	KT985640.1	98.37%	0.0	363/369	649 bits(351)		
			Potentilla anglica	Pflanze	FN430829.1	98.10%	5e-180	362/369	643 bits(348)		
	ASV4	3565	Agrimonia eupatoria	Pflanze	ON685389.1	99.83%	0.0	381/383	697 bits(377)	Agrimonia	
			Agrimonia eupatoria	Pflanze	PQ249114.1	97.65%	0.0	374/383	673 bits(364)		
			Agrimonia pilosa	Pflanze	PQ249111.1	94.30%	8e-163	364/386	586 bits(317)		
ASV5	2651	Plantago lanceolata	Pflanze	MW139236.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	Plantago		
		Plantago leiopetala	Pflanze	AJ548985.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)			
		Plantago lanceolata	Pflanze	AJ548984.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)			
ASV6	2340	uncultured fungus	Pilz	JX184761.1	100%	0.0	374/374	691 bits(374)	Taxon unklar		
		uncultured fungus	Pilz	JX184827.1	99.73%	0.0	373/374	684 bits(370)			
		uncultured fungus	Pilz	JX184729.1	99.47%	0.0	372/374	678 bits(367)			
408642	ASV1	4578	Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890450.1	99.44%	0.0	356/358	651 bits(352)	Prunus	
			Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890451.1	99.44%	0.0	356/358	651 bits(352)		
			Prunus salicina	Pflanze	MH711763.1	99.44%	1e-180	353/355	645 bits(349)		
	ASV2	4511	Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890450.1	98.60%	3e-177	353/358	634 bits(343)	Prunus	
			Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890451.1	98.60%	3e-177	353/358	634 bits(343)		
			Prunus salicina	Pflanze	MH711763.1	98.59%	1e-175	350/355	628 bits(340)		
	ASV3	4097	Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890450.1	99.44%	0.0	356/358	651 bits(352)	Prunus	
			Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890451.1	99.44%	0.0	356/358	651 bits(352)		
			Prunus salicina	Pflanze	MH711763.1	99.44%	1e-180	353/355	645 bits(349)		
	ASV4	2806	Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890450.1	98.88%	6e-179	354/358	640 bits(346)	Prunus	
			Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890451.1	98.88%	6e-179	354/358	640 bits(346)		
			Prunus salicina	Pflanze	MH711763.1	98.87%	3e-177	351/355	634 bits(343)		
ASV5	2427	Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890450.1	98.60%	3e-177	353/358	634 bits(343)	Prunus		
		Prunus x dasycarpa	Pflanze	KX890451.1	98.60%	3e-177	353/358	634 bits(343)			
		Prunus salicina	Pflanze	MH711763.1	98.59%	1e-175	350/355	628 bits(340)			
ASV6	2084	uncultured fungus	Pilz	JX184652.1	98.46%	7e-158	320/325	569 bits(308)	Taxon unklar		
		uncultured fungus	Pilz	JX184582.1	98.46%	7e-158	320/325	569 bits(308)			
		Buwchfawromyces	Pilz	EU414756.1	96.91%	2e-148	314/324	538 bits(291)			
ASV1	16315	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.85%	1e-180	364/372	645 bits(349)	Rubus		
		Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.58%	2e-178	363/372	638 bits(345)			
		Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.57%	8e-178	362/371	636 bits(344)			
ASV2	10079	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.04%	1e-175	361/372	628 bits(340)	Rubus		
		Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)			

408898		Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)	
	ASV3	1913	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.85%	6e-179	363/372	640 bits(346)
			Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.13%	1e-176	362/372	632 bits(342)
			Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.30%	4e-176	361/371	630 bits(341)
	ASV4	1157	Monilinia fructigena	Pilz	PQ655475.1	100%	2e-133	264/264	488 bits(264)
			Monilinia fructigena	Pilz	MT644896.1	100%	2e-133	264/264	488 bits(264)
			Monilinia fructigena	Pilz	PQ655448.1	100%	2e-133	264/264	488 bits(264)
	ASV5	1022	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ54461.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
			Trifolium pratense	Pflanze	KY860927.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
			Trifolium pratense	Pflanze	MT610968.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
415056	ASV6	922	Tilletiopsis washingtonensis	Piz	OM337572.1	100%	3e-151	296/296	547 bits(296)
			Tilletiopsis sp.	Pilz	OL304246.1	100%	3e-151	296/296	547 bits(296)
			Tilletiopsis sp.	Pilz	OL304247.1	100%	3e-151	296/296	547 bits(296)
	ASV1	16172	Avena clauda	Pflanze	OK273931.1	100%	7e-173	335/335	619 bits(335)
			Avena sativa x Avena macrostachya	Pflanze	PP314384.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)
			Avena sativa x Avena macrostachya	Pflanze	PP314383.1	100%	7e-173	335/335	619 bits(335)
	ASV2	13869	Avena clauda	Pflanze	OK273975.1	100%	7e-173	335/335	619 bits(335)
			Avena clauda	Pflanze	OK273909.1	100%	7e-173	337/338	619 bits(335)
			Avena sativa	Pflanze	PP314935.1	100%	7e-173	335/335	619 bits(335)
	ASV3	8915	uncultured fungus	Pilz	AB222611.1	100%	7e-173	270/270	499 bits(270)
416880			uncultured Cryptococcus	Pilz	HG936835.1	100%	7e-173	270/270	499 bits(270)
			Filobasidium sp.	Pilz	PQ540064.1	100%	7e-173	270/270	499 bits(270)
	ASV4	8610	uncultured fungus	Pilz	KF977131.1	100%	4e-114	229/229	424 bits(229)
			uncultured fungus	Pilz	JN904841.1	100%	1e-113	228/228	422 bits(228)
			uncultured fungus	Pilz	GQ521023.1	99.56%	2e-112	228/229	418 bits(226)
	ASV5	5070	Vishniacozyma victoriae	Pilz	PQ540128.1	100%	2e-126	251/251	464 bits(251)
			uncultured Cryptococcus	Pilz	HG937193.1	100%	2e-126	251/251	464 bits(251)
			uncultured Cryptococcus	Pilz	KC753404.1	100%	2e-126	251/251	464 bits(251)
	ASV6	4437	Sanguisorba minor	Pflanze	AY635037.1	99.18%	0.0	362/365	658 bits(356)
			Bencomia caudata	Pflanze	AY634866.1	98.08%	8e-178	358/365	636 bits(344)
417155			Bencomia caudata	Pflanze	AY634864.1	98.08%	8e-178	358/365	636 bits(344)
	ASV1	9879	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.04%	1e-175	361/372	628 bits(340)
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)
	ASV2	6402	uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	98.73%	0.0	390/395	701 bits(379)
			uncultured fungus	Pilz	JX184608.1	98.73%	0.0	390/395	701 bits(379)
			uncultured fungus	Pilz	JX184618.1	98.73%	0.0	390/395	701 bits(379)
	ASV3	6274	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.85%	1e-180	364/372	645 bits(349)
			Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.58%	2e-178	363/372	638 bits(345)
			Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.57%	8e-178	362/371	636 bits(344)
417161	ASV4	4770	uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	100%	0.0	394/394	728 bits(394)
			uncultured fungus	Pilz	JX184618.1	100%	0.0	394/394	728 bits(394)
			uncultured fungus	Pilz	JX184608.1	99.49%	0.0	393/395	717 bits(388)
	ASV5	4129	uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	99.49%	0.0	393/395	717 bits(388)
			uncultured fungus	Pilz	JX184618.1	99.49%	0.0	393/395	717 bits(388)
			uncultured fungus	Pilz	JX184608.1	98.99%	0.0	392/396	708 bits(383)
	ASV6	3927	Agrothelia rolfsii	Pilz	PP831679.1	98.78%	4e-165	325/329	593 bits(321)
			Agrothelia rolfsii	Pilz	MW800352.1	100%	1e-164	320/320	592 bits(320)
			Agrothelia rolfsii	Pilz	GQ358518.1	100%	9e-162	315/315	582 bits(315)
	ASV1	4899	Salix myrsinifolia	Pflanze	MT808327.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)
417155			Salix caesia	Pflanze	MZ366417.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)
			Salix cupularis	Pflanze	MH711377.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)
	ASV2	4769	Potentilla reptans	Pflanze	FN430815.1	99.73%	0.0	368/369	676 bits(366)
			Potentilla hebiichigo	Pflanze	KT985640.1	98.37%	0.0	363/369	649 bits(351)
			Potentilla anglica	Pflanze	FN430829.1	98.10%	5e-180	362/369	643 bits(348)
	ASV3	2479	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ54461.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
			Trifolium pratense	Pflanze	KY860927.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
			Trifolium pratense	Pflanze	MT610968.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
	ASV4	2243	Ascomycota sp. MKOTU66	Pilz	KP714656.1	100%	3e-161	314/314	580 bits(314)
			uncultured fungus	Pilz	KF742571.1	99.68%	1e-159	313/314	575 bits(311)
417155			Paraphaeosphaeria spartii	Pilz	MT446162.1	99.00%	2e-148	298/301	538 bits(291)
	ASV5	1791	Lathyrus pratensis	Pflanze	AY839384.1	98.51%	6e-164	330/335	590 bits(319)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MT198944.1	99.08%	3e-162	323/326	584 bits(316)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ522695.1	96.34%	1e-161	342/355	582 bits(315)
	ASV6	1694	uncultured fungus	Pilz	JX184447.1	99.75%	0.0	394/395	723 bits(391)
			uncultured fungus	Pilz	JX184739.1	98.99%	0.0	392/396	706 bits(382)
			uncultured fungus	Pilz	JX184723.1	98.73%	0.0	390/395	701 bits(379)
	ASV1	14655	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	96.77%	6e-174	360/372	623 bits(337)
			Rubus canescens	Pflanze	KM037249.1	99.71%	2e-173	338/339	621 bits(336)
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.52%	2e-173	354/363	621 bits(336)
417161	ASV2	10091	Geum aleppicum	Pflanze	MH710713.1	98.84%	3e-172	342/346	617 bits(334)
			Geum aleppicum	Pflanze	MT924062.1	98.84%	3e-172	342/346	617 bits(334)
			Geum aleppicum	Pflanze	MH712589.1	98.84%	3e-172	342/346	617 bits(334)
	ASV3	9668	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.58%	6e-179	363/372	640 bits(346)
			Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.31%	1e-176	363/372	632 bits(342)
			Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.30%	4e-176	361/371	630 bits(341)
	ASV4	9463	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.85%	1e-180	364/372	645 bits(349)
			Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.58%	2e-178	363/372	638 bits(345)
			Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.57%	8e-178	362/371	636 bits(344)
	ASV5	7028	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.31%	3e-177	362/372	634 bits(343)
419360			Phoebe cavaleriei	Pflanze	OR199551.1	97.31%	1e-176	362/372	632 bits(342)
			Rubus cf. paniculatus MR-2013	Pflanze	HG004835.1	97.31%	5e-157	361/372	627 bits(339)
	ASV6	6000	Filipendula ulmaria	Pflanze	MT796533.1	99.73%	0.0	374/375	688 bits(372)
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM515204.1	98.72%	0.0	362/363	665 bits(360)
			uncultured fungus	Pilz	OU938987.1	99.69%	1e-165	324/325	595 bits(322)
	ASV1	28057	Filipendula ulmaria	Pflanze	MT796533.1	99.73%	0.0	374/375	688 bits(372)
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM515204.1	98.72%	0.0	362/363	665 bits(360)
			uncultured fungus	Pilz	OU938987.1	99.69%	1e-165	324/325	595 bits(322)
	ASV2	7759	Lysimachia nummularia	Pflanze	AF547708.1	99.34%	4e-151	300/302	547 bits(296)
			Lysimachia nemorum	Pflanze	AF547722.1	99.01%	2e-149	299/302	542 bits(293)
419360			Lysimachia nummularia	Pflanze	MG877817.1	98.98%	5e-145	291/294	527 bits(285)
	ASV3	5653	Lysimachia nemorum	Pflanze	AF547722.1	99.67%	8e-153	301/302	553 bits(299)
			Lysimachia nummularia	Pflanze	AF547708.1	99.34%	4e-151	300/302	547 bits(296)
			Lysimachia nummularia	Pflanze	MG877817.1	99.66%	2e-148	293/294	538 bits(291)
	ASV4	2625	Lysimachia nemorum	Pflanze	AF547722.1	99.34%	4e-151	300/302	547 bits(296)
			Lysimachia nummularia	Pflanze	AF547708.1	99.01%	2e-149	299/302	542 bits(293)
			Lysimachia nummularia	Pflanze	MG877817.1	99.32%	1e-146	292/294	532 bits(288)
	ASV5	2151	Prunus padus	Pflanze	MT796538.1	99.67%	3e-151	298/299	547 bits(296)
			Lythrum salicaria	Pflanze	MT923906.1	99.67%	3e-151	298/299	547 bits(296)
			Lythrum salicaria	Pflanze	MH711465.1	99.00%	2e-148	296/299	538 bits(291)
419360	ASV6	1901	Filipendula ulmaria	Pflanze	MT796533.1	99.47%	0.0	373/375	682 bits(369)
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM515204.1	99.45%	0.0	361/363	660 bits(357)
			uncultured fungus	Pilz	OU938987.1	99.38%	6e-164	323/325	590 bits(319)
	ASV1	45410	Lathyrus pratensis	Pflanze	AY839384.1	98.51%	6e-164	330/335	590 bits(319)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MT198944.1	99.08%	3e-163	323/326	584 bits(316)

419363		Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ552695.1	96.34%	1e-161	342/355	582 bits(315)	
	ASV2	7940	Tubakia paradrynioides	Pilz	MG591898.1	100%	1e-154	302/302	558 bits(302)
			Tubakia dryinoides	Pilz	MG591877.1	100%	1e-154	302/302	558 bits(302)
			Tubakia dryinoides	Pilz	MG591876.1	100%	1e-154	302/302	558 bits(302)
	ASV3	7513	Lathyrus pratensis	Pflanze	AY839384.1	99.70%	4e-117	334/335	614 bits(332)
			uncultured fungus	Pilz	OU940045.1	99.07%	4e-161	320/323	580 bits(314)
			Lathyrus pratensis	Pflanze	MH711582.1	98.46%	2e-158	320/325	571 bits(309)
	ASV4	3042	Tubakia dryina	Pilz	MZ078778.1	100%	2e-162	316/316	584 bits(316)
			Tubakia suttoniana	Pilz	KC145909.1	100%	1e-160	313/313	579 bits(313)
			Tubakia suttoniana	Pilz	KC145858.1	99.68%	1e-160	316/317	579 bits(313)
	ASV5	2945	Quercus hartwissiana	Pflanze	FM244037.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)
			Quercus frainetto	Pflanze	FM244006.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)
			Quercus hartwissiana	Pflanze	FM244036.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)
	ASV6	2614	Lathyrus pratensis	Pflanze	AY839384.1	97.91%	1e-160	328/335	579 bits(313)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MT198944.1	98.47%	6e-159	321/326	573 bits(310)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ552695.1	95.77%	2e-158	340/355	571 bits(309)
419618	ASV1	12300	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.85%	1e-180	364/372	645 bits(349)
			Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.58%	2e-178	363/372	638 bits(345)
			Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.57%	8e-178	362/371	636bits(334)
	ASV2	10113	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.04%	1e-175	361/372	628 bits(340)
			Phoebe cavaleriei	Pflanze	OR199551.1	97.04%	5e-175	361/372	627 bits(339)
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362724.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)
	ASV3	5640	Filipendula ulmaria	Pflanze	MT796533.1	99.73%	0.0	374/375	688 bits(372)
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM515204.1	99.72%	0.0	362/363	665 bits(360)
			uncultured fungus	Pilz	OU938987.1	99.69%	1e-165	324/325	595 bits(322)
	ASV4	3796	uncultured Phaeosphaeria	Pilz	HG936175.1	100%	4e-129	256/256	473 bits(256)
			Pyrenochaetopsis leptospora	Pilz	MT453283.1	100%	4e-129	256/256	473 bits(256)
			Pyrenochaetopsis leptospora	Pilz	HG936186.1	100%	4e-129	256/256	473 bits(256)
419624	ASV1	22312	Neocallimastix frontalis	Pilze	HQ585902.1	99.75%	0.0	394/395	725 bits(392)
			uncultured fungus	Pilze	JX184618.1	99.49%	0.0	394/396	719 bits(389)
			uncultured fungus	Pilze	JX184608.1	99.49%	0.0	394/396	719 bits(389)
	ASV2	12607	uncultured fungus	Pilze	JX184627.1	99.74%	0.0	383/384	702 bits(380)
			uncultured fungus	Pilze	JX184830.1	99.74%	0.0	383/384	702 bits(380)
			uncultured fungus	Pilze	JX184670.1	99.74%	0.0	383/384	702 bits(380)
	ASV3	8742	uncultured fungus	Pilze	JX184447.1	99.49%	0.0	394/396	719 bits(389)
			uncultured fungus	Pilze	JX184739.1	99.74%	0.0	392/397	702 bits(380)
			uncultured fungus	Pilze	JX184723.1	99.48%	0.0	390/396	697 bits(377)
	ASV4	8074	Neocallimastix frontalis	Pilz	MK036674.1	99.50%	0.0	395/397	721 bits(390)
			uncultured fungus	Pilz	JX240402.1	99.75%	0.0	393/394	721 bits(390)
			Neocallimastix frontalis	Pilz	HQ585902.1	99.49%	0.0	393/395	719 bits(389)
419707	ASV1	15075	uncultured fungus	Pilz	JX184608.1	100%	0.0	395/395	730 bits(395)
			Neocallimastix frontali	Pilz	HQ585902.1	99.75%	0.0	394/395	723 bits(391)
			uncultured fungus	Pilz	JX184427.1	99.49%	0.0	393/395	719 bits(389)
	ASV2	7612	uncultured fungus	Pilz	JX184485.1	99.71%	6e-179	349/350	640 bits(346)
			uncultured fungus	Pilze	JX184467.1	99.71%	6e-179	349/350	640 bits(346)
			uncultured fungus	Pilze	JX184803.1	99.14%	1e-175	347/350	628 bits(340)
	ASV3	3793	Filipendula ulmaria	Pflanze	MT796533.1	99.73%	0.0	374/375	688 bits(372)
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM515204.1	98.72%	0.0	362/363	665 bits(360)
			uncultured fungus	Pilz	OU938987.1	99.69%	1e-165	324/325	595 bits(322)
	ASV2	7612	uncultured fungus	Pilz	JX184608.1	99.75%	0.0	394/395	725 bits(392)
			uncultured fungus	Pilz	JX184427.1	99.75%	0.0	394/395	725 bits(392)
			uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	98.75%	0.0	394/395	723 bits(391)
419720	ASV1	10372	uncultured fungus	Pilz	JX184485.1	99.71%	6e-179	349/350	640 bits(346)
			uncultured fungus	Pilz	JX184467.1	99.71%	6e-179	349/350	640 bits(346)
			uncultured fungus	Pilz	JX184803.1	99.14%	1e-175	347/350	628 bits(340)
	ASV2	8108	uncultured fungus	Pilz	JX184828.1	99.43%	3e-177	348/350	634 bits(343)
			uncultured fungus	Pilz	JX184886.1	99.43%	3e-177	348/350	634 bits(343)
			Caecomycetes sp.	Pilz	MK036725.1	99.15%	3e-176	348/351	630 bits(341)
	ASV3	4263	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	100%	0.0	372/372	688 bits(372)
			uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	100%	0.0	372/372	688 bits(372)
			uncultured fungus	Pilz	JX184729.1	100%	0.0	372/372	682 bits(369)
	ASV4	3510	uncultured fungus	Pilz	JX184447.1	98.99%	0.0	392/396	708 bits(383)
			uncultured fungus	Pilz	JX184723.1	98.99%	0.0	392/396	708 bits(383)
			uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	98.74%	0.0	391/396	702 bits(380)
419812	ASV1	10041	uncultured fungus	Pilz	JX184447.1	98.99%	0.0	392/396	708 bits(383)
			uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	98.74%	0.0	391/396	702 bits(380)
			uncultured fungus	Pilz	JX184618.1	98.74%	0.0	391/396	702 bits(380)
	ASV2	5404	uncultured fungus	Pilz	JX184485.1	99.43%	3e-177	348/350	634 bits(343)
			uncultured fungus	Pilz	JX184467.1	99.43%	3e-177	348/350	634 bits(343)
			uncultured fungus	Pilz	JX184803.1	98.86%	6e-174	346/350	623 bits(337)
	ASV3	3676	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	100%	0.0	372/372	688 bits(372)
			uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	100%	0.0	372/372	688 bits(372)
			uncultured fungus	Pilz	JX184729.1	100%	0.0	372/372	682 bits(369)
	ASV4	2842	uncultured fungus	Pilz	JX184447.1	98.99%	0.0	392/396	708 bits(383)
			uncultured fungus	Pilz	JX184723.1	98.99%	0.0	392/396	708 bits(383)
			uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	98.74%	0.0	391/396	702 bits(380)
419812	ASV1	10041	uncultured fungus	Pilz	JX184485.1	99.43%	3e-177	348/350	634 bits(343)
			uncultured fungus	Pilz	JX184467.1	99.43%	3e-177	348/350	634 bits(343)
			uncultured fungus	Pilz	JX184803.1	98.86%	6e-174	346/350	623 bits(337)
	ASV2	5404	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273401.1	96.32%	1e-160	340/353	579 bits(313)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273360.1	96.56%	5e-160	337/349	577 bits(312)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273402.1	96.29%	6e-159	337/350	573 bits(310)
	ASV3	3676	Pseudozyma pruni	Pilz	MT635317.1	99.67%	1e-155	306/307	562 bits(304)
			Pseudozyma sp.	Pilz	MW534877.1	99.66%	2e-149	295/296	542 bits(293)
			uncultured fungus	Pilz	KF800438.1	95.36%	2e-149	295/296	542 bits(293)
	ASV4	2842	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ554461.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
			Trifolium pratense	Pflanze	KY860927.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
			Trifolium pratense	Pflanze	MT610968.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
	ASV5	1955	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273401.1	96.03%	6e-159	339/353	573 bits(310)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273360.1	96.28%	2e-158	336/349	571 bits(309)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273402.1	96.00%	3e-157	336/350	568 bits(307)
	ASV6	1710	Lotus pedunculatus	Pflanze	JX184485.1	95.69%	5e-155	333/348	560 bits(303)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273360.1	95.70%	6e-154	334/349	556 bits(301)

421137	ASV1	9163	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273401.1	95.18%	8e-153	336/353	553 bits(299)	Juglans	
			Juglans regia	Pflanze	MH712684.1	99.74%	0.0	377/378	693 bits(375)		
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM514966.1	99.73%	0.0	366/367	673 bits(364)		
	ASV2	8286	Juglans regia	Pflanze	AF399876.1	99.72%	0.0	361/362	664 bits(359)	Potentilla	
			Potentilla reptans	Pflanze	FN430815.1	99.73%	0.0	368/369	676 bits(366)		
			Potentilla heblchigo	Pflanze	KT985640.1	98.37%	0.0	363/369	649 bits(351)		
	ASV3	8106	Potentilla anglica	Pflanze	FN430829.1	98.10%	5e-180	362/369	643 bits(348)	Rubus	
			Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.04%	1e-175	361/372	628 bits(340)		
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)		
	ASV4	7503	Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)	Rubus	
			Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.85%	1e-180	364/372	645 bits(349)		
			Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.58%	2e-178	363/372	638 bits(345)		
	ASV5	3692	Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.57%	8e-178	362/371	636 bits(344)	Geum	
			Geum aleppicum	Pflanze	MH710713.1	98.84%	3e-172	342/346	617 bits(334)		
			Geum aleppicum	Pflanze	MT924062.1	98.84%	3e-172	342/346	617 bits(334)		
		ASV6	2807	Geum aleppicum	Pflanze	MH712589.1	98.84%	3e-172	342/346	617 bits(334)	Rubus
				Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	96.77%	6e-174	360/372	623 bits(337)	
				Rubus canescens	Pflanze	KM037249.1	99.71%	2e-173	338/339	621 bits(336)	
421139	ASV1	17494	Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.52%	2e-173	354/363	621 bits(336)	Lathyrus	
			Lathyrus pratensis	Pflanze	AY839384.1	97.91%	1e-160	328/335	579 bits(313)		
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MT198944.1	98.47%	6e-159	321/326	573 bits(310)		
	ASV2	8564	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ552695.1	95.77%	2e-158	340/355	571 bits(309)	Lathyrus	
			Lathyrus pratensis	Pflanze	AY839384.1	98.51%	6e-164	330/335	590 bits(319)		
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MT198944.1	99.08%	3e-162	323/326	584 bits(316)		
	ASV3	7705	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ552695.1	96.34%	1e-161	342/355	582 bits(315)	Juglans	
			Juglans regia	Pflanze	MH712684.1	99.74%	0.0	377/378	693 bits(375)		
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM514966.1	99.73%	0.0	366/367	673 bits(364)		
		ASV4	2897	Juglans regia	Pflanze	AF399876.1	99.72%	0.0	361/362	664 bits(359)	Taxon unklar
				Monilinia fructigena	Pilz	PQ655475.1	100%	2e-133	264/264	488 bits(264)	
				Monilinia fructigena	Pilz	MT644896.1	100%	2e-133	264/264	488 bits(264)	
	ASV5	1596	Monilinia fructigena	Pilz	PQ655448.1	100%	2e-133	264/264	488 bits(264)	Taxon unklar	
			fungal sp. LL11_125	Pilz	KF057619.1	100%	8e-168	326/326	603 bits(326)		
			Ogataea sp.	Pilz	OK051621.1	99.69%	1e-166	326/327	599 bits(324)		
	ASV6	1557	Saccharomyces sp. HZ23	Pilz	GU213445.1	100%	6e-164	319/319	590 bits(319)	Quercus	
			Quercus vulcanica	Pflanze	FM244271.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)		
			Quercus canariensis	Pflanze	FM243977.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)		
421517	ASV1	8624	Quercus canariensis	Pflanze	FM243963.1	99.70%	7e-173	337/338	619 bits(335)	Taxon unklar	
			uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850301.1	99.15%	3e-177	350/353	634 bits(343)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184452.1	99.15%	3e-177	350/353	634 bits(343)		
	ASV2	4607	uncultured fungus	Pilz	JX184417.1	98.87%	1e-175	349/353	628 bits(340)	Taxon unklar	
			uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850301.1	99.43%	6e-179	351/353	640 bits(346)		
			uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850293.1	98.87%	3e-176	349/353	630 bits(341)		
	ASV3	3779	uncultured fungus	Pilz	JX184452.1	98.87%	1e-175	349/353	628 bits(340)	Taxon unklar	
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	MH038749.1	99.15%	3e-176	348/351	630 bits(341)		
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	MH038499.1	99.39%	4e-165	326/328	593 bits(321)		
	ASV4	2277	uncultured Neocallimastigales	Pilz	MH038570.1	99.39%	4e-165	326/328	593 bits(321)	Taxon unklar	
			Caecomyces communis	Pilz	MZ044642.1	99.43%	6e-179	350/352	640 bits(346)		
			Caecomyces communis	Pilz	MZ044646.1	99.43%	6e-179	350/352	640 bits(346)		
	ASV5	2155	Caecomyces communis	Pilz	MZ044645.1	99.43%	6e-179	350/352	638 bits(345)	Taxon unklar	
			uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850301.1	98.87%	1e-175	349/353	628 bits(340)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184452.1	98.87%	1e-175	349/353	628 bits(340)		
		ASV6	2086	uncultured fungus	Pilz	JX184417.1	98.58%	6e-174	348/353	623 bits(337)	Taxon unklar
				uncultured Neocallimastigales	Pilz	GQ767550.1	99.55%	2e-108	221/222	405 bits(219)	
				Buwchfawromyces eastonii	Pilz	EU414757.1	89.43%	7e-108	296/331	403 bits(218)	
421521	ASV1	5301	Buwchfawromyces eastonii	Pilz	NR_132000.1	89.43%	7e-108	296/331	403 bits(218)	Trifolium	
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ554461.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)		
			Trifolium pratense	Pflanze	KY860927.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)		
	ASV2	4905	Trifolium pratense	Pflanze	MT610968.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX184638.1	97.56%	2e-174	360/369	625 bits(338)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184480.1	97.29%	8e-173	359/369	619 bits(335)		
	ASV3	3430	uncultured fungus	Pilz	JX184628.1	97.02%	4e-171	358/369	614 bits(332)	Taxon unklar	
			uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850320.1	97.54%	2e-173	357/366	621 bits(336)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184660.1	97.28%	1e-171	357/367	616 bits(333)		
	ASV4	3001	uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850299.1	97.27%	4e-171	356/366	614 bits(332)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX184638.1	97.29%	8e-173	359/369	619 bits(335)		
			uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850320.1	97.02%	4e-171	358/369	614 bits(332)		
	ASV5	2655	uncultured fungus	Pilz	JX184480.1	97.02%	4e-171	358/369	614 bits(332)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX184453.1	99.71%	3e-176	344/345	630 bits(341)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184462.1	99.71%	3e-176	344/345	630 bits(341)		
	ASV6	2244	uncultured fungus	Pilz	JX184808.1	99.42%	4e-175	344/346	627 bits(339)	Taxon unklar	
			uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850320.1	97.81%	4e-175	358/366	627 bits(339)		
			uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850299.1	97.54%	8e-173	357/366	619 bits(335)		
424122	ASV1	10502	uncultured Cyllamyces	Pilz	GQ850313.1	97.54%	8e-173	357/366	619 bits(335)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX184761.1	100%	0.0	374/374	691 bits(374)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184827.1	99.73%	0.0	373/374	684 bits(370)		
	ASV2	8086	uncultured fungus	Pilz	JX184729.1	99.47%	0.0	372/374	678 bits(367)	Taxon unklar	
			Magnoliophyta environmental sample	Pilz	FJ554461.1	99.72%	4e-180	350/351	643 bits(348)		
			Trifolium pratense	Pilz	KY860927.1	99.72%	4e-180	350/351	643 bits(348)		
	ASV3	7689	Trifolium pratense	Pilz	MT610968.1	99.72%	4e-180	350/351	643 bits(348)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX184447.1	100%	0.0	394/394	728 bits(394)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184739.1	99.24%	0.0	392/395	712 bits(385)		
	ASV4	5940	uncultured fungus	Pilz	JX184723.1	98.98%	0.0	390/394	706 bits(382)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX184485.1	99.71%	6e-179	349/350	640 bits(346)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184467.1	99.71%	6e-179	349/350	640 bits(346)		
	ASV5	4563	uncultured fungus	Pilz	JX184803.1	98.58%	3e-172	346/351	617 bits(334)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX184608.1	99.49%	0.0	393/395	719 bits(389)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184427.1	99.49%	0.0	393/395	719 bits(389)		
	ASV6	4314	uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	99.49%	0.0	393/395	717 bits(388)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX184453.1	99.71%	1e-175	343/344	628 bits(340)		
			uncultured fungus	Pilz	JX184462.1	99.71%	1e-175	343/344	628 bits(340)		
424126	ASV1	16675	uncultured fungus	Pilz	JX184808.1	99.42%	2e-174	343/344	625 bits(338)	Trifolium	
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ554461.1	99.72%	4e-180	350/351	643 bits(348)		
			Trifolium pratense	Pflanze	KY860927.1	99.72%	4e-180	350/351	643 bits(348)		
	ASV2	1724	Trifolium pratense	Pflanze	MT610968.1	99.72%	4e-180	350/351	643 bits(348)	Juncus	
			Juncus wallichianus	Pflanze	AB540127.1	92.16%	7e-118	294/319	436 bits(236)		
			Juncus wallichianus	Pflanze	AB985731.1	92.16%	7e-118	294/319	436 bits(236)		
	ASV3	1465	Juncus articulatus	Pflanze	MT796520.1	91.85%	3e-116	293/319	431 bits(233)	Taxon unklar	
			uncultured Ascomycota	Pilz	AM901813.1	99.61%	7e-127	254/255	466 bits(252)		
			fungal sp.	Pilz	MH625394.1	99.61%	3e-126	253/254	464 bits(251)		
	ASV4	1302	Pyrenochaetopsis sp.	Pilz	OR392745.1	99.22%	3e-125	253/255	460 bits(249)	Taxon unklar	
			Magnoliophyta environmental sample	Pilz	FJ554461.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)		
			Trifolium pratense	Pilz	KY860927.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)		
	ASV5	1215	Trifolium pratense	Pilz	MT610968.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)	Taxon unklar	
			uncultured fungus	Pilz	JX318430.1	100%	6e-143	281/281	520 bits(281)		
			uncultured fungus	Pilz	JX377528.1	100%	6e-143	281/281	520 bits(281)		

426548		uncultured fungus	Pilz	JX377000.1	100%	6e-143	281/281	520 bits(281)	
	ASV6	1143	Magnoliophyta environmental sample	Pilz	FJ554461.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
			Trifolium pratense	Pilz	KY860927.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
			Trifolium pratense	Pilz	MT610968.1	99.43%	2e-178	349/351	638 bits(345)
	ASV1	3736	Geum aleppicum	Pflanze	MH710713.1	98.84%	3e-172	342/346	617 bits(334)
			Geum aleppicum	Pflanze	MT924062.1	98.84%	3e-172	342/346	617 bits(334)
			Geum aleppicum	Pflanze	MH712589.1	98.84%	3e-172	342/346	617 bits(334)
	ASV2	3285	uncultured Neocallimastigales	Pilz	MH039198.1	98.90%	0.0	359/363	647 bits(350)
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	MN975404.1	98.90%	0.0	359/363	647 bits(350)
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	MH039081.1	98.90%	0.0	359/363	647 bits(350)
426549	ASV3	2818	Potentilla tabernaemontani	Pflanze	FN555612.1	99.73%	0.0	368/369	676 bits(366)
			Potentilla alba	Pflanze	FN430774.1	99.19%	0.0	366/369	667 bits(361)
			Potentilla apennina var. apennina	Pflanze	KT985671.1	97.83%	2e-178	361/369	638 bits(345)
	ASV4	2178	Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.04%	1e-175	361/372	628 bits(340)
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)
	ASV5	2090	uncultured Neocallimastigales	Pilz	MH039198.1	99.17%	0.0	360/363	652 bits(353)
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	MN975404.1	99.17%	0.0	360/363	652 bits(353)
			uncultured Neocallimastigales	Pilz	MH039081.1	99.17%	0.0	360/363	652 bits(353)
	ASV6	1622	Rosa kwangtungensis	Pflanze	KP093152.1	99.73%	0.0	367/368	675 bits(365)
426841	ASV1	13797	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	99.19%	0.0	369/372	671 bits(363)
			uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	99.19%	0.0	369/372	671 bits(363)
			uncultured fungus	Pilz	JX184865.1	99.93%	0.0	370/374	667 bits(361)
	ASV2	6890	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	99.73%	0.0	371/372	682 bits(369)
			uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	99.73%	0.0	371/372	682 bits(369)
			uncultured fungus	Pilz	JX184865.1	99.47%	0.0	372/374	678 bits(367)
	ASV3	6713	uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	99.24%	0.0	392/395	712 bits(385)
			uncultured fungus	Pilz	JX184618.1	99.24%	0.0	392/395	712 bits(385)
			uncultured fungus	Pilz	JX184447.1	98.99%	0.0	391/395	706 bits(382)
	ASV4	5679	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	99.46%	0.0	370/372	676 bits(366)
429166	ASV5	4388	uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	99.46%	0.0	370/372	676 bits(366)
			uncultured fungus	Pilz	JX184865.1	99.20%	0.0	371/374	673 bits(364)
	ASV6	4000	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	98.92%	0.0	368/372	665 bits(360)
			Neocallimastix frontalis	Pilz	MK036672.1	98.93%	0.0	369/373	665 bits(360)
			uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	98.92%	0.0	368/372	665 bits(360)
	ASV1	5509	Juglans regia	Pflanze	MH712684.1	99.74%	0.0	377/378	693 bits(375)
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM514966.1	99.73%	0.0	366/367	673 bits(364)
			Juglans regia	Pflanze	AF399876.1	99.72%	0.0	361/362	664 bits(359)
	ASV2	566	Geum aleppicum	Pflanze	MH710713.1	98.84%	0.0	342/34	617 bits(334)
			Geum aleppicum	Pflanze	MT924062.1	98.84%	0.0	342/34	617 bits(334)
431288			Geum aleppicum	Pflanze	MH712589.1	98.84%	0.0	342/34	617 bits(334)
	ASV3	506	Lathyrus pratensis	Pflanze	AY839384.1	98.51%	6e-164	330/335	590 bits(319)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MT198944.1	99.08%	3e-162	323/326	584 bits(316)
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	FJ552695.1	96.34%	1e-161	342/355	582 bits(315)
	ASV4	301	-	-	-	-	-	-	Keine signifikante Ähnlichkeit gefunden.
			-	-	-	-	-	-	
	ASV5	300	Pyrenochaetopsis leptospora	Pilz	MZ098685.1	100%	4e-129	256/256	473 bits(256)
			uncultured Phaeosphaeria	Pilz	HG936175.1	100%	4e-129	256/256	473 bits(256)
			uncultured Phaeosphaeria	Pilz	HG936186.1	100%	4e-129	256/256	473 bits(256)
	ASV6	286	Enterocloster boltea	Bacterium	CP053229.1	86.90%	3e-71	219/252	281 bits(152)
431288			Enterocloster boltea	Bacterium	CP094684.1	86.90%	3e-71	219/252	281 bits(152)
			Enterocloster boltea	Bacterium	CP022464.2	86.90%	3e-71	219/252	281 bits(152)
	ASV1	9755	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	100%	0.0	372/372	688 bits(372)
			uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	100%	0.0	372/372	688 bits(372)
			uncultured fungus	Pilz	JX184729.1	99.73%	0.0	372/373	682 bits(369)
	ASV2	6329	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	99.19%	0.0	369/372	671 bits(363)
			uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	99.19%	0.0	369/372	671 bits(363)
			uncultured fungus	Pilz	JX184865.1	98.93%	0.0	370/374	667 bits(361)
	ASV3	5171	uncultured fungus	Pilz	JX184418.1	99.74%	0.0	382/383	702 bits(380)
			uncultured fungus	Pilz	JX184725.1	99.74%	0.0	382/383	702 bits(380)
431288			uncultured fungus	Pilz	JX184487.1	99.48%	0.0	381/383	697 bits(377)
	ASV4	4811	uncultured fungus	Pilz	JX184447.1	99.75%	0.0	394/395	723 bits(391)
			uncultured fungus	Pilz	JX184739.1	99.49%	0.0	393/395	717 bits(388)
			uncultured fungus	Pilz	JX184723.1	98.73%	0.0	390/395	701 bits(379)
	ASV5	3089	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	99.73%	0.0	371/372	682 bits(369)
			Neocallimastix frontalis	Pilz	MK036672.1	99.73%	0.0	372/373	682 bits(369)
			uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	99.73%	0.0	371/372	682 bits(369)
	ASV6	2282	uncultured fungus	Pilz	JX184608.1	99.49%	0.0	393/395	719 bits(389)
			uncultured fungus	Pilz	JX184427.1	99.49%	0.0	393/395	719 bits(389)
			uncultured fungus	Pilz	JX184612.1	99.49%	0.0	393/395	717 bits(388)
431288	ASV1	28885	Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049142.1	96.46%	2e-153	327/339	555 bits(300)
			Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049143.1	96.15%	3e-151	325/338	547 bits(296)
			Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049135.1	96.15%	3e-151	325/338	547 bits(296)
	ASV2	14409	Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049142.1	96.76%	4e-155	328/339	560 bits(303)
			Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049143.1	96.45%	7e-153	326/338	553 bits(299)
			Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049135.1	96.45%	7e-153	326/338	553 bits(299)
	ASV3	11343	Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049142.1	97.94%	1e-161	332/339	582 bits(315)
			Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049143.1	96.46%	8e-153	327/339	553 bits(299)
			Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049135.1	96.46%	8e-153	327/339	553 bits(299)
	ASV4	6784	Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049142.1	95.92%	4e-151	329/343	547 bits(296)
431288			Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049139.1	95.10%	2e-148	330/347	538 bits(291)
			Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049134.1	94.52%	1e-145	328/347	529 bits(286)
	ASV5	2669	Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049143.1	93.27%	1e-135	319/342	496 bits(268)
			Aestipascuomyces dupliciliberans	Pilz	MW049135.1	93.27%	1e-135	319/342	496 bits(268)
			Chytridiomycota sp. MS-2020a	Pilz	MT984231.1	93.27%	1e-135	319/342	496 bits(268)
			uncultured fungus	Pilz	JX184754.1	99.73%	0.0	373/374	684 bits(370)
	ASV6	1880	uncultured fungus	Pilz	JX184460.1	99.73%	0.0	372/373	682 bits(369)
			uncultured fungus	Pilz	JX184763.1	99.73%	0.0	372/373	682 bits(369)
	ASV1	14515	uncultured fungus	Pilz	JX184453.1	99.71%	1e-175	343/344	628 bits(340)
			uncultured fungus	Pilz	JX184462.1	99.71%	1e-175	343/344	628 bits(340)
431288			uncultured fungus	Pilz	JX184808.1	99.42%	2e-174	343/345	625 bits(338)
	ASV2	6650	uncultured fungus	Pilz	JX184453.1	99.42%	6e-174	342/344	623 bits(337)
			uncultured fungus	Pilz	JX184462.1	99.42%	6e-174	342/344	623 bits(337)
			uncultured fungus	Pilz	JX184808.1	99.13%	7e-173	342/345	619 bits(335)
	ASV3	5877	Botrytis cinerea	Pilz	ON740896.1	100%	2e-133	264/264	488 bits(264)
			Botrytis cinerea	Pilz	OK661040.1	100%	2e-133	264/264	488 bits(264)
			Botrytis cinerea	Pilz	MZ078510.1	100%	2e-133	264/264	488 bits(264)
	ASV4	4689	Pseudozyma pruni	Pilz	MT635317.1	99.67%	1e-155	306/307	562 bits(304)
			Pseudozyma sp.	Pilz	MW534877.1	99.66%	2e-149	295/296	542 bits(293)

	ASV5	3280	uncultured fungus	Pilz	KF800438.1	95.36%	2e-149	329/345	542 bits(293)	Rubus
			Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.31%	3e-177	362/372	634 bits(343)	
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	98.07%	1e-176	356/363	632 bits(342)	
	ASV6	2290	Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	98.07%	1e-176	356/363	632 bits(342)	Taxon unklar
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273401.1	96.32%	1e-160	340/353	579 bits(313)	
			Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273360.1	96.56%	5e-160	337/349	577 bits(312)	
432767	ASV1	12195	Magnoliophyta environmental sample	Pflanze	MN273402.1	96.29%	6e-159	337/350	573 bits(310)	Rubus
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)	
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)	
	ASV2	9386	Rubus picticaulis	Pflanze	AF362724.1	99.17%	0.0	360/363	654 bits(354)	Rubus
			Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.85%	1e-180	364/372	645 bits(349)	
			Rubus allegheniensis	Pflanze	KF977442.1	97.58%	2e-178	363/372	638 bits(345)	
	ASV3	2723	Rubus mesogaeus	Pflanze	MH711075.1	97.57%	8e-178	362/371	636 bits(344)	Rubus
			Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.04%	1e-175	361/372	628 bits(340)	
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)	
	ASV4	1982	Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)	Plantago
			Plantago lanceolata	Pflanze	KY968842.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	
			Plantago lanceolata	Pflanze	AY101898.1	99.41%	2e-173	339/341	621 bits(336)	
	ASV5	1622	Plantago lanceolata	Pflanze	MW139236.1	99.41%	7e-173	339/341	619 bits(335)	Taxon unklar
			Sanguisorba minor	Pflanze	AY635037.1	99.18%	0.0	362/365	658 bits(356)	
			Bencomia caudata	Pflanze	AY634866.1	98.08%	8e-178	358/365	636 bits(344)	
ASV6	1135	Bencomia caudata	Pflanze	AY634864.1	98.08%	8e-178	358/365	636 bits(344)	Plantago	
		Plantago lanceolata	Pflanze	MW139236.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)		
		Plantago leiopetala	Pflanze	AJ548985.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)		
460842	ASV1	7477	Plantago lanceolata	Pflanze	AJ548984.1	99.71%	2e-174	340/341	625 bits(338)	Taxon unklar
			fungus sp. LL11_125	Pilz	KF057619.1	100%	8e-168	326/326	603 bits(326)	
			Ogataea sp.	Pilz	OK051621.1	99.69%	1e-166	326/327	599 bits(324)	
	ASV2	6025	Saccharomycetes sp. HZ23	Pilz	GU213445.1	100%	6e-164	319/319	590 bits(319)	Juglans
			Juglans regia	Pflanze	MH712684.1	99.74%	0.0	377/378	693 bits(375)	
			embryophyte environmental sample	Pflanze	KM514966.1	99.73%	0.0	366/367	673 bits(364)	
	ASV3	5711	Juglans regia	Pflanze	AF399876.1	99.72%	0.0	361/362	664 bits(359)	Corylus
			Corylus avellana	Pflanze	MT796542.1	99.70%	4e-170	332/333	610 bits(330)	
			Corylus heterophylla	Pflanze	MH710873.1	99.10%	9e-167	330/333	599 bits(324)	
	ASV4	4752	Corylus heterophylla	Pflanze	MH710920.1	99.10%	9e-167	330/333	599 bits(324)	Taxon unklar
			Striatonidium cinctum	Pilz	DQ135997.1	99.62%	1e-130	262/263	479 bits(259)	
			uncultured fungus	Pilz	JX388494.1	97.50%	5e-129	273/280	473 bits(256)	
	ASV5	4548	uncultured fungus	Pilz	JX388862.1	97.49%	5e-129	272/279	473 bits(256)	Taxon unklar
			uncultured Ascomycota	Pilz	AM901813.1	99.61%	7e-127	254/255	466 bits(252)	
			fungus sp.	Pilz	MH625394.1	99.61%	3e-126	253/254	464 bits(251)	
	ASV6	4066	Pyrenochaetopsis sp.	Pilz	OR392745.1	99.22%	3e-126	253/255	460 bits(249)	Taxon unklar
			Zygoascus meyerae	Pilz	KY106013.1	100%	8e-142	279/279	516 bits(279)	
			uncultured fungus	Pilz	MT527221.1	100%	8e-142	279/279	516 bits(279)	
461035	ASV1	7477	Zygoascus meyerae	Pilz	KY106015.1	99.64%	1e-139	278/279	508 bits(275)	Lysimachia
			Lysimachia savranii	Pflanze	PQ408483.1	96.24%	2e-143	307/319	521 bits(282)	
			Lysimachia azorica	Pflanze	AF164017.1	97.32%	2e-139	291/299	508 bits(275)	
	ASV2	6025	Lysimachia cf. monelli TL-2023	Pflanze	OQ513694.1	92.49%	5e-135	320/346	494 bits(267)	Taxon unklar
			Erysiphe alphetoides	Pilz	MZ424819.1	100%	2e-174	338/338	625 bits(338)	
			Erysiphe alphetoides	Pilz	OM855990.1	100%	2e-174	338/338	625 bits(338)	
	ASV3	5711	Erysiphe alphetoides	Pilz	KY660757.1	100%	2e-174	338/338	625 bits(338)	Taxon unklar
			uncultured fungus	Pilz	KX514851.1	100%	2e-128	255/255	472 bits(255)	
			Filobasidium magnum	Pilz	KY103434.1	100%	2e-128	255/255	472 bits(255)	
	ASV4	4752	Filobasidium sp.	Pilz	PQ540092.1	100%	2e-128	255/255	472 bits(255)	Rubus
			Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	97.04%	1e-175	361/372	628 bits(340)	
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)	
	ASV5	4548	Rubus picticaulis	Pflanze	AF362725.1	97.80%	5e-175	355/363	627 bits(339)	Taxon unklar
			Tilletiopsis washingtonensis	Pilz	OM337572.1	100%	3e-151	296/296	547 bits(296)	
			Tilletiopsis sp.	Pilz	OL304246.1	100%	3e-151	296/296	547 bits(296)	
	ASV6	4066	Tilletiopsis sp.	Pilz	OL304247.1	100%	3e-151	296/296	547 bits(296)	Rubus
			Rubus thibetanus	Pflanze	MH711174.1	96.77%	6e-174	360/372	623 bits(337)	
			Rubus picticaulis	Pflanze	AF362723.1	97.52%	2e-173	354/363	621 bits(336)	
			Rubus foliosus	Pflanze	KM037328.1	99.71%	2e-173	338/339	621 bits(336)	