

5 Ergebnisse

5.1 Phylogenetische Charakterisierung der Endosymbionten

Die phylogenetische Einordnung von Bakterien konnte lange Zeit nur anhand von morphologischen oder physiologischen Merkmalen durchgeführt werden. Erst die Entwicklung moderner molekularbiologischer Techniken machte es möglich, durch RNA- bzw. DNA-Analyse phylogenetische Stammbäume von Prokaryonten zu erstellen.

Ribosomen, die Orte der Proteinsynthese, sind in ihrer Funktion hoch konservativ und in allen pro- und eukaryontischen Zellen enthalten. Ihre nur gering degenerierbare ribosomale RNA (rRNA) stellt einen hervorragenden genetischen Marker für die Erstellung phylogenetischer Stammbäume dar. Betrachtet man die 16S rRNA der kleinen Untereinheit der Ribosomen verschiedener Mikroorganismen so fällt auf, dass es sich um hoch konservierte Sequenzen handelt. Die wenigen variablen Bereiche innerhalb dieser ermöglichen es jedoch einen phylogenetischen Stammbaum zu erstellen. Damit gelingt es auch, nicht kultivierbare Bakterien systematisch einzuordnen, deren rDNA durch PCR amplifiziert werden kann.

Bei der molekularen Stammbaumanalyse von Eukaryonten hat sich die Sequenz der mitochondrialen DNA als besonders geeignet erwiesen, da die Substitutionsrate der Nukleotide in der mitochondrialen DNA höher liegt als bei Genen des Zellkerns und somit die Stammbaumanalyse mit feinerer Zeitauflösung erfolgen kann. Da die mitochondriale DNA außerdem nur mütterlich vererbt wird, ist die Rekombinationsrate stark eingeschränkt. Bei eukaryontischen Organismen eignen sich die Sequenzen von Enzymen der Atmungskette besonders gut für vergleichende evolutive Untersuchungen, wie z.B. die Cytochromoxidase. Sie stellt einen Enzymkomplex dar, der in der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert ist.

In dieser Arbeit wurden die systematischen Beziehungen zwischen intrazellulären Endosymbionten und ihren Wirten, den Ameisen der Gattung *Camponotus*, näher untersucht. Hierfür wurden die 16S rRNA-Sequenzen der Endosymbionten von *Camponotus*-Arten unterschiedlicher Herkunft verglichen und phylogenetisch eingeordnet. Da keine Reinkultur der Symbionten zur Verfügung stand, wurde ein Mitteldarmrohlysat, das die Symbionten beinhaltet, als Template für eine Polymerase-Kettenreaktion (PCR) verwendet. Mit den universellen Primern SL und SR, die aus Randbereichen der 16S rDNA stammen, wurde ein ca. 1,4 kb großes PCR-Produkt amplifiziert, welches in

den Vektor pUC18 kloniert wurde. Anschließend wurden die erhaltenen Klone sequenziert und anhand ihrer Sequenzen phylogenetisch eingeordnet.

Um die Wirte der Endosymbionten, die Ameisen der Gattung *Camponotus*, phylogenetisch zu charakterisieren, wurde ihre Gesamt-DNA isoliert und damit eine PCR durchgeführt, bei der mit Hilfe der Primer „Jerry“ und „Ben3R“ (Gadau et al., 1999) ein ca. 385 bp großes Genfragment der Cytochrom Oxidase Untereinheit I (COI) amplifiziert wurde. Dieses konnte anschließend sequenziert und phylogenetisch eingeordnet werden. Die phylogenetisch untersuchten Ameisenarten sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tab. 1: Ameisenarten, die für die Erstellung der phylogenetischen Stammbäume verwendet wurden und die Genbank Kenn-Nummern der 16S rDNA-Sequenzen (Symbionten) bzw. der COI-Sequenzen (Ameisen) EMBL-Datenbank (<http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/embfetch>)

Arten (Untergattung)	Kenn-Nummer (16S rDNA)	Kenn-Nummer (COI Sequenzen)
<i>Camponotus (Myrmothrix) atriceps</i>	AJ245591	AF186361
<i>Camponotus (Tanaemyrmex) balzani</i>	AJ245596	AF187955
<i>Camponotus (Tanaemyrmex) castaneus</i>	AJ245594	AF187959
<i>Camponotus (Myrmothrix) floridanus</i>	X92549	AF186362
<i>Camponotus (Camponotus) herculeanus (E)*</i>	X92550	AF176687
<i>Camponotus (Camponotus) herculeanus (A)*</i>	AJ250715	AF176687♦
<i>Camponotus (Camponotus) ligniperdus</i>	X92551	AF176686
<i>Camponotus (Camponotus) pennsylvanicus</i>	AJ245598	AF189360
<i>Camponotus (Myrmothrix) rufipes</i>	X92552	AF187957
<i>Camponotus (Myrmothrix) rufipes B</i>	AJ245597	AF187956
<i>Camponotus (Myrmepomis) sericeiventris</i>	AJ245593	AF187960
<i>Camponotus (Tanaemyrmex) silvicola</i>	AJ245592	AF187954
<i>Camponotus (Tanaemyrmex) socius</i>	AJ245595	AF187958

* *Camponotus herculeanus* (E) und (A) wurden in Europa (E) und USA (A) gesammelt

♦ besitzt keine eigene Sequenz in Genbank, Sequenz identisch mit der von *C. herculeanus* (E)

5.1.1 Charakterisierung der 16S rDNA-Sequenzen der Endosymbionten der Ameisen

5.1.1.1 Phylogenetischer Stammbaum der *Camponotus*-Endosymbionten

Zusätzlich zu den schon früher beschriebenen *rrs*-Sequenzen der vier Arten *C. herculeanus* (E), *C. ligniperdus*, *C. floridanus* und *C. rufipes* (Schroeder et al. 1996)

wurden die 16S rRNA-Sequenzen der Endosymbionten von neun weiteren *Camponotus*-Arten amplifiziert und analysiert. Die vollständigen Sequenzen sind in der EMBL-Datenbank (<http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/emblfetch>) zu finden (Kenn-Nummern: siehe Tab. 1). Der GC-Gehalt der 16S rDNA-Sequenzen der *Camponotus*-Symbionten liegt zwischen 48 und 50 mol%. Ihre Ähnlichkeitswerte (in Prozent) sind in Tabelle 2 dargestellt. Dabei bedeutet ein Ähnlichkeitswert von 100%, vollständige Übereinstimmung der jeweiligen Sequenzen.

Tab. 2: Ähnlichkeitswerte der 16S rDNA der *Camponotus*-Endosymbionten. Alle Angaben in Prozent.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
1. <i>C. sericeiventris</i>	X											
2. <i>C. silvicola</i>	95.5	X										
3. <i>C. balzani</i>	96.2	96.8	X									
4. <i>C. floridanus</i>	96.6	95.4	96.1	X								
5. <i>C. atriceps</i>	96.5	95.6	95.9	98.8	X							
6. <i>C. rufipes</i>	96.2	95.6	96.7	98.7	98.4	X						
7. <i>C. rufipes</i> B	95.8	96.0	96.5	97.9	97.9	98.9	X					
8. <i>C. socius</i>	95.5	94.3	95.2	95.7	95.5	95.5	95.0	X				
9. <i>C. ligniperdus</i>	96.0	95.6	96.2	96.4	96.8	96.6	96.4	97.2	X			
10. <i>C. herculeanus</i> (E)	96.1	95.7	96.2	96.2	96.4	96.4	96.2	97.0	99.2	X		
11. <i>C. herculeanus</i> (A)	96.2	95.8	96.3	96.3	96.4	96.5	96.3	97.1	99.2	99.5	X	
12. <i>C. pennsylvanicus</i>	96.0	95.4	95.4	95.7	96.3	95.7	96.1	97.0	98.2	98.1	99.2	X
13. <i>C. castaneus</i>	96.1	95.7	95.5	96.0	96.6	96.0	96.4	97.2	98.5	98.3	98.4	99.7

Der Sequenzvergleich mit allen im Ribosomal Database Project (RDP) vereinigten 16S rDNA-Sequenzen zeigte, dass alle 13 Symbiontenarten eng miteinander verwandt sind.

Die Ergebnisse der phylogenetischen Untersuchungen an den *Camponotus*-Endosymbionten sind im nachfolgenden Stammbaum dargestellt (Abb. 3). Für seine Erstellung wurde eine Kombination aus drei statistischen Programmen verwendet (Square Distance Methode, Maximum Likelihood, Neighbour Joining), die im Programmpaket PHYLIP (phylogeny interference package), Version 3.5c (Felsenstein 1993; Saitou und Nei 1987) enthalten sind. Die angegebenen bootstrap-Werte der Verzweigungen beruhen auf 500 Replikationen und sind mit Werten zwischen 89 und 100% hoch signifikant (Abb. 3). Für ihre Errechnung wurden die Programme NJFIND und NJBOOT verwendet.

Die *Camponotus*-Endosymbionten (Abb. 3) gehören der γ -Subklasse der Proteobakterien an. Innerhalb der 13 untersuchten *Camponotus*-Symbionten existieren drei

Untergruppen (Abb. 3; graue Balken), in denen die einzelnen Arten enger miteinander verwandt sind als mit den nächstbenachbarten Arten.

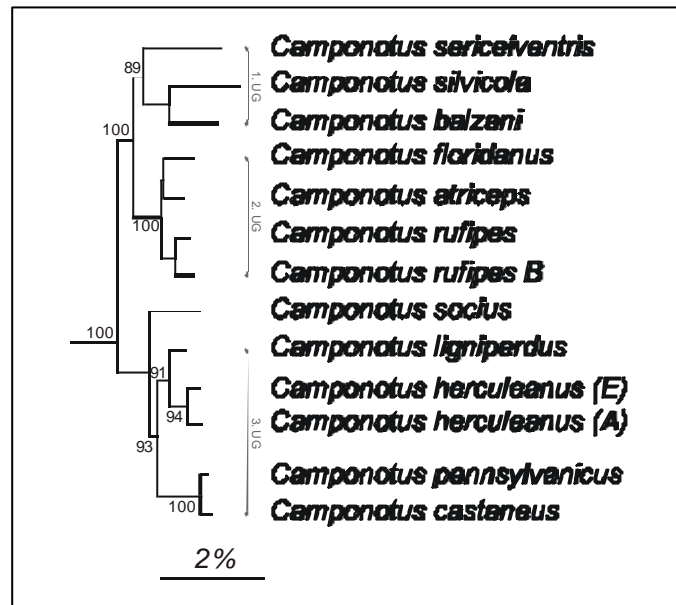


Abb. 3: Der phylogenetische Stammbaum der Bakterien von Ameisen der Gattung *Camponotus*. Er basiert auf 16S rDNA-Vergleiche und wurde mit Hilfe des Computerprogrammes PHYLIP, Version 3.5c (Felsenstein 1993; Saitou und Nei 1987) erstellt. Der Balken steht für 2% Unterschied zwischen korrigierten Sequenzen (Jukes und Cantor 1969). Die Unterschiede zwischen Arten werden durch die Längenmessung der horizontalen Linien, die diese Arten verbinden, berechnet. Als graue Balken sind die 3 Untergruppen (UG) dargestellt, in welche die Symbionten unterteilt werden können.

Der ersten Untergruppe (Abb. 3) gehören die Symbionten der südamerikanischen Ameisenarten *Camponotus silvicola* (Peru) und *Camponotus balzani* (Peru) an, deren 16S rDNA-Sequenzen einen Ähnlichkeitswert von 96.8% besitzen (Tab. 2). Der *C. sericeiventris*-Symbiont (Argentinien) besitzt einen geringeren Ähnlichkeitswert, gehört jedoch ebenfalls in diese Untergruppe (Ähnlichkeit 95.5-96.2%) (Tab. 2). Die zweite Untergruppe enthält die vier *Camponotus*-Arten *C. floridanus* (Florida, USA), *C. atriceps* (Trinidad), *C. rufipes* (Brasilien) und *C. rufipes B* (Argentinien), die Ähnlichkeitswerte von 97.9-98.9% besitzen (Tab. 2). Die Symbionten der Arten *C. ligniperdus* (Deutschland) und *C. herculeanus* (Deutschland und USA) bilden mit den beiden in den USA beheimateten Arten *C. pennsylvanicus* und *C. castaneus* die dritte Untergruppe mit 98.1-99.7% Ähnlichkeit (Tab. 2). Der *Camponotus socius*-Symbiont (Florida, USA) kann in keine der drei Untergruppen eingeordnet werden. Er weist jedoch mit der dritten Untergruppe (*C. ligniperdus*, *C. herculeanus*, *C. pennsylvanicus*, *C. castaneus*; 97.0-97.2%) höhere Ähnlichkeit auf, als mit den beiden anderen Untergruppen (Ähnlichkeitswerte 94.3-97.2%).

5.1.1.2 Phylogenetischer Stammbaum der *Camponotus*-Endosymbionten und ihre nächstverwandten Bakteriennachbarn

Im nachfolgenden Stammbaum (Abb. 4), sind die Verwandtschaftsverhältnisse der *Camponotus*-Endosymbionten zu weiteren Mitgliedern der γ -Subklasse der Proteobakterien dargestellt.

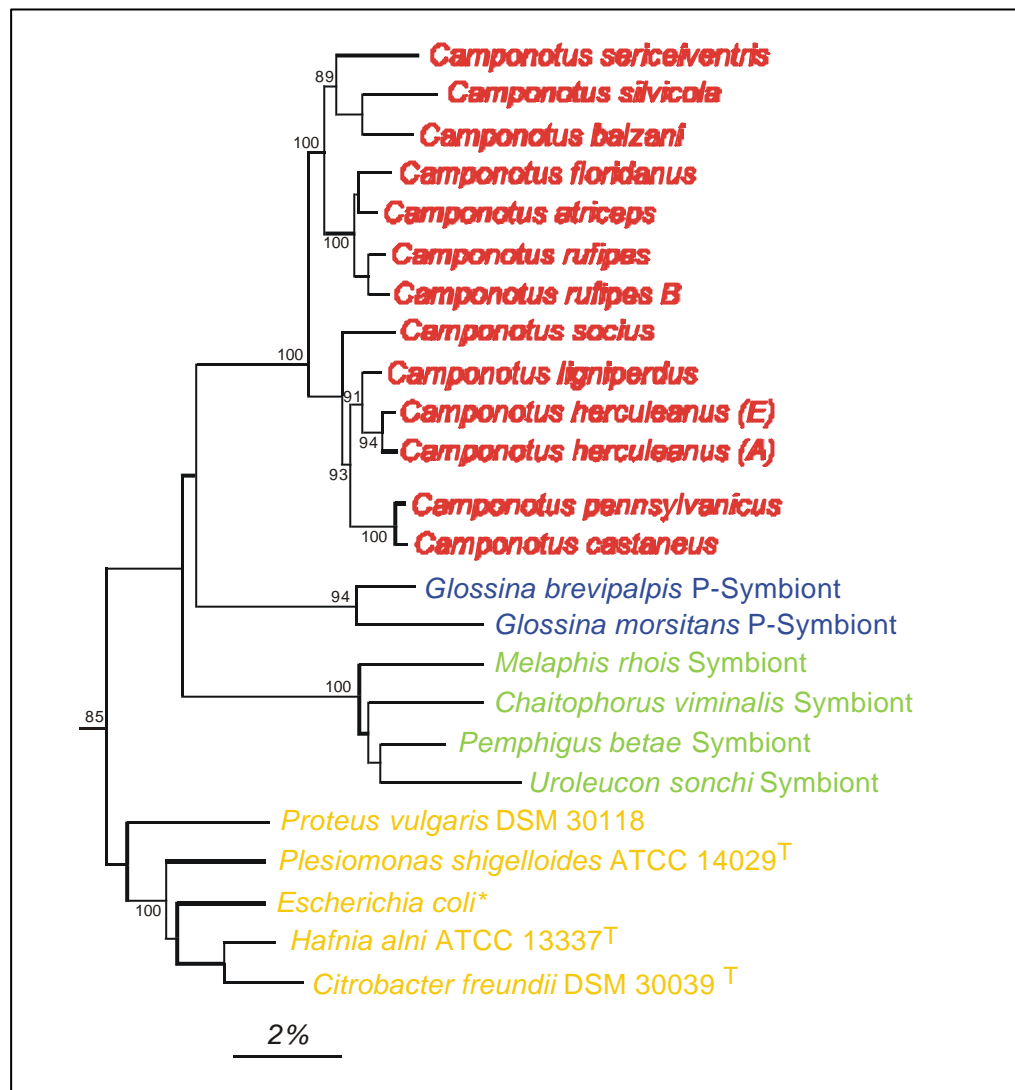


Abb. 4: Der phylogenetische Stammbaum von verschiedenen Mitgliedern der γ -Subklasse der Proteobakterien. Er basiert auf 16S rDNA-Vergleiche und wurde mit Hilfe des Computerprogrammes PHYLIP, Version 3.5c (Felsenstein 1993; Saitou und Nei 1987) erstellt. Der Balken steht für 2% Unterschied zwischen korrigierten Sequenzen (Jukes und Cantor 1969). Die Unterschiede zwischen Arten werden durch die Längenmessung der horizontalen Linien, die diese Arten verbinden, berechnet.

Die Symbionten von Ameisen der Gattung *Camponotus* sind rot dargestellt. Zum Vergleich sind außerdem phylogenetische Analysen von zwei P-Symbionten der Tsetsefliegen (blau), vier P-Symbionten der Aphiden (grün) und einige Mitglieder der *Enterobacteriaceae* (gelb) dargestellt.

Der Stammbaum wurde ebenfalls mit dem Computerprogramm PHYLIP, Version 3.5c (Felsenstein 1993; Saitou und Nei 1987) konstruiert. Die angegebenen bootstrap-Werte der Verzweigungen sind mit Werten zwischen 85 und 100% hoch signifikant (Abb. 4). Aufgrund von Sequenzvergleichen mit allen im Ribosomal Database Project (RDP) vereinigten 16S rDNA-Sequenzen, wurden die nächstverwandten Arten der *Camponotus*-Endosymbionten ermittelt. Es handelt sich dabei um die P-Symbionten der Tsetsefliegen (Abb. 4; blau) und die P-Symbionten der Aphiden (Abb. 4; grün). Da sich die *Camponotus*-Endosymbionten zu mehr als 7% von diesen nächstverwandten Arten unterscheiden, bilden sie innerhalb der γ -Untergruppe der Proteobakterien ein eigenes Cluster. Innerhalb dieser γ -Untergruppe bilden die Bakterien der Ameisen, Tsetsefliegen und Aphiden eine Gruppe von endosymbiontischen Bakterien, die nahe mit Mitgliedern aus der Familie der *Enterobacteriaceae* (Abb. 4; gelb) verwandt ist.

Beim Vergleich eines weiteren taxonomischen Merkmals, dem GC-Gehalt der 16S rDNA, zeigte sich, dass der GC-Gehalt der *Camponotus*-Symbionten (48-50 mol%) in etwa dem Gehalt der beiden verwandten Symbiontengattungen entspricht, während der GC-Gehalt der *Enterobacteriaceae* mit 53-55 mol% leicht höher liegt.

5.1.1.3 Intervenierende DNA-Sequenzen (IVS) innerhalb der *rrs* Gene der Symbionten

In einigen Bakteriengattungen, wie z.B. *Campylobacter*, *Helicobacter* und *Clostridium* wurden innerhalb der *rrs*-Gene sogenannte intervenierende Sequenzen (IVS) gefunden. Diese IVS repräsentieren kurze DNA-Sequenzen, die in der reifen rRNA nicht vorhanden sind und in den 16S-Genen anderer Bakterien nicht gefunden wurden (Rainey et al. 1996).

Die 16S rDNA der *Camponotus*-Symbionten zeigt im Vergleich mit der 16S-Sequenz von *E. coli*, das keine IVS besitzt, ebenfalls das Vorhandensein von IVS. Diese sind an Position 82-88/83-87 (Insert I) und 207-212/208-211 (Insert II) der *E. coli rrs*-Sequenz lokalisiert und können unterschiedlich lang sein. Die Länge von Insert I variiert zwischen 7 und 21, die von Insert II zwischen 6 und 31 Nukleotiden. Bei den nächstverwandten Symbionten der Tsetsefliegen und Aphiden, sowie innerhalb der meisten *Enterobacteriaceae* existieren keine IVS. Der GC-Gehalt der intervenierenden Sequenzen der *Camponotus*-Endosymbionten liegt zwischen 5 und 33 mol%, mit Ausnahme des Inserts von *C. socius*, dessen GC-Gehalt 43 mol% beträgt. Alle Inserts können eine stabile

Sekundärstruktur ausbilden (Sauer et al. 2000). Als Beispiel sind nachfolgend (Abb. 5) die Strukturen der beiden intervenierenden Sequenzen der 16S rDNA vom *C. rufipes*-Endosymbionten dargestellt.

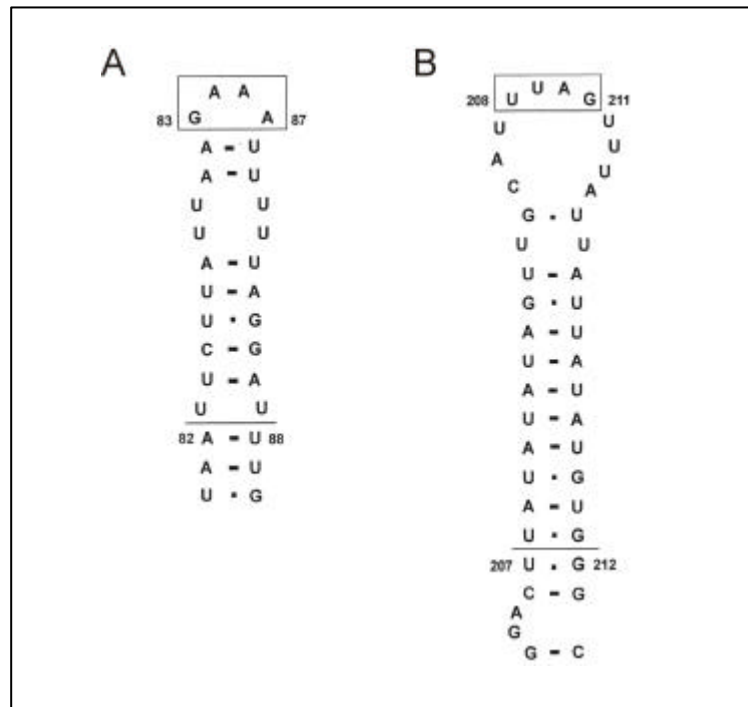


Abb. 5: Strukturen der beiden intervenierenden Sequenzen (IVS) der 16S rDNA von *C. rufipes*-Endosymbionten. Die Zahlen verweisen auf die entsprechenden Positionen innerhalb der *E. coli* 16S rDNA-Sequenz. A: Insert I; B: Insert II.

5.1.1.4 Untersuchung der Struktur des rDNA-Operons der *Camponotus*-Symbionten

Bei den *Enterobacteriaceae* sind die rRNA Gene als eine Transkriptionseinheit in der Reihenfolge 5'-16S-23S-5S-3' angeordnet. Das rDNA-Operon der Aphidensymbionten bildet eine interessante Ausnahme. Bei den Blattlaus-Symbionten sind die rRNA-Gene auf zwei Transkriptionseinheiten verteilt (Baumann et al. 1995a). In *Buchnera* liegt das Gen, das für die 16S RNA codiert nicht strangaufwärts vom 23S RNA Gen (Rouhbakhsh und Baumann 1995). In der Gattung *Wigglesworthia* (Symbionten der Tsetsefliegen) dagegen findet man die gleiche Reihenfolge wie in den Enterobakterien, wo das 16S rDNA-Gen strangaufwärts vom 23S rDNA-Gen liegt (Aksoy 1995a).

Um zu überprüfen, wie die Anordnung der rRNA-Gene bei den *Camponotus*-Symbionten ist, wurde eine PCR durchgeführt. An Darmrohlysaten, die Ameisen-Symbionten enthielten, wurde versucht, mit Hilfe der Primer BU16S (Endbereich 16S-Gen) und BU23S (Anfangsbereich 23S-Gen), das zwischen den beiden Genen

liegende DNA-Stück (ca. 500 bp) zu amplifizieren (Aksoy 1995a; Aksoy et al. 1997). Als Kontrolle für die Anwesenheit der Symbionten innerhalb der verwendeten Darmlysate, wurde eine PCR mit den spezifischen 16S Symbionten-Primern CAMP.L und CAMP.R durchgeführt, die ein ca. 800 bp großes Produkt liefert.

In Abbildung 6 sind die PCR-Ergebnisse von 12 getesteten *Camponotus*-Symbionten dargestellt. Bei keinem der untersuchten Symbionten wurde bei der Verwendung der Primer BU16S bzw. BU23S ein Produkt (ca. 500 bp) erhalten (Abb. 6; B), obwohl Symbionten-DNA im Rohlysat vorhanden war (Abb. 6; A). Dies zeigt, dass die 16S rDNA der bisher untersuchten Ameisen-Symbionten, ähnlich wie bei den Aphiden, nicht strangaufwärts von der 23S rDNA lokalisiert ist. Die beiden Gene (16S bzw. 23S rDNA) sind, im Gegensatz zu denen von *E. coli* DH5 α , bei dem ein Produkt erhalten wurde (Abb. 6; B), scheinbar nicht innerhalb einer Transkriptionseinheit zu finden.

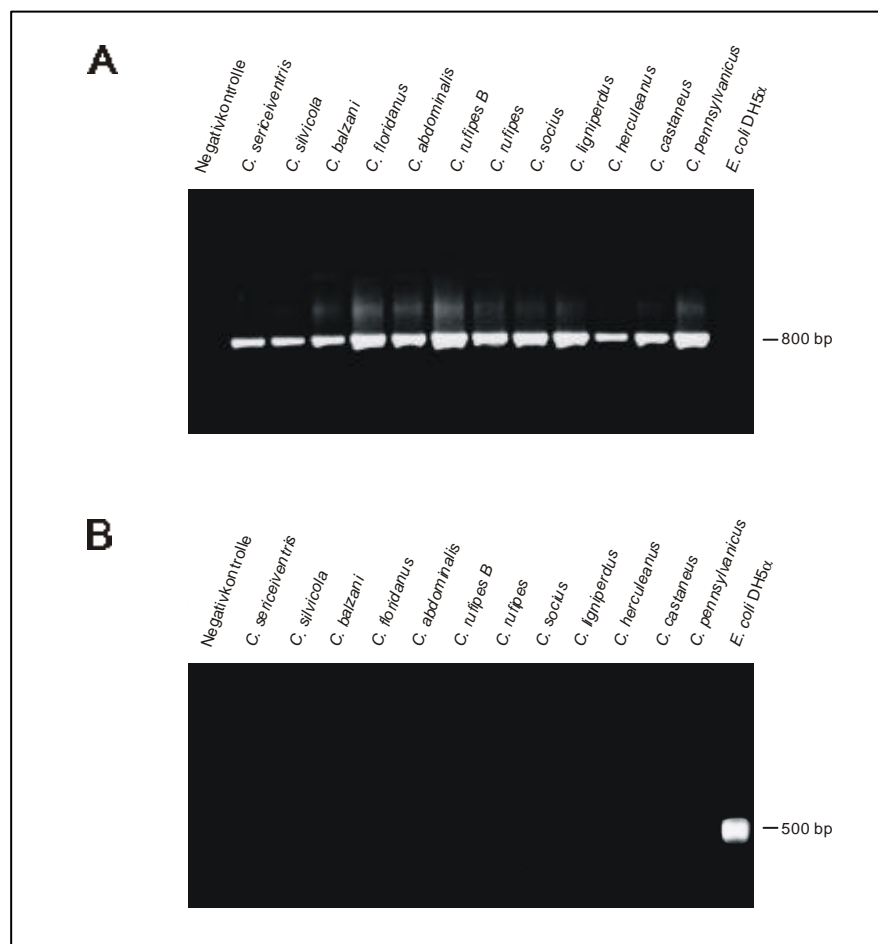


Abb. 6: A: Das Agarosegel zeigt die PCR-Produkte, die durch Amplifikation mit den spezifischen, innerhalb der 16S rDNA der Ameisen-Symbionten bindenden Primern CAMP.L und CAMP.R erhalten werden.

B: Das Agarosegel zeigt PCR-Produkte, die durch Amplifikation mit den Primern BU16S (Endbereich 16S-Gen) und BU23S (Anfangsbereich 23S-Gen) erhalten werden.

5.1.2 Charakterisierung der COI Sequenzen der Wirtsameisen

5.1.2.1 Phylogenetischer Stammbaum der *Camponotus*-Ameisen

Teilsequenzen (385 bp) der COI Gene von den dreizehn symbiontenträgenden *Camponotus*-Arten (Tab. 1), wurden für die Erstellung des Stammbaumes der Wirte (Abb. 7) benutzt. Ihre vollständigen Sequenzen sind in der EMBL-Datenbank (<http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/emblfetch>) zu finden (Kenn-Nummern: siehe Tab. 1). Die Ähnlichkeitswerte der Wirtsameisen (in Prozent) sind in Tabelle 3 dargestellt. Dabei bedeutet ein Ähnlichkeitswert von 100%, vollständige Übereinstimmung der jeweiligen Sequenzen.

Tab. 3: Ähnlichkeitswerte der Gensequenz der Cytochrom Oxidase Untereinheit I der Ameisenwirte (Jukes und Cantor, 1969). Alle Angaben in Prozent.

	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.
1. <i>C. sericeiventris</i>	85.4	81.5	84.4	81.2	81.9	83.2	85.4	82.9	82.9	82.9	82.2	85.7
2. <i>C. silvicola</i>	X	89.1	83.2	81.2	81.9	82.9	84.5	84.8	85.7	85.7	83.8	87.3
3. <i>C. balzani</i>		X	81.2	79.9	80.2	78.8	78.8	80.2	81.5	81.5	79.5	84.5
4. <i>C. floridanus</i>			X	91.5	87.6	88.5	83.5	80.9	80.5	80.5	80.5	83.8
5. <i>C. atriceps</i>				X	87.9	89.1	80.9	80.2	81.5	81.5	80.9	84.2
6. <i>C. rufipes</i>					X	97.1	80.9	80.2	79.9	79.9	80.5	84.2
7. <i>C. rufipes</i> B						X	81.5	80.5	80.9	80.9	80.9	84.8
8. <i>C. socius</i>							X	84.8	85.4	85.4	82.9	85.4
9. <i>C. ligniperdus</i>								X	95.7	95.7	92.9	87.6
10. <i>C. herculeanus</i> (E)									X	100	96.3	88.2
11. <i>C. herculeanus</i> (A)										X	96.3	88.2
12. <i>C. pennsylvanicus</i>											X	86.4
13. <i>C. castaneus</i>												X

Die Ergebnisse der phylogenetischen Untersuchungen an den *Camponotus*-Ameisen sind im nachfolgenden Stammbaum dargestellt (Abb. 7). Die phylogenetischen Analysen (Parsimonie) der COI-Teilsequenzen wurden mit Hilfe des Computerprogrammes PAUP*4.0b1 (Swofford 1998) durchgeführt. Die angegebenen bootstrap-Werte der Verzweigungsstellen beruhen auf 1000 Replikationen und sind mit Werten zwischen 63 und 100% signifikant.

Innerhalb des Stammbaumes der untersuchten Wirtsameisen existieren drei Untergruppen (Abb. 7; graue Balken), in denen die einzelnen Arten enger miteinander verwandt sind.

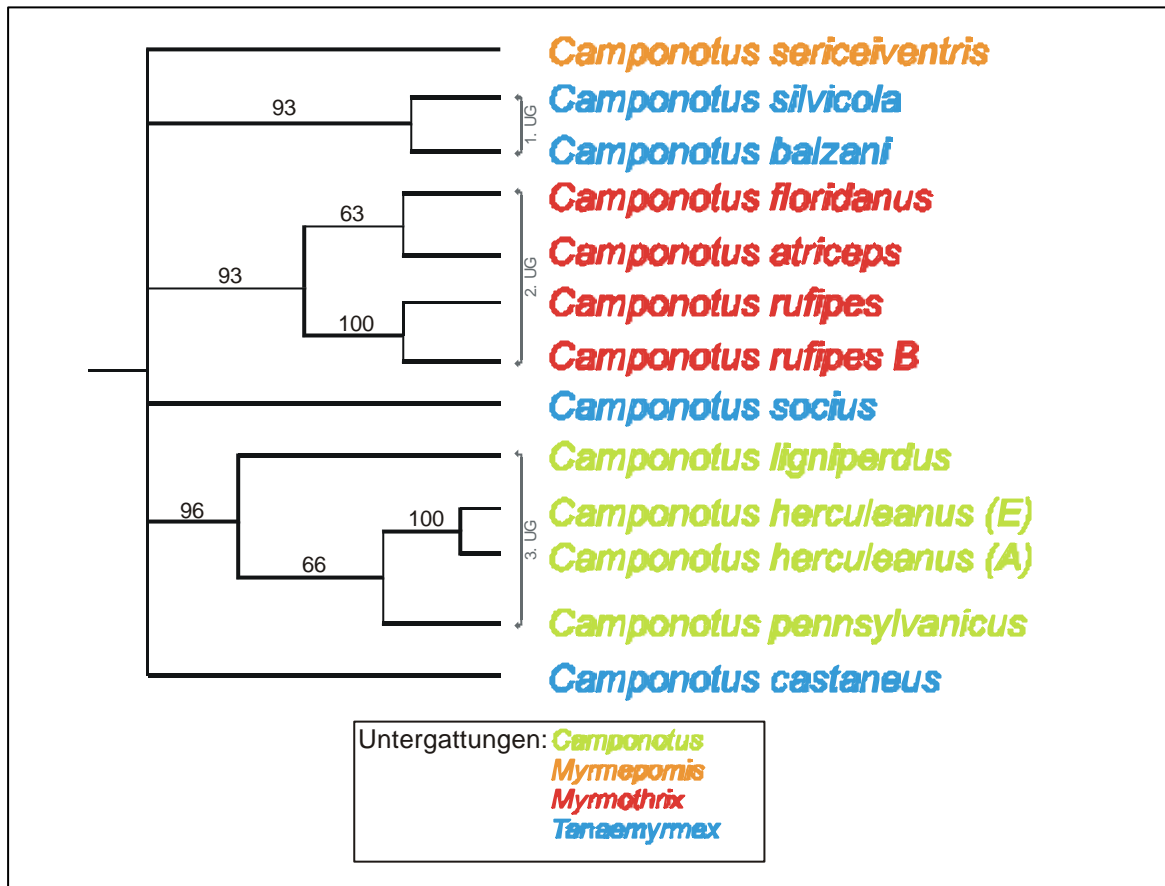


Abb. 7: Der phylogenetische Stammbaum der Wirtsameisen. Er basiert auf Vergleiche eines 385 bp großen Genfragments der COI und wurde mit Hilfe des PAUP* 4.0b1 Computerprogrammes (Swofford 1998) erstellt. Als graue Balken sind die 3 Untergruppen (UG) dargestellt, in welche die Wirtsameisen eingeteilt werden können. Farbige dargestellt die verschiedenen Untergattungen, denen die *Camponotus*-Ameisen angehören.

Der ersten Untergruppe gehören die beiden südamerikanischen Arten der Untergattung *Tanaemyrmex*, *C. silvicola* und *C. balzani* an (Abb. 7; blau). Die zweite Untergruppe bilden die Arten *C. floridanus*, *C. atriceps*, *C. rufipes B* und *C. rufipes*, die der Untergattung *Myrmotherix* angehören (Abb. 7; rot). Signifikante Unterschiede in COI-Sequenz, Physiologie und Lebensgewohnheiten von *Camponotus rufipes* und *Camponotus rufipes B* legen nahe, dass es sich bei diesen beiden um zwei unterschiedliche Arten handelt. *C. rufipes B* ist bisher jedoch noch nicht als eigene Art klassifiziert. Die in Deutschland gesammelten Arten *C. ligniperdus* und *C. herculeanus (E)* und die beiden nordamerikanischen Arten *C. herculeanus (A)* und *C. pennsylvanicus* aus der Untergattung *Camponotus* (Abb. 7; grün), bilden die dritte Untergruppe innerhalb des Ameisenstammbaumes. *Camponotus socius* und *Camponotus castaneus*, die wie die Arten der ersten Untergruppe der Untergattung *Tanaemyrmex* angehören (Abb. 7; blau), lassen sich in keines der Cluster einordnen. Betrachtet man allerdings die Ähnlichkeitswerte von

C. socius mit den nächststehenden Nachbarn, so scheint diese Art dem *Camponotus* (s.s)-Cluster (Ähnlichkeitswerte: 82.9-85.4%) im Gegensatz zum *Myrmothrix*-Cluster (Ähnlichkeitswerte: 81.5-83.5%) näher zu stehen. *Camponotus sericeiventris*, der einzige Vertreter aus der Untergattung *Myrmepomis* (Abb. 7; orange), lässt sich ebenfalls nicht in eine Gruppe näher verwandter Arten einordnen.

5.1.3 Vergleich der phylogenetischen Stammbäume der *Camponotus*-Endosymbionten und ihren Wirtsameisen

Bei den *Camponotus*-Endosymbionten wird von einem rein vertikalen Übertragungsweg ausgegangen. Man sollte daher annehmen, dass sich Symbiont und Wirt hoch kongruent entwickelt haben. Um dies zu überprüfen wurde der Symbionten-Stammbaum dem der Ameisen gegenübergestellt und verglichen (Abb. 8). Es zeigte sich, dass innerhalb der phylogenetischen Stammbäume der Endosymbionten und ihrer Wirte jeweils drei Untergruppen existieren, in denen die einzelnen Arten sehr eng miteinander verwandt sind (Abb. 8; graue Balken). Die direkte Gegenüberstellung zeigt ein weitgehend gleiches Verzweigungsmuster innerhalb der beiden der Stammbäume (Abb. 8). Beide Stammbäume zeigen signifikante Übereinstimmungen bezüglich ihrer taxonomischen Beziehungen und legen eine kongruente Evolution von Symbionten und Wirten nahe. Einzige Ausnahme bildet *C. castaneus*, deren Symbiont sehr eng mit dem *C. pennsylvanicus*-Symbionten verwandt ist, wohingegen sich der Ameisenwirt in dem auf den COI-Analysen basierenden Stammbaum nicht in die dritte Untergruppe einordnen lässt. Um Artefakte bei der Amplifikation und Sequenzierung der *C. castaneus*-Symbionten-DNA bzw. Wirts-DNA auszuschließen, wurden hier mehrere unabhängig voneinander gewonnene Klone untersucht, die jedoch immer das gleiche Ergebnis brachten.

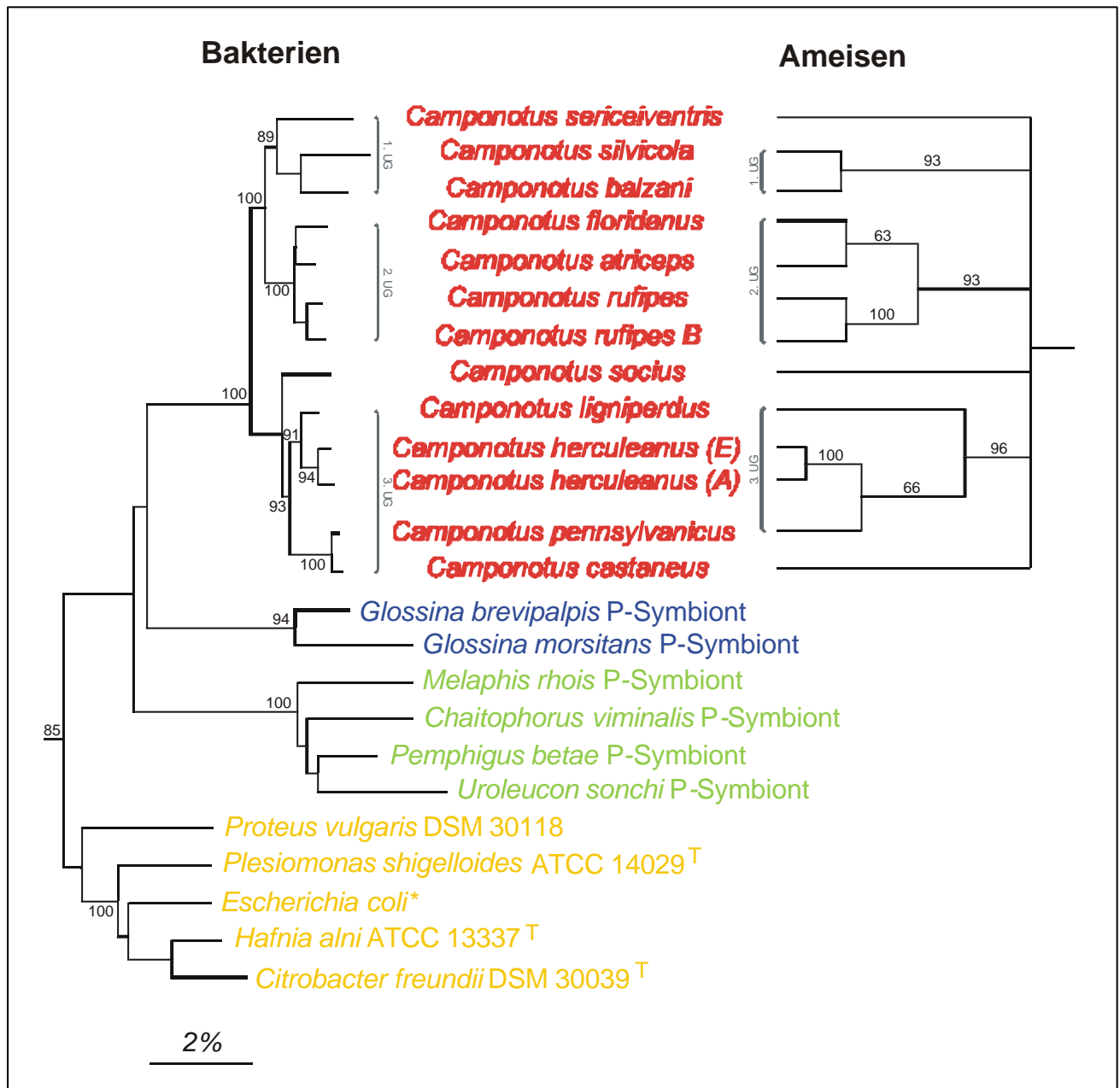


Abb. 8: Linker Stammbaum: Der phylogenetische Stammbaum der Bakterien von Ameisen der Gattung *Camponotus* (rot). Er basiert auf 16S rDNA-Vergleiche und wurde mit Hilfe des Computerprogrammes PHYLIP, Version 3.5c (Felsenstein 1993; Saitou und Nei 1987) erstellt. Der Balken steht für 2% Unterschied zwischen korrigierten Sequenzen (Jukes und Cantor 1969). Die Unterschiede zwischen Arten werden durch die Längenmessung der horizontalen Linien, die diese Arten verbinden, berechnet. Als graue Balken sind die 3 Untergruppen (UG) dargestellt, in welche die Symbionten unterteilt werden können. Zum Vergleich sind außerdem phylogenetische Analysen von zwei P-Symbionten der Tsetsefliegen (blau), vier P-Symbionten der Aphiden (grün) und einige Mitglieder der *Enterobacteriaceae* (gelb) dargestellt.

Rechter Stammbaum: Der phylogenetische Stammbaum der Wirtsameisen der Gattung *Camponotus* (rot). Er basiert auf Vergleiche eines 385 bp großen Genfragments der COI und wurde mit Hilfe des PAUP* 4.0b1 Computerprogrammes (Swofford 1998) erstellt. Als graue Balken sind die 3 Untergruppen (UG) dargestellt, in welche die Wirtsameisen eingeteilt werden können.