

**Phylogenetische Studie der
Remipedia Yager, 1981 basierend auf
molekularen Markern**

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades

Doktor der Naturwissenschaften

Dr. rer. nat.

genehmigte Dissertation von

Dipl.-Biol. Mario Hönemann

geboren am 31.05.1977 in Hannover.

2012

Referent: Prof. Dr. Stefan Könemann

Korreferentin: Prof. Dr. Ute Radespiel

Tag der Promotion: 16. April 2012

Erklärung zur Dissertation

Gemäß §6(1) der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover für die Promotion zum Dr. rer. nat..

Hierdurch erkläre ich, dass ich meine Dissertation mit dem Titel: „Phylogenetische Studie der Remipedia Yager, 1981 basierend auf molekularen Markern“ selbständig verfasst und die benutzten Hilfsmittel und Quellen sowie gegebenenfalls die zu Hilfeleistungen herangezogenen Institutionen vollständig angegeben habe. Die Dissertation wurde nicht schon als Masterarbeit, Diplomarbeit oder andere Prüfungsarbeit verwendet.

Unterschrift:

Mario Hönemann, den Gießen 15. November 2011

Inhaltsverzeichnis

Erklärung zur Dissertation	i
Inhaltsverzeichnis	ii
Abbildungsverzeichnis	iv
Tabellenverzeichnis	vi
Zusammenfassung	vii
Abstract	viii
Abkürzungen	ix
1 Einleitung	1
1.1 Habitat und Verbreitung	1
1.2 Morphologie	5
1.3 Systematik	9
1.4 Stellung der Remipedia innerhalb der Crustacea	11
1.5 Strukturalinierungen in phylogenetischen Analysen	13
1.6 Grundlagen der Arbeit	17
1.7 Ziele der Arbeit	19
2 Material und Methoden	20
2.1 Markergene	20
2.2 Probenmaterial	21
2.3 Wahl der Außengruppe	21
2.4 Vorbereitung der Proben	22
2.5 DNA-Extraktion	22
2.6 Amplifikation	23
2.7 Sequenzierung	23
2.8 Sequenzaufbereitung	24
2.9 Alinierung	24
2.9.1 Alinierung der proteinkodierenden Gene	25
2.9.2 Manuelle Alinierung	26
2.10 Analysen	31
2.11 Genetische Distanz	32
3 Ergebnisse	33
3.1 Sequenzen	33
3.2 Phylogenetische Topologien	35
3.2.1 Lauf 1 (COI)	35
3.2.2 Lauf 2 (16S)	37
3.2.3 Lauf 3 (H3)	37
3.2.4 Lauf 4 (COI, 16S und H3)	39
3.2.5 Lauf 5 (COI)	41
3.2.6 Läufe 6 + 7	44
3.3 Genetische Distanzen	44

4 Diskussion	46
4.1 Definitionen von morphologischen Begriffen	47
4.2 Diskussion der Topologien / Systematik	48
4.2.1 Alternative Möglichkeit 1 (AM1)	48
4.2.2 Alternative Möglichkeit 2 (AM2)	53
4.2.3 Weitere alternative Möglichkeiten	63
4.2.4 Einordnung von fehlenden Taxa	63
4.2.5 Fazit der Diskussion der Topologien / Systematik	65
4.3 Genetische Distanzen	67
4.4 Eignung der Marker	67
4.5 Kontaminationen	69
4.6 Probenmaterial	70
4.7 Fazit	71
5 Literatur	72
6 Internetadressen	82
7 Anhang A Genetik	83
7.1 PCR-Parameter	83
7.2 Primerliste	84
7.3 Sequenzierreaktion	85
7.4 Aufreinigung der Sequenzierreaktion	85
7.5 Datenmatrix	89
7.6 Strukturalinierung 18S	95
7.7 MrBayes-Blöcke	101
7.7.1 Lauf 1	101
7.7.2 Lauf 2	101
7.7.3 Lauf 3	101
7.7.4 Lauf 4 (6 + 7)	102
7.7.5 Lauf 5	102
8 Anhang B Morphologie	105
9 Anhang C	110
10 Danksagung	112
11 Lebenslauf und Publikationsliste	113

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1 Photographie von <i>Speleonectes emersoni</i>	1
Abbildung 1.2 Beispiel einer anchialinen Höhle.	2
Abbildung 1.3 Tiefe und Alter von Indikatororganismen verschiedener Regionen der Welt. ...	3
Abbildung 1.4 Physikalische Wasserparameter einer anchialinen Höhle.	4
Abbildung 1.5 Weltweite Verteilung von anchialinen Höhlensystemen.	5
Abbildung 1.6 Darstellung verschiedener Extremitäten mit Bezeichnungen der Segmente. ...	6
Abbildung 1.7 Übersicht über Klautentypen der 2. Maxillen und Maxillipeden der Nectiopoda.6	
Abbildung 1.8 Übersichtszeichnung eines Remipedia, sowie Beispiele für verschiedene Extremitäten.....	8
Abbildung 1.9 A= Zeichnung der Kopfreion von <i>Speleonectes tulumensis</i> (ventrale Ansicht), B = Photographie von <i>Speleonectes tanumekes</i> (dorsale Ansicht).....	9
Abbildung 1.10 Die frühere Einordnung der Remipedia in das System der Crustacea.....	12
Abbildung 1.11 Schematische Darstellung der Anordnung der rRNA-Gene in Replikaten. ...	14
Abbildung 1.12 Strukturelle Einheiten einer rRNA am Beispiel eines Abschnitts der 16S- rRNA von <i>A. salina</i>	14
Abbildung 1.13 Variabilitätskarte der kleinen Untereinheit der rRNA von <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16
Abbildung 2.1 Mögliche Anwendungsbereiche einer Auswahl von molekularen Markern und Genregionen für phylogenetische Studien.....	20
Abbildung 2.2 Fließschema Labor / Daten.	26
Abbildung 2.3 Prinzip der Handalinierung.	28
Abbildung 2.4 Fließschema Erstellung Gesamtmatrix	31
Abbildung 3.1 A = Konsensusbaum Lauf 1 (COI) und B = Konsensusbaum Lauf 2 (16S). ...	36
Abbildung 3.2 Konsensusbaum Lauf 3 (H3).....	38
Abbildung 3.3 Konsensusbaum Lauf 4, 6 und 7.....	40
Abbildung 3.4 Konsensusbaum Lauf 5.....	43
Abbildung 4.1 Navajo Rug-Diagramm mit den wichtigsten Kladen aller Läufe.	46
Abbildung 4.2 Zeichnung der 1. Maxille von <i>Speleonectes parabenjamini</i>	52
Abbildung 4.3 Erklärung zu diagnostischen Merkmalen der Klade C am Beispiel von <i>S. kakuki</i>	54
Abbildung 4.4 Darstellung der Frontalfilamente von A = <i>L. entrichoma</i> , B = <i>S. lucayensis</i> und C = <i>S. kakuki</i>	55
Abbildung 4.5 Erklärung zu diagnostischen Merkmalen der Kladen D und E am Beispiel von <i>S. emersoni</i>	57
Abbildung 4.6 Zeichnung einer Auswahl von Sternalleisten und Sternalplatten von <i>K. pilosus</i> , <i>S. parabenjamini</i> und <i>C. longulus</i>	64

Abbildung 7.1 Sekundärstrukturmodell 16S-rRNA (5'-Teil) von <i>Artemia salina</i>	86
Abbildung 7.2 Sekundärstrukturmodell 16S-rRNA (3'-Teil) von <i>Artemia salina</i>	87
Abbildung 7.3 Sekundärstrukturmodell 18S-rRNA von <i>Daphnia pulex</i>	88
Abbildung 8.1 Übersicht der Zeichnungen der 1. Maxillen aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 1).	105
Abbildung 8.2 A = Übersicht der Zeichnungen der 1. Maxillen aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 2), B = Übersicht der Zeichnungen der 2. Maxillen aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 1).	106
Abbildung 8.3 Übersicht der Zeichnungen der 2. Maxillen aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 2).	107
Abbildung 8.4 Übersicht der Zeichnungen der Maxillipeden aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 1).	108
Abbildung 8.5 Übersicht der Zeichnungen der Maxillipeden aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 2).	109
Abbildung 9.1 Darstellung der zeitlichen Reihenfolge der Artbeschreibungen.	111

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1 Übersicht über das System der Remipedia, mit allen derzeit beschriebenen Arten.	11
Tabelle 2.1 Liste der in der 18S-rRNA-Strukturalinierung eingesetzten Genbank-Sequenzen	30
Tabelle 2.2 Unterschiede der MrBayes-Parameter der verschiedenen Analysen.....	31
Tabelle 2.3 Gemeinsamer MrBayes-Block.....	32
Tabelle 2.4 Zusammenfassung der Analysenparameter der genetischen Distanz.	32
Tabelle 3.1 Generierte Remipedia-Sequenzen nach Arten aufgelistet.	33
Tabelle 3.2 Genetische Distanzen (<i>p-distances</i>) des COI-Datensatzes von Lauf 5.	45
Tabelle 4.1 Morphologische Unterschiede zwischen den beiden neuen Gattungen von Klade C.	54
Tabelle 4.2 Vergleich der Sternalleisten und Sternalplatten der rezenten Remipedia	59
Tabelle 4.3 Neuordnung der Nectiopoda nach AM2, mit Einordnung der fehlenden Taxa. ...	66
Tabelle 7.1 Chemikalien und Enzyme der PCR für 16S, COI und H3.	83
Tabelle 7.2 Chemikalien und Enzyme der PCR für 18S.	83
Tabelle 7.3 PCR-Profil für 16S, COI und H3.	83
Tabelle 7.4 PCR Profil für 18S.	84
Tabelle 7.5 Liste der in dieser Arbeit verwendeten Primer.....	84
Tabelle 7.6 BLAST-Ergebnis der <i>Hutchinsoniella macracantha</i> H3-Sequenz aus der Datenmatrix.	103
Tabelle 7.7 BLAST-Ergebnis der <i>Micropacter yagerae</i> H3-Sequenz aus der Datenmatrix.	104
Tabelle 9.1 Liste aller bekannten Remipedia-Arten und ihrer Fundorte.....	110

Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war die Durchführung einer umfassenden phylogenetischen Analyse der Klasse Remipedia Yager, 1981. Hierzu wurden Sequenzen für die folgenden Marker sequenziert: die große ribosomale Untereinheit (16S-rRNA), die erste Untereinheit des Cytochrom c Oxidase Komplexes, die kleine ribosomale Untereinheit (18S-rRNA) und ein Gen des Histon-Komplex 3.

Es konnten für 20 der 24 derzeit beschriebenen Remipedien-Arten, sowie für vier neue, bisher nicht beschriebene Arten zahlreiche neue Sequenzen generiert werden. Diese Daten wurden durch bereits bestehende Sequenzen aus internationalen Datenbanken (The European Molecular Biology Laboratory und Genbank) ergänzt. Als Außengruppentaxa wurden *Campodea tillyardi* Silvestri, 1931 (Diplura), *Hutchinsoniella macracantha* Sanders, 1955 (Cephalocarida), *Panaeus monodon* Fabricius, 1798 (Malacostraca) und *Branchinella occidentalis* Dakin, 1914 (Branchiopoda) eingesetzt. Die Marker wurden einzeln und als kombinierte Datenmatrix mittels Bayesischer Analysen untersucht. Ein Novum in der Bearbeitung von molekularen Daten der Remipedia stellte der Einsatz von handoptimierten Strukturalinierungen neben den klassischen computerbasierten Verfahren dar. Hierbei wurden zunächst die strukturelle Veränderung und erst dann die Minimierung der Nukleotidveränderung optimiert.

Die Ergebnisse der Analysen zeigten Widersprüche zu der derzeitigen Systematik der Remipedia. So sind die Familien Speleonectidae Yager, 1981 und Godzilliidae Schram *et al.*, 1986 und auch die Gattungen *Speleonectes* Yager, 1981 und *Lasionectes* Yager & Schram, 1986 paraphyletisch. Unter Berücksichtigung morphologischer Merkmale wurden daraufhin alternative Konzepte zur Neuordnung der Gruppe entwickelt und diskutiert. In dem Konzept, das die stabilsten Diagnosen zuließ, wurde das bestehende taxonomische System innerhalb der Nectiopoda Schram, 1986 nahezu vollständig verworfen und anhand der Kladen der phylogenetischen Analyse neu konstruiert. Lediglich die Micropacteridae Koenemann *et al.*, 2007 blieben darin unverändert. *Pleomothra* Yager, 1989 wurde aus den Godzilliidae ausgeschlossen und erhielt den Status einer Familie. Die Speleonectidae wurden auf vier Arten reduziert. Insgesamt umfasst die Neuordnung Acht Familien mit insgesamt 12 Gattungen. Von einer vollständigen Revision der Klasse Remipedia wurde jedoch aufgrund von in Kürze zu erwartenden Neubeschreibungen abgesehen, da diese voraussichtlich zur Klärung der Verwandtschaftsverhältnisse beitragen werden.

Schlagworte: Remipedia, Phylogenie, Strukturalinierung

Abstract

The aim of this study was to perform a phylogenetic analysis of the class Remipedia Yager, 1981. For this purpose, sequences of four different molecular markers (18S-rRNA, 16S-rRNA, Histone 3 (H3) and Cytochrom c Oxidase subunit 1 (COI) were generated. The analyses included sequences from 20 of the 24 recent Remipedia species and four new, still undescribed species. The datamatrix was complemented with sequences from online databases (The European Molecular Biology Laboratory and Genbank). As outgroup species *Campodea tillyardi* Silvestri, 1931 (Diplura), *Hutchinsoniella macracantha* Sanders, 1955 (Cephalocarida), *Penaeus monodon* Fabricius, 1798 (Malacostraca) and *Branchinella occidentalis* Dakin, 1914 (Branchiopoda) were selected.

In addition to the classical computer based alignment methods used for the protein coding markers (H3 and COI), an alternative approach combining structural alignment and manual optimization was used for 16S-rRNA and 18S-rRNA. Therefore, it was possible to conduct the most comprehensive phylogenetic analysis of the class Remipedia known today.

It revealed several inconsistencies with the current taxonomic classification of this group of crustaceans. The families Godzilliidae Schram *et al.*, 1986 and Speleonectidae Yager, 1981 are paraphyletic, as well as the genera *Speleonectes* Yager, 1981 and *Lasionectes* Yager & Schram, 1986. Different alternative options were developed by use of morphologic characters and the topologies of the phylogenetic analysis. The first is the preservation of all existing taxa to the greatest possible extent, with some changes in the definition. Alternatively and favored by the author, the second suggestion dismisses the existing taxonomic system in the Nectiopoda Schram, 1986 and a new construct on the basis of the phylogenetic analyses is established. While the Micropacteridae remain unchanged, *Pleomothra* Yager, 1989 is excluded from the Godzilliidae and represents now an own family. The Speleonectidae are reduced to two genera with four species. The remaining species are assigned to four new families including six new genera. However, this reassignment is rather a proposal, than an entire revision of the class, which is not recommended at this time. But it will be essential after the currently conducted description of new Remipedia species.

Keywords: Remipedia, Phylogeny, Structural Alignment

Abkürzungen

16S	16S-rRNA
18S	18S-rRNA
A.	<i>Artemia</i>
Abb.	Abbildung
acc. nr.	<i>accession number</i> (Genbank Zugangsnummer)
B.	<i>Branchinella</i>
°C	Grad Celsius
C.	<i>Cryptocorynetes</i>
cf.	<i>confer</i> (lateinisch) = vergleiche
COI	Cytochrom c Untereinheit 1
COII	Cytochrom c Untereinheit 2
Cytb	Cytochrom b
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i> (Desoxyribonukleinsäure)
dNTPs	di-Nucleotidtriphosphate
ETS	<i>external transcribed spacer</i>
G.	<i>Godzillius</i>
ggf.	gegebenenfalls
Gn.	<i>Godzillionomus</i>
H.	<i>Hutchinsoniella</i>
H ₂ O	Wasser
H3	Histon 3
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IGS	<i>intergenic spacer</i>
ITS	<i>internal transcribed spacer</i>
km	Kilometer
L.	<i>Lasionectes</i>
LSU	<i>large subunit</i> (Große Untereinheit)
M.	<i>Micropacter</i>
MCMC	Markov Chain Monte Carlo
min	Minuten
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
ND1	NADH Dehydrogenase Untereinheit 1
<i>n. sp.</i>	<i>nova species</i> aus lateinischen: Neue Art
NTS	<i>non-transcribed spacer</i>
P.	<i>Penaeus</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (Polymerasekettenreaktion)
pp	<i>posterior probability</i>
ppm	<i>parts per million</i> (Teile pro Million)
ppt	<i>parts per thousand</i> (Teile pro Tausend)
RNA	<i>ribonucleic acid</i> (Ribonukleinsäure)
rRNA	<i>ribosomal ribonucleic acid</i> (Ribosomale Ribonukleinsäure)
RS	Rumpfsegment
S.	<i>Speleonectes</i>
s.	siehe
SSU	<i>small subunit</i> (kleine Untereinheit)
Tab.	Tabelle
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Während einer Tauchexkursion auf den Bahamas im Jahr 1979 wurden in einer anchialinen Höhle bis dahin unbekannte Krebstiere entdeckt und umgehend als eine neue Klasse der Crustacea Brünnich, 1772 anerkannt. Sie zählen damit zu den bemerkenswertesten Neufunden der letzten dreißig Jahre. Ihr Name ist Remipedia Yager, 1981 (Abb. 1.1).

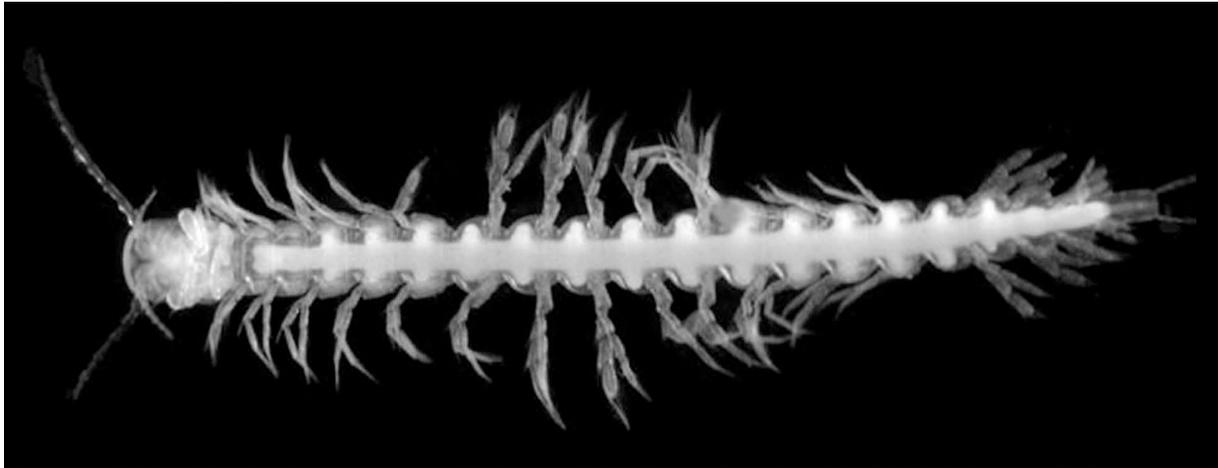


Abbildung 1.1 Photographie von *Speleonectes emersoni* Lorentzen *et al.*, 2007. (Ventrale Ansicht, aus LORENTZEN *et al.* 2007)

Aufgrund der späten Entdeckung und der Unzugänglichkeit ihres Lebensraums, der nur von erfahrenen und gut ausgebildeten Höhlentauchern aufgesucht werden kann, sind viele Aspekte zur Biologie der Remipeden (z. B. Paarungsstrategien und Entwicklungsgeschichte) noch nicht bekannt. Es ist bisher nicht gelungen Remipeden dauerhaft zu halten oder gar zu züchten. CARPENTER (1999) konnte einige Exemplare über einen maximalen Zeitraum von 26 Tagen in Aquarien halten, während die Exemplare von KOENEMANN *et al.* (2007a) 76 Tage überlebten.

1.1 Habitat und Verbreitung

Remipeden kommen fast ausschließlich in anchialinen Höhlensystemen vor (NEIBER *et al.* 2011). Als einzige Ausnahme lebt *Speleonectes kakuki* Daenekas *et al.*, 2009 in einer vollständig marinen Höhle unterhalb des Meeresspiegels auf Andros (Bahamas) (DAENEKAS *et al.* 2009; NEIBER *et al.* 2011). Nach STOCK (1986) bestehen anchialine Habitate aus halinen Wasserkörpern, die normalerweise eine eingeschränkte Exposition zur Oberfläche aufweisen und stets mehr oder weniger stark ausgeprägte Verbindungen zum Meer besitzen. Dabei unterliegen sie merklich

marinen aber auch terrestrischen Einflüssen. Abbildung 1.2 A zeigt am Beispiel Cottage Pond (North Caicos Island) das Tiefenschema einer anchialinen Höhle.

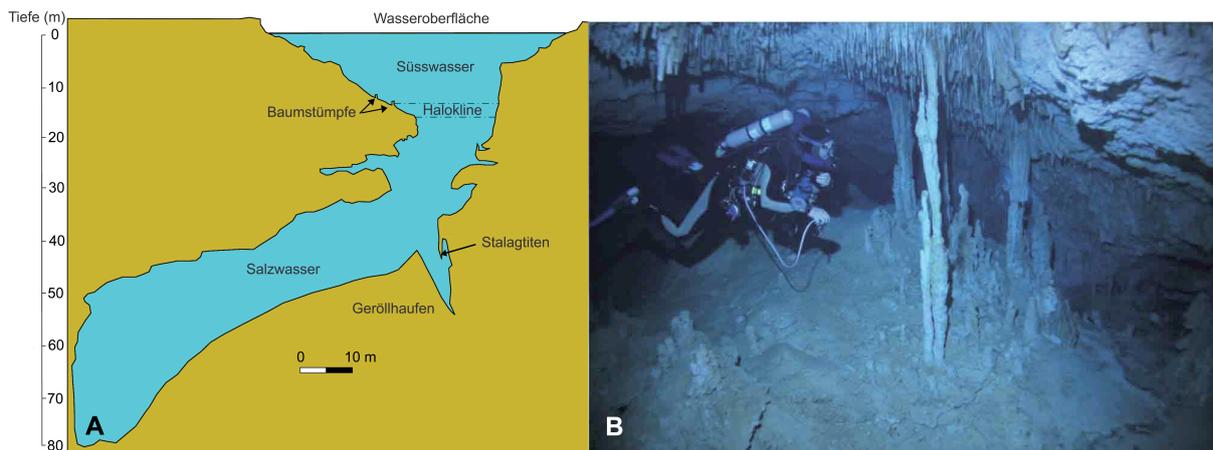


Abbildung 1.2 Beispiel einer anchialinen Höhle. A = Tiefenschema einer anchialinen Höhle. (Cottage Pond, North Caicos Island, aus KOENEMANN *et al.* 2004); B = Überflutete Karsthöhle (Carwash Cenote Cave, Yucatan-Halbinsel, Foto von Joerg Hess).

In Abbildung 1.2 B ist das Innere einer anchialinen Höhle dargestellt. Besonders auffällig sind die Tropfsteinformationen (Stalagmiten und Stalaktiten), die in vielen von Remipeden bewohnten Höhlensystemen vorkommen. Sie zeigen, dass der Meeresspiegel über einen längeren Zeitraum so niedrig gewesen sein muss, dass die Höhlen trocken fielen. Ein solch niedriger Meeresspiegel wurde im Pleistozän erreicht. FAIRBANKS (1989) stellte mit Bohrungen und radiometrischen Altersbestimmungen von Korallen vor Barbados fest, dass der Meeresspiegel vor ca. 17.000 Jahren zum Zeitpunkt der maximalen Gletscherbildung 121 ± 5 m unter dem heutigen gelegen hat. Es wird vermutet, dass die Höhlen nach der letzten Eiszeit, als der Meeresspiegel anstieg, geflutet wurden und die Remipedia diese besiedelten oder wiederbesiedelten. Die Schwankungen des Meeresspiegels der letzten 35.000 Jahre sind in Abb. 1.3 dargestellt.

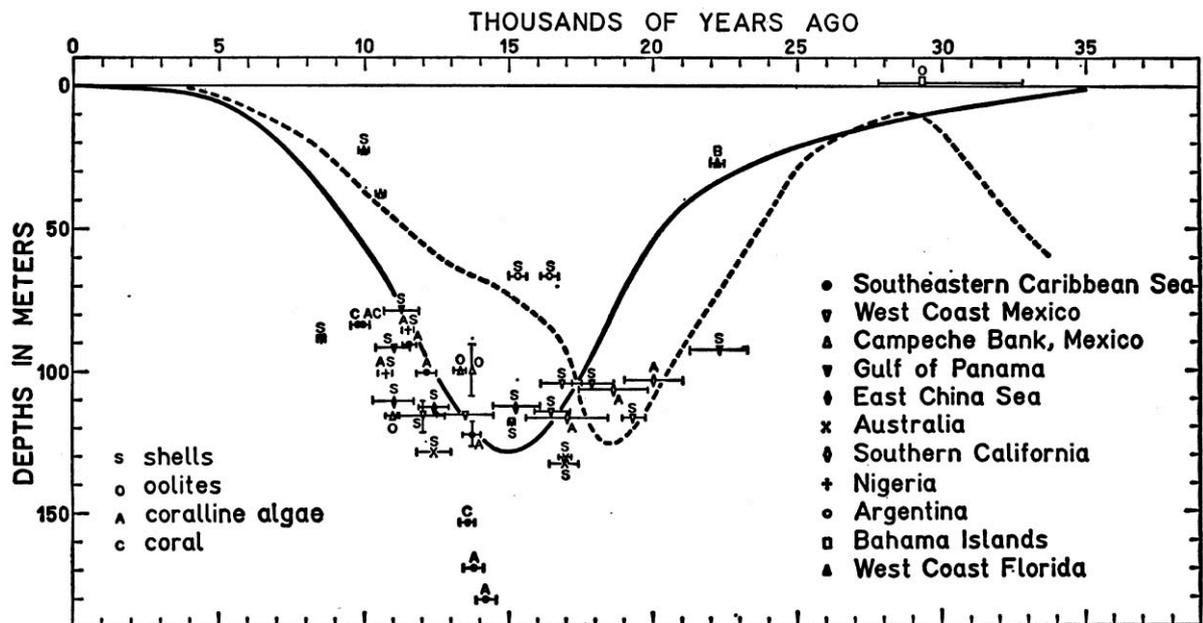


Abbildung 1.3 Tiefe und Alter von Indikatororganismen verschiedener Regionen der Welt. Die durchgezogene Linie zeigt die Meeresspiegelschwankungen auf dem atlantischen Kontinentalshelf. Die gepunktete Linie zeigt die Meeresspiegelschwankungen auf dem Texasshelf. Die y-Achse gibt die Tiefe in Metern, die x-Achse das Alter in Jahrtausenden vor heute an. Die Symbole zeigen den Fundort und die Buchstaben die Gruppe der Indikatororganismen (MILLIMAN & EMERY 1968).

Das Oberflächenwasser anchialiner Höhlen bildet typischerweise eine Linse aus Süß- oder Brackwasser auf dem darunterliegenden dichteren salzhaltigen Höhlenwasser (s. Abb. 1.2 A). Letzteres steht über unterirdische Kanäle und Risse mit dem ozeanischen Wasserkörper in Verbindung und ist in Folge dessen auch den Auswirkungen der Tide ausgesetzt (Strömung, Wasseraustausch, Nährstoffeintrag, etc.). Beide Wasserschichten sind durch die sogenannten Halokline (Salzsprungschicht) von einander getrennt.

Nahezu alle Remipeden wurden bisher ausschließlich in den tiefen Regionen unterhalb der Halokline im Salzwasser gefunden (NEIBER *et al.* 2011). In diesen tieferen Regionen der Höhlen ist der Sauerstoffgehalt relativ gering (<1 ppm), die Salinität liegt meist bei 35 ppt, kann aber auch nur 18 ppt betragen und die Temperatur liegt im Bereich von 22 bis 26°C (NEIBER *et al.* 2011; KOENEMANN & ILIFFE *in press*). Die einzige Ausnahme ist *Speleonectes epilimnius* Yager & Carpenter, 1999. Diese Art wurde im sauerstoffreichen Oberflächenwasser einer anchialinen Höhle auf San Salvador (südöstliche Bahamas) entdeckt (CARPENTER 1999; NEIBER *et al.* 2011). Ein Beispiel für die physikalischen Parameter innerhalb einer anchialinen Höhle ist in Abb. 1.4 dargestellt.

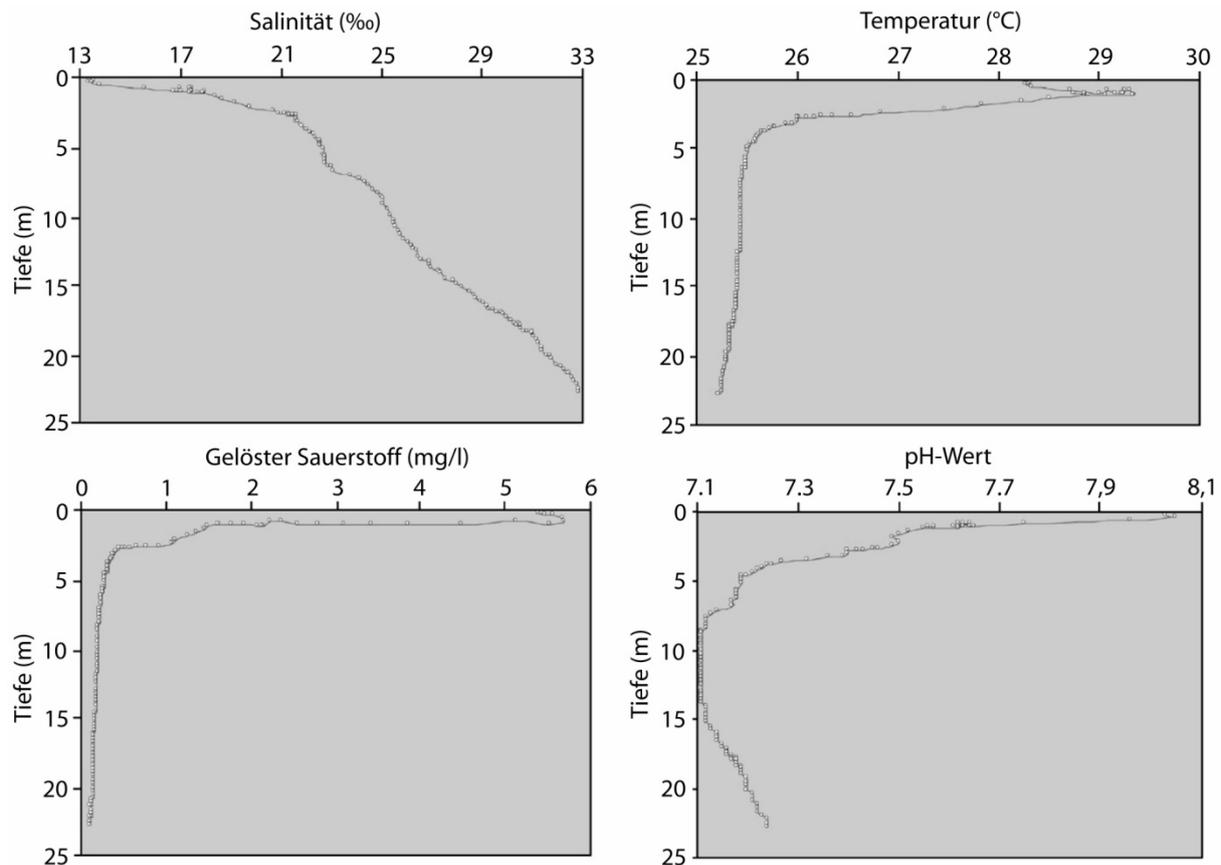


Abbildung 1.4 Physikalische Wasserparameter einer anchialinen Höhle. Old Blue Hill Cave, Providenciales, vom 12. Juni 2003 (aus KOENEMANN *et al.* 2007b, verändert).

Remipeden zeigen ein disjunktes Verbreitungsmuster, welches typisch für viele marine, stygobiontische Invertebraten ist (KOENEMANN & ILIFFE *in press.*). Innerhalb der Crustacea finden sich zahlreiche Beispiele disjunkter Verbreitung: Amphipoda Latreille, 1816, Isopoda Latreille, 1817, Copepoda Milne-Edwards, 1840 und Pancarida (z.B. BOTOSANEANU & HOLSINGER 1991; COINEAU 1994; KOENEMANN & HOLSINGER 1999; STOCK 1984; WAGNER 1994; KOENEMANN & ILIFFE *in press.*). Eine Art Zentrum der Remipedenverbreitung stellt die Karibikregion dar, mit der Inselgruppe der Bahamas, der Halbinsel Yucatan (Mexico), sowie Cuba und Hispaniola. Daneben wurden noch zwei Arten in einem Lavatunnel auf der Kanareninsel Lanzarote und eine Art in Westaustralien in einer Höhle der Cape Range Halbinsel entdeckt (s. Abb. 1.5).

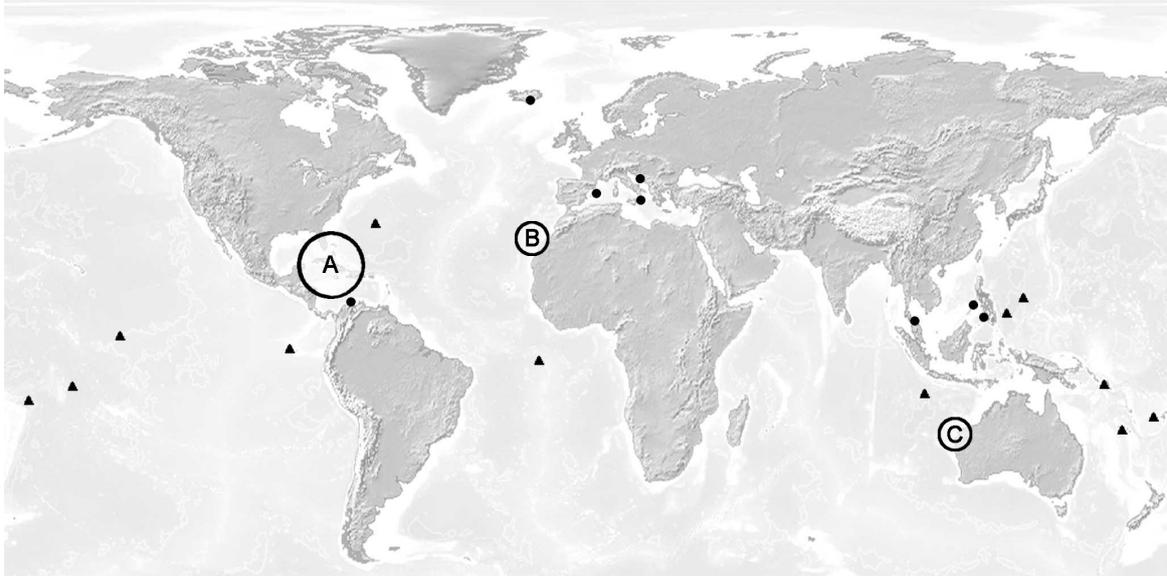


Abbildung 1.5 Weltweite Verteilung von anchialinen Höhlensystemen. Anchialine Höhlensysteme auf kontinentalem Festland sind mit Dreiecken gekennzeichnet, die auf isolierten Inseln vorkommenden mit Kreisen. Der Großteil der bekannten Remipedenarten kommt in der Karibikregion vor (hier mit A bezeichnet): der Yucatan-Halbinsel, Kuba, der Dominikanischen Republik, den Turks und Caicos Inseln und den Bahamas. Isolierte Arten sind in Höhlen auf Lanzarote (B, Kanarische Inseln) und in Westaustralien (C) zu finden (aus NEIBER *et al.* 2011).

1.2 Morphologie

Der Körper der Remipedia lässt sich in zwei Bereiche unterteilen: die Kopffregion (Cephalon) und den Rumpf. Die Kopffregion wird von einem chitinösen, dorsalen Kopfschild geschützt. Dieser überdeckt sechs Extremitäten tragende Somiten. Darunter liegen drei kräftige, einästige Fangbeinpaare (1. Maxillen, 2. Maxillen und Maxillipeden, siehe Abb. 1.6 und 1.9 A). Remipeden besitzen keinen Carapax (NEIBER *et al.* 2011).

Die ersten Maxillen tragen an ihren apikalen Segmenten eine Spitze, ähnlich einer Kanüle (s. Abb. 1.6 A). Von dieser wird vermutet, dass sie beim Beutegreifen ein Gift in das Beutetier injiziert (VAN DER HAM & FELGENHAUER 2007). Auf den zweiten Maxillen und den Maxillipeden tragen die Tiere komplexe Terminalklauen, welche auch als Merkmal zur Artbestimmung dienen. Jede Art zeigt dabei auf beiden Extremitätenpaaren den gleichen Typ von Klaue. Einzig *Micropacter yagerae* Koenemann *et al.*, 2007b und eine neue, noch unbeschriebene Art der Gattung *Godzillius* Schram *et al.*, 1986 zeigen unterschiedliche Klauentypen auf den 2. Maxillen und den Maxillipeden. Eine Übersicht über verschiedene Klauentypen zeigt Abb. 1.7.

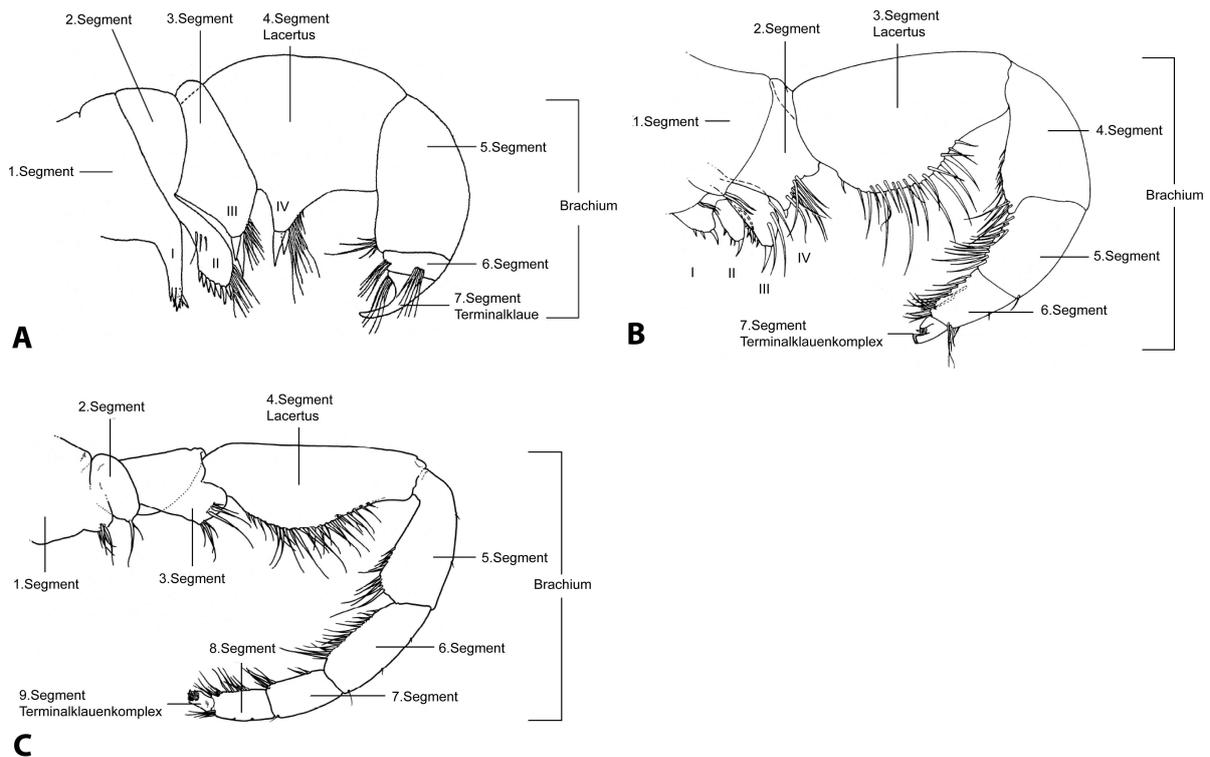


Abbildung 1.6 Darstellung verschiedener Extremitäten mit Bezeichnungen der Segmente. **A = 1. Maxille** (*S. tulumensis*), **B = 2. Maxille** (*S. lucayensis*), **C = Maxilliped** (*S. minnsi*). Mit römischen Zahlen sind die Endite der Segmente gekennzeichnet (A: YAGER 1987b, B: SCHRAM *et al.* 1986, C: KOENEMANN *et al.* 2003).

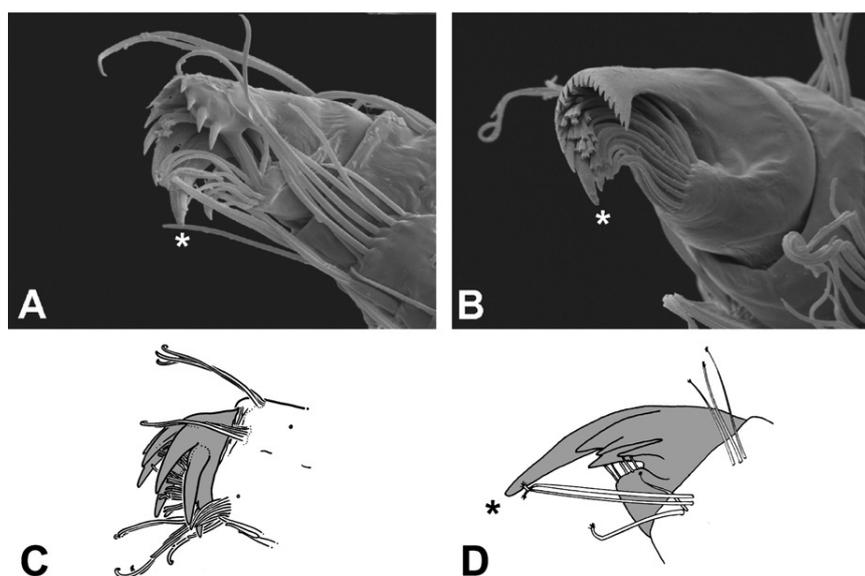


Abbildung 1.7 Übersicht über Klauentypen der 2. Maxillen und Maxillipeden der Nectiopoda Schram, 1986. **A = Hufeisentypus** von *S. parabenjamini*, **B = Hufeisentypus** von *S. tanumekes*, **C = Haken-Typus** von *G. robustus* und **D = Langfinger-Typus** von *P. apletocheles*. Sternchen bezeichnen den jeweiligen Hauptzahn (KOENEMANN *et al.* 2007c).

Typischerweise zeigen alle rezenten Hauptgruppen der Crustacea am Rumpf mindestens zwei zu funktionellen und morphologischen Einheiten verschmolzene Körperregionen (Tagmata), z.B. Thorax und Pleon oder Thorax und Abdomen (SCHRAM & KOENEMANN 2004). Im Gegensatz dazu zeigt der Rumpf der Remipedia keinerlei Tagmose (s. Abb. 1.8 A, 1.9 B). Besonders dieses Merkmal unterscheidet Remipeden von allen anderen Krebstieren (NEIBER *et al.* 2011).

Als typische Stygobionten sind Remipedia pigmentlos und blind. Daher nutzen sie unter anderem die zweiästigen 1. Antennen als sensorische Körperfortsätze (Abb. 1.8 B). Zwischen diesen 1. Antennen liegen am ventralen anterioren Rand des Kopfschildes die Frontalfilamente. Sie stellen keine echten gegliederten Extremitäten dar (NEIBER *et al.* 2011). Die Funktion der Frontalfilamente ist noch unbekannt, allerdings wird vermutet, dass sie ebenfalls sensorische Aufgaben haben (FANENBRUCK & HARZSCH 2005; NEIBER *et al.* 2011). Die 2. Antennen sind hingegen nicht sensorisch. Diese zweiästigen, paddelartigen und randständig mit zahlreichen Setae besetzten Extremitäten (s. Abb. 1.8 D) dienen vermutlich ausschließlich dem Nahrungserwerb, indem sie als Filterorgan fungieren (KOENEMANN *et al.* 2007a).

Die homonomen Segmente des Rumpfes sind extern durch Sterniten (Bauchplatten), Pleurotergiten (Rückenplatten) und Sternalleisten charakterisiert. Die Rumpfsegmente tragen zweiästige paddelförmige Schwimmbeine, die mit randständigen Setae besetzt sind (s. Abb. 1.8 C). Hiervon leitet sich auch der Name Remipedia ab, der "mit Schwimmfüßen ausgestattet" (im englischen Original "oar footed") bedeutet (YAGER 1981). Kaudal schließt der Rumpf mit dem Analsomiten ab, dieser trägt paarig angeordnete Kaudalanhänge.

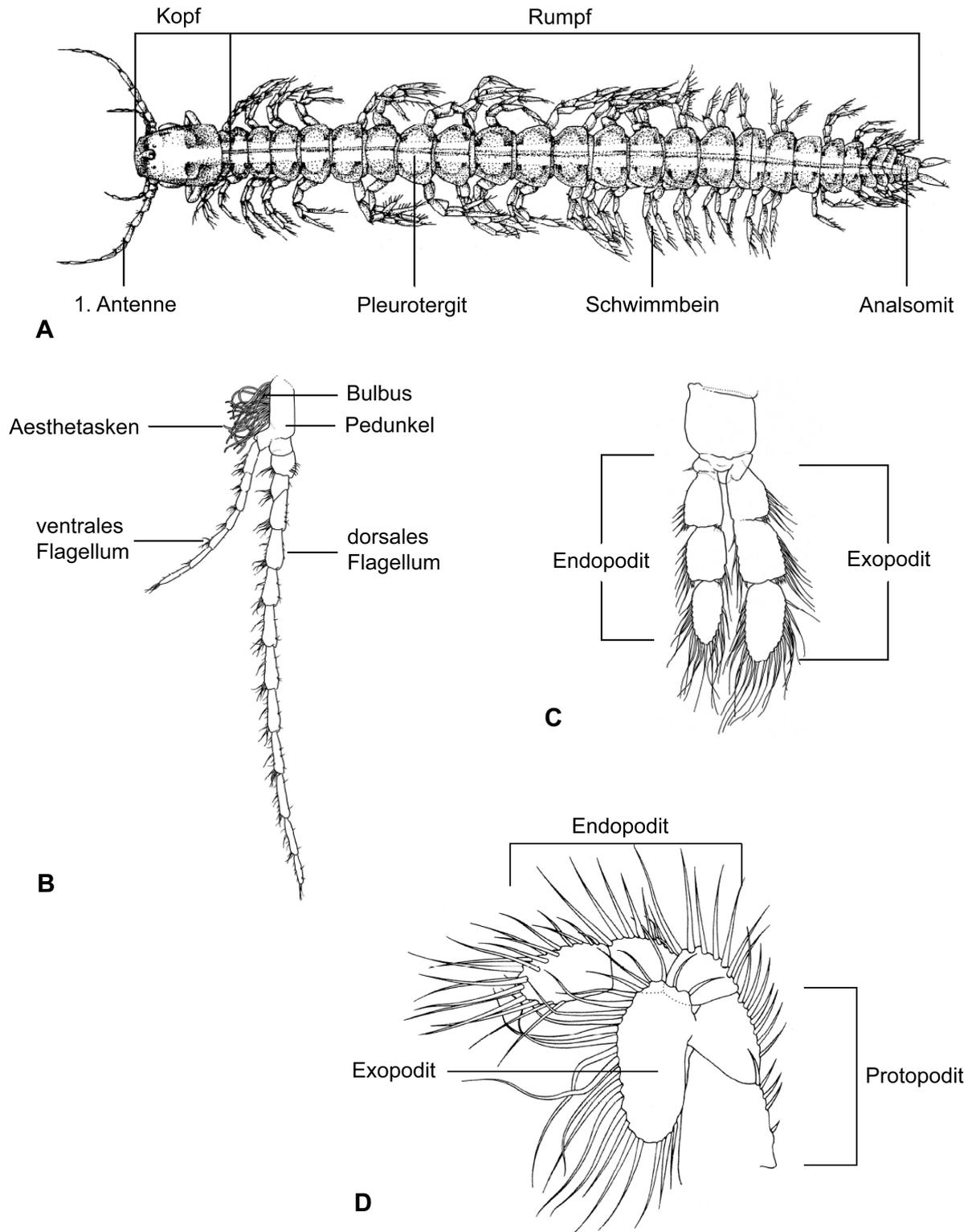


Abbildung 1.8 Übersichtszeichnung eines Remipedia, sowie Beispiele für verschiedene Extremitäten. A = Habituszeichnung von *S. gironensis* (dorsale Ansicht), B = 1. Antenne (*S. tanumekes*), C = Schwimmbein (*S. tanumekes*) D = 2. Antenne (*S. lucayensis*) A: YAGER 1994, B + C: KOENEMANN *et al.* 2003, D: SCHRAM *et al.* 1986).

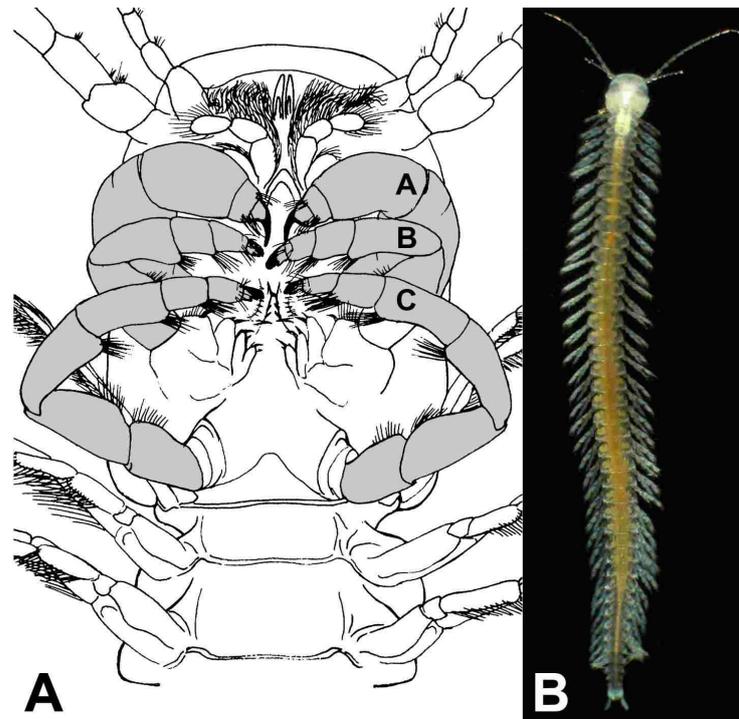


Abbildung 1.9 A= Zeichnung der Kopfreion von *Speleonectes tulumensis* (ventrale Ansicht) FELGENHAUER *et al.* (1992), verändert, B = Photographie von *Speleonectes tanumekes* (dorsale Ansicht) NEIBER *et al.* (2011), verändert). Die drei Fangbeinpaare sind in grau dargestellt. A = 1. Maxilla, B = 2. Maxilla, C = Maxilliped.

1.3 Systematik

Die Klasse Remipedia gliedert sich in zwei Ordnungen: Enantiopoda Birshstein, 1960 und Nectiopoda Schram, 1986. Die systematische Einordnung der Remipedia als Klasse folgt in dieser Arbeit der englischen Literatur. Als Referenz dafür und alle anderen Crustacea wird MARTIN & DAVIS (2001) verwendet.

Die Ordnung Enantiopoda wurde von BIRSHSTEIN (1960) beschrieben. Sie basiert auf dem Fossilfund *Tesnusocaris goldichi* Brooks, 1955 der im Jahr 1939 entdeckt wurde (NEIBER *et al.* 2011). Es handelt sich dabei um ein Fossil aus dem Karbon, das in der Tesnus-Formation (Oberes Mississippium / Unteres Pennsylvanium) im westlichen Texas gefunden wurde (BROOKS 1955). Brooks schlug eine mögliche Verwandtschaft von *Tesnusocaris* mit den Brachiopoda Latreille, 1817 vor (NEIBER *et al.* 2011). Nachdem jedoch die Remipedia von YAGER (1981) beschrieben wurden, haben SCHRAM & EMERSON (1986) das Typenmaterial von *Tesnusocaris goldichi* sowie zusätzliche Neufunde erneut untersucht. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass einige morphologische Merkmale mit denen der rezenten Remipedia übereinstimmen. Dazu gehören der homonom segmentierte Rumpf, ein einfacher Kopfschild, große zweiästige 1. Antennen mit unterschiedlichen Segmentmustern auf

den zwei Rami und große, zum Beutegreifen geeignete Mundwerkzeuge. Insgesamt sind fossile Funde von Remipedia selten (NEIBER *et al.* 2011). Neben *Tesnusocaris* wurde nur noch eine zweite Art, *Cryptocaris hootchi* Schram, 1974, gefunden. Dieses Fossil stammt aus der Mazon Creek Formation (Mittleres Pennsylvanium) in Illinois und wurde von EMERSON & SCHRAM (1991) ebenfalls den Enantiopoda zugeordnet. Für eine genauere Betrachtung der Fossilfunde der Remipedia und der Enantiopoda siehe NEIBER *et al.* (2011) oder KOENEMANN & ILIFFE (*in press*).

Die Ordnung Nectiopoda Schram, 1986, bestehend aus drei Familien, umfasst alle rezenten Arten. Die Familie der Speleonectidae Yager, 1981 ist mit 17 Arten die größte, gefolgt von den Godzilliidae Schram *et al.*, 1986 mit fünf Arten. Die kleinste Familie mit nur einem Vertreter ist die der Micropacteridae Koenemann *et al.*, 2007. Eine Übersicht über die Systematik der Remipedia zeigt Tab. 1.1. Eine Liste aller derzeit bekannten Remipedia-Arten und deren Fundorte befindet sich im Anhang C (Tab. 8.1).

Tabelle 1.1 Übersicht über das System der Remipedia, mit allen derzeit beschriebenen Arten.

Klasse **Remipedia** Yager, 1981

Ordnung **Enantiopoda** † Birshstein, 1960

Ordnung **Nectiopoda** Schram, 1986

Familie **Speleonectidae** Yager, 1981

Speleonectes Yager, 1981

Speleonectes atlantida Koenemann *et al.*, 2010

Speleonectes benjamini Yager, 1987

Speleonectes emersoni Lorentzen *et al.*, 2007

Speleonectes epilimnius Yager & Carpenter, 1999

Speleonectes gironensis Yager, 1994

Speleonectes kakuki Daenekas *et al.*, 2009

Speleonectes lucayensis Yager, 1981

Speleonectes minnsi Koenemann *et al.*, 2003

Speleonectes ondinae (Garcia-Valdecasas, 1984)

Speleonectes parabenjamini Koenemann *et al.*, 2003

Speleonectes tanumekes Koenemann *et al.*, 2003

Speleonectes tulumensis Yager, 1987

Speleonectes fuchscockburni n. sp.

Speleonectes williamsi n. sp.

Lasionectes Yager & Schram, 1986

Lasionectes entrichoma Yager & Schram, 1986

Lasionectes exleyi Yager & Humphreys, 1996

Cryptocorynetes Yager, 1987

Cryptocorynetes elmorei Hazerli *et al.*, 2009

Cryptocorynetes haptodiscus Yager, 1987

Cryptocorynetes longulus Wollermann *et al.*, 2007

Kaloketos Koenemann *et al.* 2004

Kaloketos pilosus Koenemann *et al.*, 2004

Familie **Godzilliidae** Schram *et al.*, 1986

Godzillius Schram *et al.*, 1986

Godzillius robustus Schram *et al.*, 1986

Godzillionomus Yager, 1989

Godzillionomus frondosus Yager, 1989

Godzillionomus schrami Iliffe *et al.*, 2010.

Pleomothra Yager, 1989

Pleomothra apletocheles Yager, 1989

Pleomothra fragilis Koenemann *et al.*, 2008

Familie **Micropacteridae** Koenemann *et al.*, 2007

Micropacter Koenemann *et al.*, 2007

Micropacter yagerae Koenemann *et al.*, 2007

1.4 Stellung der Remipedia innerhalb der Crustacea

Aufgrund der homonomen Rumpfsegmente sah man die Remipedia in der Vergangenheit als ursprüngliche Crustacea an (s. Abb. 1.10). In frühen phylogenetischen Analysen, durchgeführt anhand morphologischer Merkmale,

wurden die Remipedia von vornherein als Außengruppe definiert oder erschienen basal zu allen rezenten Crustacea (SCHRAM 1986; SCHRAM & HOF 1997; NEIBER *et al.* 2011).

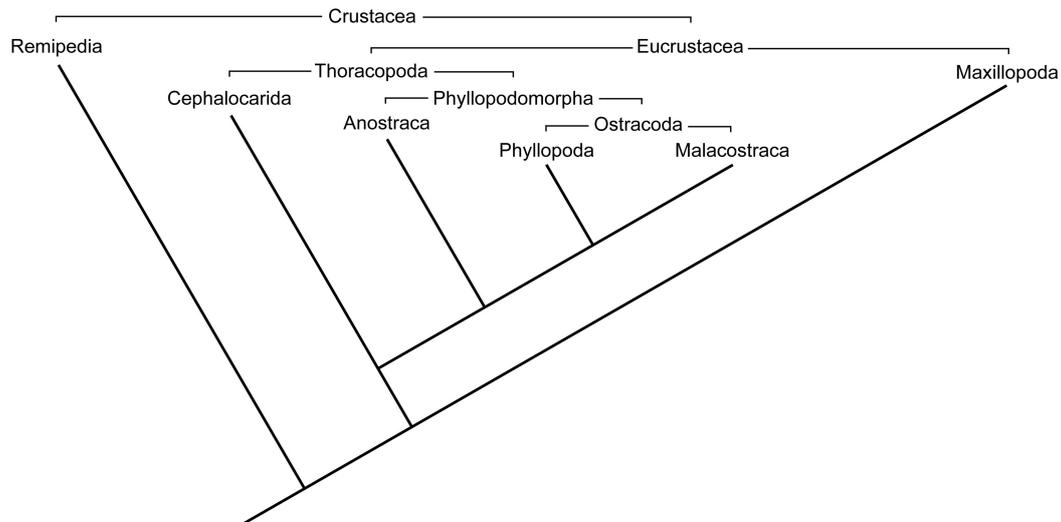


Abbildung 1.10 Die frühere Einordnung der Remipedia in das System der Crustacea (Ax 1999, modifiziert).

In den letzten Jahren haben verschiedene Untersuchungen zunehmend Zweifel an der basalen Stellung der Remipedia innerhalb der Crustacea geweckt. So haben FANENBRUCK & HARZSCH (2005) in vergleichenden Untersuchungen der Hirnstrukturen von Remipedia und anderen Crustacea ein Schwestergruppenverhältnis von Remipedia und Malacostraca nahegelegt. Ebenso hat eine phylogenetische Rekonstruktion rezenter und fossiler crustaceenartiger Arthropoden Hinweise auf eine Verwandtschaft der Remipedia mit den Malacostraca, den meisten Maxillopoda und einigen Phyllopoda ergeben (SCHRAM & KOENEMANN 2004). SHULTZ & REGIER (2000) haben zwei nukleäre, proteinkodierende Marker (EF-1 alpha, Pol II) für eine phylogenetische Untersuchung verwendet und ein Schwestergruppenverhältnis zwischen den Remipedia und den Insecta gefunden. STEMME *et al.* (2010) verglichen serotonerge Neurone verschiedener Arthropoden miteinander und brachten diese in einen phylogenetischen Zusammenhang. Ihre Ergebnisse geben Hinweise auf eine Verwandtschaft der Remipedia mit den Malacostraca und den Hexapoda. Eine molekularbiologische Arbeit von ERTAS *et al.* (2009) zeigte, dass das Hämocyanin der Remipedia sehr große Ähnlichkeit mit dem der Hexapoda aufweist und beide zusammen die Schwestergruppe der Malacostraca bilden. Eine phylogenetische Analyse der Arthropoden, basierend auf den molekularen Markern Cytochrom c Oxidase Untereinheit 1 (COI), 16S-rRNA und 18S-rRNA zeigte eine Verwandtschaft von Remipedia und Cephalocarida Sanders, 1955, die zusammen ein

Schwestergruppenverhältnis zu den Protura Silvestri, 1907 und Diplura Börner, 1904 aufweisen (KOENEMANN *et al.* 2010). REGIER *et al.* (2010) haben eine phylogenetische Analyse mit 62 proteincodierenden nukleären Genen von 75 Arthropodenarten durchgeführt und fanden ein Schwestergruppenverhältnis von Remipedia und Cephalocarida. Sie nennen diese Klade Xenocarida. Zusammen mit den Hexapoda bilden sie wiederum die neue, übergeordnete Klade Miracrustacea.

1.5 Strukturalinierungen in phylogenetischen Analysen

Der Abgleich von Sequenzen wird auch Alinierung genannt. Die Alinierung dient laut WÄGELE (2001) der Homologisierung der Nukleotidpositionen (Positionshomologie). Da nach MORRISON (2006) das Alinierungsverfahren mindestens genauso wichtig wie die Strategie für die Baumsuche selbst ist, wird in diesem Abschnitt auf die Besonderheiten der Alinierung von rRNAs in phylogenetischen Untersuchungen eingegangen.

Typisch für rRNAs ist ihre Sekundärstruktur. Einzelsträngige Nukleinsäuren sind in der Lage definierte Strukturen zu bilden. Kommen innerhalb eines Einzelstranges zwei komplementäre Sequenzen zusammen, bildet sich eine Doppelhelix aus. Enthält diese Doppelhelix Abschnitte in denen es zu einer falschen Paarbildung kommt, führt dies zu einer lokalen Destabilisierung. Jedoch werden damit innerhalb der Doppelhelix Unregelmäßigkeiten geschaffen, die für eine übergeordnete Faltung oder andere Aspekte der Funktion von Bedeutung sein können (BERG *et al.* 2003). Die Fähigkeit der RNAs zur Bildung von Sekundärstrukturen ermöglicht es ihnen mit Proteinen und DNA zu interagieren.

Das 18S-rRNA-Gen ist Bestandteil des eukaryotischen Kerngenoms. Bei seinem Produkt handelt es sich ebenfalls um eine funktionelle rRNA. Das 18S-rRNA-Gen kommt in Transkriptionseinheiten gemeinsam mit dem 28S-rRNA-Gen und dem 5,8S-rRNA-Gen vor. Diese Transkriptionseinheiten sind wiederum in Tandemreplikaten angeordnet (siehe Abbildung 1.11). Die Anzahl der Replikate im Genom kann bis zu 5000 betragen (HWANG & KIM 1999). SPEARS & ABELE (1997) konnten für *Speleonectes tulumensis* zahlreiche 18S-rRNA Pseudogene nachweisen. Pseudogene wurden früher als DNA Sequenzen definiert, welche strukturell ähnlich zu funktionierenden Genen sind, allerdings entscheidende Defekte aufweisen die es ihnen unmöglich machen funktionierende Proteine zu bilden (D'ERRICO *et al.* 2004).

Jedoch muss diese Definition erweitert werden, da es möglich ist, dass Pseudogene während der Evolution neue Eigenschaften erwerben (D'ERRICO *et al.* 2004).

Wie bereits oben erläutert sind rRNAs in der Lage Sekundärstrukturen zu bilden. Eine solche Sekundärstruktur ist durch verschiedene Einheiten gekennzeichnet. Neben doppelsträngigen Helices, welche *stems* genannt werden, finden sich auch einzelsträngige Bereiche. Diese lassen sich nach ihrer Lage in *buldge loops* (einfache Verbindungen zwischen zwei *stems*) und *hairpin loops* (bei endständiger Lage) einteilen (siehe Abb. 1.12).

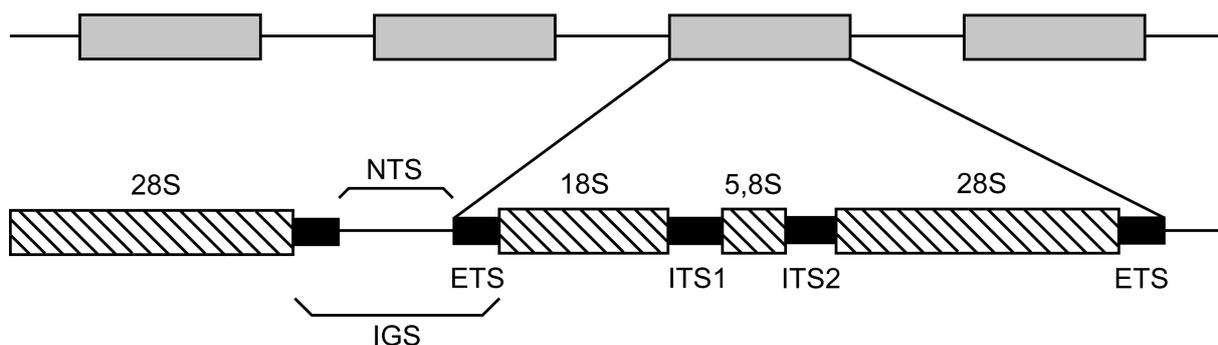


Abbildung 1.11 Schematische Darstellung der Anordnung der rRNA-Gene in Replikaten. (ITS = *internal transcribed spacer*, ETS = *external transcribed spacer*, NTS = *non-transcribed spacer*, IGS = *intergenic spacer*)

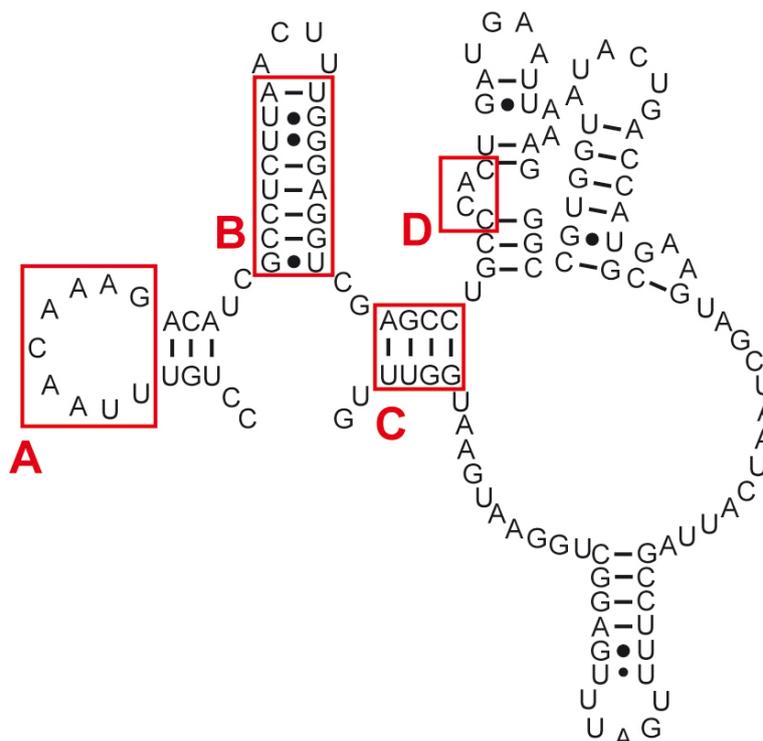


Abbildung 1.12 Strukturelle Einheiten einer rRNA am Beispiel eines Abschnitts der 16S-rRNA von *A. salina*. A = *hairpin loop*, B = *geschlossener stem*, C = *interner stem*, D = *buldge loop*.

Einige Regionen der RNA-Gene sind sehr stark konserviert und sind sogar in verschiedenen Domänen vorhanden, deren gemeinsame Vorfahren Milliarden von Jahren zurückliegen (GUTELL 1996). Dies bedeutet, dass jede Mutation in diesen Regionen erhebliche Auswirkungen auf die Funktion des Ribosoms haben muss (KJER *et al.* 2009). Andere Regionen weisen auch bei nahe verwandten Taxa eine hohe Variabilität auf, was auf eine größere Toleranz von Sequenzveränderungen in diesen Abschnitten hinweist (SCHNARE 1996). Diese Bereiche liegen auf der Oberfläche des Ribosoms und sind daher wenig kritisch für dessen Funktion (BAN 2000, CATE 1999, SCHLUEZEN 2000). Abbildung 1.13 zeigt eine Übersicht über die Variabilität der verschiedenen Regionen einer kleinen Untereinheit der rRNA von *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen, 1883.

Aufgrund dieser starken Konservierung der Sekundärstruktur von rRNAs haben einige Autoren (z.B. KJER *et al.* 1994; KJER 1995, 2009; HOLZENTHAL *et al.* 2007; WHITFIELD & KJER 2007; STOCSTITS *et al.* 2009; v. REUMONT *et al.* 2009) Konzepte zum Alinieren von rRNAs in phylogenetischen Analysen entwickelt. Sie stellen Alternativen zu dem häufig verwendeten Verfahren der Alinierung durch Computerprogramme dar, welche eine Minimierung der Nukleotidveränderungen als Optimalitätskriterium verwenden. Diese alternativen Konzepte basieren auf der Annahme, dass alle Sequenzen einer multiplen Alinierung (d.h. zwei oder mehr Sequenzen, die abgeglichen werden sollen) in dieselbe angenommene konservierte Struktur gefaltet werden können. Die Sekundärstruktur ist stärker konserviert als die Primärstruktur (Nukleotide) oder in anderen Worten, die Struktur einer rRNA verändert sich deutlich langsamer als die Nukleotide aus denen sie gebildet wird. „Daher macht die Minimierung der Veränderungen der Nukleotide als Optimalitätskriterium für eine Alinierung keinen biologischen Sinn, wenn die Struktur zwischen Organismen stark konserviert ist, die Nukleotide innerhalb dieser Struktur aber relativ variabel sind. Aus diesem Grund erscheint es sinnvoll zunächst die strukturelle Veränderung zu optimieren und dann erst die Minimierung der Nukleotidveränderung“ (aus KJER *et al.* 2009, Übersetzung des Autors). Entscheidend ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass Nukleotide in paarigen Abschnitten (Helices) keine unabhängigen Merkmale sind. Wenn es eine Substitution von einem Nukleotid in einem möglichen Stamm gibt, wird auch eine Substitution an der Position seines Bindungspartners begünstigt (KJER *et al.* (2009). Diese Eigenschaft kann man sich auch zur Überprüfung der Sequenzen zu Nutze

machen. Findet sich in einem hochkonservierten *stem*-Bereich eine Substitution bei einem der beiden Bindungspartner, mit der eine korrekte Bindung nicht möglich ist, kann man mit großer Wahrscheinlichkeit von einem Sequenzierfehler ausgehen. Daher ist es sinnvoll die Daten erneut zu überprüfen. Auf die Bedeutung von Sekundärstrukturalinierungen für die Fehlerkorrektur der Daten haben bereits GILLESPIE *et al.* (2005) hingewiesen.

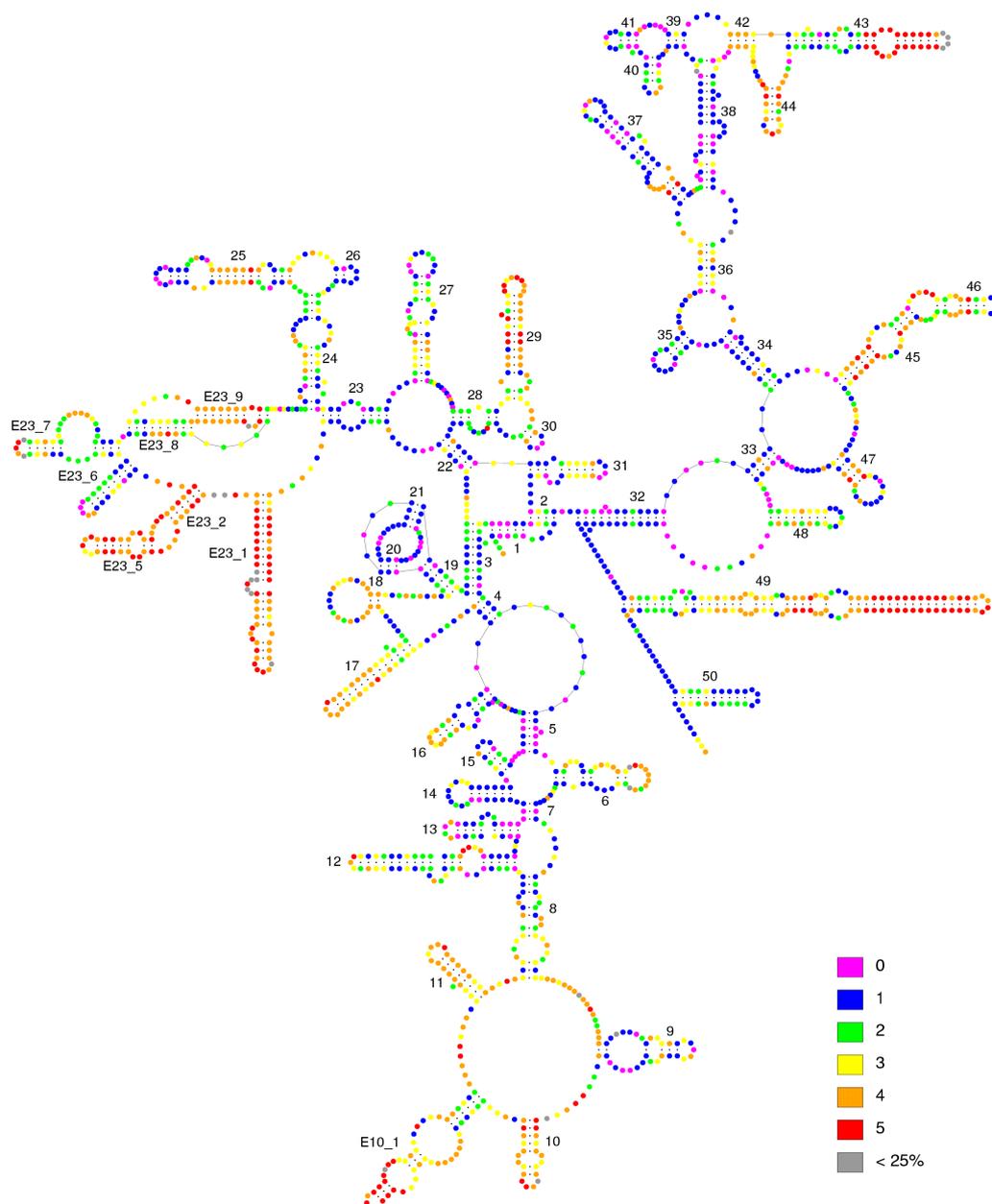


Abbildung 1.13: Variabilitätskarte der kleinen Untereinheit der rRNA von *Saccharomyces cerevisiae*. Die Farbskala gibt die Variabilität der einzelnen Nukleotidpositionen an. Lila markierte Positionen sind bei den Eukaryoten hoch konserviert, graue Positionen sind wenig oder kaum konservierte Bereiche (http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/rRNA/varmaps/Scer_ssu.html).

1.6 Grundlagen der Arbeit

„Die Taxonomie jeder neu anerkannten Gruppe ist gezwungenermaßen bloß ein Katalogsystem. Um eine Ordnung der Biodiversität zu erzwingen, werden Namen lose gruppiert.“ (KOENEMANN *et al.* 2007c, Übersetzung des Autors).

Dieses Zitat trifft auch auf die Klasse Remipedia zu. Ihre taxonomische Einteilung basiert hauptsächlich auf morphologischen Beschreibungen aus der Zeit als nur wenige Arten bekannt waren. Seit 2002 hat sich die Anzahl der Arten verdoppelt und mit dem Hinzufügen von neuen Arten erscheinen die morphologischen Definitionen der Familien und einiger Gattungen unsicher (NEIBER *et al.* 2011)(s. Abb. 9.1). Die Diagnose der Familie Speleonectidae beispielsweise stammt von YAGER (1981) und wurde von SCHRAM *et al.* (1986) bei der Neubeschreibung von *Speleonectes ondinae* und *Speleonectes lucayensis* verbessert. Die Autoren weisen darauf hin, dass neu beschriebene Arten und die Einführung von zwei neuen Gattungen diese ohnehin schon labile Diagnose weiter geschwächt haben (KOENEMANN *et al.* 2007b). YAGER (1994) diskutiert in der Neubeschreibung von *S. gironensis* bereits die Notwendigkeit einer taxonomischen Neubewertung von *Speleonectes benjamini*. Und KOENEMANN *et al.* (2007c) empfehlen *Cryptocorynetes* eine eigene Familie zuzuweisen. Eine umfassende phylogenetische Analyse der Klasse Remipedia wäre daher sinnvoll um die bereits beschriebenen Taxa zu bestätigen oder neu einzuordnen.

Es existiert bereits eine phylogenetische Analyse der Remipedia aus dem Jahr 2007 (KOENEMANN *et al.* 2007c). In dieser Analyse wurden alle bis dahin bekannten Remipedia-Arten eingeschlossen. Diese ausschließlich auf morphologischen Merkmalen basierende phylogenetische Untersuchung gab ebenfalls Anlass zum Zweifel an der korrekten Einordnung der neuen Arten in das bestehende System der Remipedia. Die Analyse ergab zwei sich widersprechende Phylogenien im Bezug auf die Position der Micropacteridae innerhalb der Klasse (KOENEMANN *et al.* 2007c). Seit der Veröffentlichung dieser Arbeit sind sieben neue Arten beschrieben worden: *Cryptocorynetes longulus*, *Speleonectes emersoni*, *Pleomothra fragilis*, *Cryptocorynetes elmorei*, *Speleonectes kakuki*, *Speleonectes atlantida* und *Godzillioptomus schrami*. Zusätzlich sind gerade zwei neue Artbeschreibungen (*Speleonectes williamsi* n. sp. und *Speleonectes fuchscockburni* n. sp.) in Arbeit (pers. Mitteilung S. Koenemann). Daher stellt diese phylogenetische Analyse von 2007 nicht mehr den aktuellen Stand der Forschung dar. Zudem haben bereits

KOENEMANN *et al.* (2007c) geschrieben, dass eine Klärung der Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Gruppe durch ausschließlich morphologische Merkmale nicht möglich ist. Eine neue phylogenetische Analyse der Klasse Remipedia alternativ zu klassischen morphologischen Methoden scheint daher nötig. Phylogenetische Analysen, die auf molekularen Markern basieren, sind ein vielversprechender Ansatz. Die Vorgehensweise hat sich bereits bei der Untersuchung verschiedenster Crustacea-Gruppen bewährt (z.B. GIRIBET *et al.* 2001, STENDERUP *et al.* 2006, KLAUS *et al.* 2009, KOENEMANN *et al.* 2010).

Schon früher wurden genetische Untersuchungen bei Remipeden durchgeführt. So konnten KOENEMANN *et al.* (2009a) mit Hilfe des COI-Markers den Nachweis erbringen, dass es sich bei der von ihnen in einer anchialinen Höhle gefundenen Larve um die eines Remipedia handelte. Und KOENEMANN *et al.* (2009b) konnten das Vorkommen einer neuen sympatrisch lebenden Art im Corona-Lavatunnel auf Lanzarote durch genetische Vergleiche bestätigen. Bei keiner dieser Untersuchungen handelt es sich um eine phylogenetische Analyse. Jedoch wurden bereits früher Sequenzdaten von Remipedia auch in phylogenetischen Analysen verwendet. So haben SPEARS & ABELE (1997) das 18S-rRNA-Gen von *Speleonectes tulumensis* sequenziert und als Marker verwendet. Ebenso haben KOENEMANN *et al.* (2010) Sequenzdaten von *Speleonectes tulumensis* und *Pleomothra apletocheles* für eine phylogenetische Analyse verwendet. In beiden Fällen allerdings waren nur ein oder zwei Vertreter der Remipedia vorhanden, da es sich um Untersuchungen zur Klärung der Crustacea-Phylogenie auf höherer taxonomischer Ebene handelte.

Es ist relativ einfach geworden DNA-Sequenzen von Genen zu bestimmen (HUELSENBECK & RONQUIST 2001). Bei molekularen phylogenetischen Analysen entstehen daher oft Datensätze mit einer großen Menge an Merkmalen. LARGET & SIMON (1999) haben gezeigt, dass im Vergleich Bayesische Analysen deutlich rechnereffizienter als die zu der Zeit üblichen Ansätze mit Maximum-Likelihood-Verfahren inklusive Bootstrap-Analyse sind. HUELSENBECK & RONQUIST (2001) haben mit MrBayes ein Programm zur Baumsuche entwickelt das Bayesische Analysen durchführt und so den Einsatz großer Datenmengen und vieler Taxa ermöglicht. Zudem gestattet der Anstieg der Computereffizienz zusammen mit dem Ansatz der bayesischen Markov Chain Monte Carlo (MCMC) Analyse die Nutzung komplexerer und evolutionär realistischerer Modelle. MrBayes 3 verfügt zudem über eine parallele

Version für Computercluster oder Multikern-Rechner (RONQUIST & HUELSENBECK 2003). NEIBER *et al.* (2011) haben die erste molekulare Phylogenie der Remipedia, bei der auch Bayesische Analysen verwendet wurden, veröffentlicht. Ihre Analyse basiert jedoch nur auf einem Marker (COI) und stellt nur ein vorläufiges Ergebnis dar.

1.7 Ziele der Arbeit

In der hier vorliegenden Arbeit wird erstmalig eine umfassende phylogenetische Analyse der Klasse Remipedia anhand mehrerer molekularer Marker (einzeln und als kombinierte Datenmatrix) mittels einer Bayesischen Analyse durchgeführt. Dazu soll von allen bisher bekannten Arten DNA isoliert und spezielle Abschnitte des mitochondrialen und des nukleären Genoms sequenziert werden. Ergänzt werden diese Daten durch bereits bestehende Sequenzen internationaler Gendatenbanken (The European Molecular Biology Laboratory (EMBL) und Genbank). Als Zielgene im Mitochondrium werden zum einen die große ribosomale Untereinheit (16S-rRNA), zum anderen die erste Untereinheit der Cytochrom c Oxidase (COI) untersucht. Im Kerngenom wird ein Gen des Histon-Komplexes 3 (Histon 3) sowie die kleine, ribosomale Untereinheit (18S-rRNA) verwendet. Erstmals werden neben computerbasierten Verfahren auch handoptimierte Strukturalinierungen bei der Untersuchung der Phylogenie der Remipedia eingesetzt. Die Ergebnisse der phylogenetischen Untersuchung werden ausführlich im morphologischen Kontext diskutiert um gegebenenfalls eine damit verbundene Revision der Systematik dieser Gruppe durchzuführen. Eine phylogenetische Analyse der Remipedia ist auch besonders vor dem Hintergrund der disjunkten Verbreitung wünschenswert, um neue Einblicke in die phylogeographische Geschichte dieser Gruppe zu erhalten.

2 Material und Methoden

2.1 Markergene

Die hier verwendeten Markergene lassen sich in zwei Gruppen unterteilen. Die der proteinkodierenden Gene (Histon 3 und Cytochrom c Oxidase Untereinheit 1 (COI)) und die der rRNAs (16S-rRNA und 18S-rRNA). Diese haben unterschiedliche Eigenschaften in Bezug auf Bau und Funktion und insbesondere ihrer Alinierbarkeit (siehe Abschnitt Alinierung). Des Weiteren kann man die Gene bezüglich ihrer Herkunft in Kerngene (18S-rRNA und Histon 3) und mitochondriale Gene (COI und 16S-rRNA) einteilen. Wegen der unterschiedlichen Substitutionsraten der verschiedenen Gene ist eine generelle Unterscheidung, welches Gen oder welche Genregion für die Untersuchung der jeweiligen Fragestellung bzw. taxonomischen Ebene geeignet ist und welches nicht, schwierig. Abbildung. 2.1 zeigt eine Einteilung, die auf verschiedenen Erfahrungswerten beruht (HWANG & KIM 1999).

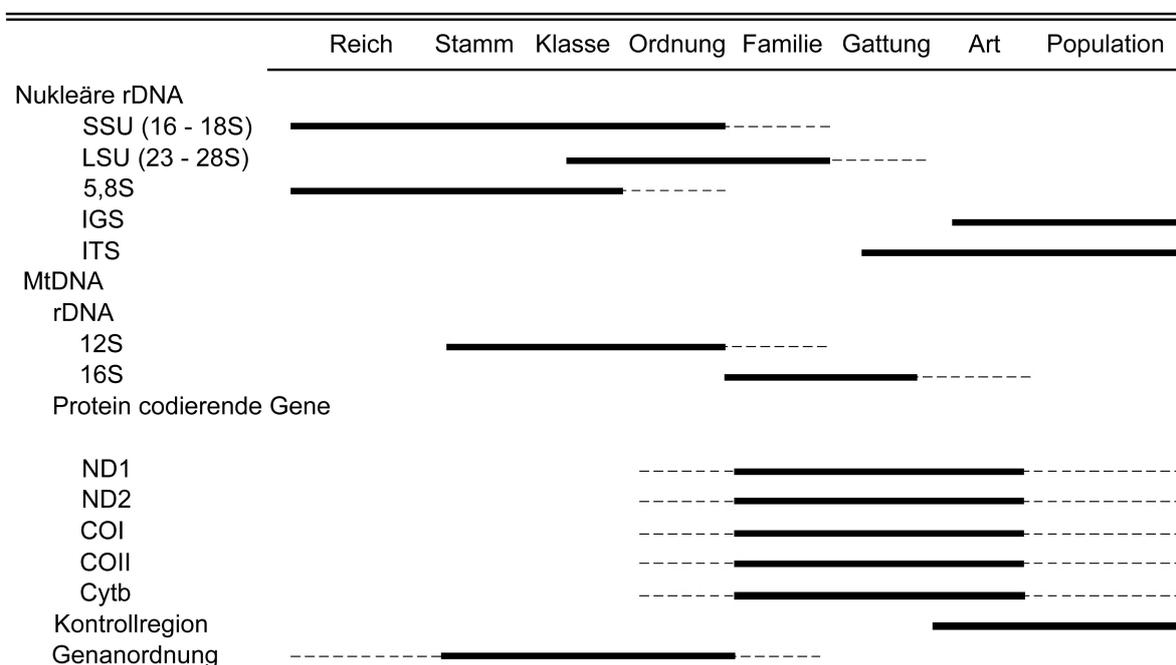


Abbildung 2.1 Mögliche Anwendungsbereiche einer Auswahl von molekularen Markern und Genregionen für phylogenetische Studien (HWANG & KIM 1999, verändert). SSU = *small subunit* (Kleine Untereinheit), LSU = *large subunit* (Große Untereinheit), IGS = *intergenic spacer*, ITS = *internal transcribed spacer*, ND1 = NADH Dehydrogenase Untereinheit 1, ND2 = NADH Dehydrogenase Untereinheit 2, COI = Cytochrom c Oxidase Untereinheit 1, COII = Cytochrom c Oxidase Untereinheit 2, und Cytb = Cytochrom b Oxidoreduktase.

Neben den Markern, die sich speziell für Untersuchungen auf Art- und Familienebene eignen (COI, 16S-rRNA und 18S-rRNA), wird zusätzlich noch Histon 3 als Markergen in die Untersuchung einbezogen. Histon 3 ist relativ stark konserviert und eignet sich daher für die Betrachtung höherer taxonomischer Einheiten (GIRIBET *et al.* 2001; KLAUS *et al.* 2009).

2.2 Probenmaterial

Das für die Untersuchungen benutzte Material wurde von Prof. Thomas M. Iliffe (Texas A&M University, Galveston, U.S.A) im Rahmen von Forschungsreisen in der Karibik und auf der Yucatan Halbinsel gesammelt. Sämtliche Proben wurden mit der Genehmigung der Regierungen oder zuständigen Ministerien der jeweiligen Länder gesammelt. Weitere Proben wurden von Museen und Kollegen freundlicherweise zur Verfügung gestellt. So konnten Proben für fast alle bekannten Remipedia-Taxa verwendet werden. In der Analyse fehlen lediglich *Speleonectes tanumekes*, *Speleonectes minnsi* und *Speleonectes epilimnius*. Für diese Arten stand kein Material bei Museen und Sammlungen zur Verfügung, auch war es den Tauchern nicht möglich neue Proben zu sammeln.

Nicht bei allen Proben war eindeutig festzustellen unter welchen Bedingungen die Tiere fixiert und gelagert wurden. Beispielsweise sind nahezu alle während der Exkursion im Jahre 2006 auf Great Abaco Island gesammelten Proben vom Autor dieser Arbeit in 4°C kaltem 96%-igem Ethanol fixiert worden. Zudem wurden die Tiere zuvor auf 4°C heruntergekühlt. Einige kleinere Tiere wurden in RNAlater RNA Stabilization Reagent (Qiagen) fixiert. Die Proben wurden nach Ankunft in Deutschland bei -20°C gelagert. Die Vorgehensweise während anderer Exkursionen ist jedoch nicht bekannt. So wurden Proben anscheinend teils in Ethanol, teils in Formol fixiert und bei Raumtemperatur gelagert.

2.3 Wahl der Außengruppe

Erst kürzlich ist eine umfassende phylogenetische Studie erschienen, die die Stellung der Remipedia im System der Crustacea untersucht hat (KOENEMANN *et al.* 2010). Sie hat eine nahe Verwandtschaft zwischen Remipedia, Diplura, Cephalocarida und Malacostraca gezeigt. Daher wird in dieser Arbeit die Zahl der Außengruppentaxa auf diese drei Gruppen reduziert. Die Auswahl der Arten innerhalb der einzelnen Großgruppen erfolgte nach einem Vergleich der Verfügbarkeit der entsprechenden COI-, 16S-rRNA- und H3-Sequenzen in Genbank.

Als Außengruppenspezies wurden *Campodea tillyardi* Silvestri, 1931 (Diplura) als Vertreter der Insekten, *Hutchinsoniella macracantha* Sanders, 1955 (Cephalocarida), *Penaeus monodon* Fabricius, 1798 (Malacostraca) und *Branchinella occidentalis* Dakin, 1914 (Branchiopoda) als Vertreter der Crustacea gewählt.

2.4 Vorbereitung der Proben

Für die DNA-Extraktion wurden zwischen vier und acht Schwimmbeine verwendet. Zur Sektion der Schwimmbeine wurden die Tiere in eine alkoholgefüllte Petrischale überführt und mit Hilfe zweier steriler DuMont-Pinzetten präpariert. Dabei wurde darauf geachtet, die Extremitäten möglichst nahe am Rumpf abzutrennen, um zumindest Teile des dorsalen Beinmuskels (siehe KOENEMANN & ILIFFE *in press*) mit aus dem Rumpf herauszuziehen. Hierbei wurde behutsam gearbeitet um den Darm nicht zu beschädigen, damit Kontaminationen durch Fremd-DNA aus der Nahrung ausgeschlossen werden konnten. Die Beinmuskeln wurden nach Möglichkeit mit aus dem Rumpf gezogen, da diese leicht zu lysieren sind und so die Ausbeute der DNA erhöht werden konnte.

Konnte mit Hilfe dieser Methode keine ausreichende Menge DNA gewonnen werden und brachte auch die Erhöhung der Anzahl der eingesetzten Beine kein positives Ergebnis, wurden in Ausnahmefällen Rumpfsegmente oder ganze Tiere eingesetzt. Dabei wurde das Risiko der Verunreinigung mit Fremd-DNA bewusst in Kauf genommen. Auch die Rumpfteile mit Extremitäten wurden in alkoholgefüllten Petrischalen mittels zweier Pinzetten vom Rest des Körpers getrennt. Kleine Tiere wurden ganz zur DNA-Extraktion herangezogen.

Anschließend wurden die Gewebeteile in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß überführt und mit einer Tischzentrifuge kurz zentrifugiert um alle Gewebeteile und vor allem den Alkohol am Gefäßboden zu sammeln. Bei allen Proben wurde anschließend mit einer Pipette möglichst viel von dem am Boden des Gefäßes befindlichen Alkohol abgesaugt.

2.5 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktionen erfolgten mit dem Micro-, dem Mini- oder dem Blood and Tissue DNA-Extraktionskit (Qiagen) nach den Anweisungen des Herstellers. Es wurde das Protokoll für tierische Gewebe verwendet. Als zusätzlicher Schritt wurden die Schwimmbeine jeweils nach Zugabe des Lysepuffers mit Hilfe einer sterilen

Pipettenspitze am Boden des Reaktionsgefäßes zerdrückt und zerrieben um den Zugang des Lysepuffers und der Enzyme zum Gewebe zu erleichtern. Aufgrund des Exoskeletts können die Schwimmbeine als einseitig geschlossene Röhren aufgefasst werden, in die der Lysepuffer und die Proteinkinase nur von der offenen Seite her eindringen kann. Die Lyse läuft dann sehr langsam und/oder unvollständig ab. Daher ist die DNA-Extraktion erschwert und die Ausbeute ggf. gering. Ein Aufbrechen der Cuticula ist zur Erhöhung der Ausbeute der DNA-Extraktion wünschenswert.

Der Erfolg der Extraktion wurde jeweils durch Gelelektrophorese mit einem Ethidiumbromid-gefärbten 0,8 % (w/v) *high pure low-melting* Agarosegel überprüft und digital dokumentiert.

2.6 Amplifikation

Für jede Probe wurde zunächst eine Verdünnungsreihe (1:10, 1:100, 1:1000 und 1:10.000) erstellt um die optimale Konzentration für die PCR zu ermitteln. Dabei wurden die verschiedenen Verdünnungen durch eine Standard-PCR mit den Primern LCO1-1490 und HCO1-2198 amplifiziert. Die so ermittelte optimale Konzentration für jede Probe wurde anschließend in den verschiedenen PCRs verwendet. In den Tabellen 7.1 und 7.2 sind die für die unterschiedlichen Gene verwendeten Reagenzien aufgelistet, in den Tabellen 7.3 und 7.4 die PCR Parameter. Eine Übersicht der verwendeten Primer findet sich in Tabelle 7.5. Zur Aufreinigung der PCR-Produkte wurde das NucleoSpin Extract II Kit von Macherey-Nagel entsprechend der Richtlinien des Herstellers verwendet.

2.7 Sequenzierung

Die aufgereinigten PCR-Produkte wurden zum Teil vom Autor mit einem MegaBACE-1000™-Kapillarsequenzierer analysiert. Die bei der Sequenzierreaktion verwendeten Primer entsprachen denen in der jeweiligen zugehörigen PCR. Das Protokoll der Sequenzierreaktion befindet sich in Anhang A. Die Aufreinigung der Sequenzierreaktionen geschah im dem Fall mit Sephadex G-50 Superfine (Sigma) in HTS Multiscreenplatten. Das Protokoll findet sich im ebenfalls im Anhang A (s. Aufreinigung Sequenzierreaktion). Die Ergebnisse der jeweiligen Sequenzierungen wurden als anotierte Elektropherogramme vom Gerät ausgegeben.

Der größte Teil der Proben wurde jedoch bei der Firma Macrogen Inc. in Südkorea sequenziert. Die Ergebnisse wurden als annotierte Elektropherogramme von dem firmeneigenen Server heruntergeladen.

2.8 Sequenzaufbereitung

Zunächst wurden die einzelnen Elektropherogramme mit dem Programm SeqMan II (DNASTAR Lasergene) auf Unregelmäßigkeiten und Auffälligkeiten kontrolliert. Bei schlechten Sequenzierungsergebnissen (kurze Sequenzen, unregelmäßige Elektropherogramme oder Artefakte, etc.) hat Macrogen selbständig eine erneute Analyse mit veränderten Parametern durchgeführt. In einigen Fällen wurde eine Resequenzierung bei Macrogen Inc. angefordert. Führte auch dies nicht zu zufriedenstellenden Ergebnissen, wurden die Amplifikation und ggf. auch die DNA-Extraktion wiederholt. In einigen Fällen musste von alternativen Proben DNA extrahiert und die Amplifikation und Sequenzierung durchgeführt werden. Gleiches gilt auch für die Sequenzen, die mit dem MegaBACE-1000™-Kapillarsequenzierer erstellt wurden.

Wurden bei einem Taxon mehrere Fragmente vom selben Marker amplifiziert und sequenziert wurde anschließend daraus eine Konsensussequenz erstellt. Alle gewonnenen Sequenzen wurden mit Hilfe des Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (ALTSCHUL *et al.* 1997) des National Center for Biotechnology Information untersucht, um mögliche Kontaminationen der Proben sowie Fremd-DNA oder Pseudo-Gene zu erkennen (siehe auch die Abschnitte Kontaminationen in der Diskussion). Eindeutig als falsch erkannte Sequenzen wurden aus dem weiteren Verfahren ausgeschlossen; in diesen Fällen wurden die PCR sowie die Sequenzierung wiederholt (ggf. auch mit Alternativmaterial).

2.9 Alinierung

Aufgrund ihrer Eigenschaften gibt es einige grundlegende Unterschiede zwischen den verwendeten Markern im Bezug auf ihre Alinierbarkeit. Zwischen den hier verwendeten Markern kann man proteinkodierende (H3 und COI) und nicht-proteinkodierende Gene (16S-rRNA) unterscheiden. In dieser Arbeit wurde für die proteinkodierenden Gene (H3 und COI) ein computerbasiertes Verfahren, für die 16S-rRNA Sequenzen ein computerbasiertes Verfahren mit anschließender manueller Optimierung gewählt (siehe unten).

2.9.1 Alinierung der proteinkodierenden Gene

Zunächst wurden alle Datensätze mit MUSCLE (EDGAR 2004) aliniert. Es wurden dabei die voreingestellten Parameter verwendet. Diese Alinierungen wurden auf Auffälligkeiten untersucht, welche ggf. in den Elektropherogrammen kontrolliert und korrigiert wurden. Diese veränderten Sequenzen wurden in die Matrix eingefügt und das Verfahren wiederholt. Bei der endgültigen, alinierten Matrix wurden per Hand die Enden getrimmt, d.h. die Überhänge, die zum größten Teil keine Sequenzinformationen trugen wurden gelöscht. Dabei wurde versucht einen Kompromiss zwischen maximaler Länge des für die Analysen angestrebten Bereichs und der Minimierung von Sequenzbereichen ohne Information zu erreichen. Eine Übersicht der durchgeführten Schritte findet sich in Abbildung 2.2.

Zur Überprüfung der Sequenzen der proteinkodierenden Gene wurden die DNA-Sequenzen in Aminosäure-Sequenzen übersetzt. Da Insertionen oder Deletionen von ein oder zwei Nukleotiden zu Leserasterverschiebungen (*frame shifts*) führen, konnten diese anschließend leicht identifiziert werden, da sich die gesamte Aminosäure-Sequenz nach den Insertionen und Deletionen komplett verändert. Insertionen oder Deletionen von drei Nukleotiden führen zwar nicht zu einer Leserasterverschiebung, jedoch ist auch eine solche Veränderung anhand einer zusätzlichen oder fehlenden Aminosäure leicht zu erkennen. Waren entsprechende Auffälligkeiten sichtbar, wurde das bzw. die entsprechenden Elektropherogramme erneut untersucht und gegebenenfalls korrigiert. Die dadurch entstandene neue Sequenz wurde statt der alten eingesetzt und das gesamte Verfahren wiederholt (siehe Abb. 2.2). Konnten keine offensichtlichen Fehler in den Elektropherogrammen festgestellt werden, wurden die Sequenzierung oder sogar die PCR und die Sequenzierung wiederholt.

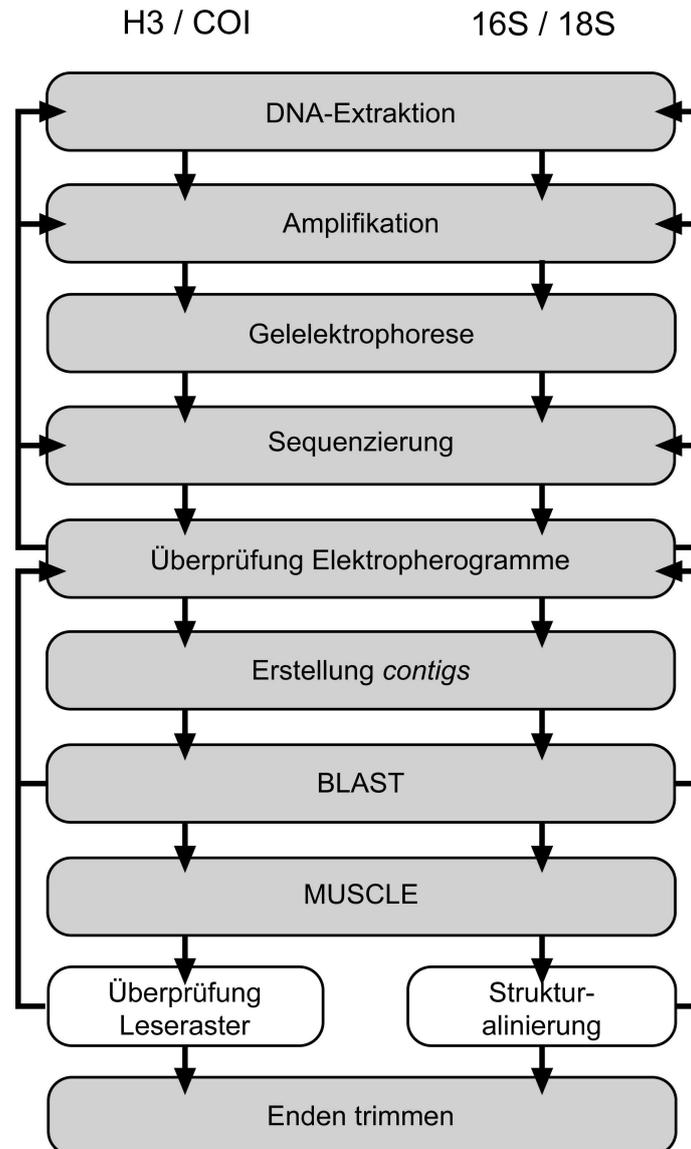


Abbildung 2.2 Fließschema Labor / Daten.

2.9.2 Manuelle Alinierung

Die Alinierungen der rRNA-Gene in dieser Arbeit wurden in folgender Art und Weise durchgeführt: Dem ungekürzten 16S-rRNA-Datensatz wurde zunächst die Sequenz von *Artemia franciscana* Kelloggs, 1906 (GenBank: X69067.1) als erstes Taxon in der Matrix zugefügt. Mit diesem Datensatz wurde dann eine computergestützte Alinierung mit dem Programm MUSCLE (EDGAR 2004) erstellt. Diese Alinierung wurde anschließend als Nexus-Datei mit der Darstellungsoption *interleaved* (120 Zeichen pro Zeile) exportiert.

Die Alinierung wurde mit Microsoft Word 2003 geöffnet und die Schriftart Courier New + Fett gewählt. Mit Hilfe der Suchen-und-Ersetzen-Funktion konnten die Buchstaben, welche die Basen darstellen, umgefärbt werden: A in Grün, C in Blau, T

wurde in U umgewandelt und Rot gefärbt. G blieb Schwarz. Dieser Schritt erleichterte die Erkennung von Gemeinsamkeiten der verschiedenen Sequenzen, Muster und Motive. Als nächster Schritt wurden die graphischen Darstellungen der 16S-rRNA von *Artemia salina* Linnaeus, 1758 (d.233.m.A.salina.pdf und d.235.m.A.salina.pdf, s. Abb. 7.1 und 7.2) von der Internetseite The Comparative RNA Web Site heruntergeladen. Diese dienten als Grundlage für die manuelle Alinierung. Für die in die Alinierung eingebaute Sequenz von *Artemia franciscana* war keine graphische Darstellung der Sekundärstruktur verfügbar. Es wurde daher eine Darstellung der Sekundärstruktur der Schwesterart *Artemia salina* verwendet.

Mit der Such-Funktion von Microsoft Word 2003 wurde nach Motiven gesucht, insbesondere nach *stems*. War das entsprechende Motiv in der *Artemia*-Sequenz gefunden, wurde es markiert und das Gegenstück dazu gesucht. Es wurde zwischen drei Arten unterschieden: geschlossener *stem*, gekennzeichnet durch runde Klammern (), der dazugehörige *loop* gekennzeichnet durch eckige Klammern [], und interne *stems*, gekennzeichnet durch senkrechte Striche | |. Sonstige einzelsträngige Bereiche wurden nicht speziell gekennzeichnet. Die hier erlaubten Basenpaarungen waren: A - U, U - A, G - C, C - G, U - G und G - U. Diese Festlegung geschah vom Autor in Anlehnung an KJER (1995).

Als ein einfaches Beispiel soll die *stem/loop*-Region 65 der 16S-rRNA dienen (siehe Abb. 2.3 A). Der 5'-Teil von *stem* 65 besteht aus UGU, das Gegenstück dazu aus ACA. Es befindet sich 9 Basen entfernt in Richtung 3'. Also wurden alle von der Suchfunktion gefundenen Motive mit UGU darauf überprüft, ob sich auch ein ACA-Motiv nach 9 Basen Richtung 3' findet. War dies der Fall, wurde 5' von UGU eine runde Klammer eingefügt und 3' eine Eckige. 5' von ACA wurde die eckige Klammer geschlossen und 3' von ACA die Runde. Darüber wurde als Bezeichnung die Nummer 65 geschrieben. Auf diese Weise wurde die Sequenz in zwei Teile unterteilt, die Sequenz 5' und die Sequenz 3' von Region 65 (s. Abb. 2.3 B). Fanden sich mehrere solche Kombinationen, wurde eine benachbarte Struktur (z.B. *stem* 66) gesucht um die korrekte Zuordnung von *stem* 65 zu verifizieren.

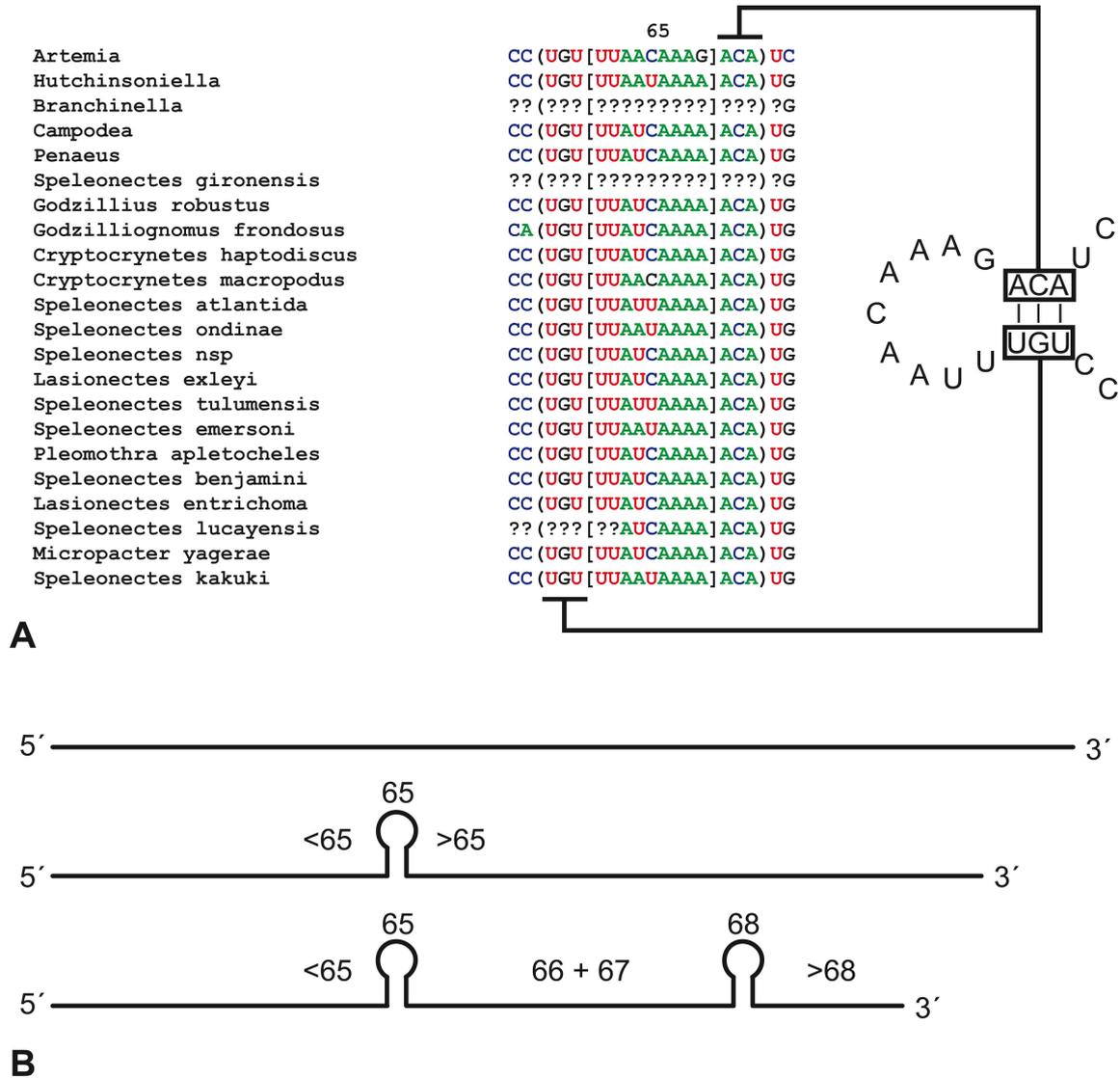


Abbildung 2.3 Prinzip der Handalinierung. A = Umsetzung von graphischen Information der RNA-Karte von *Artemia* auf die Strukturalinierung in Word. B = Die Sequenzen der Alinierung werden mit jeder neuen Zuordnung von Strukturen in Teilbereiche zerlegt, die die Zuordnung neuer Strukturen erleichtern. So muss zwischen stem 65 und stem 68 die stems 66 und 67 liegen.

Auf diese Weise wurden immer neue Motive gesucht und die Gesamtsequenz in immer kleinere Einheiten unterteilt. Konnte ein Motiv nicht gefunden werden, wurde ein anderes herangezogen, solange bis alle *stem*-Bereiche getestet waren. Mit der Zunahme der zugeordneten Region wurden die Zwischenregionen immer weiter differenziert.

Im nächsten Schritt wurde geprüft ob sich die der *Artemia*-rRNA zugeordneten Motive auch in den anderen Sequenzen (Remipedia und Außengruppe) der voralinierten 16S-Matrix finden. Waren die Sequenzen identisch, konnte die Strukturinformation einfach übertragen werden, waren sie nicht identisch mussten die Strukturinformationen neu zugeordnet werden. Dies geschah auf zwei Arten:

1. Mit dem webbasierten Programm Mfold (ZUKER 2003). Der entsprechende Abschnitt der Sequenz aus der Alinierung wurde in das Programm kopiert. Mfold schlug eine oder mehrere verschiedene Faltungen vor. Diese wurden mit den Faltungen der gleichen Abschnitte der anderen Remipedia verglichen. Die Faltung mit den größten Übereinstimmungen wurde ausgewählt.
2. Per Hand. Dabei wurde eine Zuordnung angestrebt, deren Struktur eine möglichst große Übereinstimmung mit der von *Artemia salina* aufweist.

Auf diese Art wurde jedes Nukleotid der gesamten Alinierung überprüft. Zur Überprüfung der Zuordnungen der Sequenzabschnitte zu den Strukturen wurde die Alinierung anschließend in eine bestehende Strukturalinierung integriert, die freundlicherweise von Karl Kjer (Rutgers University, Dept. Entomology, New Brunswick, USA) zur Verfügung gestellt wurde. Es handelt sich um eine Matrix aus 12S, 16S und einer transfer-RNA mit 123 Taxa, darunter auch Crustacea wie *Pagurus Fabricius, 1775* und *Artemia Leach, 1819*, aber auch Insekten wie *Campodea* (Diplura).

Abschnitte, die keiner Struktur (*stem/loop*) zugeordnet werden konnten, wurden in der Alinierung markiert. Diese wurden per Hand optimiert, indem nach gemeinsamen Motiven aller Remipedia-Sequenzen gesucht und diese geordnet wurden. Diese Arbeit wurde unabhängig voneinander von drei verschiedenen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Könemann (Institut für Tierökologie und Zellbiologie, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover) durchgeführt und die Ergebnisse in einer finalen Alinierung zusammengetragen.

Zum Schluss wurde die Alinierung in ein Nexus-Format übertragen und die Strukturinformation in der Punkt-Klammer-Schreibweise zugefügt. Die Leerzeichen, Klammern und Striche, die während des manuellen Bearbeitens eingefügt worden sind, wurden gelöscht und die Bindestriche (*gaps*) die sich außerhalb der sequenzierten Abschnitte befanden, durch Fragezeichen ersetzt. Fragezeichen stehen für unbekannte Nukleotide, Bindestriche für Deletionen. Die am Anfang eingefügte *Artemia*-Sequenz wurde wieder entfernt, da sie nur als Leitsequenz für die manuelle Alinierung diente.

Die Alinierung der 18S-rRNA-Sequenzen geschah nach dem gleichen Prinzip wie bei den 16S-rRNA-Sequenzen. Zur Vereinfachung wurde für die grobe Einteilung eine bereits bestehende Strukturalinierung von Karl Kjer (Insect 18S alignment_.rtf, <http://www.mosquito.rutgers.edu/pdata.htm>) eingesetzt. Als graphische Darstellung wurde die Sekundärstruktur von *Daphnia pulex* (Genbank Nummer AF014011) der European Ribosomal RNA Database verwendet (s. Abb. 7.3) verwendet. Die für die Strukturalinierung verwendeten Sequenzen aus Genbank sind in Tab 2.1 aufgelistet.

Tabelle 2.1 Liste der in der 18S-rRNA-Strukturalinierung eingesetzten Genbank-Sequenzen

Artname	Genbank Nummer
<i>Campodea tillyardi</i>	AF173234.1
<i>Semibalanus balanoides</i>	EU370426.1
<i>Calanus finmarchicus</i>	AF367719.1
<i>Panaeus semisulcatus</i>	DQ079766.1
<i>Paranebalia longipes</i>	EF189630.1
<i>Argulus nobilis</i>	M27187.1
<i>Hutchinsoniella macrocantha</i>	L81935.1
<i>Branchinella occidentalis</i>	AY744888.1
<i>Speleonectes tulumensis</i>	L81936.1
<i>Speleonectes gironensis</i>	AF370794.1
<i>Pleomothra apletocheles</i>	GU067681

2.10 Analysen

Es wurden fünf verschiedene Analysen durchgeführt (s. Tabelle 2.2). Die Gene wurden zunächst einzeln analysiert. Dazu wurden Matrizen der einzelnen Marker erstellt und die Enden getrimmt. Diese Matrizen wurden mit Modeltest v2 (NYLANDER 2004) analysiert und das nach dem „Akaike Information Criterion“ AIC (AKAIKE 1974) empfohlene Substitutionsmodell ausgewählt. Parallel dazu wurden weitere Substitutionsmodelle erstellt (s. Abb. 2.4). Die verwendeten Substitutionsmodelle finden sich in den MrBayes-Blöcken im Anhang A. Die Bayesischen Analysen wurden mit dem Programm MrBayes 3.1.2 (HUELSENBECK & RONQUIST 2001) durchgeführt.

Tabelle 2.2 Unterschiede der MrBayes-Parameter der verschiedenen Analysen (ntax = Anzahl Taxa, nchar = Anzahl Merkmale, ngen = Anzahl Generationen, nchain = Anzahl der Markov-Ketten).

Analyse	Gen(e)	ntax	nchar	ngen (Mio.)	nchains
Lauf 1	COI	27	657	20	10
Lauf 2	16S	25	694	20	10
Lauf 3	H3	27	328	20	10
Lauf 4	COI, 16S, H3	30	1679	20	10
Lauf 5	COI	43	657	10	4
Lauf 6	COI, 16S, H3	30	1679	20	10
Lauf 7	COI, 16S, H3	30	1679	20	10

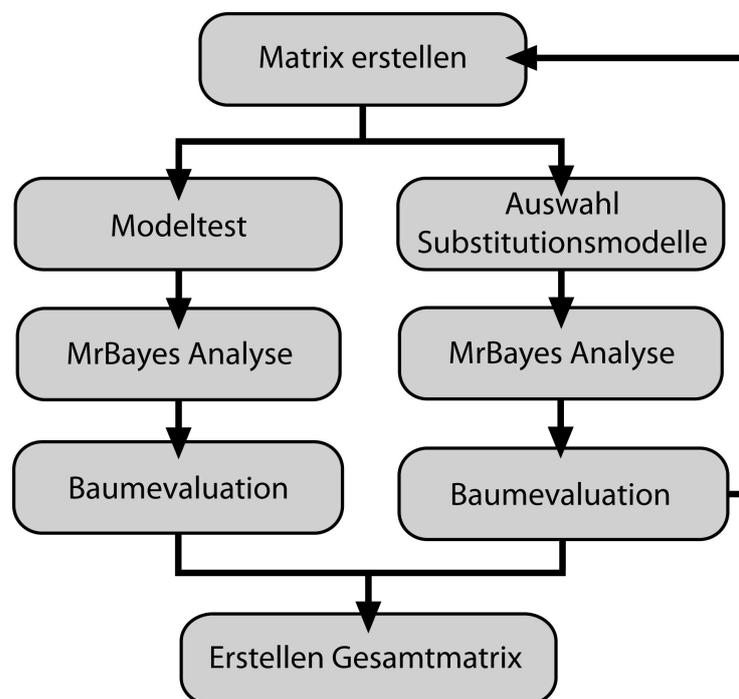


Abbildung 2.4 Fließschema Erstellung Gesamtmatrix

Die so erhaltenen Bäume wurden hinsichtlich ihrer Auflösung und Stabilität bewertet. Die besten Kombinationen von Matrix und Substitutionsmodell wurden für die einzelnen Gene ausgewählt, in eine Gesamtmatrix integriert und analysiert.

Die BLAST-Ergebnisse der 16S-rRNA-Sequenz von *Speleonectes gironensis* waren nicht eindeutig. Daher wurden zwei alternative Läufe durchgeführt. In der Matrix von Lauf 4 ist die 16S-rRNA-Sequenz von *S. gironensis* enthalten, in der Matrix von Lauf 6 wurde sie ausgeschlossen. Da es ebenso Zweifel an der Korrektheit der COI-Sequenz von *Pleomothra fragilis* gab (siehe Diskussion Genetische Distanzen, Kapitel 4.3), wurde diese gemeinsam mit der 16S-rRNA-Sequenz von *Speleonectes gironensis* aus der Gesamtmatrix von Lauf 7 entfernt (Lauf 7). Sämtliche Parameter der beiden Analysen entsprachen dabei denen von Lauf 4. Die in allen Analysen verwendeten Parameter sind in der Tabelle 2.3 dargestellt. Die Substitutionsmodelle und *charactersets* finden sich in den MrBayes-Blöcken im Anhang A.

Tabelle 2.3 Gemeinsamer MrBayes-Block

seed=1234	temp=0.20	relburnin=yes
swapseed=1234	reweight=(0,0)	burnin=0
printfreq=1000	printall=yes	burninfrac=0.25
samplefreq=1000	printmax=8	stoprule=no
nruns=2	mcmcdiag=yes	stopval=0.01
swapfreq=1	diagfreq=10000	startingtree=random
nswaps=1	minpartfreq=0.1	nperts=0
savebrlens=yes	allchains=yes	ordertaxa=no;
	allcomps=no	

2.11 Genetische Distanz

Die genetischen Distanzen des umfassenderen COI-Datensatzes wurden mit dem Programm MEGA 4.0.2 (TAMURA *et al.* 2007) ermittelt. Die Zusammenfassung der Parameter ist in Tabelle 2.4 dargestellt.

Tabelle 2.4 Zusammenfassung der Analysenparameter der genetischen Distanz.

Data Type:	Nucleotide (Coding)
Analysis:	Pairwise distance calculation
Compute:	Distance only
Include Sites	
Gap/Missing Data:	Complete Deletion
Codon Positions:	1 st +2 nd +3 rd +Noncoding
Substitution Model	
Model:	Nucleotide: p-distance
Substitution to Include:	d: Transitions + Transversion
Pattern among Lineages:	Same (Homogeneous)
Rates among Sites:	Uniform rates

3 Ergebnisse

3.1 Sequenzen

Im Rahmen dieses Projekts konnten für eine Vielzahl von Arten der Remipedia zahlreiche neue Sequenzen der Gene Cytochrom Oxidase Untereinheit 1 (COI), 16S-rRNA und Histon Komplex 3) generiert werden (siehe Tab. 3.1).

Tabelle 3.1 Generierte Remipedia-Sequenzen nach Arten aufgelistet. Die Zahlen bezeichnen den sequenzierten Abschnitt im Bezug auf die jeweilige Referenzsequenz (COI und 16S = *S. tulumensis* (Genbank Nummer NC_005938), H3 = *Homo sapiens* NM_003493 (Genbank Nummer). In Klammern neben dem Gen-Namen ist die Gesamtlänge (in Basenpaaren) der Referenzsequenz angegeben.

Art	Probennummer	COI (1539)		H3 (411)		16S (1333)	
<i>G. robustus</i>	03-19	58	638	24	351	152	1216
	AB-06-RS1	44	702	-	-	-	-
<i>Gn. frondosus</i>	06-048-4	63	656	-	-	232	1196
	06-047-8	-	-	24	351	-	-
	06-50	-	-	24	351	-	-
	AB06-SS-4.1	-	-	-	-	609	1196
<i>Gn. schrami</i>	07-048-2	85	702	-	-	662	1246
	07-49	-	-	24	351	-	-
	BH-1 Eleuthera	85	702	-	-	-	-
<i>P. apretocheles</i>	AB06-DC-5.1	20	1121	24	351	-	-
	AB06-RS-2	101	702	-	-	638	1250
	AB06-SS-2	90	661	-	-	697	1113
	AB-06-L2	88	681	-	-	-	-
<i>P. fragilis</i>	BH_EC	126	702	-	-	-	-
<i>P. n. sp.</i>	07-038	44	702	24	351	662	1158
<i>C. elmorei</i>	07-035B	44	702	24	351	231	1196
<i>C. haptodiscus</i>	AB06-SS-1.1	20	674	24	351	130	1230
<i>C. longulus</i>	C3-04-23	69	667	24	351	-	-
	04-20	-	-	24	351	-	-
<i>L. entrichoma</i>	03-16	223	684	24	351	648	1229
<i>L. exleyi</i>	BES-10169	44	1066	24	351	136	1241

Fortsetzung Tabelle 3.1

Art	Probennummer	COI (1539)		H3 (411)		16S (1333)	
<i>S. atlantida</i>	LZ 2.3	95	702	-	-	169	1173
	LZ 2.1	-	-	24	351	169	1132
	Dzul 9999-GBIF	-	-	-	-	334	1132
	LZ 1.1	-	-	-	-	294	1123
<i>S. benjamini</i>	06-047-2	88	702	24	351	133	1209
	06-046-1	44	702	24	351	-	-
	04-23					606	1209
	AB06-SS-3	46	702	-	-	620	1209
	AB06-TM-1	44	1313	-	-	619	1209
<i>S. emersoni</i>	05-020-01	85	702	-	-	-	-
	05-020-02	44	702	-	-	-	-
	05-022-01	66	702	24	351	153	1229
	05-022-02	44	702	-	-	-	-
	05-022-03	88	702	-	-	-	-
<i>S. fuchscockburni</i>	09-005	85	702	24	351	-	-
<i>S. gironensis</i>		-	-	24	351	668	1210
<i>S. kakuki</i>	04-021-1	44	702	-	-	604	1234
	04-021-2	44	637	-	-	-	-
	BH-330	-	-	24	351	136	1234
<i>S. lucayensis</i>	AB06-LR-1	44	702	24	351	657	1215
<i>S. n. sp. 2</i>	AB-06-047-6	85	702	-	-	659	1082
<i>S. n. sp. 4</i>	AB06-DC-1.1	217	943	-	-	649	1235
<i>S. ondinae</i>	LZ 1.2	36	707	24	351	165	1171
<i>S. parabenjamini</i>	04-023_SK	-	-	24	351	661	1068
<i>S. tulumensis</i>		-	-	24	351	-	-
<i>S. cf. tulumensis</i>	YUC-04-4C	63	1266	-	-	-	-
	28 VIII 03	63	1266	-	-	-	-
	CC-044B2	62	1266	-	-	-	-
	06-41H	-	-	24	351	661	1084
<i>S. williamsi</i>	08-033-4	44	702	24	351	713	1196
<i>M. yagerae</i>	03-18	-	-	24	351	-	-

Zusätzlich konnten im Rahmen dieses Projekts für einige Remipedenarten Abschnitte des 18S-rRNA-Gens (*Godzillius robustus*, *Cryptocorynetes elmorei*, *Cryptocorynetes haptodiscus*, *Lasionectes exleyi*) oder sogar das gesamte Gen (*Pleomothra apletocheles*, Genbank-Nummer GU067681) amplifiziert und sequenziert werden (s. Strukturalinierung 18S-rRNA, Kapitel 7.6).

3.2 Phylogenetische Topologien

3.2.1 Lauf 1 (COI)

In Lauf 1 wurde nur COI als Marker verwendet und dabei für jede Codonposition ein individuelles Substitutionsmodell definiert (siehe Anhang A Genetik). Das Ergebnis zeigt einen Konsensusbaum mit hoher Auflösung (siehe Abb. 3.1 A). Lediglich an der Basis findet man eine Polytomie bestehend aus einer Klade mit allen Remipedia (pp-Wert = 1,00), *Campodea tillyardi* (als Vertreter der Hexapoda) und einer Klade bestehend aus weiteren Vertretern der Außengruppe [(*Penaeus monodon* + *Hutchinsoniella macracantha*) + *Branchinella occidentalis*]. Eine zweite Polytomie findet sich an der Basis der *Speleonectes*-Klade. Die Remipedia selbst erscheinen monophyletisch. Sie teilen sich in zwei Gruppen. An der Basis befindet sich eine kleinere Gruppe bestehend aus [*Godzillius robustus* + (*Godzillioognomus frondosus* + *Godzillioognomus schrami*)] (Abb. 3.1 AA). Die Unterstützungswerte sind mit 0,91 und 1,00 sehr hoch.

Die größere Klade umfasst die Speleonectiden sowie *Pleomothra apletocheles* und *Pleomothra fragilis* Koenemann *et al.*, 2008. Fast alle Knoten in dieser Klade zeigen hohe Unterstützungswerte zwischen 0,83 und 1,00. An der Basis dieser großen Klade steht einzeln *Lasioneptes exleyi*.

Anschließend zeigt sich die bereits oben erwähnte Polytomie. Sie besteht aus *Speleonectes benjamini*, der Klade der *Cryptocorynetes*-Arten und einer großen Gruppe von Speleonectiden, inklusive der *Pleomothra*-Arten. Die Gattung *Cryptocorynetes* ist monophyletisch (Abb. 3.1 AF). An der Basis der großen Gruppe steht eine Klade bestehend aus [(*S. atlantida* + *S. ondinae*) + (*S. emersoni* + *S. williamsi*)] (Abb. 3.1 AE). Weiter verzweigt sich die große Gruppe in zwei Hauptkladen (Kladen C und D, Abb. 3.1). Dieser Knoten hat nur einen geringen Unterstützungswert von 0,63. In Klade C bilden die Vertreter von der Yucatan-Halbinsel [(*Speleonectes tulumensis* + *Speleonectes cf. tulumensis*) + *Speleonectes fuchscockburni*] eine eigene Gruppe (Abb. 3.1 Ac). Klade D beinhaltet [*L. entrichoma* + (*S. kakuki* + *S. lucayensis*)]. An deren Basis steht *S. gironensis* (Abb. 3.1 AD). Daneben befinden sich die beiden unbeschriebenen Arten gemeinsam im Schwestergruppenverhältnis zu der monophyletischen Gattung *Pleomothra* (Abb.

3.1 AB). *Micropacter yagerae* sowie *Speleonectes parabenjamini* sind in dieser Analyse nicht vertreten, da für diese Arten keine Sequenz generiert werden konnte.

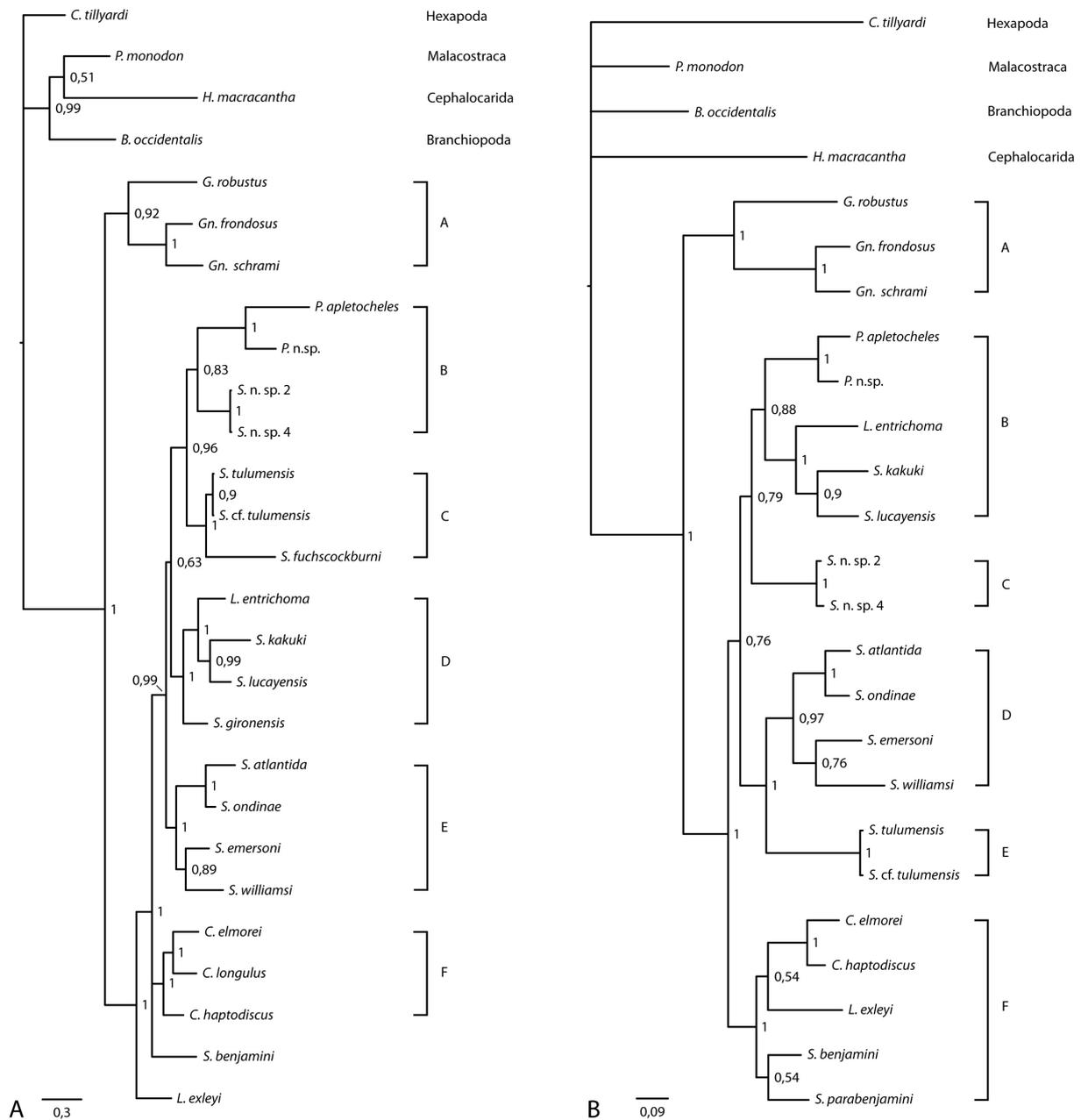


Abbildung 3.1 A = Konsensusbaum Lauf 1 (COI) und B = Konsensusbaum Lauf 2 (16S). An den Knoten sind jeweils die pp-Werte angegeben.

3.2.2 Lauf 2 (16S)

In Lauf 2 wurde nur ein Marker (16S) mit einem GTR+G+I Modell verwendet. Bei dem resultierenden Konsensusbaum fällt als erstes die polytomische Außengruppe auf. Innerhalb der Klade der Remipedia stehen erneut die Godzilliidae (ohne *Pleomothra*) an der Basis (Abb. 3.1 BA). Die Gattung *Pleomothra* ist wieder monophyletisch. Auch die Klade B, bestehend aus [*L. entrichoma* + (*S. kakuki* + *S. lucayensis*)], ist vorhanden (Abb. 3.1 BB), ebenso die Klade D (*S. atlantida* + *S. ondinae*), die wiederum im Schwestergruppenverhältnis zu (*S. emersoni* + *S. williamsi*) (Abb. 3.1 BD). Folgende Punkte unterscheiden sich von Lauf 1:

- Die Unterstützungswerte sind niedriger.
- *Lasionectes exleyi* steht nicht mehr allein an der Basis der Speleonectidae (plus *Pleomothra*), sondern ist nun das Schwestertaxon der Gattung *Cryptocorynetes*. Allerdings ist die Unterstützung für diesen Knoten mit 0,54 nur sehr gering. Dieser Klade stehen (*S. benjamini* + *S. parabenjamini*) gegenüber, deren gemeinsamer Knoten auch nur mit 0,54 unterstützt wird. Insgesamt sind die pp-Werte relativ gering (Abb. 3.1 BF).
- *Speleonectes fuchscockburni*, *S. gironensis* und *Cryptocorynetes longulus* fehlen in dieser Analyse, da für diese Arten keine Sequenz generiert werden konnte.

3.2.3 Lauf 3 (H3)

Es handelt sich bei Lauf 3 um eine Analyse mit nur einem Marker (H3). Der Konsensusbaum ist relativ schlecht aufgelöst. Es finden sich mehrere Polytomien, die Unterstützungswerte sind relativ niedrig. Die Remipedia sind nicht monophyletisch. Die Godzilliidae (ohne *Pleomothra*) (Abb. 3.2 A) stehen nicht mehr an der Basis der Remipedia, sondern bilden eine Polytomie mit den Vertretern der monophyletischen Gattung *Cryptocorynetes* (Abb. 3.2 B) sowie den morphologisch sehr ähnlichen Arten *S. benjamini* und *S. parabenjamini* (Abb. 3.2 C). Die monophyletischen *Pleomothra*-Arten bilden mit der Gruppe [*L. entrichoma* + (*S. kakuki* + *S. lucayensis*)] sowie den Arten der Yucatan-Halbinsel eine Polytomie (Abb. 3.2 D). *Speleonectes ondinae* und *S. atlantida* sind Schwestertaxa. *Speleonectes gironensis* bildet zusammen mit *Hutchinsoniella macracantha* und einer großen Klade mit allen übrigen Remipedia eine Polytomie. *Micropacter yagerae* befindet sich als Schwestertaxon von *Branchinella occidentalis* in der Außengruppe.

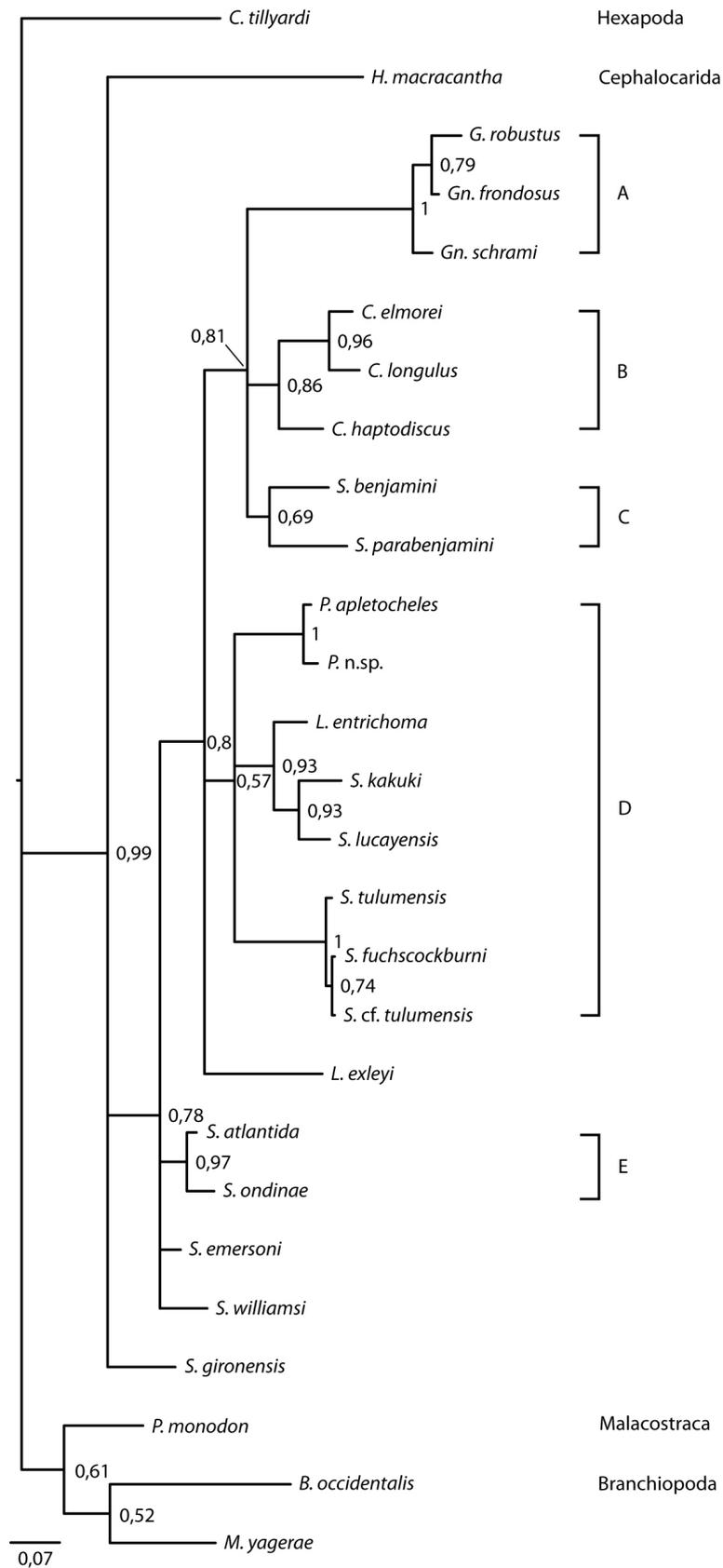


Abbildung 3.2 Konsensusbaum Lauf 3 (H3). An den Knoten sind jeweils die pp-Werte angegeben.

3.2.4 Lauf 4 (COI, 16S und H3)

In Lauf 4 wurden die drei Marker COI, H3 und 16S in einer Matrix zusammengefasst und analysiert. Das Ergebnis ist ein Baum mit hoher Auflösung (siehe Abb. 3.3). Lediglich an der Basis befindet sich eine Polytomie bestehend aus einer Klade mit Remipedia, *Campodea tillyardi* (als Vertreter der Hexapoda), und einer Klade bestehend aus den Vertretern der Außengruppe [(*Penaeus monodon* + *Hutchinsoniella macracantha*) + *Branchinella occidentalis*]. Die Remipedia selbst erscheinen monophyletisch. An ihrer Basis steht einzeln als Schwesertaxon zu allen übrigen Remipedia *Micropacter yagerae*. Diese Position von *M. yagerae* wird jedoch durch einen pp-Wert von 0,61 nur gering unterstützt. Danach folgt eine Aufteilung in zwei Hauptgruppen (Klade A, sowie Kladen B-F), der pp-Wert hierbei ist 1,00. Eine der beiden Hauptgruppen ist eine kleinere Klade (Abb. 3.3 A) bestehend aus [*Godzillius robustus* + (*Godzillioptomus frondosus* + *Godzillioptomus schrami*)]. Fast alle Knoten dieser Gruppe zeigen maximale Unterstützung. Die große Klade auf der anderen Seite umfasst alle Speleonectiden sowie *Pleomothra apletocheles* und *Pleomothra fragilis*. Alle Knoten in dieser Klade zeigen hohe Unterstützungswerte zwischen 0,91 und 1,00. An der Basis dieser großen Klade steht einzeln *Lasionectes exleyi*. Im Folgenden findet man zunächst eine Aufspaltung in eine kleinere Gruppe (Abb. 3.3 F), die (*Speleonectes benjamini* + *Speleonectes parabenjamini*) als Schwestergruppe zu den Vertretern der Gattung *Cryptocorynetes* beinhaltet und eine größere Gruppe, die sich wiederum in zwei Hauptgruppen teilt. In der ersten Hauptgruppe erscheinen basal als Klade die beiden noch nicht beschriebenen *Speleonectes*-Arten. Ihre Schwestergruppe bilden einerseits die monophyletische Gruppe der *Pleomothra*-Arten (Abb. 3.3 B), andererseits eine Klade mit [*Lasionectes entrichoma* + (*Speleonectes kakuki* + *Speleonectes lucayensis*)] (Abb. 3.3 C). In der anderen Hauptgruppe bilden die Vertreter von der Yucatan Halbinsel [(*Speleonectes tulumensis* + *Speleonectes cf. tulumensis*) + *Speleonectes fuchscockburni*] eine eigene Klade (Abb. 3.3 E). Diese hat einen pp-Wert von 1,00. Allerdings ist der Wert am Knoten von (*S. tulumensis* + *S. cf. tulumensis*) nur 0,63. Ihnen gegenüber steht eine Klade bestehend aus [*Speleonectes gironensis* + ((*Speleonectes atlantida* + *Speleonectes ondinae*) + (*Speleonectes emersoni* + *Speleonectes williamsi*))] (siehe Abb. 3.3 D).

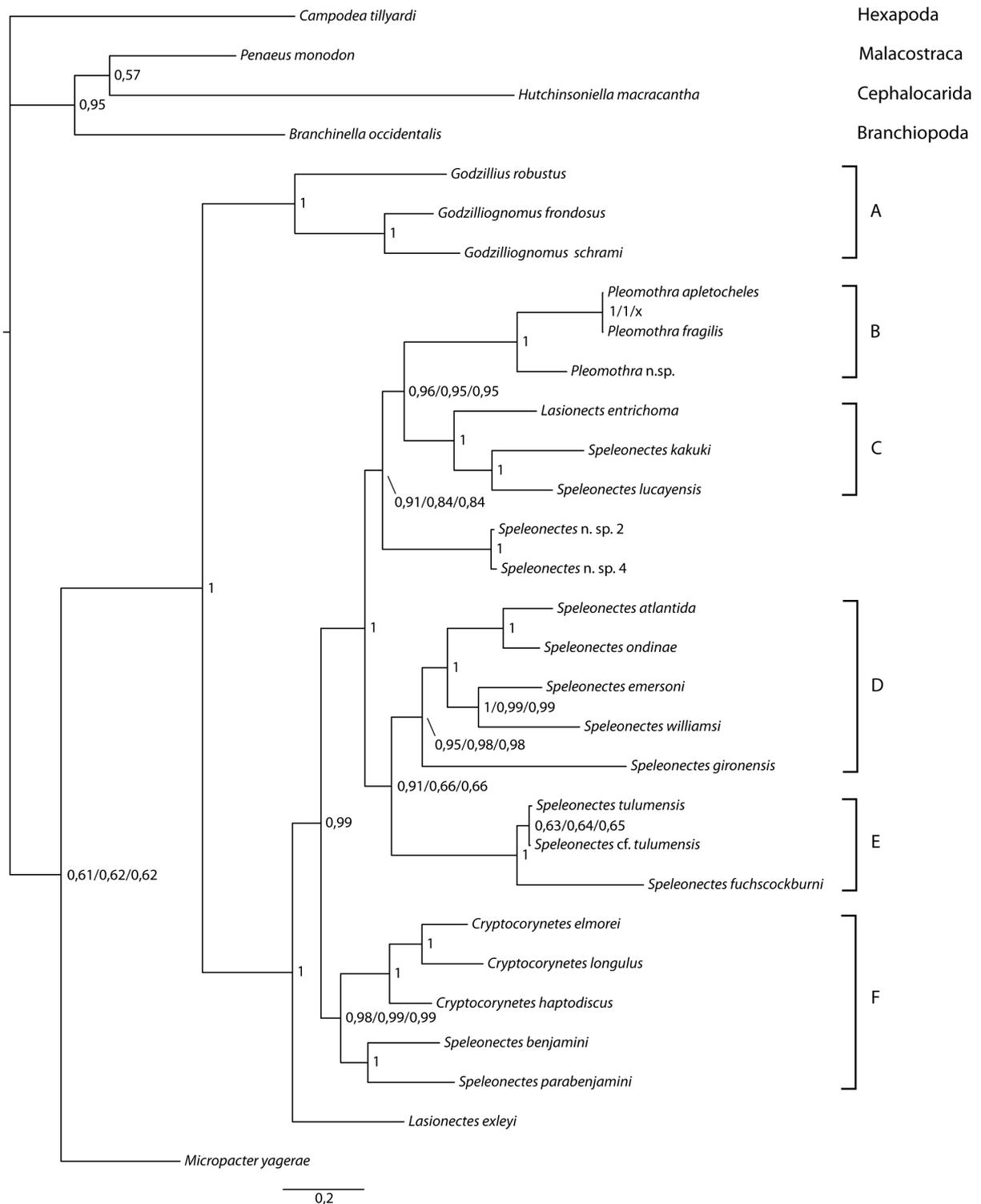


Abbildung 3.3 Konsensusbaum Lauf 4, 6 und 7. Da sich die Bäume der drei Läufe (bis auf die Außengruppe und das Fehlen von *P. fragilis* in Lauf 7) nur in ihren pp-Werten unterscheiden, wurden sie in einer Abbildung zusammengefasst. An den Knoten sind jeweils die pp-Werte in folgender Reihenfolge: Lauf 4/Lauf 6/Lauf 7 angegeben. Waren bei allen drei Analysen die Werte gleich, ist nur ein Wert angegeben. Das X bei *Pleomothra* signalisiert, dass dieser Knoten in der Analyse Lauf 7 nicht existierte. Die polytomische Außengruppe von Lauf 6 und 7 wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit weggelassen.

3.2.5 Lauf 5 (COI)

In Lauf 5 wurde ebenfalls nur COI als Marker verwendet, im Unterschied zu Lauf 1 sind hier jedoch alle im Rahmen dieser Arbeit generierten COI Sequenzen der Remipedia eingesetzt worden. Daher sind manche Taxa mit mehreren Sequenzen vertreten, manche aber auch nur mit einer Sequenz. Das Ziel war, für möglichst viele Arten Proben mehrerer Standorte zu analysieren, um ggf. Hinweise auf die Verbreitung und / oder das Vorkommen kryptischer Arten zu finden. Es wurde das Codonmodell für Invertebratenmitochondrien verwendet.

Die Topologien der Konsensusbäume von Lauf 1 und Lauf 5 sind nahezu identisch. Lediglich in der Außengruppe bilden *Penaeus monodon* und *Branchinella occidentalis* eine Schwestergruppe, bei Lauf 1 sind es *Penaeus monodon* und *Hutchinsoniella macracantha*. Außerdem ist die Polytomie von Lauf 1, die unter anderem *Cryptocorynetes*-Arten und *S. benjamini* beinhaltet, in Lauf 5 aufgelöst (siehe Abbildung 3.4). Hier bilden *S. benjamini* und die *Cryptocorynetes*-Vertreter eine eigene Klade (E), allerdings ist der Unterstützungswert sehr gering (0,59). Deutlich gestiegen hingegen ist der pp-Wert für den Knoten der Klade, die sich aus den Kladen B, C und D zusammensetzt. In Lauf 5 ist er 0,92 gegenüber 0,63 von Lauf 1. Auch der Wert der *Pleomothra-Speleonectes n. sp.*-Klade steigt von 0,83 (Lauf 1) auf 0,96 (Lauf 5). Insgesamt sind die Unterstützungswerte für den Konsensusbaum sehr hoch.

Der Baum von Lauf 5 ist dem aus Lauf 4 sehr ähnlich. Auch hier sind die Remipedia monophyletisch und genau wie in Lauf 4 spalten sich die Remipedia in die Godzilliden (ohne *Pleomothra*) und die übrigen Speleonectiden (sowie *Pleomothra*). An der Basis dieser Klade steht ebenfalls *L. exleyi* als einzelne Art.

Folgende Unterschiede zeigen sich im Vergleich zum Lauf 4:

- Innerhalb der Außengruppe gibt es einen Wechsel: war zuvor *Penaeus* näher mit *Hutchinsoniella* verwandt, bildet er nun eine Klade mit *Branchinella*.
- *Micropacter yagerae* und *S. parabenjamini* sind nicht vertreten.
- Die *Pleomothra*-Arten (Abb. 3.4 B) haben hier als Schwestergruppe die bisher nicht beschriebenen *Speleonectes*-Arten (*S. n. sp. 2* + *S. n. sp. 4*). Ihnen gegenüber stehen nun die *S. tulumensis*-Vertreter sowie *S.*

fuchscockburni, die sich zuvor auf dem Ast der zweiten großen Speleonectidengruppe (Abb. 3.4 E und D) befanden.

- *Speleonectes gironensis* ist nicht mehr in der Klade [(*S. ondinae* + *S. atlantida*) + (*S. emersoni* + *S. williamsi*)] vertreten, sondern ist jetzt das Schwestertaxon zur Gruppe [*L. entrichoma* + (*S. kakuki* + *S. lucayensis*)]. Diese bilden eine eigene Klade innerhalb der Speleonectiden (Abb. 3.4 D).
- Die Klade aus den *Cryptocorynetes*-Arten und *Speleonectes benjamini* findet sich auch hier. Allerdings fehlt im Vergleich zu Lauf 4 *S. parabenjamini* und der Knoten wird mit 0,59 nur wenig unterstützt.

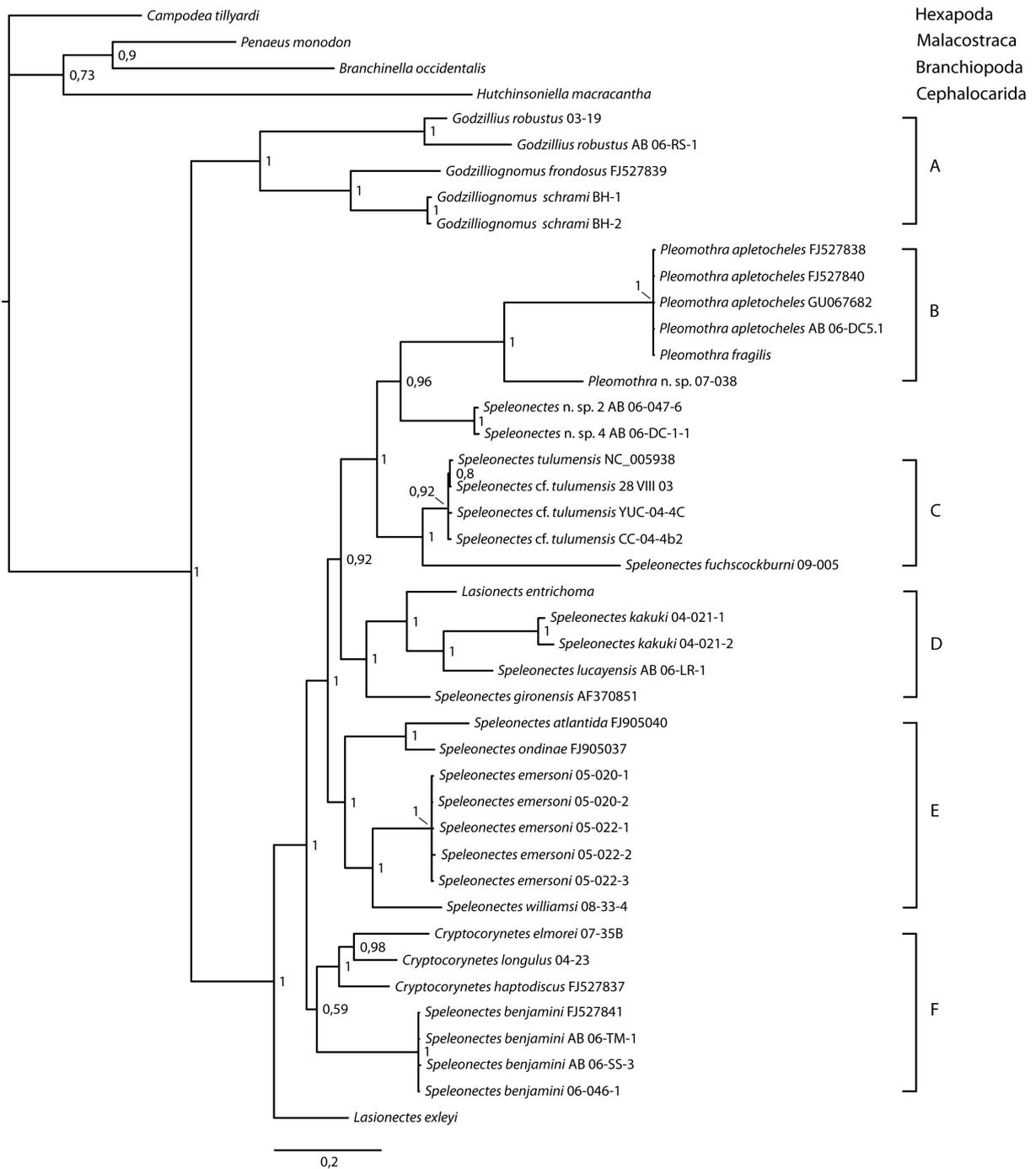


Abbildung 3.4 Konsensusbaum Lauf 5. An den Knoten sind jeweils die pp-Werte angegeben.

3.2.6 Läufe 6 + 7

Für einen besseren, direkten Vergleich wurden die Abbildungen der Konsensusbäume von den Läufen 4, 6 und 7 zusammengelegt (siehe Abb. 3.3).

Das Ergebnis von Lauf 6 (ohne 16S-rRNA-Sequenz von *S. gironensis*) entsprach in der Topologie genau dem vorangegangenen Baum aus Lauf 4, jedoch kollabierte hier die Außengruppe. Bezüglich der Unterstützungswerte zeigt sich in den meisten Fällen eine Verbesserung, allerdings sind auch einige wenige Knoten schlechter unterstützt (siehe Abb. 3.3).

Der Konsensusbaum von Lauf 7 (ohne die 16S-rRNA-Sequenz von *Speleonectes gironensis* und die COI-Sequenz von *Pleomothra fragilis*) entsprach dem von Lauf 6 (jedoch fehlte der Ast von *P. fragilis*). Nur ein pp-Wert stieg bei der *S. tulumensis*-Klade von 0,64 auf 0,65 (siehe Abb. 3.3).

3.3 Genetische Distanzen

Für den COI-Datensatz von Lauf 5 wurden die p-Distanzen ermittelt. Die Höchstwerte innerhalb der Remipedia liegen bei 0,29 (z.B. zwischen *Speleonectes benjamini* und *Pleomothra apletocheles*), der niedrigste interspezifische Wert bei 0,13 zwischen *Cryptocorynetes haptodiscus* und *Cryptocorynetes longulus*. Die intraspezifischen p-Distanzen liegen meist bei 0,00 und 0,01. Lediglich bei den beiden Proben von *G. robustus* lässt sich höhere p-Distanz von 0,12 feststellen. Auffällig ist außerdem die Distanz von 0,00 zwischen den Proben von *P. apletocheles* und der von *P. fragilis*. Sämtliche Werte sind in Tabelle 3.2 dargestellt.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Phylogenie der Remipedia mit Hilfe verschiedener molekularer Marker untersucht. Um eine Übersicht über die Ergebnisse der Läufe zu geben sind die wichtigsten Kladen der einzelnen Analysen noch einmal graphisch in Form eines sogenannten Navajo-Rug-Diagramms dargestellt (s. Abb. 4.1).

	Lauf 1	Lauf 2	Lauf 3	Lauf 4	Lauf 5
Remipedia	■	■	□	■	■
Speleonectidae	□	□	□	□	□
Godzilliidae	□	□	□	□	□
<i>Speleonectes</i>	□	□	□	□	□
<i>Cryptocorynetes</i>	■	■	■	■	■
<i>Lasionectes</i>	□	□	□	□	□
Godzilliidae (ohne <i>Pleomothra</i>)	■	■	■	■	■
<i>Pleomothra</i>	■	■	■	■	■
<i>L. entrichoma</i> + <i>S. kakuki</i> + <i>S. lucayensis</i>	■	■	■	■	■
<i>Cryptocorynetes</i> + <i>S. benjamini</i>	□	1	□	1	□
<i>S. tulumensis</i> + <i>S. cf tulumensis</i> + <i>S. fuchscockburni</i>	■	2	■	■	■
<i>S. atlantida</i> + <i>S. ondinae</i> + <i>S. williamsi</i> + <i>S. emersoni</i>	■	■	□	■	■

Abbildung 4.1 Navajo Rug-Diagramm mit den wichtigsten Kladen aller Läufe. Schwarze Felder bedeuten, dass die Klade / Gruppe monophyletisch ist, weiße Felder bedeuten eine nicht monophyletische Klade / Gruppe. 1 = plus *S. parabenjamini*, 2 = ohne *S. fuchscockburni*.

4.1 Definitionen von morphologischen Begriffen

Da die Ergebnisse im Zusammenhang mit morphologischen Merkmalen diskutiert werden, ist es nötig zunächst einige Begriffe zu definieren.

Brachium	Aus dem Lateinischen, bedeutet „Unterarm“. Der Terminus bezieht sich auf alle Segmente distal des Ellenbogens, inklusive der Terminalklaue (KOENEMANN <i>et al.</i> 2007b).
Dorn	Kräftige, massive Seta (WOLLERMANN <i>et al.</i> 2007).
Ellenbogen	Der Punkt der die größte Beugung bei 1. Maxille, 2. Maxille und Maxilliped erlaubt. Er trennt den proximalen, meist stabilen Teil von dem distalen, eher schlanken Teil (KOENEMANN <i>et al.</i> 2007b).
Heteromorph	Dieser Ausdruck bezieht sich auf Sternalleisten die auf verschiedenen Rumpfsterniten des selben Tieres unterschiedlich geformt sind. Zum Beispiel ist bei einigen Taxa die Sternalleiste auf dem 14. Rumpfsegment (hier befinden sich die männlichen Gonoporen) als vergrößerte, lobenähnliche Struktur ausgebildet (KOENEMANN <i>et al.</i> 2007c). Die Veränderungen können sich aber auch über eine Anzahl von Rumpfsegmenten erstrecken (s. Tab. 4.2).
Isomorph	Dieser Ausdruck bezieht sich auf Fälle in denen die Sternalleisten gleich oder sehr einheitlich auf dem ganzen Tier sind, d.h. keine besonderen Strukturen auf Rumpfsegment 14 oder anderswo ausgebildet sind (KOENEMANN <i>et al.</i> 2007c).
Lacertus	Aus dem Lateinischen, bedeutet „Oberarm“. Dieser Terminus bezieht sich auf das Segment von 1. Maxilla, 2. Maxilla und Maxilliped das proximal des Ellenbogens liegt und typischerweise stark vergrößert ist (KOENEMANN <i>et al.</i> 2007b).
Rumpfsegmente	Werden nach dem ersten Segment nach den Maxillipeden gezählt (KOENEMANN <i>et al.</i> 2007b).
Setae	In dieser Arbeit wird nach WOLLERMANN <i>et al.</i> (2007) jede cuticuläre gegliederte Erweiterung (d.h. die über eine Gelenkpfanne verfügt) als Seta bezeichnet.

4.2 Diskussion der Topologien / Systematik

Zunächst lässt sich feststellen, dass die Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten phylogenetischen Analysen grundlegend der derzeitigen taxonomischen Struktur widersprechen. Daher werden im folgenden Abschnitt alternative Möglichkeiten (AM) diskutiert. Soweit nicht anders kenntlich gemacht beziehen sich alle Kladen-Bezeichnungen im Folgenden auf den Konsensusbaum von Lauf 4 (siehe Ergebnisteil, Abbildung 3.3).

4.2.1 Alternative Möglichkeit 1 (AM1)

Bei diesem Konzept werden alle bisherigen Taxa nach Möglichkeit erhalten und bei Bedarf neu definiert.

Micropacteridae

Lauf 4 (mit den Markern COI, 16S und H3) unterstützt den Status der Familie Micropacteridae. *Micropacter yagerae* bildet dort das basale Taxon innerhalb der Remipedia. Allerdings ist die Unterstützung dieses Knotens mit einem pp-Wert von 0,61 relativ gering. Auch stand für *M. yagerae* als Marker für die phylogenetische Analyse nur eine H3-Sequenz zur Verfügung.

In dem Konsensusbaum der Analyse des H3-Datensatzes hingegen erscheint *Hutchinsoniella macracantha* innerhalb der Remipedia, *Micropacter yagerae* jedoch in der Außengruppe. Damit drängt sich der Verdacht auf, dass es sich um eine Verwechslung der Sequenzen der beiden Taxa handeln könnte. Eine erneute Überprüfung der H3-Sequenzen beider Datensätze mittels des Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) ergab jedoch für *H. macracantha* die Bestätigung, dass es sich tatsächlich um die in Genbank eingetragene H3-Sequenz von *Hutchinsoniella* (AF110867.1) handelt. Es sollte hierbei jedoch berücksichtigt werden, dass auch nur diese eine H3-Sequenz für Cephalocariden zur Verfügung steht. Die BLAST-Analyse zeigt in der Ergebnisliste nach *H. macracantha* eine Reihe von Anneliden, sowie mehrere Nemertea und einen Mollusken. Der einzige Vertreter der Crustacea ist ein Maxillopode: *Lepas pectinata* Spengler, 1793 (s. Tab. 7.6). Dieses Ergebnis nährt Zweifel an der Korrektheit der Cephalocarida-Sequenz in Genbank.

Das BLAST-Ergebnis für *Micropacter yagerae* ergibt als beste Treffer überwiegend Insekten (Ephemera Huang *et al.*, 2011 und Ensifera Chopard, 1920),

sowie mit *Raphitoma* sp. einen Mollusken. Auch Kinorhyncha Reinhard, 1887 (Hakenrüssler) sind in der Liste vertreten, aber keine Crustaceen-Arten (s. Abb. 7.7). Es ist nicht auszuschließen, dass eine Kontamination der *Micropacter*-Probe zu dem abweichenden Ergebnis der H3-Analyse geführt hat. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es sich bei einer der beiden oder sogar beiden H3-Sequenzen für *Micropacter* und *Hutchinsoniella* um Kontaminationen handeln könnte.

Micropacter yagerae ist der einzige bisher bekannte Vertreter der Familie Speleonectidae. Trotzdem haben KOENEMANN *et al.* (2007c), in einer phylogenetischen Untersuchung basierend auf morphologischen Merkmalen, den Status der Micropacteridae als Familie bestätigt. Obwohl hier nur eine einzige *Micropacter*-Sequenz für die phylogenetische Analyse zur Verfügung stand und die BLAST-Ergebnisse dafür kritisch zu bewerten sind, wird im Bezug auf den Status der Micropacteridae der Argumentation von KOENEMANN *et al.* (2007b) gefolgt. Sie weisen darauf hin, dass *M. yagerae* sich durch eine Reihe von Besonderheiten von allen anderen Nectiopoda unterscheidet. Diese Autapomorphien sind nach KOENEMANN *et al.* (2007b):

- Körperende: oval mit verschmolzenen Segmenten
- 2. Maxilla und Maxilliped: ungleiche terminale Klauenkomplexe
- Sternalleisten und Pleurotergiten: nahezu vollständig reduziert
- Molare Fortsätze: mit relativ wenigen, aber massiven Dornen
- Frontalfilamente: mit dichotom verzweigtem subapikalem Fortsatz

Nach KOENEMANN *et al.* (2007b) ist eine Zuordnung von *Micropacter* zu den Godzilliidae problematisch, da deren Diagnose geschwächt würde. Da *Micropacter* nur einige wenige Symplesiomorphien mit den Speleonectidae teilt, erschien auch eine Zuordnung zu den Speleonectidae nicht sinnvoll. Der Status der Familie Micropacteridae bleibt auch in der hier diskutierten Alternativen Möglichkeit 1 erhalten.

Godzilliidae

Im Falle der Godzilliidae wird *Pleomothra* aus der Familie ausgeschlossen. Dieser Ausschluss trägt zu einer deutlich stabileren Diagnose der Godzilliidae bei. Denn gleich mehrere Autapomorphien von *Pleomothra*, die mit den Synapomorphien von *Godzillius* und *Godzilliognomus* nicht vereinbar sind, entfallen. Dabei handelt es sich um:

- 1. Antenne: ventraler Ast aus 7 Segmenten bestehend
- 1. Maxille: 3. Endit fehlt vollständig; 4. Endit ist distal gerichtet
- 2. Maxille und Maxilliped: 3. Segment, Behaarung aus blattartigen (*P. fragilis*) oder kerzenförmigen (*P. apletocheles*) Setae bestehend; Klauenkomplex aus einem langen apikalen Dorn und kürzeren und kleineren subapikalen Dornen
- Kopfschild: mit zwei posterolateralen Fortsätzen
- 1. Maxille: zweiter funktioneller Ellenbogen zwischen Segment 3 und 4; Segment 4 massiv vergrößert, distal angeordneter Endit (bildet Greifeinheit gemeinsam mit Segment 5 und terminalem Fangzahn)

Die Godzilliidae ohne *Pleomothra* bleiben weiter bestehen.

Speleonectidae

Die Familie Speleonectidae bleibt erhalten. In diesem Falle muss aber *Pleomothra* aufgrund der Topologien der phylogenetischen Analysen den Speleonectidae als Gattung zugefügt werden. *Pleomothra* teilt folgende Synapomorphien der Speleonectidae (bezogen auf die Diagnose von KOENEMANN *et al.* 2003):

- Sternalleisten: isomorph
- 1. Antenne: ventraler Ast mit 7 – 15 Segmenten
- Mandibel: asymmetrisch
- 1. Maxille: Ellenbogen zwischen dem 3. und 4. Segment; Segment 2 mit gelappten Enditen; Segment 4 medialer Rand erweitert
- 2. Maxille: Ellenbogen zwischen Segment 3 und 4
- 2. Maxille und Maxilliped: Segmente distal des Ellenbogens annähernd gleich, bei 2. Maxille kürzer

Hierzu sind jedoch einige Dinge anzumerken:

1.) YAGER (1989) beschreibt *Pleomothra apletocheles* mit einer 1. Maxille die aus sechs Segmenten besteht. Auch KOENEMANN *et al.* (2008) führen bei *P. fragilis* sechs Segmente in der Beschreibung der 1. Maxille auf. Das Segment proximal des Terminalklauenkomplexes ist demnach nicht vorhanden. Sie diskutieren jedoch die Möglichkeit, dass dieses Sechste der ursprünglichen sieben Segmente der 1. Maxille nicht verloren gegangen, sondern stark modifiziert erhalten geblieben ist. Es ist also nicht ausgeschlossen, dass *Pleomothra* auch das Kriterium der sieben Segmente der 1. Maxille erfüllt.

2.) Bei dem Merkmal „1. Maxille: Segment 4 medialer Rand erweitert“ unterscheidet sich die Ausprägung des Enditen von *Pleomothra* von der bei allen anderen Remipedia (siehe Autapomorphien in der Diskussion der Godzilliidae im vorherigen Absatz).

3.) Folgt man der Diagnose für die Speleonectidae von KOENEMANN *et al.* (2003) trifft das Merkmal „Ellenbogen der 1. Maxille zwischen dem 3. und 4. Segment“ für *Pleomothra* zu. Jedoch ergeben sich dabei drei Probleme:

- Im Falle von *Pleomothra* handelt es sich um ein zweites funktionelles Gelenk das nicht homolog zu dem eigentlichen Ellenbogen der übrigen Remipedia ist.
- Dieses Merkmal ist in der Diagnose der Familie Speleonectidae von KOENEMANN *et al.* (2007b) nicht mehr aufgeführt.
- In der Veröffentlichung von KOENEMANN *et al.* (2003) scheint ein Fehler vorzuliegen. Nach der Diagnose der Familie Speleonectidae in KOENEMANN *et al.* (2003) befindet sich der Ellenbogen der 1. Maxille zwischen dem 3. und 4. Segment. Nach dem Wortlaut der Beschreibung der 1. Maxille von *S. parabenjamini* in eben dieser Veröffentlichung müsste die Nummerierung der Segmente wie in Abbildung 4.2 sein. Demnach wäre der Ellenbogen aber tatsächlich zwischen Segment 4 und 5 lokalisiert. Eventuell handelt es sich dabei aber auch nur um einen Schreibfehler.

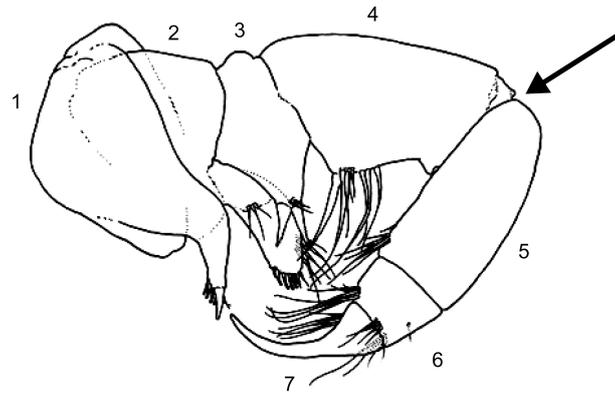


Abbildung 4.2 Zeichnung der 1. Maxille von *Speleonectes parabenjamini* (aus KOENEMANN *et al.* 2003). Die Nummerierung der Segmente erfolgte nach den Angaben im Text. Der Pfeil deutet auf den Ellenbogen.

Die Diagnose der Familie Speleonectidae gründet auf der Beschreibung von *S. lucayensis* von YAGER 1981 und wurde von SCHRAM *et al.* (1986) und KOENEMANN *et al.* (2003) überarbeitet. KOENEMANN *et al.* (2007c) stellen fest, dass die ohnehin schon instabile Diagnose der Speleonectidae durch das Hinzufügen von neu beschriebenen Arten seit 1986 weiter geschwächt wurde.

Eine Einordnung von *Pleomothra* als Gattung in die Speleonectidae würde auch Autapomorphien mit einbringen, die im Widerspruch zu den Synapomorphien von *Cryptocorynetes*, *Lasionectes* und *Speleonectes* stehen. Bezogen auf die Diagnose von KOENEMANN *et al.* (2003) sind dies:

- Kopfschild: trapezförmig, mit posterolateralen Fortsätzen
- 1. Antenne: ventraler Ast, kurz
- 1. Maxille: aus 6 Segmenten bestehend (siehe Anmerkungen im vorherigen Absatz); Segment 3, Endit fehlt
- 2. Maxille und Maxilliped: Segmente distal vom Ellenbogen kürzer oder gleichlang als die Segmente proximal des Ellenbogens.

Diese Autapomorphien weichen die ohnehin geschwächte Diagnose der Speleonectidae weiter auf, daher ist die Alternative Möglichkeit 1 nicht sinnvoll und wird verworfen.

4.2.2 Alternative Möglichkeit 2 (AM2)

In diesem alternativen Konzept wird das bestehende taxonomische System innerhalb der Nectiopoda vollständig verworfen und anhand der Kladen der phylogenetischen Analyse neu konstruiert.

Klade A

Die Godzilliidae bleiben erhalten, jedoch wird *Pleomothra* aus der Familie ausgeschlossen (s. Diskussion AM1 Godzilliidae).

Klade B

Pleomothra erhält den Status einer Familie. Damit wird die bereits diskutierte Schwächung der Diagnose der Speleonectidae vermieden. Eine mögliche Diagnose für diese neue Familie ist:

- Kopfschild: trapezförmig, mit posterolateralen Fortsätzen
- 1. Antenne: ventraler Ast, kurz
- 1. Maxille: mit 6 Segmenten, Endit an Segment 3 nicht ausgebildet
- 2. Maxille und Maxilliped: Segmente distal vom Ellenbogen kürzer oder gleichlang, als Segmente proximal des Ellenbogens

Klade C

Die paraphyletischen Speleonectidae werden aufgespalten, so dass die ursprüngliche Familie nunmehr auf die drei Arten *S. lucayensis*, *S. kakuki* und *L. entrichoma* reduziert und neu definiert wird. Als Diagnose für diese überarbeitete Familie Speleonectidae kommen folgende Synapomorphien in Frage:

- Kopfschild: annähernd rechteckig bis leicht trapezförmig
- 1. Antenne: Anzahl Segmente dorsaler Ast 12, ventraler Ast 8 – 10 (s. Abb. 4.3 A)
- 2. Maxille: Setae entlang des distomedialen Randes in langen Reihen (s. Abb. 4.3 Bc)
- Maxilliped: mit vielen Setae besetzt, Rand durchgehend oder fast durchgehend behaart (s. Abb. 10.3 Cg), Segment 4 verlängert bis stark verlängert, bauchig/birnenförmig erweitert (siehe Abbildung 4.3 Df)
- 2. Maxille und Maxilliped: Segment proximal vom Ellenbogen länger als Segment distal vom Ellenbogen (s. Abb. 4.3 C a > b; d > e)

- Kaudalanhänge: gleich lang oder kürzer als das Abdominalsegment (s. Abb. 4.3 D h ≤ i)

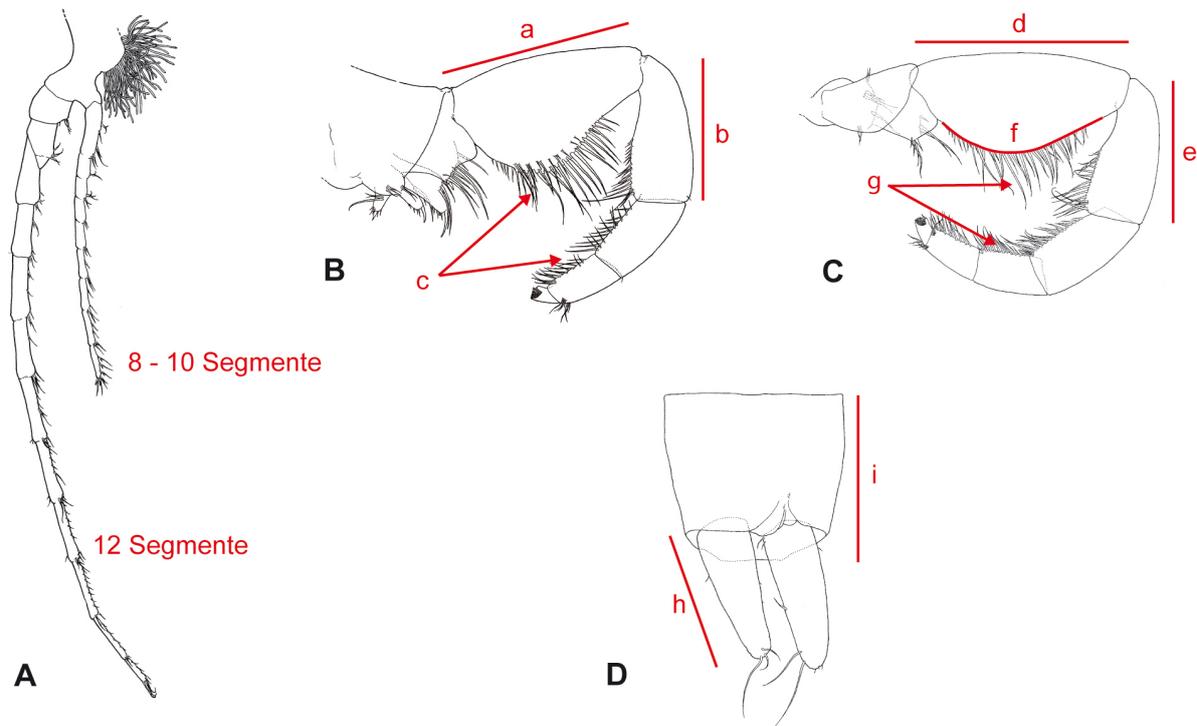


Abbildung 4.3 Erklärung zu diagnostischen Merkmalen der Klade C am Beispiel von *S. kakuki*. A = 1. Antenne, B = 1. Maxille, C = 2. Maxille, D = Maxilliped, E = Abdominalsegment und Kaudalanhänge (aus DAENEKAS *et al.* 2009, verändert).

Diese neue Familie lässt sich in zwei Gattungen unterteilen. Die Erste besteht aus *Speleonectes kakuki* und *Speleonectes lucayensis*, die andere bildet *Lasionectes entrichoma*. Merkmale zur Unterscheidung sind in Tabelle 4.1 aufgeführt.

Tabelle 4.1 Morphologische Unterschiede zwischen den beiden neuen Gattungen von Klade C. (Seg. = Segment, Mx1 = 1. Maxille, Mx2 = 2. Maxille, Mxp = Maxilliped). Zeichnungen der 1. Maxillen, 2. Maxillen und der Maxillipeden aller beschriebenen Arten finden sich im Anhang B Morphologie)

	<i>L. entrichoma</i>	<i>S. kakuki</i> / <i>S. lucayensis</i>
Endit auf Seg. 4 Mx1	extrem ausgewölbt	asymmetrisch, distal flach auslaufend
Setae auf Mx2 und Mxp	gleich lang	unterschiedlich lang
Klauenkomplexe Mx2 und Mxp	Langfinger-Typ	Hufeisen-Typ
Verhältnis von Seg. 4 zu 5 (Mxp)	1,18:1	1,49:1 / 1,47:1
Frontalfilamente (s. Abb. 4.4)	segmentiert	unsegmentiert
	Fortsatz relativ lang	Fortsatz relativ kurz
	Ansatzstelle des Fortsatzes in der <u>unteren</u> Hälfte des Frontalfilaments	Ansatzstelle des Fortsatzes in der <u>oberen</u> Hälfte des Frontalfilaments

Ergänzend zu der Tabelle zeigen beide Gattungen unterschiedliche Sternalleistenmuster (s. Diskussion der Sternalleisten Klade C) und außerdem besitzt *L. entrichoma* im Gegensatz zu den beiden anderen Arten abgerundete Sternalplatten.

Diese Reduzierung der Familie Speleonectidae macht die Einführung zahlreicher neuer Familien und Gattungen nötig, um die ehemaligen Mitglieder der Familie zu ordnen. Die Klade (D+E), F und *L. exleyi* werden in den Status einer Familie erhoben.

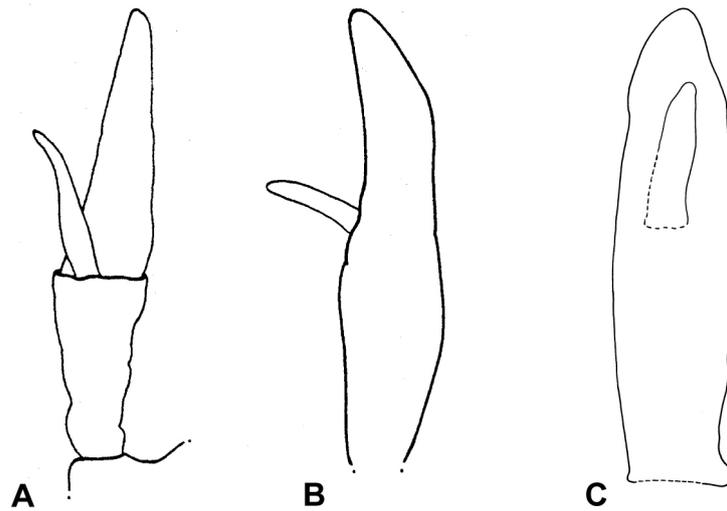


Abbildung 4.4 Darstellung der Frontalfilamente von A = *L. entrichoma* (YAGER & SCHRAM 1986), B = *S. lucayensis* (SCHRAM *et al.* 1986) und C = *S. kakuki* (DAENEKAS *et al.* 2009).

Klade D und E

Die Analysen zeigen unterschiedliche Ergebnisse im Bezug auf die Yucatan-Arten *S. tulumensis*, *S. cf. tulumensis* und *S. fuchscockburni*. In zwei Analysen bilden sie mit hohen Unterstützungswerten (Lauf 1: 0,96 bzw. Lauf 5: 1) die Schwestergruppe zu einer Klade bestehend aus den *Pleomothra*-Arten und *S. n. sp. 2* sowie *S. n. sp. 4*. In Lauf 3 sind sie Teil einer polyphyletischen Gruppe mit *Pleomothra* und [*L. entrichoma* + (*S. kakuki* + *S. lucayensis*)]. In den Läufen 4, 6 und 7 bilden sie die Schwestergruppe zu der Klade D bestehend aus [(*S. ondinae* + *S. atlantida*) + (*S. emersoni* + *S. williamsi*)]. Aufgrund der molekularen Phylogenien lässt sich diese Gruppe nicht eindeutig zuordnen.

Jedoch gibt es aus morphologischer Sicht einige Synapomorphien die sich die Klade D [(*S. ondinae* + *S. atlantida*) + (*S. emersoni* + *S. williamsi*)] und E [(*S. tulumensis* + *S. cf. tulumensis*) + *S. fuchscockburni*] teilen:

- 1. Maxille: Segment 4, Endit klein und konisch (s. Abb. 4.5 Aa)
- 2. Maxille: Segment 3, Endit schmal, wenig bauchig (s. Abb. 4.5 Bd)
- 2. Maxille und Maxilliped: medialer Rand von Lacertus und Brachium mit wenigen vereinzelt Setae oder kleinen Büscheln aus wenigen Setae (s. Abb. 4.5 Be und Ch); Segment proximal und distal vom Ellenbogen etwa gleichlang (s. Abb. 4.5 B b ≈ c und C f ≈ g)
- Sternalleisten: isomorph
- Kaudalanhänge: länger als Abdominalsegment (s. Abb. 4.5 D i < j)

Aufgrund dieser Synapomorphien werden die Vertreter der Klade D und E zu einer neuen Familie zusammengefasst. *Speleonectes gironensis* wird wegen der widersprüchlichen Topologien an dieser Stelle von der Diskussion ausgeschlossen. Eine Besprechung der möglichen Zuordnung von *S. gironensis* findet sich im Anschluss an diesen Abschnitt.

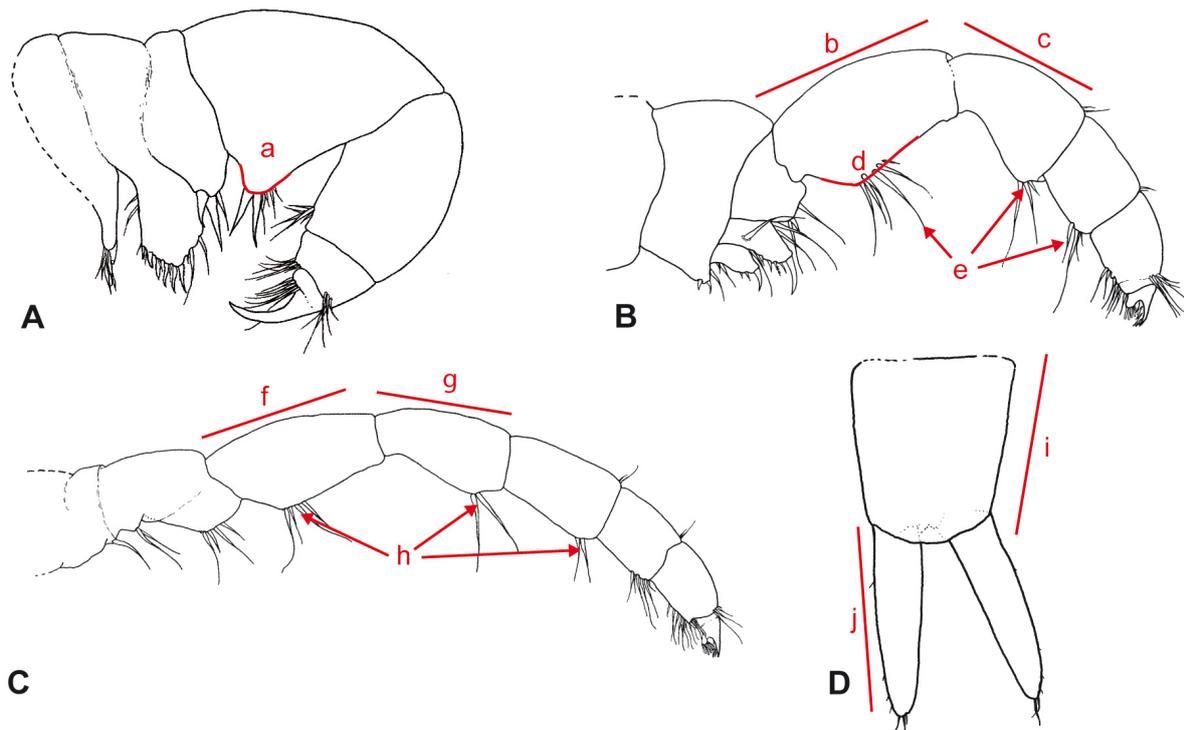


Abbildung 4.5 Erklärung zu diagnostischen Merkmalen der Kladen D und E am Beispiel von *S. emersoni*. A = 1. Maxille, B = 2. Maxille, C = Maxilliped, D = Abdominalsegment und Kaudalanhänge (aus LORENTZEN *et al.* 2007, verändert).

Die Topologien der phylogenetischen Analysen legen es nahe für jede der beiden Kladen eine Gattung zu definieren. Allerdings sind die morphologischen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sehr gering. Es lassen sich nur zwei wesentliche Synapomorphien feststellen: Alle Vertreter der Klade E verfügen über eine relativ große Anzahl von Rumpfsegmenten (z.B. 30 - 35 bei *S. fuchscockburni*, 35 - 42 bei *S. cf. tulumensis*). Die Vertreter der Klade D zeigen im Gegensatz dazu deutlich weniger Rumpfsegmente (z.B. *S. emersoni* 19 - 21 und *S. ondinae* 19 - 25). Zudem besitzen die Arten von Klade E sehr lange Setae auf den Maxillipeden, während diese bei den Arten der Klade D mittel lang sind (s. Abb. 8.4 und 8.5).

Speleonectes ondinae wurde ursprünglich als *Morlockia ondinae* Garcia-Valdecasas, 1984 beschrieben und eine eigene Familie Morlockiidae Garcia-Valdecasas, 1984 dafür eingeführt. Jedoch verwarfen SCHRAM *et al.* diese 1986 wieder. Die Bildung einer neuen Familie aus den Kladen D und E bietet die Möglichkeit den Namen Morlockiidae wieder einzuführen.

Klade F

YAGER (1994) weist bereits darauf hin, dass eine Neubewertung der taxonomischen Zuordnung von *Speleonectes benjamini* nötig ist. Die Autorin sieht in *S. benjamini* den am wenigsten typischen Vertreter der Gattung *Speleonectes*. Als Gründe führt sie folgende morphologische Unterschiede an: 1.) die sehr langen 1. Antennen, 2.) die gut ausgebildeten Sternalleisten mit posterolateralen Fortsätzen, 3.) weitere Unterschiede, die jedoch nicht weiter erläutert werden. Zu diesem Zeitpunkt waren neben *Speleonectes benjamini* noch *S. ondinae*, *S. epilimnius*, *S. lucayensis* und *S. tulumensis* als Vertreter der Gattung *Speleonectes* bekannt. Erst später wurden die weiteren Vertreter der Klade F, *Cryptocorynetes elmorei*, *C. longulus* und *S. parabenjamini*, beschrieben (siehe Abb. 9.1). KOENEMANN *et al.* (2007c) haben die Empfehlung ausgesprochen, *Cryptocorynetes* eine eigene Familie zuzuweisen. Dieser Vorschlag wird hier unterstützt, jedoch wird diese neue Familie um die Arten *S. benjamini* und *S. parabenjamini* erweitert.

Als Diagnose ist vorstellbar:

- Kopfschild: annähernd rechteckig, sich anterior verjüngend
- 1. Antenne: gut entwickelt, ventraler Ast lang (mindestens 50% der Körperlänge), aus mindestens 14 Segmenten bestehend
- 2. Maxille und Maxilliped: Terminalklauenkomplex Hufeisentyp
- Sternalplatten: mit spitzen posterior gerichteten Ecken
- Sternalleisten: Rumpfsegmente (RS) 1 bis 13 konkav, RS 14 groß und konvex (bzw. dreieckig), RS 15 bis Rumpfende konvexe Loben (*S. benjamini* und *S. parabenjamini*) oder RS 15 konkav, danach gerade, RS 19 konvexer Lobus (*Cryptocorynetes*) (siehe Tabelle 4.2)

Es wäre sinnvoll diese Familie in zwei Gattungen zu teilen. Die Gattung *Cryptocorynetes*, die im Wesentlichen durch die keulenartig verdickten Segmente der 2. Maxille und des Maxillipeden gekennzeichnet ist. Diese beiden Fangbeine sind mit discoiden Organen besetzt (s. Abb. 8.3 und 8.4). Bei der anderen Gattung, welche *S. benjamini* und *S. parabenjamini* umfasst, bestehen die 2. Maxille und der Maxilliped hingegen aus schlanken Segmenten. Die Segmente proximal und distal des Ellenbogens sind dabei deutlich verlängert. Discoide Organe sind hier nicht vorhanden (s. Abb. 8.2, 8.3, 8.4 und 8.5).

Tabelle 4.2 Vergleich der Sternalleisten und Sternalplatten der rezenten Remipedia (Quelle S. Koenemann).

Taxa	Sternalleisten 1 - 13	Sternalleiste 14	Sternalleisten 15 - Körperende	Sternalplatten
Godzilliidae				
<i>Godzillionomus</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>Godzillius</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>Pleomothra</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
Micropacteridae				
<i>Micropacter</i>	stark reduziert	konvexer Lobus	nicht vorhanden	
Speleonectidae				
<i>Cryptocorynetes</i>	konkav	groß, konvex (dreieckig)	15: konkav, danach gerade, 19: konvexer Lobus	mit Spitzen
<i>S. benjamini</i>	lang, leicht konkav	groß, konvex	konvexe Loben	mit Spitzen
<i>S. parabenjamini</i>	lang, leicht konkav	groß, konvex	konvexe Loben	mit Spitzen
<i>Kaloketos</i>	konkav	groß, konvex	konkav	mit Spitzen
<i>L. entrichoma</i>	klein, leicht konkav	groß, konkav	deutlich konkav	abgerundet
<i>L. exleyi</i>	lang, gerade	groß, dreieckig	15+16 leicht konvex, dann zunehmen dreieckig	
<i>S. atlantida</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. ondinae</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. williamsi</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. emersoni</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. epilimnius</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. kakuki</i>	klein, annähernd gerade	groß, konkav	15-20 annähernd gerade, 21-30 dreieckige Loben	
<i>S. lucayensis</i>	klein, annähernd gerade	groß, konkav	15-23 leicht konkav, 24-konvexer Lobus	
<i>S. minnsi</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. tanumekes</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. gironensis</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. cf. tulumensis</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. fuchscockburni</i>	isomorph	isomorph	isomorph	
<i>S. tulumensis</i>	isomorph	isomorph	isomorph	

Taxa mit heteromorphen Sternalleisten sind neben den Vertretern der oben genannten Klade folgende Arten: *Micropacter yagerae*, *Kaloketos pilosus*, *Lasionectes entrichoma*, *Lasionectes exleyi*, sowie *Speleonectes kakuki* und *Speleonectes lucayensis*. Jedoch unterscheiden sich außer bei *Kaloketos* die Muster aller dieser Arten. Zwar ist bei *Micropacter yagerae* die Sternalleiste auf Rumpfsegment 14 konvex, jedoch auf den Rumpfsegmenten 1 bis 13 stark reduziert und ab Rumpfsegment 15 nicht vorhanden. Es ist zu beachten, dass *Micropacter* nur

über 16 Rumpfsegmente verfügt, wobei die letzten beiden Segmente verschmolzen sind. *Micropacter* besitzt keine spitzen Ecken an den Sternalplatten.

Bei *Speleonectes kakuki* und *Speleonectes lucayensis* sind die ersten 13 Rumpfsegmente klein und annähernd gerade, die von Rumpfsegment 14 groß und konkav. Bei *S. kakuki* sind die Sternalleisten der Rumpfsegmente 15 bis 20 annähernd gerade und die der Rumpfsegmente 21 bis 30 bilden dreieckige Loben. *Speleonectes lucayensis* besitzt auf den Rumpfsegmenten 15 bis 23 leicht konkave Sternalleisten, ab Rumpfsegment 24 sind sie als konvexe Loben ausgebildet. Beide Arten haben keine eckigen Spitzen an den Sternalplatten.

Auch das Sternalleistenmuster von der ursprünglichen Gattung *Lasionectes* unterscheidet sich von dem der in der oben genannten Klade vertretenen Arten. *Lasionectes exleyi* besitzt lange, gerade Sternalleisten auf den Rumpfsegmenten 1 bis 13 und einen großen, dreieckigen Lobus auf Rumpfsegment 14. Auf Rumpfsegment 15 und 16 sind die Sternalleisten leicht konvex und werden dann zunehmend dreieckig. *Lasionectes exleyi* und *L. entrichoma* verfügen auch nicht über spitze Ecken der Sternalplatten. Hier sind die Sternalplatten abgerundet und die Sternalleisten auf den Rumpfsegmenten 1 bis 13 sind konkav, jedoch nur leicht. Die Sternalleiste auf Rumpfsegment 13 ist groß und konkav, die der Rumpfsegmente 15 bis zum Rumpfende sind deutlich konkav.

Einzig das Sternalleistenmuster von *Kaloketos pilosus* zeigt Übereinstimmungen mit den Vertretern der Klade F und kann daher als diagnostisches Merkmal für die Zuordnung von *K. pilosus* zu dieser neuen Familie dienen (siehe Abschnitt „Einordnung fehlender Taxa“).

Lasionectes exleyi

Die Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten Analysen werfen Zweifel an der Zusammengehörigkeit der beiden *Lasionectes*-Arten auf. Die isolierte Stellung von *L. exleyi* in den hier vorliegenden Topologien legt eine eigene taxonomische Einheit für *L. exleyi* nahe. Zudem bleibt durch die Zuordnung von *L. entrichoma* zu der überarbeiteten Familie Speleonectidae *L. exleyi* alleine übrig. Eine mögliche Diagnose für diese dann nur aus *L. exleyi* bestehende neue Familie ist:

- 1. Maxille: Segment 2, Endit apikal mit dichtem Büschel von langen Setae besetzt; Segment 3, Endit mit einer Seta mit breiter Basis und 5 mittellangen dornenähnlichen Setae besetzt; Segment 4, Endit dicht mit langen Setae besetzt
- 2. Maxille: Segment 3 bauchig, sehr stark erweitert, Endit stark vergrößert
- 2. Maxille und Maxilliped: Brachium länger als Lacertus, mit langen bis mittellangen Setae besetzt
- Kaudalanhänge: länger als Abdominalsegment

KOENEMANN *et al.* (2007c) haben in der Diskussion darauf hingewiesen, dass es per Definition nicht möglich ist ein höheres Taxon aufgrund einer einzelnen Art, die als monotypische Klade erscheint, zu gründen. Schließt man die Möglichkeit einer großen, um die Gattung *Pleomothra* erweiterten, Familie Speleonectidae aus (siehe Diskussion Alternative Möglichkeit 1), bleibt jedoch nur diese Möglichkeit für *Lasionectes exleyi*. Zum einen kann argumentiert werden, dass mit der Einführung der Familie Micropacteridae durch KOENEMANN *et al.* (2007b), welche nur auf der Art *Micropacter yagerae* basiert, in KOENEMANN *et al.* (2007c) ein Präzedenzfall geschaffen wurde. Zum anderen legt die basale Stellung von *L. exleyi* in den hier vorliegenden Topologien die Vermutung nahe, dass die Remipedia in der Vergangenheit deutlich weiter verbreitet waren, als es die Betrachtung der atlantischen Arten allein vermuten lässt. Es ist daher mit Entdeckungen von neuen Remipeden zwischen Australien und der karibischen Region zu rechnen (pers. Mitteilung F. R. Schram). Es ist zu erwarten, dass diese neuen Arten den Status der neuen Familie von *L. exleyi* weiter stützen.

Speleonectes gironensis

Die Zuordnung von *S. gironensis* ist schwierig, da sich die Topologien der einzelnen Analysen in diesem Punkt widersprechen. *Speleonectes gironensis* erscheint in Lauf 4 in der Klade [(*S. atlantida* + *S. ondinae*) + (*S. emersoni* + *S. williamsi*)], in Lauf 1 und Lauf 5 allerdings in der Klade [(*S. kakuki* + *S. lucayensis*) + *L. entrichoma*]. Es gibt daher zwei Möglichkeiten *S. gironensis* einzuordnen:

- 1.) *Speleonectes gironensis* wird der Klade C zugeordnet, welche nach AM2 den Status einer neuen Familie erhält. Für diese Möglichkeit sprechen die folgenden Synapomorphien, die *S. gironensis* mit den Vertretern dieser Klade teilt: Die Lacerti von der 2. Maxille und dem Maxillipeden sind fast durchgehend mit Setae besetzt, zudem sind sie länger als das Segment distal des Ellenbogens. Die Enditen der Lacerti von der 2. Maxille und dem Maxillipeden sind erweitert und besitzen eine Birnenform.
- 2.) *Speleonectes gironensis* wird der neuen Familie bestehend aus den Kladen D und E zugeordnet. Auch mit den Vertretern dieser Familie teilt sich *S. gironensis* Synapomorphien: Die Anzahl der Segmente des ventralen Astes der 1. Antenne ist 10, die Sternalleisten sind isomorph, die Kaudalanhänge sind länger als das Abdominalsegment.

Der Endit des 4. Segments der 1. Maxille trägt Merkmale von beiden neuen Familien. Er ist konisch, jedoch nicht klein, sondern lang ausgezogen.

Speleonectes gironensis kann in dieser Arbeit weder aufgrund der molekularen Phylogenie noch der Morphologie eindeutig einer Klade/Gruppe zugeordnet werden. Es wäre nötig, wenigstens eine der Diagnosen der beiden neuen Familien zu schwächen. Aber selbst dann müsste noch ein bisher nicht berücksichtigtes Merkmal den Ausschlag für die eine oder andere neue Familie geben. Eine detaillierte morphologische Untersuchung mittels Rasterelektronenmikroskopie der Terminalklauenkomplexe und / oder der Gonoporen könnte das Problem lösen.

Speleonectes n. sp. 2* und *Speleonectes n. sp. 4

Die beiden in den molekularen Analysen vertretenen bisher unbeschriebenen Arten *S. n. sp. 2* und *S. n. sp. 4* können morphologisch nicht diskutiert werden, da zur Zeit keine Beschreibungen oder Zeichnungen vorliegen. Der Zugang zu dem Material zur persönlichen Betrachtung der Morphologie war nicht möglich. Die derzeit vorliegenden Topologien legen jedoch nahe, dass es sich um eine eigene Familie handelt. Hier müssen zunächst die Artbeschreibungen abgewartet werden.

4.2.3 Weitere alternative Möglichkeiten

Neben diesen beiden Möglichkeiten AM1 (die bereits bestehenden Familien bleiben erhalten) und AM2 (eine komplette Neuordnung) wären zahlreiche Varianten denkbar. Eine Alternative wäre, den Kladen D und E jeweils eine eigene Familie zuzuordnen und den Rest von AM2 zu übernehmen. Da jedoch, wie bereits beschrieben, die morphologischen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen relativ gering sind, ergäbe sich keine stabile Diagnose für diese beiden Familien. Anderen alternative Möglichkeiten wie zum Beispiel die Einführung neuer Familien für die Kladen (B + C und die Arten *S. n. sp. 2* / *S. n. sp. 4*), sowie für die Kladen (D + E) und für Klade F oder eine neue große Familie bestehend aus den Kladen B bis E, sowie einer neuen Familie für Klade F, wären morphologisch unsinnig oder würden in schwachen Diagnosen münden.

4.2.4 Einordnung von fehlenden Taxa

Für folgende Arten stand kein Material für die genetische Untersuchung zur Verfügung: *Speleonectes minnsi*, *S. tanumekes*, *S. epilimnius* und *Kaloketos pilosus*. Sie müssen daher aufgrund morphologischer Merkmale zugeordnet werden.

Kaloketos pilosus

Kaloketos pilosus verfügt über ein Muster der Sternalleisten, das mit dem der Vertreter der Klade F vergleichbar ist. Wie die Taxa dieser Klade besitzt auch *K. pilosus* eckige Spitzen der Sternalplatten (s. Abb. 4.6) und ein sehr langes dorsales Flagellum der 1. Antenne (das mehr als 50 % der Körperlänge erreichen kann). Außerdem besteht der ventrale Ast der 1. Antenne aus 18 Segmenten. Aufgrund dieser Synapomorphien kann diese Art der Gruppe bestehend aus *Cryptocorynetes elmorei*, *Cryptocorynetes longulus*, *Cryptocorynetes haptodiscus*, *Speleonectes benjamini* und *Speleonectes parabenjamini* zugeordnet werden.

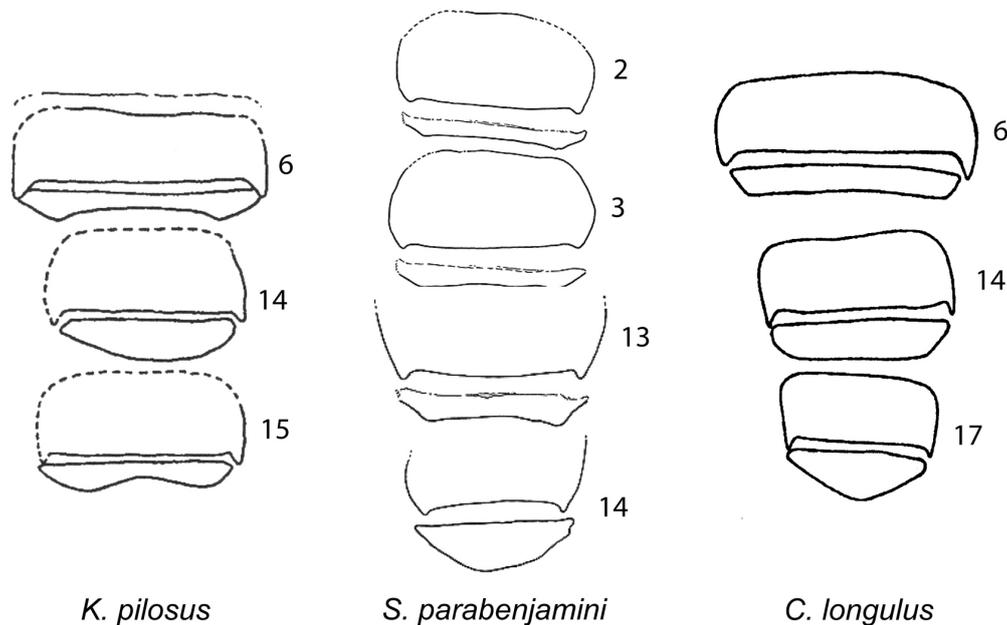


Abbildung 4.6 Zeichnung einer Auswahl von Sternalleisten und Sternalplatten von *K. pilosus*, *S. parabenjamini* und *C. longulus*. Die Zahlen geben das jeweilige Rumpsegment an. (A = KOENEMANN *et al.* 2003, B = KOENEMANN *et al.* 2004 und C = WOLLERMANN *et al.* 2007).

Speleonectes minnsi

Speleonectes minnsi lässt sich der Familie Speleonectidae (nach AM2) zuordnen, da diese Art alle diagnostischen Merkmale der Familie teilt. Weiterhin lässt sich *S. minnsi* der Gattung bestehend aus *S. kakuki* und *S. lucayensis* zuordnen, da *S. minnsi* alle Synapomorphien dieser neuen Gattung teilt.

Speleonectes epilimnius* und *Speleonectes tanumekes

LORENTZEN *et al.* (2007) haben festgestellt, dass *S. epilimnius* und *S. tanumekes* von allen Speleonectiden der von ihnen neu beschriebenen Art *S. emersoni* am ähnlichsten sind. Tatsächlich teilen *S. tanumekes* und *S. epilimnius* alle diagnostischen Merkmale der (nach AM2) neuen Familie (Kladen D und E) und werden dieser zugeordnet. Weiter wird *S. epilimnius* der neuen Gattung bestehend aus den Vertretern der Klade D zugeordnet, da auch *S. epilimnius* über mittellange Setae auf den Segmenten des Maxillipeden verfügt und nur eine geringe Anzahl (21) von Rumpsegmenten besitzt. *Speleonectes tanumekes* hingegen besitzt lange Setae auf den Segmenten des Maxillipeden und verfügt mit 38 - 40 über eine hohe Anzahl von Rumpsegmenten.

4.2.5 Fazit der Diskussion der Topologien / Systematik

Eine vollständige Revision der Klasse ist derzeit nicht sinnvoll, da in naher Zukunft zahlreiche neue Arten beschrieben werden. Dazu gehören neben einem Vertreter der Gattung *Godzillius* (pers. Mitteilung S. Koenemann) auch die in dieser Arbeit verwendeten Proben *S. n. sp.* 2 und 4. Zudem konnte *Speleonectes gironensis* weder anhand der Morphologie noch der molekularen Phylogenetik zugeordnet werden. Aus diesen Gründen wird auf eine vollständige Revision verzichtet, da diese wahrscheinlich nicht von langer Dauer wäre. Es konnte jedoch ein Vorschlag für eine mögliche Revision erarbeitet werden, in dem trotz fehlenden genetischen Materials die Taxa *S. epilimnius*, *S. tanumekes* und *S. minnsi* eingeordnet werden. Dieser Vorschlag ist in Tabelle 4.3 dargestellt und kann als Gerüst für künftige Untersuchungen dienen.

Tabelle 4.3 Neuordnung der Nectiopoda nach AM2, mit Einordnung der fehlenden Taxa. Die Namen der Familien und Gattungen die bestehen geblieben sind, sowie alle Arten sind beibehalten. Namensvorschläge sind in runde Klammern geschrieben, die neuen Familien und Gattungen mit X und einer Zahlenfolge gekennzeichnet.

Familie	Gattung	Art
Micropacteridae	<i>Micropacter</i>	<i>M. yagerae</i>
Godzilliidae	<i>Godzillius</i> <i>Godzillioognomus</i>	<i>G. robustus</i> <i>Gn. frondosus</i> <i>Gn. schrami</i>
X1	X1.1 (<i>Pleomothra</i>)	<i>P. apletocheles</i> <i>P. fragilis</i> <i>P. n. sp.</i>
X2 (Speleonectidae)	X2.1 (<i>Speleonectes</i>)	<i>S. kakuki</i> <i>S. lucayensis</i> <i>S. minnsi</i>
	X2.2	<i>L. entrichoma</i>
X3	X3.1	<i>S. n. sp. 2</i> <i>S. n. sp. 4</i>
X4 (Morlockiidae)	X4.1 (<i>Morlockia</i>)	<i>S. atlantida</i> <i>S. ondinae</i> <i>S. emersoni</i> <i>S. williamsi</i> <i>S. epilimnius</i>
	X4.2	<i>S. tulumensis</i> <i>S. cf. tulumensis</i> <i>S. fuchscockburni</i> <i>S. tanumekes</i>
X5	X5.1 (<i>Cryptocorynetes</i>)	<i>C. haptodiscus</i> <i>C. longulus</i> <i>C. elmorei</i>
	X5.2	<i>S. benjamini</i> <i>S. parabenjamini</i>
X6	X6.1	<i>L. exleyi</i> <i>[S. gironensis]</i>

4.3 Genetische Distanzen

Auffällig ist die genetische Distanz zwischen den beiden *Godzillius*-Vertretern (s. Tab 3.2). Vergleicht man diese mit der intraspezifischen Variation anderer Arten von Remipedia, zum Beispiel mit der von den beiden *Godzillioptomus schrami* Proben (0,01) oder mit der von den *Speleonectes emersoni* Proben (0,00 / 0,01), so ist sie mit 0,12 relativ groß. Zumindest liegt sie deutlich über dem Durchschnitt der intraspezifischen Variation. Sie erreicht sogar annähernd die Distanz, die zwischen *S. ondinae* und *S. atlantida* (0,14) oder *Gn. frondosus* und *Gn. schrami* (0,17) besteht. *Speleonectes atlantida* wurde von KOENEMANN *et al.* erst 2009 als kryptische Art beschrieben, die sympatrisch mit *S. ondinae* in einem Lavatunnel auf Lanzarote vorkommt. *Godzillioptomus schrami* wurde 2010 von LIFFE *et al.* als kryptische Art beschrieben. *Godzillioptomus schrami* kommt auf Eleuthera vor während *Gn. frondosus* auf Grand Bahama Island, Abaco Island und den Exuma Cays gefunden wurde.

Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass es sich bei der *Godzillius*-Probe (im Folgenden als *G. cf. robustus* bezeichnet) aus Ralphs Sink auf Abaco Island um eine kryptische Art handelt, insbesondere vor dem Hintergrund der relativ großen geographischen Entfernung von über 700 km. Jedoch müsste diese Annahme mit der Analyse einer größeren Probenzahl von beiden Standorten geprüft werden.

Auffällig ist außerdem noch die fehlende genetische Distanz zwischen der *P. fragilis* Probe und denen von *P. apletocheles*. Die *P. fragilis* Sequenz hat zwar eine andere Länge als die *P. apletocheles* Sequenzen, die Sequenz selbst ist jedoch komplett identisch. Es ist daher von einer Falschbestimmung auszugehen, ein junges Tier von *P. apletocheles* könnte vielleicht mit dem zierlichen *P. fragilis*-Exemplar verwechselt worden sein.

4.4 Eignung der Marker

Cytochrom c Oxidase Untereinheit 1 zeigt den am besten aufgelösten Baum. Auch erfolgte die Amplifikation dieses Markers zumeist ohne größere Komplikationen, genauso wie die Sequenzierung der Amplifikate. Cytochrom c Oxidase Untereinheit 1 eignet sich daher gut um die Phylogenie der Remipedia zu untersuchen.

Bei der Analyse der 16S-rRNA ist die Klade der Remipedia gut gelöst, teilweise zeigen sich aber sehr geringe Unterstützungswerte (0,54 bei *Speleonectes*

benjamini / *Speleonectes parabenjamini* und *Cryptocorynetes* und *Lasionectes exleyi*). Außerdem stellt sich die Außengruppe polyphyletisch dar. Dennoch scheint auch das 16S-rRNA-Gen ein geeigneter Marker für die Untersuchung der Phylogenie der Remipedia zu sein.

Histon 3 hingegen scheint der falsche Marker für eine phylogenetische Analyse mit dieser Taxaauswahl zu sein. Der H3-Baum zeigt Gruppen, die bei COI und 16S gut aufgelöst sind, als Polytomien oder an anderer Stelle im Baum. Außerdem ist der Wechsel von *M. yagerae* in die Außengruppe und der von *H. macracantha* in die Klade der Remipedia ungewöhnlich. Betrachtet man die H3-Alinierung, finden sich relativ wenige Unterschiede in den Sequenzen untereinander. Dies kann ein Hinweis darauf sein, dass H3 zu stark konserviert für eine Analyse mit dieser Taxaauswahl.

Für den 18S-rRNA-Marker sind in Genbank nur wenige Remipedia-Sequenzen verfügbar:

- Eine fast vollständige Sequenz von *Speleonectes tulumensis* (Genbank-Nummer L81936). Über diese schreiben KOENEMANN *et al.* (2010), dass ihnen während der Alinierung ihres 18S-rRNA-Datensatzes die ungewöhnliche Länge und Struktur dieser *S. tulumensis*-Sequenz aufgefallen ist. Sie vermuten ebenso wie schon SPEARS & ABELE (1997), dass es sich hierbei um ein Pseudogen handelt.
- Für *Speleonectes gironensis* sind mehrere kurze Fragmente verfügbar.
- Außerdem existiert eine ebenfalls fast vollständige Sequenz für *P. apletocheles* (Genbank-Nummer GU067681).

In der hier vorliegenden Arbeit konnten von fünf Proben komplette 18S-rRNA-Sequenzen amplifiziert und sequenziert werden, diese stellten sich jedoch als Kontaminationen heraus. Statt des 18S-rRNA-Gens von Remipedia wurden wahrscheinlich 18S-rRNA-Sequenzen von potentiell symbiontischen Eukaryoten gewonnen (siehe Abschnitt Kontaminationen). 18S-rRNA-Sequenzen von Remipedia konnten nur als Teilstücke für folgende Taxa sequenziert werden: *Lasionectes exleyi*, *Godzillius robustus*, *Cryptocorynetes elmorei* und *Cryptocorynetes haptodiscus*. Diese wurden einer Strukturalinierung unterzogen, diese befindet sich im Anhang A. Aufgrund der Kürze der Sequenzen und der geringen Anzahl von Taxa, sowie dem

Mangel an Vergleichssequenzen wurde jedoch von einer phylogenetischen Analyse abgesehen.

4.5 Kontaminationen

Die BLAST-Analyse der vermeintlichen 18S-rRNA-Sequenzen der Proben *Cryptocorynetes elmorei* 07-35B, *P. apletocheles* AB06-DC-5.1, *S. benjamini* AB06-SS-3 und *C. haptodiscus* AB06-SS-1.1 zeigte, dass es sich dabei nicht um Sequenzen von Remipedia handelt. Tatsächlich handelt es sich vermutlich um Sequenzen von exuviotrophischen Apostomen. Die Sequenzen ähneln z.B. denen von *Hyalophysa* Bradbury, 1966 oder *Gymnodinioides pitelkae* Bradbury, 2005. *Hyalophysa* ist entlang der Küsten der Vereinigten Staaten von Amerika weit verbreitet und kommt bei Decapoden vor. *Gymnodinioides pitelkae* ist von dem im Litoral verbreiteten Amphipoden *Gammarus obtusatus* Dahl, 1938 bekannt. Vertreter der Gattung *Gymnodinioides* sind als Ciliaten beschrieben, die z.B. auf den Setae der Extremitäten, des Telson und der 1. Antennen enzystieren und dann in das Exoskelett des Wirts eindringen, um sich dort von Gewebeflüssigkeit zu ernähren (LANDERS *et al.* 2006).

KOENEMANN *et al.* (2007a) fanden bei toten Remipedia Ciliaten, von denen sie annehmen, dass es sich um die Art *Euplotes iliffei* Hill *et al.*, 1986 handelt. Sie vermuten, dass diese Ciliaten mit dem ursprünglichen Höhlenwasser in die Aquarien gelangten. Ob es sich dabei um Parasiten oder Kommensalen handelt, konnten sie nicht aufklären. Auch FELGENHAUER *et al.* (1992) haben Protisten, Ciliaten und Suctorien gefunden und vermuten, dass es sich dabei um exuviotrophische oder parasitische Epibionten handelt, welche sich von Gewebsflüssigkeit der Remipedia ernähren. Mit großer Wahrscheinlichkeit handelt es sich bei den von KOENEMANN *et al.* (2007a) beschriebenen Ciliaten um exuviotrophische Apostomen. Es wäre sogar denkbar, dass eine massenhafte Vermehrung dieser Ciliaten aufgrund der Aquarienhaltung (geringes Wasservolumen und nur geringer Wasseraustausch) zum Tod der Remipeden geführt hat. Eine solche Zunahme würde auch zu dem erhöhten Putzverhalten passen, welches KOENEMANN *et al.* (2007a) beschrieben haben. Sie konnten beobachten, dass das Putzverhalten von selten und kurz bis exzessiv kurz vor dem Tod zunahm. Ähnliches konnte auch CARPENTER (1999) beobachten, jedoch mit zusätzlichem Sezernieren von Mucus.

4.6 Probenmaterial

Die Qualität und das Alter des Probenmaterials unterscheiden sich zum Teil erheblich. Einige Proben stammen noch aus den 1980er Jahren, während andere zum Beginn der Untersuchung frisch gesammelt wurden. Auch die Größe der Tiere variiert erheblich. Das kleinste Tier, das beprobt wurde, war eine Larve von *Pleomothra apletocheles* mit einer Größe von 1,6 mm. Das größte Tier war *Speleonectes cf. tulumensis* (Yuc-04-4b2) mit 40 mm Gesamtlänge. Während einige Proben augenscheinlich bereits Abbauprozessen unterlegen waren (Tiere erschienen gelblich bis braun gefärbt oder komplett durchsichtig, während frisches alkohol-fixiertes Material normalerweise weiß ist), waren insbesondere die frisch gesammelten Proben der Abaco Island Exkursion von 2006 in sehr gutem Zustand. Dies zeigte sich auch bei der DNA-Extraktion. Die Qualität und Ausbeute von Proben dieser Exkursion war deutlich größer als von anderen Proben. Insbesondere bei *L. exleyi* und *S. gironensis* war die Ausbeute sehr gering. Die Art und Weise der Probennahmen, deren Fixierung und Lagerung scheint erhebliche Auswirkungen auf die Qualität der Sequenzen und damit auf die gesamten Analysen zu haben. Es wird geraten, bei weiterführenden Untersuchungen neues Material zu sammeln und die Proben, in Hinblick auf die Erhaltung der Menge und Qualität der DNA, möglichst zeitnah und mit reichlich vorgekühltem 96%-igen Ethanol zu fixieren. Zudem sollte eine Unterbrechung der Kühlkette vermieden werden.

Ein weiteres Problem ist die Verfügbarkeit von Proben. Von den Arten *Speleonectes minnsi*, *Speleonectes tanumekes* und *Kaloketos pilosus* konnte kein Material besorgt werden. Das Bild das wir sehen ist daher nur unvollständig. Insbesondere Material von *K. pilosus* wäre von großem Interesse, um die Annahme zu bestätigen, dass *K. pilosus* gemeinsam mit der Gattung *Cryptocorynetes* und den Arten *S. benjamini* und *S. parabenjamini* eine neue Familie bildet. Für eine weitergehende Untersuchung der Biogeographie wird eine möglichst flächendeckende Probennahme (alle bekannten Höhlen sollten vertreten sein) und eine Mehrfachbeprobung (aus jeder Höhle sollten für jedes Taxon mehrere Exemplare gesammelt werden) empfohlen.

4.7 Fazit

Es wurden zahlreiche neue Sequenzen für 20 der 24 derzeit beschriebenen Remipedia-Arten generiert, ebenso für vier neue bisher noch nicht beschriebene Arten. Für die folgenden Marker konnten Sequenzen erstellt werden: 16S-rRNA, 18S-rRNA, COI und H3. Damit konnte eine in diesem Maße bisher einmalige phylogenetische Analyse dieser Klasse durchgeführt werden. Erstmals wurde dabei ein Verfahren zur Alinierung von rRNA-Sequenzen bei Remipedia angewendet, das zunächst die strukturelle Veränderung und erst dann die Minimierung der Nukleotidveränderung optimiert (Strukturalinierung). Das Ergebnis sind Topologien, die zeigen, dass die derzeitige taxonomische Einteilung der Nectiopoda fehlerhaft ist. Neben der Familie Speleonectidae ist auch die Familie Godzilliidae paraphyletisch, ebenso wie die Gattungen *Speleonectes* und *Lasionectes*. Die basale Stellung von *L. exleyi* in den hier vorliegenden Topologien legt die Vermutung nahe, dass die Remipedia in der Vergangenheit deutlich weiter verbreitet waren, als es die Betrachtung der atlantischen Arten allein vermuten lässt. Es ist daher mit Entdeckungen von neuen Remipedia zwischen Australien und der karibischen Region zu rechnen.

Aufgrund der phylogenetischen Analyse und einer detaillierten Besprechung morphologischer Merkmale wurde ein Vorschlag für eine Revision des taxonomischen Systems der Remipedia erarbeitet, in den sich *Speleonectes epilimnius*, *Speleonectes tanumekes* und *Speleonectes minnsi* trotz fehlenden genetischen Materials einordnen lassen. Einzig *Speleonectes gironensis* lässt sich nicht eindeutig nach dem hier entwickelten Konzept zuordnen.

Unbeabsichtigt konnten durch kontaminierte Proben exuviotrophe Apostomen nachgewiesen werden, welche Hinweise auf das Verhalten oder gar die Todesursache von Remipedia in künstlicher Umgebung liefern könnten.

Zusätzlich konnte der Vergleich der zahlreichen COI-Sequenzen von Vertretern verschiedener Arten und Fundorten ein Hinweis auf das Vorhandensein einer kryptischen Art (*Godzillius cf. robustus*) liefern.

5 Literatur

Akaike H (1974) A new look at the statistical model identification. IEEE Trans Automat. Contr. 19: 716–723.

Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic. Acids. Res. 25:3389-3402.

Ax P (1999) Das System der Metazoa II. Ein Lehrbuch der phylogenetischen Systematik. Gustav Fischer Verlag.

Ban N, Nissen P, Hansen J, Moore PB, Steitz TA (2000) The Complete Atomic Structure of the Large Ribosomal Subunit at 2.4 Å Resolution. Science 289 (5481): 905-920.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L (2003) Biochemie 5. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin.

Birshtein YA (1960) Podklass Cephalocarida. In: Chernysheva NE, Orlov YA, editors. Osnovy paleontologii: spravochnik dlya paleontologov i geologov SSSR. Chlenistonogie, trilobitoobraznye i rakoobraznye. Moskva: Gosudarstvennoe Nauchno-Tekhnicheskoe Izdadelstvo Literaturny po Geologii i Okhrane Nedr. pp. 421-422.

Bradbury PC (1966) The life cycle and morphology of the apostomatous ciliate, *Hyalophysa chattoni* n. g., n. sp. J. Protozool. 13, 209–225.

Brooks HK (1955) A crustacean from the Tesnus Formation (Pennsylvanian) of Texas. J. Paleontol. 29: 852-856.

Brünnich MT (1772) Zoologiae fundamenta praelectionibus academicis accommodata. Hafniae et Lipsiae: Friedr. Christ. Pelt. 254 p.

Börner C (1904) Zur Systematik der Hexapoden. Zool. Anz. 27, 511-533.

Botosaneanu L, Holsinger JR (1991) Some aspects concerning colonization of the subterranean realm – especially of the subterranean waters: a response to Rouch & Danielopol, 1987. Stygologia 6: 11-13.

-
- Carpenter JH (1999) Behavior and ecology of *Speleonectes epilimnius* (Remipedia, Speleonectidae) from surface water of an anchialine cave on San Salvador Island, Bahamas. *Crustaceana* 72: 979-991.
- Cate JH, Yusupov MM, Yusupova GZ, Earnest TN, Noller HF (1999) X-ray Crystal Structures of 70S Ribosome Functional Complexes. *Science* 285 (5436): 2095-2104.
- Coineau N (1994) Evolutionary biogeography of the Microparasellid isopod *Microcharon* (Crustacea) in the Mediterranean Basin. *Hydrobiologia* 287 (1): 77-93.
- Chopard, L. (1920) Recherches sur la conformation et le développement des derniers segments abdominaux chez les Orthoptères. Thèse de la Faculté des Sciences de Paris. Imprimerie Oberthur, Rennes.
- Daenekas J, Iliffe TM, Yager J, Koenemann S (2009) *Speleonectes kakuki*, a new species of Remipedia (Crustacea) from anchialine and sub-seafloor caves on Andros and Cat Island, Bahamas. *Zootaxa* 2016: 51-66.
- Dahl E (1938) Two new Amphipoda of the genus *Gammarus* from Finmark. *Kongelige Norske Videnskabers Selskab Fordhandlingar* 10:125-128.
- Dakin WJ (1914) Fauna of Western Australia. II. The Phyllopoda of Western Australia. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 1914: 293–305, pls. I–II.
- D'Errico I, Gadaleta G, Saccone C (2004) Pseudogenes in metazoa: origin and features. *Briefings in functional genomics & proteomics*, 3(2):157-167.
- Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32(5), 1792-97.
- Emerson MJ, Schram FR (1991) Remipedia. Part 2. Paleontology. *Proc. San. Diego. Soc Nat Hist* 7: 1-52.
- Ertas B, von Reumont BM, Wägele JW, Misof B, Burmester T (2009) Hemocyanin suggests a close relationship of Remipedia and Hexapoda. *Mol. Biol. Evol.* 26: 2711-2718.
- Fabricius JC (1775) *Systema Entomologiae, sistens Insectorum Classes, Ordines, Genera, Species, adjectis Synonymis, Locis, Descriptionibus, Observationibus.* Flensburg & Leipzig: Officina Libraria Kortii. pp. 1–832.
-

Fabricius JC (1798) Supplementum entomologiae systematicae. - pp. [1-3], 1-572. Hafniae. (Proft & Storch).

Fairbanks RG (1989) A 17,000-year glacio-eustatic sea level record influence of glacial melting rates on the Younger Dryas event and deep-ocean circulation: Nature, v. 342, p. 637-642.

Fanenbruck M, Harzsch S (2005) A brain atlas of *Godzillioognomus frondosus* Yager, 1989 (Remipedia, Godzilliidae) and comparison with the brain of *Speleonectes tulumensis* Yager, 1987 (Remipedia, Speleonectidae): implications for arthropod relationships. Arthropod. Struct. Dev. 34: 343-378.

Felgenhauer BE, Abele LG, Felder DL (1992) Remipedia. In: Harrison, F.W., Humes, A.G. (Hrsg.). Microscopic Anatomy of Invertebrates; Volume 9 Crustacea. Wiley-Liss, Inc., New York, o.S..

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C Oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology 3, 294-299.

García-Valdecasas A (1984) Molockiidae new family of Remipedia (Crustacea) from Lanzarote (Canary Islands). EOS 60: 329-333.

Gillespie JJ, McKenna CH, Yoder MJ, Gutell RR, Johnston JS, Kathirithamby J, Cognato AI (2005) Assessing the odd secondary structural properties of nuclear small subunit ribosomal RNA sequences (18S) of the twisted-wing parasites (Insecta: Strepsiptera). Insect Molecular Biology, 14: 625–643 doi: 10.1111/j.1365-2583.2005.00591.x

Giribet G, Edgecombe GD, Wheeler WC (2001) Arthropod phylogeny based on eight molecular loci and morphology. Nature 413 (6852):157-61.

Gutell RR (1996) Comparative Sequence Analysis and the Structure of 16S and 23SrRNA. In: Ribosomal RNA, Structure, Evolution, Processing, and Function in Protein Biosynthesis. Dahlberg AE, Zimmermann RA (eds), CRC Press. Boca Raton: 111-128.

-
- Hazerli D, Koenemann S, Iliffe TM (2009) *Cryptocorynetes elmorei*, a new species of Remipedia (Crustacea) from an anchialine cave on Eleuthera, Bahamas. *Mar. Biodiv.* 40: 71-78.
- Holzenthal RW, Blahnik RJ, Prather AL, Kjer KM (2007) Order Trichoptera Kirby 1813 (Insecta), Caddisflies. In: Zhang, Z.-Q., and Shear, W.A. (Eds). 2007 Linneaus Tercentenary: Progress in Invertebrate Taxonomy *Zootaxa*. 58 pp. 1668:639-698.
- Hill BF, Small EB, Iliffe TM (1986) *Euplotes iliffei* n.sp.: A new species of *Euplotes* (Ciliophora, Hypotrichida) from the marine caves of Bermuda. *Journal of the Washington Academy of Sciences*. Volume 76, Number 4, Pages 244-249.
- Huang JD, Sinitshenkova ND, Ren D (2011) New mayfly nymphs (Insecta: Ephemeroptera) from Yixian Formation, China. *Paleontological Journal* 45(2):167-173.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Hwang UW, Kim W (1999) General properties and phylogenetic utilities of nuclear ribosomal DNA and mitochondrial DNA commonly used in molecular systematics. *Korean. J. Parasitol.* 37(4):215-28.
- Iliffe TM, Otten T, Koenemann S (2010) *Godzilliognomus schrami*, a new species of Remipedia (Crustacea) from Eleuthera, Bahamas. *Zootaxa* 2491: 61-68.
- Ivey JL, Santos SR (2007) The complete mitochondrial genome of the Hawaiian anchialine shrimp *Halocaridina rubra* Holthuis, 1963 (Custacea: Decapoda: Atyidae). *Gene* 394, 35-44.
- Kjer KM, Baldrige GD, Fallon AM (1994) Mosquito large subunit ribosomal RNA: Simultaneous alignment of primary and secondary structure. *Biochim. Biophys. Acta* 1217 (2) 147-155.
- Kjer KM (1995) Use of rRNA secondary structure in phylogenetic studies to identify homologous positions: an example of alignment and data presentation from the frogs. *Mol. Phylogenet. and Evol.* 4 (3) 314-330.
- Kjer KM (2004) Aligned 18S and Insect phylogeny. *Systematic Biology* 53:506-514.
-

Kjer KM, Roshan U, Gillespie JJ (2009) Structural and evolutionary considerations for multiple sequence alignment of RNA, and the challenges for algorithms that ignore them. In: Rosenberg MS, ed. *Sequence Alignment: Methods, Models, Concepts, and Strategies*. University of California Press; 2009:105-149.

Klaus S, Brandis D, Ng PKL, Yeo DCJ, Schubart CD (2009) Phylogeny and Biogeography of Asian Freshwater Crabs of the family Gecarcinucidae (Brachyura: Potamoidea). In: Martin JW, Crandall KA, Felder DL (eds.) *Crustacean Issues 18: Decapod Crustacean Phylogenetics*, pp. 509-531. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis/CRC Press.

Koenemann S, Iliffe TM, van der Ham JL (2003) Three new sympatric species of Remipedia (Crustacea) from Great Exuma Island, Bahamas Islands. *Contrib. Zool.* 72: 227-252.

Koenemann S, Iliffe TM, Yager J (2004) *Kaloketos pilosus*, a new genus and species of Remipedia (Crustacea) from the Turks and Caicos Islands. *Zootaxa* 618: 1-12.

Koenemann S, Schram FR, Iliffe TM, Hinderstein LM, Bloechl A (2007a) The behavior of Remipedia (Crustacea), with supporting field observations. *J. Crust. Biol.* 27: 534-542.

Koenemann S, Iliffe TM, van der Ham J (2007b) Micropacteridae, a new family of Remipedia (Crustacea) from the Turks and Caicos Islands. *Org. Divers. & Evol.* 7: 52.e1-52.e14.

Koenemann S, Schram FR, Hoenemann M, Iliffe TM (2007c) Phylogenetic analysis of Remipedia (Crustacea). *Org. Divers. & Evol.* 7: 33-51.

Koenemann S, Ziegler M, Iliffe TM (2008) *Pleomothra fragilis* n. sp. (Remipedia) from the Bahamas, with remarks on morphologic reductions and postnaupliar development. *J. Crust. Biol.* 28: 128-136.

Koenemann S, Olesen J, Alwes F, Iliffe TM, Hoenemann M, Ungerer P, Wolff C, Scholtz G (2009a) The post-embryonic development of Remipedia (Crustacea) - additional results and new insights. *Dev. Genes Evol.* 219: 131-145.

Koenemann S, Bloechl A, Martínez A, Iliffe TM, Hoenemann M, Oromí P (2009b) A new, disjunct species of *Speleonectes* (Remipedia, Crustacea) from the Canary Islands. *Mar. Biodiv.* 39: 215-225.

Koenemann S, Jenner RA, Hoenemann M, Stemme T, von Reumont, BM (2010) Arthropod phylogeny revisited, with a focus on crustacean relationships. *Arthropod. Struct. Devel.* 39: 88-110.

Koenemann S, Iliffe TM Class Remipedia. In: Forest J, von Vaupel Klein JC, editors. *Treatise on Zoology*. Vol. 5. Paris, Milan, Barcelona: Masson. *In press*.

Landers SC, Gómez-Gutiérrez J, Peterson WT (2006) *Gymnodinioides pacifica*, n. sp., an exuviotrophic ciliated protozoan (Ciliophora, Apostomatida) from euphausiids of the Northeastern Pacific. *European Journal of Protistology* Volume 42, Issue 2, Pages 97-106.

Latreille M (1817) Les Crustacés, les arachnides et les insectes. In: Cuvier G (ed.), *Le règne animal distribué d'après son organisation, pour servir de base à l'histoire naturelle des animaux et d'introduction à l'anatomie comparée*. Tome III. Paris: Deterville. pp. I-XXIX, 1-653.

Larget B, Simons D (1999) Markov Chain Monte Carlo Algorithms for the Bayesian Analysis of Phylogenetic Trees. *Mol. Biol. Evol.*, 16, 750-759.

Leach WE (1815) A tabular view of the external characters of four classes of animals, which Linn., arranged under Insecta; with the distribution of the genera composing three of these classes into orders, &c. and descriptions of several new genera and species. *Transactions of the Linnean Society of London* 11:306–400.

Lorentzen D, Koenemann S, Iliffe TM (2007) *Speleonectes emersoni*, a new species of Remipedia (Crustacea) from the Dominican Republic. *Zootaxa* 1543: 61-68.

Martin JW, Davis GE (2001) An updated classification of the recent Crustacea. Science Series, 39. Natural History Museum of Los Angeles County: Los Angeles, CA (USA). vii, 123 pp. ISSN 1-891276-27-1.

Milliman JD, Emery KO (1968) Sea levels during the past 35,000 years: *Science*, v. 162, p. 1121-1123.

Milne Edwards H (1840) Histoire Naturelle des Crustacés, comprenant l'anatomie, la physiologie et la classification de ces animaux. *In*. Libraire Encyclopedique de Roret, Paris, p. 638.

Morrison DA (2006) Multiple sequence alignment for phylogenetic purposes. *Australian Systematic Botany* 19: 479-539.

Neiber MT, Hartke TR, Stemme T, Bergmann A, Rust J, Iliffe TM, Koenemann S (2011) Global Biodiversity and Phylogenetic Evaluation of Remipedia (Crustacea). *PLoS ONE* 6(5): e19627. doi:10.1371/journal.pone.0019627.

Nylander JAA (2004) MrModeltest v2 Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.

Regier JC, Shultz JW, Zwick A, Hussey A, Ball B, Wetzer R, Martin JW, Cunningham CW (2010) Arthropod relationships revealed by phylogenomic analysis of nuclear protein-coding sequences. *Nature* 463: 1079-1083.

Reinhard W (1887) Kinorhyncha (Echinoderes), ihr anatomischer Bau und ihre Stellung im System. *Zeitschr. wiss. Zool.*, vol. 45.

Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBaxes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19(12):1572-1574.

Sanders HL (1955) The Cephalocarida, a new subclass of Crustacea from Long Island Sound. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 41: 61-66.

Schluenzen F, Tocilj A, Zarivach R, Harms J, Gluehmann M, Janell D, Bashas A, Bartels H, Agmon I, Franceschi F, Yonath A (2000) Structure of Functionally Activated Small Subunit at 3.3 Å Resolution. *Cell* 102: 615-623.

Schnare MN, Damberger SH, Gray MW, Gutell RR (1996) Comprehensive comparison of structural characteristics in eukaryotic cytoplasmic large subunit (23S-like) ribosomal RNA. *J. Mol. Biol.* 256: 701-719.

Schram FR (1974) Paleozoic Peracarida of North America. *Fieldiana Geol.* 33: 95-124.

Schram FR (1986) *Crustacea*. New York: Oxford University Press. XIV+606 p.

Schram FR, Emerson MJ (1986) The Great Tennessean Fossil Expedition of 1985. *Environ Southwest* 515: 16-21.

Schram FR, Yager J, Emerson MJ (1986) Remipedia. Part I. Systematics. *Mem San Diego Soc. Nat. Hist.* 15: 1-60.

Schram FR, Hof CHJ (1997) Fossils and the interrelationships of major crustacean groups. In: Edgecombe G, editor. *Arthropod Fossils and Phylogeny*. New York: Columbia University Press. pp. 233-302.

Schram FR, Koenemann S (2004) Are crustaceans monophyletic? In: Cracraft J, Donoghue MJ, editors. *Assembling the Tree of Life*. Oxford, New York: Oxford University Press. pp. 319-329.

Shultz JW, Regier JC (2000) Phylogenetic analysis of arthropods using two nuclear protein-encoding genes supports a crustacean + hexapod clade. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267:1011-1019.

Silvestri F (1931) Nuovi Campodeidae (Insecta, Thysanura) della regione australiana. *Boll. Lab. Zool. Gen. Agr. Portici* 25: 275-285.

Spengler I (1793) Om Slaegterne *Chaena*, *Mya* og *Unio*. *Skrifter af Naturhistorie Selskabet*, 3: 16–69.

Spears T, Abele LG (1997) Crustacean phylogeny inferred from 18S rDNA. In *Arthropod Relationships*. Systematics Association Special Volume Series 55. R. A. Fortey and R. H. Thomas, editors. Chapman and Hall, London. 169-187.

Stemme T, Harzsch S, Bicker G, Koenemann S (2010) First immunohistochemical description of serotonergic neurons in the central nervous system of Remipedia Yager, 1981 (Crustacea) and phylogenetic implications. 7th International Crustacean Congress, Program and Abstracts; Qingdao, (China) 20-25/06/2010.

Stenderup JT, Olesen J, Glenner H (2006) Molecular phylogeny of the Branchiopoda (Crustacea) - multiple approaches suggest a 'diplostracan' ancestry of the Notostraca. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41:182-194.

Stocsits R, Letsch H, Hertel J, Misof B, Stadler P (2009) Accurate and efficient reconstruction of deep phylogenies from structured RNAs. *Nucleic Acids Research*, 1-10.

Stock JH (1984) First Record of Bogidiellidae (Crustacea, Amphipoda) from the Pacific: *Bogidiella* (*Xystriogidiella* N. Subgen.) *Capricornea* New Species from the Great Barrier Reef. *Bulletin of Marine Science* 34 (3): 380-385(6).

Stock JH (1986) Deep-sea origin of cave faunas, an unlikely supposition. *Stygologia* 2: 105-111.

Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.

Van der Ham JL, Felgenhauer BE (2007) The functional morphology of the putative injecting apparatus of *Speleonectes tanumekes* (Remipedia). *Journal of Crustacean Biology* 27 (1): 1-9

Von Reumont BM, Meusemann K, Szucsich NU, Dell'Ampio E, Gowri-Shankar V, Bartel D, Simon S, Letsch HO, Stocsits R, Luan YX, Wägele JW, Pass G, Hadrys H, Misof B (2009) Can comprehensive background knowledge be incorporated into substitution models to improve phylogenetic analyses? A case study on major arthropod relationships. *BMC Evolutionary Biology* (2009) 9:119.

Wagner HP (1994) A monographic review of the Thermosbaenacea (Crustacea: Peracarida) A study on their morphology, taxonomy, phylogeny and biogeography. *Zoologische Verhandlungen* 291 (1): 1-338.

Wägele JW (2001) *Grundlagen der Phylogenetischen Systematik*. 2., überarb. Aufl., - München : Pfeil, 2001.

Whitfield JB, Kjer KM (2007) Ancient rapid radiations of insects: Challenges for phylogenetic analysis. *Annu. Rev. Entomol.* 53:1-23.

Wollermann U, Koenemann S, Iliffe TM (2007) A new remipede, *Cryptocorynetes longulus* n. sp., from Cat Island, Bahamas. *J. Crust. Biol.* 27: 10-17.

Yager J (1981) Remipedia, a new class of Crustacea from a marine cave in the Bahamas. *J. Crust. Biol.* 1: 328-333.

Yager J, Schram FR (1986) *Lasionectes entrichoma*, n. gen., n. sp. (Crustacea, Remipedia) from anchialine caves in the Turks and Caicos, B. W. I. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 99: 65-70.

Yager J (1987a) *Cryptocorynetes haptodiscus*, new genus, new species, and *Speleonectes benjamini*, new species, of remipede crustaceans from anchialine caves in the Bahamas, with remarks on distribution and ecology. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 302-269.

Yager J (1987b) *Speleonectes tulumensis* n. sp. (Crustacea: Remipedia) from two anchialine cenotes of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Stygologia* 3: 160-166.

Yager J (1989) *Pleomothra apletocheles* and *Godzillioptomus frondosus*, two new genera and species of remipede crustaceans (Godzillioptomidae) from anchialine caves of the Bahamas. *Bull. Mar. Sci.* 44: 1195-1206.

Yager J (1994) *Speleonectes gironensis*, new species (Remipedia, Speleonectidae), from anchialine caves in Cuba, with remarks on biogeography and ecology. *J. Crust. Biol.* 14: 752-762.

Yager J, Humphreys WF (1996) *Lasionectes exleyi*, sp. nov., the first remipede crustacean recorded from Australia and the Indian Ocean, with a key to the world species. *Invertebr. Taxon.* 10: 171-187.

Yager J, Carpenter JH (1999) *Speleonectes epilimnius* new species (Remipedia, Speleonectidae) from surface water of an anchialine cave on San Salvador Island, Bahamas. *Crustaceana* 72: 965-977.

Zuker M (2003) Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. *Nucleic. Acids. Res.* 31 (13), 3406-3415.

6 Internetadressen

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

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

Crandall Database

<http://crandalllab.byu.edu/PrimerDatabase.aspx>

Genbank

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

Introduction to Physical Oceanography

http://oceanworld.tamu.edu/resources/ocng_textbook/contents.html

MUSCLE web server

<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>

National Center for Biotechnology Information

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

The Comparative RNA Web Site

www.rna.ccbb.utexas.edu

The European Molecular Biology Laboratory (EMBL)

<http://www.embl.de/>

7 Anhang A Genetik

7.1 PCR-Parameter

Alle PCRs und Sequenzierreaktionen wurden mit einem Mastercycler ep Gradient (Eppendorf) und Mastercycler personal (Eppendorf) durchgeführt.

Tabelle 7.1 Chemikalien und Enzyme der PCR für 16S, COI und H3.

Reagenzien	Konzentration	Volumen
10 x PCR Puffer ¹ (Bioline)		2,5 µl
MgCl ₂ (Bioline)	2 mM	1 µl
dNTPs (Bioline)	0.4 mM	1 µl
Vorwärtsprimer (Biomers)	10 mM	1 µl
Rückwärtsprimer (Biomers)	10 mM	1 µl
<i>Taq</i> Polymerase (Bioline)	1 u/µl	0,2 µl
HPLC-H ₂ O		17,3 µl
DNA Vorlage		1 µl
Gesamtvolumen		25 µl

¹ = ohne MgCl₂

Tabelle 7.2 Chemikalien und Enzyme der PCR für 18S.

Reagenzien	Konzentration	Volumen
5 x KAPA2G Puffer A ¹ (Peqlab)		5 µl
MgCl ₂ (Peqlab)	50 mM	0,5 µl
dNTPs (Peqlab)	10 mM	0,5 µl
Vorwärtsprimer (Biomers)	10 mM	1 µl
Rückwärtsprimer (Biomers)	10 mM	1 µl
KAPA2G robust DNA Polymerase (Peqlab)	5 u/µl	0,1 µl
HPLC-H ₂ O		15,9 µl
DNA Vorlage		1 µl
Gesamtvolumen		25 µl

¹ = beinhaltet MgCl₂

Tabelle 7.3 PCR-Profil für 16S, COI und H3.

16S + COI + H3	Temperatur	Zeit	
Initial denaturation	94°C	3:00 min	40 Zyklen
Denaturation	94°C	0:30 min	
Annealing	50°C	0:50 min	
Elongation	72°C	1:00 min	
Final elongation	72°C	5:00 min	

Tabelle 7.4 PCR Profil für 18S.

18S	Temperatur	Zeit	
Initial denaturation	95°C	3:00 min	
Denaturation	94°C	0:30 min	40 Zyklen
Annealing	55°C	0:30 min	
Elongation	72°C	2:00 min	
Final elongation	72°C	2:00 min	

7.2 Primerliste

Tabelle 7.5 Liste der in dieser Arbeit verwendeten Primer.

Name	Orientierung	Sequenz 5' - 3'	Quelle
COI			
LCO1-1490 (MH50)	fw	GGTCAACAAATCATAAAGATATTG	1
HCO1-2198 (MH51)	rev	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	1
T7MH51		TAATACGACTCACTATAGGGTAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	
Sp6MH50		ATTTAGGTGACACTATAGAATGGTCAACAAATCATAAAGATATTG	
COI as	rev	CGTCG(AT)GG(CT)AT(AT)CC	
COI s	fw	T(AGT)AT(CT)GGAGGATT(CT)GG	
16S			
CRUST16SF	fw	TAATCAACATCGAGGTCGCAA	2
CRUST16SR	rev	TTTGTACCTTKGTATTAGG	2
Sp6MH11		ATTTAGGTGACACTATAGAATCGCCTGTTTATCAAAAACAT	
T7MH14		TAATACGACTCACTATAGGGCCGGTCTGAACTCAGATCACGT	
mt16S-ar (MH11)	rev	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	3
mt16S-br (MH14)	fw	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	3
H3			
H3 AF	fw	ATG GCT CGT ACC AAG CAG ACV GC	1
H3 AR	rev	ATA TCC TTR GGC ATR ATR GTG AC	1
Universal			
Sp6		ATTTAGGTGACACTATAGAAT	
T7		TAATACGACTCACTATAGGG	

1 = FOLMER *et al.* (1994), 2 = IVEY & SANTOS (2006), 3 = Trisha Spears, 4 = <http://crandalllab.byu.edu/PrimerDatabase.aspx>

Der Vorwärtsprimer T7MH51 besteht aus einer Kombination von LCOI-1490 und einem Universalprimer T7, der Rückwärtsprimer SP6MH50 aus einer Kombination von HCOI-2198 und Sp6. Auch die Primer T7MH14 und Sp6MH11 sind eine Kombination aus genspezifischem Primer und Universalprimer. Der genspezifische Anteil dient der Amplifikation des Zielfragments. Während der PCR wird der Universalprimersequenz in die entstehenden Amplifikate mit eingebaut. Anschließend können die Universalprimer T7 und Sp6 zu sequenzieren genutzt werden. Dies führt zu qualitativ hochwertigere Sequenzen.

7.3 Sequenzierreaktion

Die Sequenzierreaktionen wurde mit DYEnamic™ ET Dye Terminator Kit der Firma Amersham Biosciences durchgeführt. Sie fanden in Ansätzen von 10 µl statt, welche sich aus 1,5 µl ET-Mix, 0,5 µl Dilutionspuffer, 0,75 µl 10 pmol Primer, sowie aufgereinigtem PCR-Produkt und HPLC-Wasser zusammensetzten. Das Temperaturprogramm für die Sequenzierreaktion lautete:

- Denaturierung: 20 s bei 95°C
- *Annealing*: 15 s bei 52°C
- Elongation: 2 min bei 60°C
- 30 Zyklen.

7.4 Aufreinigung der Sequenzierreaktion

- Sephadex G-50 superfine (Sigma) wird mit der Maßplatte (Platte mit 96 Vertiefungen a 50 µl) portioniert. Die befüllte Maßplatte wird auf die Aufreinigungsplatte (HTS-Multiscreen-Platte) gelegt, so das die jeweiligen Öffnungen der Maßplatte und der Aufreinigungsplatte übereinander liegen. Durch drehen beider Platten wird das Sephadex von der Maßplatte in die Aufreinigungsplatte überführt.
- 280 µl HPLC-H₂O werden jeweils zum Sephadex gegeben. Die Platte wird über Nacht bei COCA oder 3 Std. bei Raumtemperatur inkubiert.
- Die Aufreinigungsplatte wird auf Raumtemperatur gebracht und zentrifugiert bei 910 x g für 5 Minuten, das Eluat wird verworfen.
- Die Platte wird zweimal mit je 200 µl HPLC-H₂O gewaschen und zentrifugiert für 5 Minuten bei 910 x g.
- Die Sequenzierreaktion wird mit 10 µl HPLC-H₂O aufgefüllt und gemischt. Der Mix wird auf die Mitte Sephadex-Säule gegeben.
- Die Aufreinigungsplatte wird auf eine PCR-Platte mit 96 Vertiefungen aufgesetzt beide zusammen werden 5 Minuten bei 910 x g zentrifugiert.
- Das Eluat wird zum sequenzieren eingesetzt, ggf. wird mit HPLC-H₂O auf 15 µl aufgefüllt.

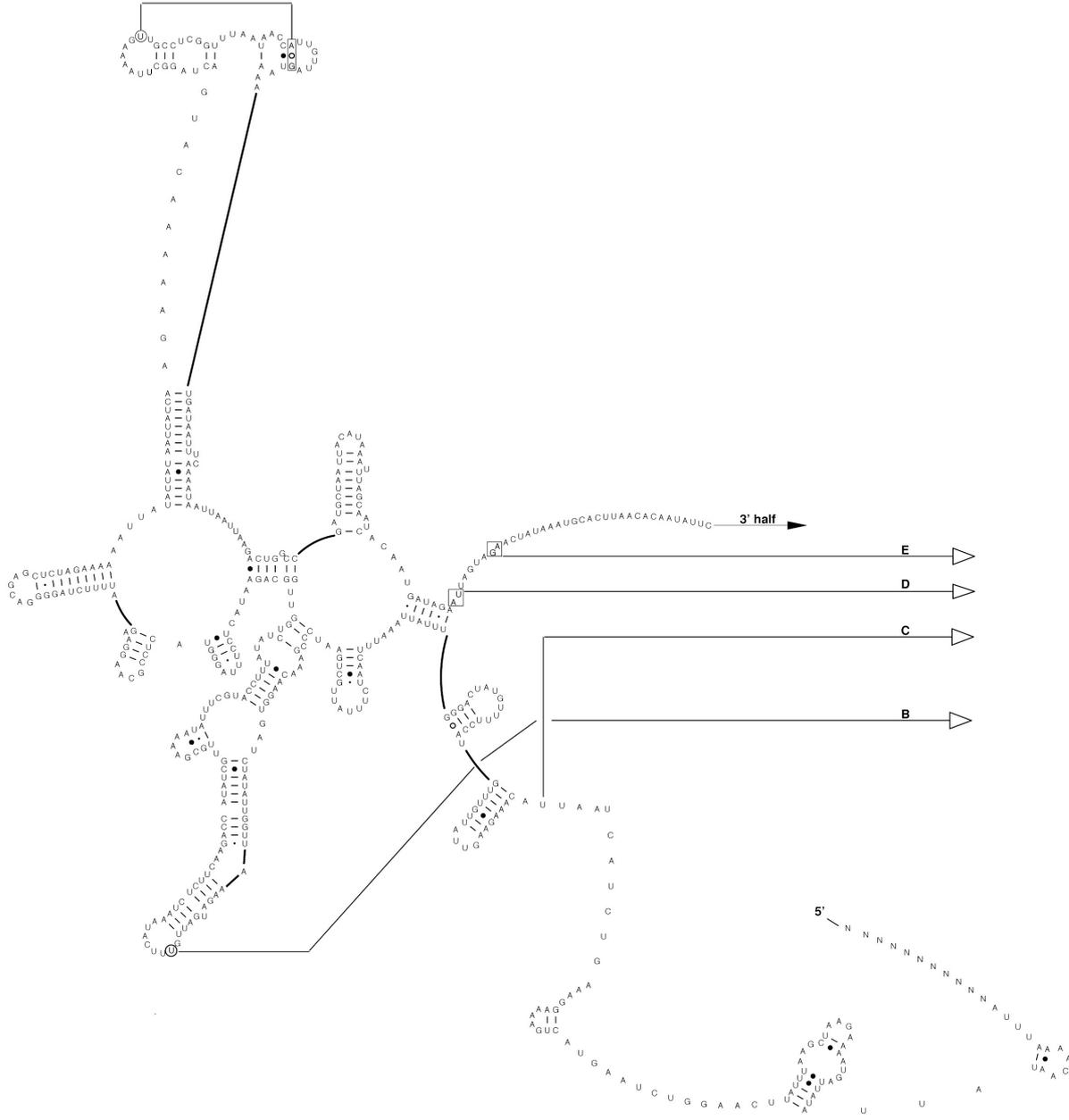


Abbildung 7.1 Sekundärstrukturmodell 16S-rRNA (5'-Teil) von *Artemia salina* (Genbank Nummer X12965).
Quelle: The Comparative RNA Web Site, <http://www.rna.icmb.utexas.edu>.

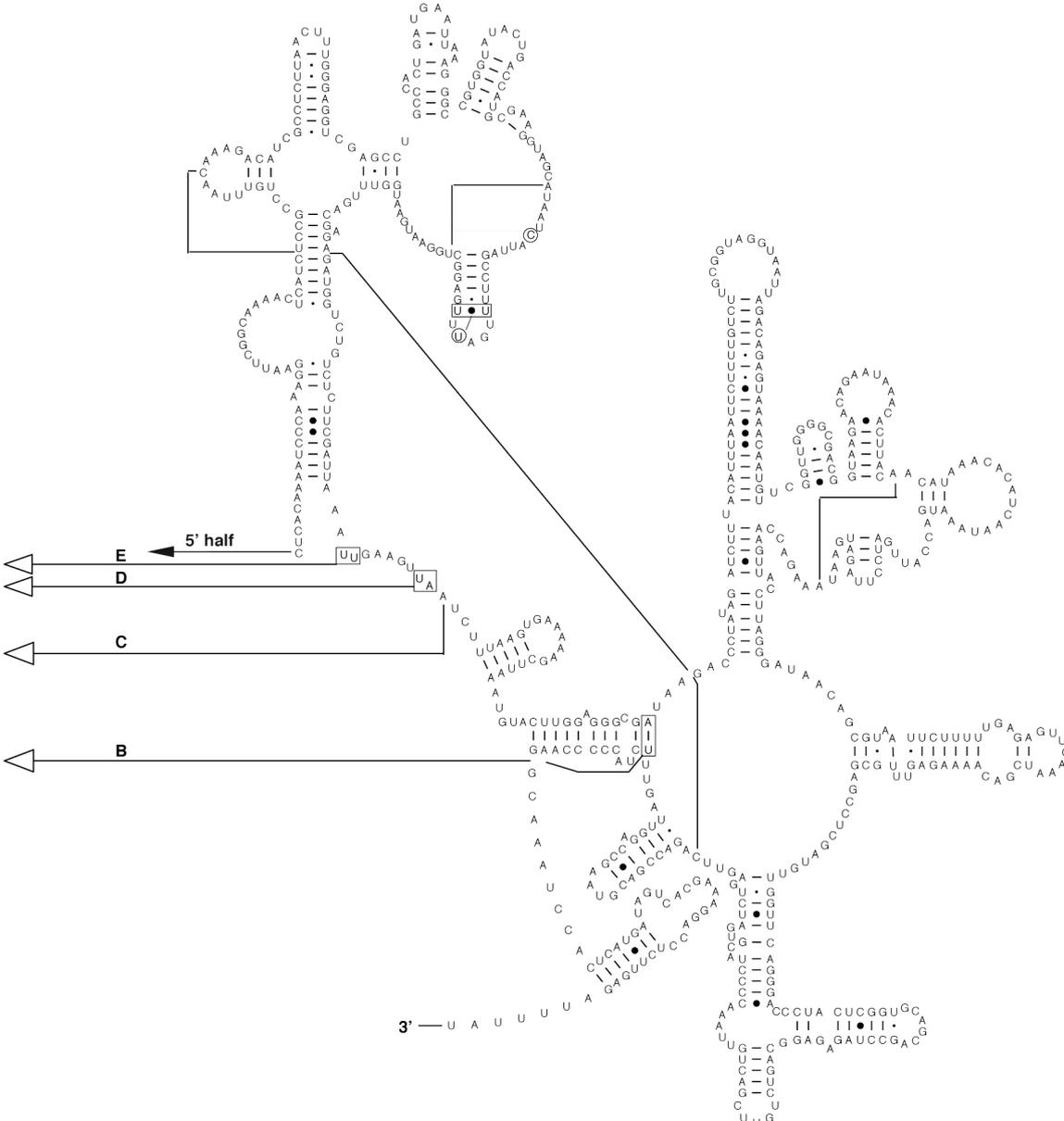


Abbildung 7.2 Sekundärstrukturmodell 16S-rRNA (3'-Teil) von *Artemia salina* (Genbank Nummer X12965).

Quelle: The Comparative RNA Web Site, <http://www.rna.icmb.utexas.edu>.

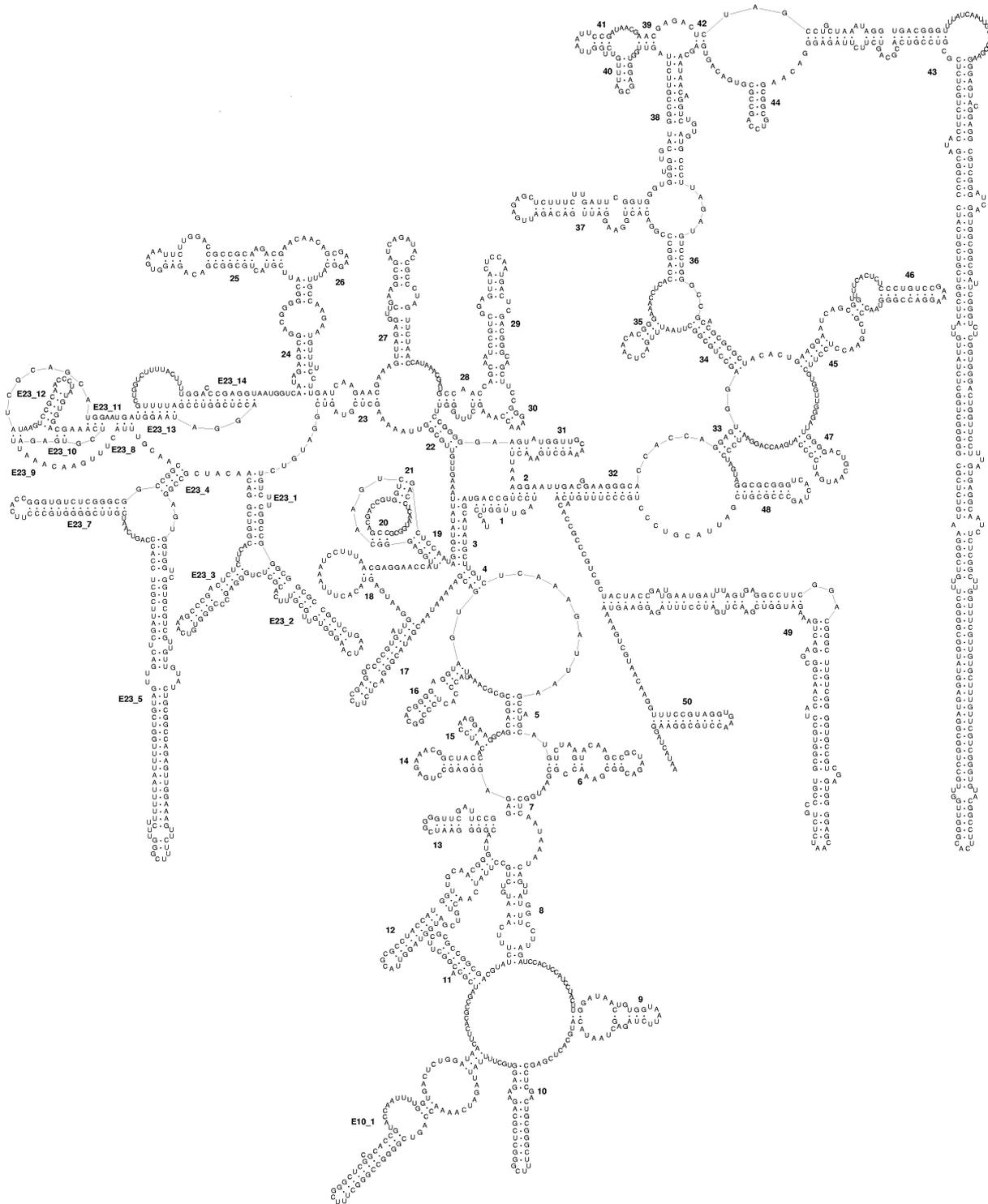


Abbildung 7.3 Sekundärstrukturmodell 18S-rRNA von *Daphnia pulex* (Genbank Nummer AF014011). Quelle: The European Ribosomal RNA Database, <http://rrna.uia.ac.be>. Die Zahlen geben die Nummerierung der Regionen an.

7.5 Datenmatrix

```

#NEXUS
[Remipedia COI, H3, 16S rDNA]

begin data;
  dimensions ntax=30 nchar=1679;
  format datatype=dna missing=? gap=- interleave=yes;
  matrix

[COI, 657 nt, codonstart=1]
Campodea      ACGTTATATATAATTTTGGATCTTGAAGAGCTCTTGTCCGGACAGCCCTTAGAATACTTATTCTGACTGAGTTAGGTCAGCCGGGGAGTTAATTGGTGT
Penaeus      ACTCTATATTTTATTTTCGGAGCTTGAGCTGGAATAGTAGGACAGCCCTTAGTCTTATTATTCTGCTCGAATTAGGTCACCCAGGAAGCCCTATTGGAG
Branchinella ????TATTTTATTTTGGAGCATGATCTGGATGGTGGAAACATCTTAAAGTATACTTATTCTGCTCGAATTAGGTCACCCAGGTCCTCTTAGGAG
Hutchinsoniella ACTATATATTTTATTTTGGGTTTGGAGCTGGTATAGCTGGTCTTCTTAAAGAGTTTAAATTCGATCTGAGTTAGGTCAGCCGGGTAGTTATATTGGCAG
G_robustus   ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGAACCCAGGTAACCTATTAGGAG
Gn_fronodosus ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGATCGAAGTTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAA
Gn_schrami   ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGATCGAAGTTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAA
P_apletocheles ACCCTCTATTACTTCTAGGATTCTGAAGAGGATTGTAGGTTTGGCCCTAAGATTCTCTCATTCTGCTAGAACTAGGTCACCCCGGTCAGTCTATTGGCC
P_fragilis   ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAA
P_nsp        ACCCTATATATTCTCCTAGCATTCTGAAGAGGATTGTAGGCTTAGCATTAGTTTCTAATTCCGCTAGAAATAGGTCACCCAGGTCAGTCTATTGGCC
M_yagerae   ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAA
C_elmorei   ACACCTATATATAATTTGGGTTCTGGAGAGGGTTCTGAGGAGGTTAGGTTAGGTAAGAACTAATTCGAGCCGAACTCCGGTCAGCCGGGTAACCTATTGGAG
C_haptodiscus ACCCTGTACATAATACAGGATTCTGAAGTGGATTCTGAGGCTAGGACTAAGAACTACTGATCCGAGCTGAGCTCGGATCCAGGCAACATAATTGGAG
?????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAA
L_entrichoma ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAA
L_exleyi     ACATATACATCACTAGGTTCTGAAGAGGCTTATCGGACTAGGATTAAGAACTTAAATCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAG
S_atlantida  ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAG
S_benjamini  ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAG
S_emersoni   ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAG
S_gironensis ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAG
S_kakuki     ACACCTATATATAATTTGGGTTCTGGAGAGGTTCTGAGGAGGTTAGGTTAGGTAAGAACTAATTCGAGCCGAACTCCGGTCAGCCGGGTAACCTATTGGAG
S_lucayensis ACACCTATATATAATTTGGGTTCTGGAGAGGTTCTGAGGAGGTTAGGTTAGGTAAGAACTAATTCGAGCCGAACTCCGGTCAGCCGGGTAACCTATTGGAG
S_nsp2       ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAG
S_nsp4       ACCCTATATATTCTAGGTTCTGAAGAGGATTGTAGGTTTGGCCCTAAGATTCTCTCATTCTGCTAGAACTAGGTCACCCCGGTCAGTCTATTGGCC
S_ondinae    ACCCTATATATTCTAGGTTCTGAAGAGGATTGTAGGTTTGGCCCTAAGATTCTCTCATTCTGCTAGAACTAGGTCACCCCGGTCAGTCTATTGGCC
S_parabenjamini S_tulumensis ACCTATATATAATTTGGGTTCTGAAGAGGTTCTGAGGAGGTTAGGTTAGGTAAGAACTAATTCGAGCCGAACTCCGGTCAGCCGGGTAACCTATTGGAG
S_williamsi  ACCTATATATAATTTGGGTTCTGAAGAGGTTCTGAGGAGGTTAGGTTAGGTAAGAACTAATTCGAGCCGAACTCCGGTCAGCCGGGTAACCTATTGGAG
S_xibalba    ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAG
S_cf_tulumensis ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAG

Campodea      ATGACCAAATTTAATAATGTTGAGTACTGCTCCGCTTTCGTAATAATTTTTTGGTGAATACCTATTATAATTGGAGGATTCCGAAATTTGCTTAGT
Penaeus      ATGACCAAATTTAACAATGAGTACTGCTCCGCTTTCGTAATAATTTTTTGGTGAATACCTATTATAATTGGAGGATTCCGAAATTTGCTTAGT
Branchinella ATGAGCAATTTAATAATGTAATGTTTACAGCCCATGCTTTTATAATTTTTTTCATAGTAACTACTTATTAATTTGGTGGATTGGTAATTTGCTTAGT
Hutchinsoniella ATGATCAATTTTAAATGTAATTTACTGCTCATGCTTTTTAATAATTTTTTATGGAATGCTTTACTATAGGGGTTTGGTAATTTGCTTAGT
G_robustus   AGCACCATCTGTAACAACGTAATTTGTTACAGCCACAGGTTAATTAATACTCTTTTATAGTAACTAATTTCTTATTTGGAGTTTGGAAATTTGTAAT
Gn_fronodosus ACGATCATATTTAACAACAATTTGTTACAGCTCATGCTTTTTAATAATTTTTTATGTAATGCTTTCTCATAGTATGCAATTTCTAATTTGGGGTTTGGAAACT
Gn_schrami   ACGACATATTTAACAACAATTTGTTACAGCTCATGCTTTTTAATAATTTTTTATGTAATGCTTTCTCATAGTATGCAATTTCTAATTTGGGGTTTGGAAACT
P_apletocheles AAAACCATCTATTTAATGTAATCATCACTGCCCAGGCTAATTAATAATTTTTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGAGGTTCCGCAACTGAAATCT
P_fragilis   AAAACCATCTATTTAATGTAATCATCACTGCCCAGGCTAATTAATAATTTTTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGAGGTTCCGCAACTGAAATCT
P_nsp        ACCCCACACATACAACGTAATTCGTCACAGCCACAGCACTAATTAATACTCTTTTATAGTAACTACTTATTTGGGGATTCCGGTAACGAAATAAT
M_yagerae   ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAA
C_elmorei   ACGACCAAACATATAATGTAATTTGTTACAGCCACAGCTTCTCATATACTCTTCTCATGTTAATACCAATCTTATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATCT
C_haptodiscus ACGATCAACATACAACGTAATTCGTTACAGCCACAGCCCTAATTAATACTCTTCTCATGTTAATACCAATCTTATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATCT
C_longulus   ACGACCAAACATACAACGTAATTCGTTACAGCCACAGCCCTAATCATGATCTTCTCATAGTATGCAATTAATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATCT
L_entrichoma ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAA
L_exleyi     ATGACCAAACCTATAATATCATAGTAACAGCCACGCTTAAATATAATTTTTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGAGGATTCCGAAACTGAAATGTA
S_atlantida  ATGACCAAACCTATAACGTTATTTGTTACTGACACAGCACTAATCATGATTTTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGAGGATTCCGAAACTGAAATGTA
S_benjamini  ACGATCAACATACAACGTAATTCGTTACAGCCACAGCCCTAATTAATACTCTTCTCATAGTATGCAATTAATTTGGAGGATTCCGAAACTGAAATGTA
S_emersoni   ACGACCAAACATACAACGTAATTCGTTACAGCCACAGCCCTAATTAATACTCTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGAGGATTCCGAAACTGAAATGTA
S_gironensis ACGACCAAACATACAACGTAATTTGTTACAGCCACAGCTTCTCATATACTCTTCTCATGTTAATACCAATCTTATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATCT
S_kakuki     AAGATCATCTATAAAGCTAATTTGTTACAGCCACAGCTTCTCATATACTCTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATCT
S_lucayensis AAGACCTATATAAAGCTAATTCGTTACAGCCACAGCCCTAATTAATACTCTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATCT
S_nsp2       AAGATCATCTATAAAGCTAATTTGTTACAGCCACAGCTTCTCATATACTCTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATGTA
S_nsp4       ATGACCAAACCTATAACGTAATTTGTTACTGACACAGCACTCATATAATTTTTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGAGGATTCCGAAACTGAAATGTA
S_ondinae    ATGACCAAACCTATAACGTAATTTGTTACTGACACAGCACTCATATAATTTTTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGAGGATTCCGAAACTGAAATGTA
S_parabenjamini S_tulumensis AAGACCAAACCTATAACGTAATTCGTTACAGCCACAGCCCTAATTAATACTCTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGAGGATTCCGAAACTGAAATGTA
S_williamsi  ACGACCAAACATATAAAGCTAATTTGTTACAGCCACAGCTTCTCATATACTCTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATCT
S_xibalba    AAGACCAAACCTATAAAGCTAATTCGTTACAGCCACAGCCCTAATTAATACTCTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATCT
S_cf_tulumensis AAGACCAAACCTATAACGTAATTCGTTACAGCCACAGCCCTAATTAATACTCTTCTTATAGTAACTACTTATTTGGGGATTCCGAAACTGAAATGTA

Campodea      ACCATTAATACTAGGGGCTCCAGATATAGCTTTCCCTCGAATAAATAAATAAGATTCTGGCTTCTCCCCCATCCCTTATTCTTCTCTCAAGTAGA
Penaeus      CCCCTTAAATGTTAGGTCTCCAGATATAGCTTTCCCGGAAATAAATAAATAAGATTCTGACTTTTACCCTCTCGCTAATCTTATCTTATCTAGAGGT
Branchinella CCCATTAATGTTAGGGGCTCCGATATAGCTTTCCCTCGATTAACAATAAAGTTTGAATCTCCACCTTACTTACCTTTGGTAGCTAGTCTCT
Hutchinsoniella TCCCTTGATATAGGTGCTCTGATATAGCTTTCCCTCGATTAACAATAAATAAGTTTGGTATTATATACCTACTCTTCTTATTTAGTATTAGGTT
G_robustus   ACCACTCAATACTAGGACCCAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAGCTTCTGATTAATACCACTACTTATTTAGGAGGTTAGGAGG
Gn_fronodosus ACCATTAATAATCGGTTCCAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAGCTTCTGATTAATACCACTACTTATTTAGGAGGTTAGGAGG
Gn_schrami   ACCATTAATAATCGGTTCCAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAGCTTCTGATTAATACCACTACTTATTTAGGAGGTTAGGAGG
P_apletocheles TCCCTTAAATGTTAGGTCTCCAGATATAGCTTTCCCGGAAATAAACAACCTAAGATTCTGACTTTTACCCTTCCATCACTACTACTTATTTAGGAGG
P_fragilis   CCCCAATAATGTTAGGTCTCCAGATATAGCTTTCCCGGAAATAAACAACCTAAGATTCTGACTTACTACCACTACTTATTTAGGAGG
P_nsp        CCCCTTAAATGTTAGGTCTCCAGATATAGCTTTCCCGGAAATAAACAACCTAAGATTCTGACTTACTACCACTACTTATTTAGGAGG
M_yagerae   ??????????TATTTGGATTCTGAATAGGAACATCTCGGCTAGGCTTAAGTCTCCTAATTCCGACGAGAATTAGGTAACCCAGGTAACCTATTGGAA
C_elmorei   CCCCTTAAATGTTAGGTCTCCAGATATAGCTTTCCCGGAAATAAACAACCTAAGATTCTGACTTACTACCACTACTTATTTAGGAGG
C_haptodiscus ACCATTAATGTTAGGTCTCCAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTACTACCACTACTTATTTAGGAGG
C_longulus   ACCACTCAATACTAGGTCACAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTACTACCACTACTTATTTAGGAGG
L_entrichoma TCCATTAATACTAGGACCCAGATATAGCTTTCCCGGAAATAAACAACCTAAGATTCTGACTTACTACCACTACTTATTTAGGAGG
L_exleyi     CCCCTTATTTAGGACCCAGATATAGCTTTCCCGGAAATAAACAACCTAAGCTTCTGACTTCTACCCCATCACTTACCTTATTTAGGAGG
S_atlantida  ACCAATCAATACTAGGTCACAGATATAGCTTTCCCGGAAATAAACAACCTAAGATTCTGACTTACTACCACTACTTATTTAGGAGG
S_benjamini  CCCCTTAAATGTTAGGACCCAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTCTTCCCATCACTTATTTAGGAGG
S_emersoni   TCCCATTTATTTAGGTCACAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTCTTCCCATCACTTATTTAGGAGG
S_gironensis ACCAATTAATACTAGGTCACAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTACTACCCCATCACTTATTTAGGAGG
S_kakuki     TCCATTAATAATTTAGGTACACAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTACTTCCCTCACTTATTTAGGAGG
S_lucayensis ACCAATTAATAATTTAGGTACACAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTACTTCCCATCACTTATTTAGGAGG
S_nsp2       CCCCAATAATTTAGGAAACCCAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTTTACCCTCTCTCCAGTATTTAATAAGAGG
S_nsp4       CCCCAATAATTTAGGAAACCCAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTTTACCCTCTCTCCAGTATTTAATAAGAGG
S_ondinae    CCCCAATCAATACTAGGACCCAGATATAGCTTTCCCGGAAATAAACAACCTAAGATTCTGACTTACTACCACTACTTCTTCACTCTCTTATTTAGGAGG
S_parabenjamini S_tulumensis CCCCAATAATTTAGGAAACCCAGATATAGCAATCCCAAGTAATAACAACCTAAGATTCTGACTTCTCCCGCATCACTTATTTAATAAGGAGG
S_williamsi  TCCCATCAATACTAGGTCACAGATATAGCAATTTCCAGGAAATAACAACCTAAGATTCTGACTTCTCCCGCATCACTTATTTAATAAGGAGG
S_xibalba    TCCATCAATACTAGGTCACCTGATATAGCAATTTCCAGGAAATAAATAAATTTGACTTCTTCCCATCACTTATTTAATAAGGAGG
S_cf_tulumensis TCCATCAATACTAGGTCACCTGATATAGCAATTTCCAGGAAATAAATAAATTTGACTTCTTCCCATCACTTATTTAATAAGGAGG

```


Campodea ACTTCTTTCTTTGACCTTCCCGGGGGAGGACCTATCTCTTATCAACACTTATT
Penaeus ACATCTTTCTTTGATCCAGCAGGAGGTTGGTACCCAGTCTTATATCAACACTTATT
Branchinella ACTTCATTTCTTTGATCCAGCTGGAGGGGAGATCCTATTTCTATACCAACACTTATTC
Hutchinsoniella ACTAGTTTTTTTGTATCCTATGGGGGGTGGTATCCTGTTTGTATCAACACTTATTGTT
G_robustus ?????????????????????????????????????????????????????????????
Gn_fronodosus ACATCATTTCTT????????????????????????????????????????????????
Gn_schrami ACATCATTTCTTTGATCCAACAGGAGGAGATCCTATTCTATTCCAACTATTTC
P_apletocheles ACATCTTTCTTTGACCTCTAGGAGTGGGGATCCAATCTCTTCCAACACTTATTTC
P_fragilis ACATCTTTCTTTGACCTCTAGGAGTGGGGATCCAATCTCTTCCAACACTTATTTC
P_nsp ACATCTTTCTTTGATCCAACAGGAGGCGGTGACCAATCTTTTCCAACACTTATTTC
M_yagerae ?????????????????????????????????????????????????????????????
C_elmorei ACATCATTTCTTTGACCTCCAGGGGGGGGAGACCAATCCTATTTCACACACTTATTC
C_haptodiscus ACATCATTTCTTTGACCTCCAGGGGGGGG????????????????????????????????
C_longulus ACATCATTTCTTTGACCTCCAGGAGGAG????????????????????????????????
L_entrichoma ACATCATTTCTTTGATCCAACAGGAGGAGGACCAATC????????????????????
L_exleyi ACATCATTTCTTTGACCTTAGGAGGAGGATCCAATCTCTTCCAACACTTATTTC
S_atlantida ACATCTTTCTTTGACCTTACAGGAGGAGATCCAATCCTATTCCAACACTTATTC
S_benjamini ACATCATTTCTTTGACCTCCAGGAGGAGGAGACCAATTTTATTCACACACTTATTC
S_emersoni ACATCATTTCTTTGACCTCCAGGGGGGAGACCAATCTATTTCACACACTTATTC
S_gironensis ACATCATTTCTTTGACCTCCAGGGGGGAGACCAATCTATTTCACACACTTATTC
S_kakuki ACATCATTTCTTTGATCCTACAGGAGGAGGATCCTATTTCATTTCACACTTATTC
S_lucayensis ACATCATTTCTTTGATCCAACAGGAGTGGAGACCTATCTCTTCCAACACTTATTC
S_nsp2 ACATCATTTCTTTGATCCTATAGGAGGAGGAGTACCAATCCTATTCCAACACTTATTC
S_nsp4 ACATCATTTCTTTGATCCTATAGGAGGAGGAGTACCAATCCTATTCCAACACTTATTC
S_ondinae ACATCATTTCTTTGACCTTACGGAGGAGGAGACCAATCTCTTCCAACACTTATTC
S_parabenjamini ?????????????????????????????????????????????????????????????
S_tulumensis ACATCATTTCTTTGACCTTACGGGTTGGCGGTGACCAATCCTATTTCACACACTTATTC
S_williamsi ACATCATTTCTTTGATCCAACAGGAGGAGGAGACCAATCCTATTTCACACACTTATTC
S_xibalba ACATCATTTCTTTGATCCTACAGGAGTAGGAGATCCTATTTGTTCCAACATATAT
S_cf_tulumensis ACATCATTTCTTTGACCTTACGGTGGCGGTGACCAATCCTATTTCACACTTATTC

[H3, 328 nt, codonstart=2]

Campodea ?CGTAAATCTACTGGAGAAAGGCTCTCGCAAACTCGCCACTAAGGCCGCCAGGAAGAGTGCCCGAGTACCGGTGGAGTGAAGAAGCCATCATCGT
Penaeus ACGTAAAGTCTACCGGAGGCAAGGCCCGCCGCAAGCAGTTGGCCACCAAGGAGCAGCAGTCTGCCCCGCTACCGGAGGTGTCAAGAAGCCCATCGT
Branchinella ?CGCAAGTCCACCGGGAAGGCCCGCCAGAAAGCAGCTCGCCACCAAGGAGCAGCAAGTCCGCCCCGCCACCGGAGGGTCAAGAAGCCCATCGT
Hutchinsoniella ?AGGAAATCTACCGGCGCAAGGCCCGCTTAACACCTCGCCACCAAGGAGCTCGCAAGAGTGCACAGCAACCGGAGGTGTGAAGAAGCCATCACAGG
G_robustus CAGGAAATCTACCGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCAAGAGTGCCTGCCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
Gn_fronodosus CAGGAAATCCACTGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCAAGAGTGCCTGCCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
Gn_schrami CAGGAAATCCACTGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCAAGAGTGCCTGCCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
P_apletocheles AAGGAAATCCACTGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCTGCCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
P_fragilis ?????????????????????????????????????????????????????????????
P_nsp AAGGAAATCCACTGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
M_yagerae TCGTAAATCCACCGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCAAGAGTGCCTGCCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
C_elmorei CAGGAAATCCACTGGTGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGA
C_haptodiscus CAGGAAATCCACTGGTGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGC
C_longulus CAGGAAATCCACTGGTGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGC
L_entrichoma GAGGAAATCCACTGGTGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGC
L_exleyi CAGGAAATCCACCGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGG
S_atlantida GAGGAAATCCACTGGTGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGC
S_benjamini TAGGAAATCCACTGGTGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
S_emersoni AAGGAAATCCACTGGTGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGC
S_gironensis CAGGAAATCCACCGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
S_kakuki GAGGAAATCCACTGGGCGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
S_lucayensis GAGGAAATCCACTGGGCGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
S_nsp2 ?????????????????????????????????????????????????????????????
S_nsp4 ?????????????????????????????????????????????????????????????
S_ondinae GAGGAAATCCACTGGGCGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGC
S_parabenjamini CAGGAAATCCACTGGTGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
S_tulumensis AAGGAAATCCACTGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
S_williamsi GAGGAAATCCACTGGTGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
S_xibalba AAGGAAATCCACTGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT
S_cf_tulumensis AAGGAAATCCACTGGAGGCAAGGCCCGCCGGAAGCACTGGCCACCAAGGAGCAGCTCGCAAGAGGCGCCCGCCACCGGAGGAGTGAAGAAGCCCATCGT

Campodea TACAGGCTGGTACTGTTGCCCTTCGTGAGATCCGTCGTTACCAAGAGAGCACCAGACTTCTGATCCGCAAGTGTCCATTCCAACGTTTGGTTCGTGAAA
Penaeus TACAGGCCGGAACTGTTGCCCTTCGTGAGATCCGTCGTTACCAAGAGAGCAGACTGAGCTCCTGATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGAGAGA
Branchinella TACAGGCCCGGACCGTTCGCCCTCAGAGAGATCCGTCGCTATCAGAAGAGCACCAGCTTCTCATCAGGAAGCTCCCTTCCAGCGCTGGTCCAGGAAA
Hutchinsoniella TACCGACCTGGAAACCGTTCGCCCTCGGAGAAATCAGACGTTACCAAGAGTCCACGAGCTTCTGATCAGGAAATGCCCTTCCAGAGCTTGTCCGTGAGA
G_robustus TACAGGCCGGGACAGTTCGCCCTCAGGAGATCAGACGCTTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGAGAAA
Gn_fronodosus TACAGGCCAGGACAGTTCGCCCTCAGGAGATCAGACGCTTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGAGAAA
Gn_schrami TACAGGCCAGGACAGTTCGCCCTCAGGAGATCAGACGCTTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGATTTGGTCCGAGAAA
P_apletocheles TACAGGCCAGGAAACCGTTCGCCCTCAGAGAAATCAGACGTTTACCAAGAGAGCAGTGAAGTCTCATCCGCAAGTGTCCATTCCAAGATTTGGTCCGCGAGA
P_fragilis ?????????????????????????????????????????????????????????????
P_nsp TACAGGCCAGGAAACCGTTCGCCCTCAGAGAAATCAGACGTTTACCAAGAGAGCAGTGAAGTCTCATCCGCAAGTGTCCATTCCAAGATTTGGTCCGCGAGA
M_yagerae TACAGGCCCGGACCGTTCGCCCTCAGGAGAAATCAGGCGTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTGATTCGCAAGCTGCCCTTCCAGAGACTAGTTCGCGAGA
C_elmorei TACCGACCGGAAACCGTTCGCCCTCAGGAGAAATCAGGCGTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTGATTCGCAAGCTGCCCTTCCAGAGACTAGTTCGCGAGA
C_haptodiscus TACCGGCCAGGACCGTTCGCCCTCAGGAGAAATCAGGCGTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGACTGGTACCGGAGA
C_longulus TACCGACCGGAAACCGTTCGCCCTCAGGAGAAATCAGGCGTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTGATTCGTAAGCTGCCCTTCCAAGACTAGTTCGCGAGA
L_entrichoma TACAGGCCAGGAGACTTGGCGCTAAGAGAGATCAGACGTTTACCAAGAGAGTACCAGACTACTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGACTGGTCCGCGAGA
L_exleyi TACAGGCCCGGACCGTTCGCCCTCAGGAGATCAGACGCTTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGACTGGTCCGAGAGA
S_atlantida TACAGGCCCGGACCGTTCGCCCTCAGGAGATCAGACGTTTACCAAGAGAGCACCAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTAGTCCGCGAGA
S_benjamini TACAGGCCCGGACCGTTCGCCCTCAGGAGATCAGACGTTTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGATTTGGTCCGCGAGA
S_emersoni TACAGGCCAGGAGCYGTCGCCCTCAGGAGATCAGACGTTTACCAAGAGAGCACCAGACTGCTGATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTTTGGTCCGCGAGA
S_gironensis TACAGGCCCGGACCGTTCGCCCTCAGGAGATCAGACGTTTACCAAGAGAGCACCAGACTGCTGATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTTTGGTCCGCGAGA
S_kakuki TATAGGCCAGGAAACAGTTCGCCCTCAGGAGATCAGACGTTTACCAAGAGAGCAGACTGAGCTACTCATCCGTAAGCTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGAGAGA
S_lucayensis TACAGGCCAGGAAACCGTTCGCCCTCAGGAGATCAGACGTTTACCAAGAGAGCAGACTGAGCTACTGATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGCGAGA
S_nsp2 ?????????????????????????????????????????????????????????????
S_nsp4 ?????????????????????????????????????????????????????????????
S_ondinae TACAGGCCCGGACCGTTCGCCCTCAGGAGATCAGGCGTTTACCAAGAGAGCACCAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTTTGGTCCGCGAGA
S_parabenjamini TACAGGCCCGGACCGTTCGCCCTCAGGAGATCAGGCGTTTACCAAGAGAGCAGAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGCGAGA
S_tulumensis TACAGGCCCTGAGCAGTTCGCCCTCAGGAGAAATCAGACGTTTACCAAGAGAGCACCAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGCGAGA
S_williamsi TACAGCACAGGAGCCGTCGCCCTCAGGAGATCAGGCGTTTACCAAGAGAGCAGACTGAGTTCGATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGCGAGA
S_xibalba TACAGGCCCTGAGCAGTTCGCCCTCAGGAGAAATCAGACGTTTACCAAGAGAGCACCAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGCGAGA
S_cf_tulumensis TACAGGCCCTGAGCAGTTCGCCCTCAGGAGAAATCAGACGTTTACCAAGAGAGCACCAGACTGCTCATCCGCAAGTGTCCCTTCCAGAGCTGGTCCGCGAGA

Campodea T?GCCAGGATTTCAAGACCGATTTCGCTTCCAGAGCTCTGCTGTGATGGCACTTCAGGAAGCCAGGAAGCTTACTTGGTGGATTGTTTGAAGAAC
Penaeus TTGCCAGGACTTCAAGACTGACCTCCGCTTCCAGACTCTGCTGTATGGCTTCAGGAGCCCTCCGAGGCTTACTGGTCCGCTSTTCGAGGACAC
Branchinella TTGCCAGGACTTCAAGACCGACTCCGCTTCCAGAGCTCAGCCGTATGGCCCTGCAGGAAGCTAGCGAGGCTTACTCGTGGACTTTCGAGGACAC
Hutchinsoniella TCGCACAGGACTTCAAGACCGATCTTCGCTTCCAGAGCTCTCCGCTATGGCCCTGCAGGAGGCTAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTTCGAGAAG?AC
G_robustus TAGCCAGGATTTCAAGACTGACCTGCGTTTCCAGAGCTCTGCTGTATGGCTTTCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTCGTGGGCTTTCGAGGACAC
Gn_fronodosus TCGCCAGGATTTCAAGACTGACCTGCGTTTCCAGAGCTCTGCTGTATGGCTTTCAGGAGGCCAGTGAAGGCTTACTCGTGGGCTTTCGAGGACAC
Gn_schrami TCGCCAGGATTTCAAGACTGACCTCCGCTTCCAGAGCTCTGCTGTATGGCTTTCAGGAGGCCAGTGAAGGCTTACTCGTGGGCTTTCGAGGACAC
P_apletocheles TCGCTCAGGATTTCAAGACAGATCTTCGCTTCCAAAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
P_fragilis ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
P_nsp TCGCTCAAGATTTCAAGACAGATCTTCGCTTCCAAAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
M_yagerae TCGCCAGGACTTCAAGACYACCTGCGTTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
C_elmorei TCGCCAGGACTTCAAGACCGATCTACGTTTCCAGAGCTCAGCCGTATGGCTTTCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
C_haptodiscus TCGCCAGGATTTAAGACGGACTACGTTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCTTTCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
C_longulus TCGCCAGGACTTCAAGACCGATCTACGTTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCTTTCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
L_entrichoma TCGCTCAGGACTTCAAGACAGATCTTCGCTTCCAAAGCTCCGCGTATGGCTTTCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGGCTTTCGAGGACAC
L_exleyi TCGCCAGGACTTCAAGACCGACTCCGCTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_atlantida TCGCCAGGACTTCAAGACCGACTCCGCTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_benjamini TCGCCAGGACTTCAAGACTGACCTCCGTTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_emersoni TCGCCAGGACTTCAAGACCGACTCCGTTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_gironensis TCGCCAGGACTTCAAGACCGACTCCGTTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_kakuki TAGCTCAAGACTTCAAGACAGATCTTCGTTTCCAAAGCTCCGCGTATGGCTTTCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGATAC
S_lucayensis TCGCTCAGGACTTCAAGACAGATCTTCGCTTCCAAAGCTCCGCGTATGGCTTTCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGGCTTTCGAGGACAC
S_nsp2 ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_nsp4 ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_ondinae TCGCCAGGACTTCAAGACCGACTCCGCTTCCAGAGCTCAGCCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_parabenjamini TCGCCAGGACTTCAAGACAGACTCCGCTTCCAAAGTTCGCGATGATGGCTTTCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_tulumensis TCGCCAGGACTTCAAGACAGACTCCGCTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_williamsi TCGCCAGGACTTCAAGACCGACTCCGCTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_xibalba TCGCCAGGACTTCAAGACAGACTCCGCTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC
S_cf_tulumensis TCGCCAGGACTTCAAGACAGACTCCGCTTCCAGAGCTCCGCGTATGGCCCTGCAGGAGGCCAGCGAGGCTTACTGGTGGCTTTCGAGGACAC

Campodea CAATTTGTGCGCCATTCATGCTAAG???
Penaeus CAACCTGTGCGCATTCATGCTAA????
Branchinella CAACCTGTGCGCCATCCACGCCAAGAG?
Hutchinsoniella CAACTTGTGCGCCATCCATGCCAAGCGC
G_robustus AAATTTGTGTCCATCCATGCCAAGCGT
Gn_fronodosus AAATTTGTGTCCATCCATGCCAAGCGT
Gn_schrami AAATTTGTGTCCATCCATGCCAAGCGT
P_apletocheles CAACCTGTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
P_fragilis ?????????????????????????????????
P_nsp CAACCTGTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
M_yagerae CAATTTGTGCGCCATCCACGCCAAGCGT
C_elmorei CAATTTGTGCGCCATTCACGCTAAGAGG
C_haptodiscus CAATTTGTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
C_longulus CAATTTGTGCGCCATCCATGCCAAGAGG
L_entrichoma CAATTTGTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
L_exleyi CAATTTGTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
S_atlantida CAACCTGTGCGCCATCCAYGCCAAGAGG
S_benjamini CAATTTGTGCGCCATTCACGCCAAGAGG
S_emersoni CAATTTGTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
S_gironensis CAATTTGTGTCCATCCACGCCAAGAGG
S_kakuki TAATTTCTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
S_lucayensis TAATTTCTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
S_nsp2 ?????????????????????????????????
S_nsp4 ?????????????????????????????????
S_ondinae CAACCTGTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
S_parabenjamini CAACCTGTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
S_tulumensis CAATTTCTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
S_williamsi TAACCTTTGTGCCATCCACGCCAAGAGG
S_xibalba CAATTTCTGCGCCATCCACGCCAAGAGG
S_cf_tulumensis CAATTTCTGCGCCATCCACGCCAAGAGG

[16S rDNA, 694 nt]

Campodea TATTTTTTAA-TAATTAAGCAAA--AAGCGCTCGCCTGTTTATCAAAAACATGGTTTTTTGA-----CTATAAAAAATTTGG-CCTGCTC
Penaeus GTATAATTAAGGAACTCGGCAAA-ACTACTTTTGCCTGTTTATCAAAAACATGCTTATATGA-----TTGTTATATAAAGTCTAA-CCTGCC
Branchinella ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
Hutchinsoniella CTTAATTAAGGAACTCAGCAAAAATACTCCGCGCTGTTTATCAAAAACATGCTTCTCTGT-----ACATAATA-GGAA-GTCCAACCTCGCC
G_robustus TCATTTCAAGGAACTTGTCAAT-ATAATTTCCGCTGTTTATCAAAAACATGGCTTCTTGT-----ATAATTAAGAGTCTGA-CCTGCC
Gn_fronodosus TTATTTTTAAGGAAATTTGGCAAAA-CAAGTTCCGCGATGTTTATCAAAAACATGGCCCTTTTGA-----ATAGAAAATGTAGTCTGA-CCTGCC
Gn_schrami ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
P_apletocheles ?????????????????????????CAC-TATAGAATCGCCTGTTTATCAAAAACATGGCCCTTTTGT-----GTTTTGATATAAAGTCTGA-CCTGCTC
P_fragilis ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
P_nsp ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
M_yagerae ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
C_elmorei TCATTTGAAAGGAACTCGGCAAA-ATGTTTCTGCTGTTTATCAAAAACATGGCCCTTTTGT-----GGATATATAAGTCTGG-CCTGCC
C_haptodiscus TTGTTGTAAGGAACTCGGCAAA-ATGTTTCTGCTGTTTATCAAAAACATGGCCCTTTTGT-----GAAAATATAAGTCTGG-CCTGCC
C_longulus ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
L_entrichoma ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
L_exleyi ATGTTATGAAAGGAACTCGGCAAA-AATTTCTGCTGTTTATCAAAAACATGGCTTCTTGT-----TGGATATAAGAGTCTTTTCTGCTC
S_atlantida TTTTCAAGGAACTAGGCAAAA-ATAGCATCTGCTGTTTATCAAAAACATGGCTTCTTGT-----TATATATAAAGTCTGG-CCTGCTC
S_benjamini CTGCTATAAAGGAACTCGGCAAA-ATGTTTCTGCTGTTTATCAAAAACATGGCCCTTTTGT-----GTGGTTGATATAAAGTCTGG-CCTGCC
S_emersoni TTAAGTTAAGGAAATAGGCAAAA-ATGATATCTGCTGTTTATCAAAAACATGGCTTCTTGTATAGTTTATAAATATAAGAGTCTAA-CCTGCC
S_gironensis ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_kakuki GTTATATAAAGGAACTTGGCAAA-TTAAATGCTGCTGTTTATCAAAAACATGGCTTCTTGT-----TGATATAAAGTCTGA-CCTGCC
S_lucayensis ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_nsp2 ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_nsp4 ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_ondinae TTTTATAAAGGAAATAGGCAAAAAGATATGCTGCTGTTTATCAAAAACATGGCTTCTTGT-----TTAATATAAAGTCTGG-CCTGCC
S_parabenjamini ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_tulumensis TTTACATAAAGGAACTCGGCAAA-AACACTTCCACCTGTTTATCAAAAACATGGCCCTTTGT-----GCAGTTGATATAAGGAGTCTGA-CCTGCTC
S_williamsi ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_xibalba ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_cf_tulumensis ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????

Campodea AATGA-----AAT-----TTAAATAGCTGCAGTAATT-TAAGTGTACAAAGGTAGCATAATCATTAGTCTTTTAAATTTGGCTGGAATGAATGGTTTT
Penaeus ACTGA-ATTATTT-----TTAAAGGGCCGCGGTATAC-TGACCGTGCAGAGGTAGCATAAATCATTAGTCTTTTAAATTTAGGGCTTGTATGAATGGTTGG
Branchinella ACTGA-----GTA-----TTGAAGGGCCGCGGTATAC-TGACCATGCGAAGGTAGCATAAATCATTAGTCTTTTAAATTTAGGGCTTGTATGAATGGTTGG
Hutchinsoniella ACTGA-----AATAAT-----TTAAAGGGCCGCGGTATATTGACCGTGCAGAGGTAGCATAAATCATTAGTCTTTTAAATTTAGGGCTTGTATGAATGGTTGG
G_robustus ACTGA-----TAGTAG-----TTGAAGGGCCGCGGTATATTGACCGTGCAGAGGTAGCATAAATCATTAGTCTTTTAAATTTAGGGCTTGTATGAATGGTTGG
Gn_fronodosus ACTGA-TTTTATA-----TTGAAGGGCCGCGGTATATTGACCGTGCAGAGGTAGCATAAATCATTAGTCTTTTAAATTTAGGGCTTGTATGAATGGTTGG
Gn_schrami ACTGA-TTAAATA-----TTGAAGGGCCGCGGTATATTGACCGTGCAGAGGTAGCATAAATCATTAGTCTTTTAAATTTAGGGCTTGTATGAATGGTTGG
P_apletocheles ACTGA---GGTTACAC---TTAAAGAGCTGCAGTATATCTGACTGTACGAAAGGTAGCGTGATAATTTGCTCTTAAATTTAGGACTTGGATGAATGGTTTTG
P_fragilis ACTGA---GGTAAAC---TTAAAGAGCTGCAGTATACCTGACTGTACTAAGGTAGCGTGTAATTTGCTCTTAAATTTAGGACTTGTATGAATGGTTTTG
M_yagerae ACTGA---GGTAAAC---TTAAAGAGCTGCAGTATACCTGACTGTACTAAGGTAGCGTGTAATTTGCTCTTAAATTTAGGACTTGTATGAATGGTTTTG
C_elmoresi GCTGT---TTAG-----ATGAAGGGCTGCGGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGCTTG
C_haptodiscus ACTGT---TTGT-----ATGAAGGGCTGCGGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGCTTG
C_longulus ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
L_entrichoma GCTGT---ATATATT---ATGAAGGGCTGCGGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
L_exleyi GCTGC---TTTGTAAA---GTAAAGGGCTGCAGTATATTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_atlantida TCTGA-TATCATTATA---TTGAAGAGCTGCAGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_benjamins TCTGA---AGGA-----ATGAATGGCTGCGGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_emersoni TCTGA-TATTTAGTAA---TTGAAGGGCTGCAGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_gironensis TCTGATTTCATAATA---TTAAAGGGCTGCAGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_kakuki ACTGA---AATGTTGG---TTAAAGGGCTGCAGTATTTTGAAGCTGTACGAAAGGTAGCGTGTAATTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_lucayensis GCTGA-ATGGATATGG---TTGAAGGGCTGCAGTATATTGACTGTACGAAAGGTAGCGTGTAATTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_nsp2 GCTGA-TAAGTTTTA---TTAAAGGGCTGCAGTATATTGACTGTACGAAAGGTAGCGTGTAATTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_nsp4 ACTGA-TAAGTTTTA---TTAAAGGGCTGCAGTATATTGACTGTACGAAAGGTAGCGTGTAATTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_ondinae TCTGA-TATTTAGTAA---TTGAAGGGCTGCAGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_parabenjamins GCTGC---TTCG-----GTGAAGGGCTGCGGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_tulumensis TCTGAATTTGGTTTTAGGGTTTAAAGGGCTGCAGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG
S_williamsi ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_xibalba ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_cf_tulumensis TCTGAATTTGGTTTTAGGGTTTAAAGGGCTGCAGTATACCTGACTGTACGAAAGGTAGCATAAATGGTTGCTCTTAAATTTAGGCTTGTATGAATGGTTTTG

Campodea ACGGAGTGTTTACTTTTTTAAATAAT---TAA-TTGAATTTTA-TAATT-TAG-TGAAAAGCTAAGATATGGATAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
Penaeus ACAAAAAGTAATCTGCTCAGTTATA---TAG-TTGAATTTACTT-TT-AAG-TGAAAAGGCTTAAATCTTTAAGGGACGATAAGACCCATATAAA
Branchinella ACGAGAACTAGCTGCTCTCTCTATT---AC-TTGAAGTTAA-TTATT-TGG-TGAAAAGGCTTAAATCTTTCTAGAGGACGATAAGACCCATATAGA
Hutchinsoniella ACGAGTAGTATCTGCTCTCTATAATA---TAT-TAAAATTTACTT-TT-AAG-TGAAAAGGCTTAAATCTTTCTAGAGGACGATAAGACCCATATAGA
G_robustus ACGARAAGTTGAATGCTCTCTGTTGTG---TTTA-TTGAATTTTA-TTTTT-TAG-TGAAGATGCTTGAATGTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA
Gn_fronodosus ACGAGAATTTGAATGCTCTTAAATGAT---TTAA-GTGAATTTTACT-TTCTCG-TGAGAGGCTAGAATTTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA
Gn_schrami ACGAGAATTTGAATGCTCTTAAATGAT---TTTT-ATGAATTTTACTT-TT-TAG-TGAAGAGGCTAGAATTTTAAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
P_apletocheles ACGAGAATTTGAATGCTCTCTCTCAAAA---AGGG-TTGAATTTCA-TTTTT-TAG-TGAAGAGGCTAGAATTTTAAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
P_fragilis ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
M_yagerae ACAAGAGAACTAGCTGCTCTTTTGA---ATTG-TTGAATTTCA-TTTTT-TAG-TGAGGAGCTAGAATGATTCCAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
C_elmoresi ACAAGAGATGCTGCTCTCTGTTGGA---TATA-TTGAATTTTACTT-TC-TGG-TGAGGAGGCTAGAATTTTCCAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
C_haptodiscus ACAAGAGATGCTGCTCTCTATAATA---TTGA-TTGAATTTTACTT-CC-AGG-TGAGGAGGCTTGAATTTTCCAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
C_longulus ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
L_entrichoma ACAAGATGTTAGCTGCTCTGTAATA---TAAGTTTTAATTTA-TTTAC-TAG-TGAGTAGGCTGGTATGTTTCTAAGGACGATAAGACCCATATAGA
L_exleyi ACAAGGGATAACTGCTCTCTATAATAT---TTGATTGAAGTTTCAAT-TT-TGG-TGAAGAGGCTAAAATTTTCCAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
S_atlantida ACAAGATGTTAGCTGCTCTATAATGTA---GTATA-TTGAATTTTACTCTCTAAGG-TGAAGAGGCTAGGATGGTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA
S_benjamins ACAAGAGATGCTGCTCTCTATAATA---TATA-TTGAATTTTACTT-CCTTAG-TGAAGAGGCTAGGATTTAGCCAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
S_emersoni ACAAGATGTTAGCTGCTCTCTGATTTAT---TGAC-TTGAATTTTACTT-TTCTAAG-TGAAGAGGCTGGAATGTTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA
S_gironensis ACGAGATGTTAGCTGCTCTACTACGA---TACAATTTGAATTTTACTT-CC-AGG-TGAGGAGGCTTGAATTTTCCAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
S_kakuki ACGAGATGTTAGCTGCTCTTAAATGAT---TTAA-TTGAATTTTAA-TTTTT-TAG-TGAAGAGGCTAGAATGTTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA
S_lucayensis ACGAGATGTTAGCTGCTCTATAATAT---TTTT-TTGAATTTA-TTTTT-TAG-TGAAGAGGCTAGGATGTTTAAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
S_nsp2 ACGTGAATGTTAGCTGCTCTGCGCATAAATTTG-TTGAATTTTACTT-TT-TAG-TGAAGAGGCTAAAATGTTTCCAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
S_nsp4 ACGTGAATGTTAGCTGCTCTGCGCATAAATTTG-TTGAATTTTACTT-TT-TAG-TGAAGAGGCTAAAATGTTTCCAAGGGACGATAAGACCCATATAGA
S_ondinae ACAAGATGTTAGCTGCTCTATAATAT---ATTG-TTGAATTTTACTT-CC-TTAA-TGAATGCTAGGATGGTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA
S_parabenjamins ACAAGAGATGCTGCTCTCTAGTATAT---TAGA-TTGAATTTTACTT-CC-TTAA-TGAATGCTAGGATGGTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA
S_tulumensis ATGAGATGTTAGCTGCTCTGTTGTTAT---GATAG-TAGATTTTCACTT-TG-TMG-TGAATGCTAGGATGGTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA
S_williamsi ACRAGATGTTMCTGCTCTCCTTTGTA---ATGA-TTGAATTTMCTT-CCTTAMKTAAGAGGCTAGGATGTTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA
S_xibalba ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
S_cf_tulumensis ATGAGATGTTAGCTGCTCTGTTGTTAT---GATAG-TAGATTTTCACTT-TG-TGG-TGAATGCTAGGATGGTTCTGAGGACGATAAGACCCATATAGA

Campodea GCTAATAT-----TTAATAGA-----TTTTA-TTTA-G-GTG-AATTA-----TTATTTG-TTAAAG---
Penaeus ACTTAACAA-----TAATTTGATTAAT-----ATAAATG-TA-G-TATAACT-----TGAT-----TTAA-TTA-ATGT-
Branchinella TCTTTATA-----AATATATATAG-----TTTTTA-G--A-TG-TTAT-C-----AAGTTAATA-GGTT-
Hutchinsoniella ACTTCATAC-----AAAAATTT-----AATA-TTA-G-TT-----CTTTATAAA-----AAATTT
G_robustus GTTTTAGTG--T--GTATTT-----CAT-----AATT-----GTGTGAGTGT--A-TG-GT-----TATGATATATTT
Gn_fronodosus TTTTATGTA--A-TG-TTGT-----TTTTTGTG-TATTT-----TTTTTGTG-TATTT-----A-TAA--TA--T
Gn_schrami TTTTAAATA--TA-G-TTT-----TTTTTGTGACTT-----TTTTTGTGACTT-----ATTGAA-----T
P_apletocheles TTTTATGTA-----AATTGATTTAT-GATAGG-----TTAG-----TTAATGTTT-AAATTTGATC-----GACGG-AGAAGT-TTAGGCTGTT
P_fragilis ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
M_yagerae TTTTATGTA-----ATTGTTTTCGTTA-----TTAG-----TTA-TGTTTATAAT-TA-----GTGA-----GATTTAGCTGTT
C_elmoresi TTTTAAATTTCTA-G-TT-TTGTGGG-----TTAG-----TTA-TGTTT-----TA-TGTTT-----GATTTAGCTGTT
C_haptodiscus TTTTAAATTTCTA-G-TT-TTGTGGG-----ATT-GG-----TATTGTTT-GG-TTTTGTGATGTTA-----GAA-TTGTATTTG
C_longulus ?????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????????
L_entrichoma TTTTAAATTT-----TTGATTTTATGTTG-----TGATGATTA-TGTTGAT-----TG-G-----A-TTG-AGG-T-TTAG-T
L_exleyi TTTTATTT-----TTTATAATTTGCTTGG-----TTTTTATGTTTATGCTTATGA-----TTTG-TTT-T-TAAT-T
S_atlantida TTTTACTT-----ATTG-ATTT-ACTT-----ATG-TTTATTAGGAG-CGAA-----TTA-TGTTAT-AGTT-----GTTT-----GTA-TAATGATA
S_benjamins TTTTATGTT-CT--G-----TTTGGGAATG-----ATAAATG-TA-G-TATAACT-----TGAT-----TTAA-TTA-ATGT-
S_emersoni TTTTATA-----ATTG-TTT-GTTTAAATA-----TAAA-TTAA-TGTTTT-----AATTT-----ATTTT-----TAATTA-TAATTA
S_gironensis TTTTATAC-----CAAAAAGAAATTA-----TA-AG-AAATTA-----TTAACCGCTAAGT-----GTA-----A-TAA-TCC-A-ATAGGT
S_kakuki TTTTGAATA-----TTATCAATTTGTTA-----TATTAG-----GTTTAA-G-----ATAG-----A-TTT-TTT-G-GTAA-T
S_lucayensis TTTTGAAT-----ATTTGTTTGTGTTG-----TGATGTTA-G-----ATAA-----G-TTT-AGT-A-ATGT-A
S_nsp2 TTTTATGTT-----GTATTTA-ATGTTAATG-----AA-TTAA-TGTTT-----A-----GTTT-----GTTGTTATTTACTT
S_nsp4 TTTTATGTT-----GTATTTA-ATGTTAATG-----AA-TTAA-TGTTT-----A-----GTTT-----GTTGTTATTTACTT
S_ondinae TTTTACTT-----AATG-ATTT-ACTT-----ATG-TTTATTAGGAG-CGAA-----TTA-TGTTAT-AGTT-----GTTT-----GTA-TAATGATA
S_parabenjamins TTTTACTT-----AATG-ATTT-ACTT-----ATG-TTTATTAGGAG-CGAA-----TTA-TGTTAT-AGTT-----GTTT-----GTA-TAATGATA
S_tulumensis TTTTACTT-----AATG-ATTT-ACTT-----ATG-TTTATTAGGAG-CGAA-----TTA-TGTTAT-AGTT-----GTTT-----GTA-TAATGATA
S_williamsi TTTTACTT-----AATG-ATTT-ACTT-----ATG-TTTATTAGGAG-CGAA-----TTA-TGTTAT-AGTT-----GTTT-----GTA-TAATGATA
S_xibalba TTTTACTT-----AATG-ATTT-ACTT-----ATG-TTTATTAGGAG-CGAA-----TTA-TGTTAT-AGTT-----GTTT-----GTA-TAATGATA
S_cf_tulumensis TTTTACTT-----AATG-ATTT-ACTT-----ATG-TTTATTAGGAG-CGAA-----TTA-TGTTAT-AGTT-----GTTT-----GTA-TAATGATA

[.....32'.....49'.....]	
[.....Region.17.....]	
Artemia franciscana	AGUA (GGCGCAAGUCAUAGCUUGCGUC) GAUUAAGUCCC UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCACUACUAC-----
Hutchinsoniella macracantha	AGUA (GUCCGAGUCACCAGCUUCGCGC) GAUCGAGUCCC UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCGCUACUACCGAUUGAGCGGUUGAUCG
Campodea tillyardi	CGUA (GGCGGAGUCAUAGCUUCGCGUC) GAUUAAGUCCC UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCGCUACUACCGAUUGAGCGAUUCGAGCG
Semibalanus balanoides	AGUA (AGCGCAAGUCAUAGCUUCGCGUC) GAUUAAGUCCC UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCGCUACUACCGAUUGAGCGAUUGAGCG
Calanus finmarchicus	AGUA (GGCGCAAGUCAUAGCUUCGCGUC) GAUUAAGUCCC UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCGCUACUACCGAUUGAGCGAUUGAGCG
Penaeus semisulcatus	AGUA (GGCGCAAGUCAUAGCUUCGCGUC) GAUUAAGUCCC UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCGCUACUAC-----
Paranehalia longipes	AGUA (AGCGCAAGUCAUAGCUUCGCGUC) GAUUAAGUCCC UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCGCUACUACCGAUUGAGCGAUUGAGCG
Argulus nobilis	AGUA (AGCGGAGUCAUAGCUUCGCGUC) GAUUAAGUCCC UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCGCUACUACCGAUUGAGCGAUUGAGCG
Branchinella occidentalis	AGUA (GGCGCAAGUCAUAGCUUCGCGUC) GAUUAAGUCCC UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCGCUACUACCGAUUGAGCGAUUGAGCG
Speleonectes tulumensis	UGUA (GGGGCUGUAACAGCCUGUCCU) GAAUAGUCCU UGCCUUUUAACA CACC (ACCCAUACUACU-----GGGUAGGUG
Lasionectes exleyi	----- ----- -----
Speleonectes gironensis	----- ----- -----
Godzillius robustus	UGUA (GGGAUCAGUAACAGCCAGCCU) GAAUAGUCCU UGCCUUUUAACA CACC (ACCCAUACUACUACAAU-----GCCGGUGGGUG
Cryptocorynetes elmorei	UGUA (GGGGCUGUAACAGCCAGCCU) GAAUAGUCCU UGCCUUUUAACA CACU (GCCAUUGAUACUACUACU-----AU-----
Cryptocorynetes haptodiscus	UGUA (GGGGCAGUAACAGCCAGCCU) GAAUAGUCCU UGCCUUUUAACA CACA (ACCCAUACUACUACCAAUG-----GCCGGUGGGUG
Pleomothra apletocheles	UGUA (GGGGCUGUAACAGCCAGCCU) GAAUAGUCCU UGCCUUUUAACA CACC (GCCCGUCACUACUACCAAUG-----GCCGGUGGGUG
[.....]	
Artemia franciscana	AGGUC-CUCGGACCCGUCUCCUUGCAAGGCUUGCCUUGCCUUGGUAU-----CGCGGGAGGUUAGCCGAGGUUAGUCGUUUUAGAGGAAG
Hutchinsoniella macracantha	AGGUU-UUCGGACCAGG-GCCCGGUCGUCUUCUUCGGACGAGUCGGAGUC-----CCUGGAAAGUUGCCCAAGCUGGAUGGCUCAGAGGAGG
Campodea tillyardi	AGGUUUCGCUAGACUGGCUCUGGCU-----UCGGCCUGC-----GGCCGGGAGACCCCAAACUUGGUUCGUUAGAGGAAG
Semibalanus balanoides	AGGUC-CUCGGACUGUUUCCUGGC-----GGAUUUACUCUGCCUGGC-----UGCGGGAGACGACCAAACUUGAGCGUUUAGAGGAAG
Calanus finmarchicus	
Penaeus semisulcatus	
Paranehalia longipes	AGGGC-UUUUGAUCUGGUUCCGAGG-----UUUUUUUACUUCUCCGGCU-----ACCGGGAAGAUUCCAAACUUGAUCAUUUAGAGGAAG
Argulus nobilis	AGGAC-UUCGGAUCGGUCCGUCUGGC-UCCUCGGAGCAUUCGGUUGUU-----AACCAUGAAGAUUCCAAACUUGAUCAUUUAGAGGAAG
Branchinella occidentalis	AGAAC-UUCGGAUCGUAUCCGCGCCGCG-----UCCUCGGAUGGCUUCGGUUG-----CGAUUGAAGUUUCCAAACUUGAUCCUUUAGAGGAAG
Speleonectes tulumensis	AAGGCCUCAACCCAGGGACAGAUUGUCCUUCUCCUAGAGGGAGAGGCAGACAGACCUCCGAAAGACUUCCGAACUUGUUCAGCCAGAGGAAG
Lasionectes exleyi	----- ----- -----
Speleonectes gironensis	----- ----- -----
Godzillius robustus	AGGGCCUC----- ----- -----
Cryptocorynetes elmorei	----- ----- -----
Cryptocorynetes haptodiscus	AGAGCCUU----- ----- -----
Pleomothra apletocheles	AGGGCCUUGAUCUGGGACCAAGUUCACCCACC-----CAAGCCGGGCGAGACAGACCCCGGGAAGGCUCCGAACCUUGUCCGCUAGAGGAAG
[.....]	
Artemia franciscana	UAAAAGUCGUAAACAGGUUUCCGUAGGUGAACCUCCGGAAGGAUCAUU-
Hutchinsoniella macracantha	UAAAAGUCGUAAACAGGUUUCC----- ----- -----
Campodea tillyardi	UAAAAGUCGUAAACAGGUUUCC----- ----- -----
Semibalanus balanoides	UAAAAGUCGUAAACAGGUUUCCGUAGGUGAAC----- ----- -----
Calanus finmarchicus	UAAAAGUCGUAAAC----- ----- -----
Penaeus semisulcatus	
Paranehalia longipes	UAAAAGUCGUAAACAGGUUUCCGUAGGUGAACCUCCGA----- ----- -----
Argulus nobilis	UAAAAGUCGUAAACAGGUUUCCGUAGGUGAACCUCCGGAAGGAUCAUUA
Branchinella occidentalis	UAAAAGUCGUAAACAGGUUUCC----- ----- -----
Speleonectes tulumensis	UAAAAGUCGUAAACAGGUUAACCGUAGGUGAACCUCCGGAAGGAUCAUUA
Lasionectes exleyi	----- ----- -----
Speleonectes gironensis	----- ----- -----
Godzillius robustus	----- ----- -----
Cryptocorynetes elmorei	----- ----- -----
Cryptocorynetes haptodiscus	----- ----- -----
Pleomothra apletocheles	UAAAAGUCGUAAACAGGUUUCCGUAGGUGAACCUCCGGAAGGAUCAUUA

7.7 MrBayes-Blöcke

7.7.1 Lauf 1

[Define character sets]

```
charset COI1st = 1 - 657 \ 3;
```

```
charset COI2nd = 2 - 657 \ 3;
```

```
charset COI3rd = 3 - 657 \ 3;
```

[Define partition]

```
partition by_codon_and_gene = 3:COI1st, COI2nd, COI3rd;
```

[Select partition]

```
set partition = by_codon_and_gene;
```

[Selects the GTR+G+I model with 4 gamma categories for 1st codon position of COI]

```
lset applyto = (1) nst=6 rates=invgamma ngammacat=4;
```

[Selects the GTR+G+I model with 4 gamma categories for 2nd codon position of COI]

```
lset applyto = (2) nst=6 rates=invgamma ngammacat=4;
```

[Selects the HKY+G model with 4 gamma categories for 3rd codon position of COI]

```
lset applyto = (3) nst=2 rates=gamma ngammacat=4;
```

[Unlink parameters across partitions]

```
unlink statefreq=(all) revmat=(all) shape=(all) pinvar=(all);
```

[Allow rates to vary across all partitions]

```
prset ratepr = variable;
```

7.7.2 Lauf 2

[Selects the GTR+G+I model with 6 gamma categories for 16S]

```
lset nst=6 rates=invgamma ngammacat=6;
```

[Unlink parameters across partitions]

```
unlink statefreq=(all) revmat=(all) shape=(all) pinvar=(all);
```

[Allow rates to vary across all partitions]

```
prset ratepr = variable;
```

7.7.3 Lauf 3

[Selects the GTR+G+I model with 5 gamma categories for H3]

```
lset nst=6 rates=invgamma ngammacat=5;
```

7.7.4 Lauf 4 (6 + 7)

[Define character sets]

```
charset COI1st = 1 - 657 \ 3;  
charset COI2nd = 2 - 657 \ 3;  
charset COI3rd = 3 - 657 \ 3;  
charset H3 = 658 - 985;  
charset 16S = 986 - 1679;
```

[Define partition]

```
partition by_codon_and_gene = 5:COI1st, COI2nd, COI3rd, H3, 16S;
```

[Select partition]

```
set partition = by_codon_and_gene;
```

[Selects the GTR+G+I model with 4 gamma categories for 1st codon position of COI]
lset applyto = (1) nst=6 rates=invgamma ngammacat=4;

[Selects the GTR+G+I model with 4 gamma categories for 2nd codon position of COI]
lset applyto = (2) nst=6 rates=invgamma ngammacat=4;

[Selects the HKY+G model with 4 gamma categories for 3rd codon position of COI]
lset applyto = (3) nst=2 rates=gamma ngammacat=4;

[Selects the GTR+G+I model with 5 gamma categories for H3]
lset applyto = (4) nst=6 rates=invgamma ngammacat=5;

[Selects the GTR+G+I model with 6 gamma categories for 16S]
lset applyto = (5) nst=6 rates=invgamma ngammacat=6;

[Unlink parameters across partitions]

```
unlink statefreq=(all) revmat=(all) shape=(all) pinvar=(all);
```

[Allow rates to vary across all partitions]

```
prset ratepr = variable;
```

7.7.5 Lauf 5

[Selects invertebrate mitochondrial genetic code]

```
lset code=metmt;
```

[Selects a codon model]

```
lset nucmodel=codon;
```

[Selects the GTR+G+I model with 4 gamma categories]

```
lset nst=6 rates=invgamma ngammacat=4;
```

Tabelle 7.6 BLAST-Ergebnis der *Hutchinsoniella macracantha* H3-Sequenz aus der Datenmatrix.

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
AF110867.1	<i>Hutchinsoniella macracantha</i> histone H3 (H3) gene, partial cds	597	597	100%	1,00E-167	99%
EU431151.1	<i>Paranaitis</i> sp. AN-2008 voucher SMNH<SWE>:A. Nygren P_k_spm_8 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431150.1	<i>Paranaitis</i> sp. AN-2008 voucher SMNH<SWE>:F. Pleijel P_k_spm_7 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431149.1	<i>Paranaitis</i> sp. AN-2008 voucher SMNH<SWE>:A. Nygren P_k_spm_6 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431148.1	<i>Paranaitis</i> sp. AN-2008 voucher SMNH<SWE>:F. Pleijel P_k_spm_5 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431147.1	<i>Paranaitis</i> sp. AN-2008 voucher SMNH<SWE>:A. Nygren P_k_spm_4 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431146.1	<i>Paranaitis</i> sp. AN-2008 voucher SMNH<SWE>:A. Nygren P_k_spm_3 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431145.1	<i>Paranaitis</i> sp. AN-2008 voucher SMNH<SWE>:F. Pleijel P_k_spm_2 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431144.1	<i>Paranaitis wahlbergi</i> voucher SMNH<SWE>:F. Pleijel P_w_spm_4 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431143.1	<i>Paranaitis wahlbergi</i> voucher SMNH<SWE>:F. Pleijel P_w_spm_3 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431142.1	<i>Paranaitis wahlbergi</i> voucher SMNH<SWE>:F. Pleijel P_w_spm_2 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
EU431141.1	<i>Paranaitis wahlbergi</i> voucher SMNH<SWE>:F. Pleijel P_w_spm_1 histone H3 (H3) gene, partial cds	346	346	97%	6,00E-92	86%
JF277702.1	<i>Psammamphiporus elongatus</i> voucher MCZ DNA10636 histone H3 gene, partial cds	337	337	98%	3,00E-89	85%
AJ436989.1	<i>Procephalotrix spiralis</i> partial H3 gene for histone H3	335	335	98%	1,00E-88	85%
AY923971.1	<i>Anatoma euglypta</i> isolate S34 histone H3 (H3) gene, partial cds	335	335	99%	1,00E-88	85%
AJ436966.1	<i>Poseidonemertes</i> sp. 508 partial H3 gene for histone H3	333	333	98%	4,00E-88	85%
AJ436958.1	<i>Poseidonemertes</i> sp. 349 partial H3 gene for histone H3	331	331	98%	2,00E-87	85%
EU669451.1	<i>Nanaloricus</i> sp. MVS-2008 histone H3 gene, partial cds	329	329	98%	6,00E-87	85%
AY070158.1	<i>Capsella variegata</i> histone H3 gene, partial cds	327	327	99%	2,00E-86	84%
HM162550.1	<i>Tritonia antarctica</i> voucher CASIZ171177 histone H3 (H3) gene, partial cds	324	324	97%	3,00E-85	85%
AF519294.1	<i>Amphiporus</i> sp. AMNH1 histone H3 gene, partial cds	324	324	98%	3,00E-85	84%
HM124641.1	<i>Sunetta menstrualis</i> isolate XCHXX0205 histone 3 (H3) gene, partial cds	318	318	98%	1,00E-83	84%
FJ977737.1	<i>Gibbula cineraria</i> voucher MCZ:DNA102440 histone H3 (H3) gene, partial cds	318	318	97%	1,00E-83	84%
EU379493.1	<i>Ctenoides annulata</i> histone H3 gene, partial cds	318	318	98%	1,00E-83	84%
EU015845.1	<i>Toxicochlespira pagoda</i> voucher MNHN:IM:200717925 histone 3 (H3) gene, partial cds	318	318	97%	1,00E-83	84%
EU015753.1	<i>Benthomangelia</i> cf. <i>trophonoidea</i> MNHN 17835 voucher MNHN:IM:200717835 histone 3 (H3) gene, partial cds	318	318	94%	1,00E-83	85%
EU874555.1	<i>Radima</i> sp. 3 BCOD-2008 voucher BMNH:(E)678912 histone 3 gene, partial cds	316	316	98%	5,00E-83	84%
DQ184886.1	<i>Chamelea gallina</i> voucher FMNH 306542 histone H3 (H3) gene, partial cds	316	316	98%	5,00E-83	84%
DQ534780.1	<i>Elysia</i> cf. <i>papillosa</i> ALB-2006 isolate EPAP6 histone H3 gene, partial cds	316	316	98%	5,00E-83	84%
HM124642.1	<i>Sunetta menstrualis</i> isolate XCHXX1308 histone 3 (H3) gene, partial cds	315	315	98%	2,00E-82	84%
EU082362.1	<i>Lepas pectinata</i> voucher KACb00291 histone H3 (H3) gene, partial cds	315	315	97%	2,00E-82	84%
DQ458506.1	<i>Chamelea gallina</i> histone H3 gene, partial cds	315	315	98%	2,00E-82	84%
FN908644.1	<i>Balanoglossus clavigerus</i> partial histone H3-VII gene	313	313	98%	6,00E-82	84%
HM746768.1	<i>Travisia pupa</i> histone H3 gene, partial cds	313	313	97%	6,00E-82	84%
FN561785.1	<i>Melanoscirtes shengenae</i> partial h3 gene for histone h3, isolate 60	313	313	98%	6,00E-82	84%
FN561786.1	<i>Melanoscirtes shengenae</i> partial h3 gene for histone h3, isolate X6	313	313	98%	6,00E-82	84%

Tabelle 7.7 BLAST-Ergebnis der *Micropacter yagerae* H3-Sequenz aus der Datenmatrix.

Sequences producing significant alignments:						
Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
GQ118323.1	Ephemera simulans voucher BYU:IGCEP038 histone H3 gene, partial cds	440	440	99%	3,00E-120	91%
EU874573.1	Penaphlebia chilensis voucher UCMS:79A histone 3 gene, partial cds	440	440	99%	3,00E-120	91%
JF750981.1	Surrepifungium ingridae voucher RMNH95318 histone 3 (H3) gene, partial cds	429	429	99%	6,00E-117	90%
FM882070.1	Conocephalus saltator partial h3 gene for histone H3, isolate N65	429	429	100%	6,00E-117	90%
EU015813.1	Raphitoma sp. NP-2008 voucher MNHN:IM:200717882 histone 3 (H3) gene, partial cds	429	429	99%	6,00E-117	90%
AY428836.1	Pycnophyes greenlandicus histone H3 gene, partial cds	429	429	98%	6,00E-117	90%
AY749713.1	Penaphlebia sp. EP076 histone H3 (H3) gene, partial cds	429	429	99%	6,00E-117	90%
AY749709.1	Mystaxiops venatoris histone H3 (H3) gene, partial cds	427	427	96%	2,00E-116	90%
HQ834193.1	Bullacta exarata isolate LSGB25302 histone H3 gene, partial cds	425	425	99%	7,00E-116	90%
HM162561.1	Marionia sp. 14 MP-2010 voucher CASIZ177659 histone H3 (H3) gene, partial cds	424	424	100%	3,00E-115	89%
HM162502.1	Mandelia miocornata voucher CASIZ176263 histone H3 (H3) gene, partial cds	424	424	100%	3,00E-115	89%
DQ300101.1	Xenosiphon branchiatus isolate DNA101086 histone H3 gene, partial cds	424	424	100%	3,00E-115	89%
HQ616802.1	Babakina festiva voucher CASIZ182205 histone 3 (H3) gene, partial cds	422	422	99%	9,00E-115	89%
HQ616801.1	Babakina festiva voucher CASIZ182204 histone 3 (H3) gene, partial cds	422	422	99%	9,00E-115	89%
AY749708.1	Baetis tricaudatus histone H3 (H3) gene, partial cds	422	422	96%	9,00E-115	90%
AY749702.1	Thraulodes sp. EP014 histone H3 (H3) gene, partial cds	422	422	97%	9,00E-115	90%
HM162562.1	Tritonia sp. G MP-2010 voucher CASIZ176233 histone H3 (H3) gene, partial cds	418	418	100%	1,00E-113	89%
HM162549.1	Tritonia pickensi voucher CASIZ175718 histone H3 (H3) gene, partial cds	418	418	100%	1,00E-113	89%
HM162534.1	Pseudobornella orientalis voucher CASIZ174989 histone H3 (H3) gene, partial cds	418	418	100%	1,00E-113	89%
FN561789.1	Melanoscirtes usambarensis partial h3 gene for histone h3, isolate B5	418	418	100%	1,00E-113	89%
FN561790.1	Melanoscirtes usambarensis partial h3 gene for histone h3, isolate R12	418	418	100%	1,00E-113	89%
FM882061.1	Conocephalus kibonotense partial h3 gene for histone H3, isolate 38	418	418	100%	1,00E-113	89%
FM882068.1	Conocephalus longiceps partial h3 gene for histone H3, isolate M31	418	418	100%	1,00E-113	89%
FM882067.1	Conocephalus longiceps partial h3 gene for histone H3, isolate M30	418	418	100%	1,00E-113	89%
FM882064.1	Conocephalus ictus partial h3 gene for histone H3, isolate X51	418	418	97%	1,00E-113	90%
FM882063.1	Conocephalus conocephalus partial h3 gene for histone H3, isolate N66	418	418	100%	1,00E-113	89%
FM882087.1	Conocephalus kibonotense partial h3 gene for histone H3, isolate 39	418	418	100%	1,00E-113	89%
GU123871.1	Penthimiola sp. JNZ-2010 histone H3 gene, partial cds	418	418	99%	1,00E-113	89%
EU874571.1	Nousia sp. 2 BCOD-2008 voucher UCMS:74A histone 3 gene, partial cds	418	418	98%	1,00E-113	90%
EU874564.1	Jappa sp. BCOD-2008 voucher UCMS:76A histone 3 gene, partial cds	418	418	99%	1,00E-113	89%
EU669446.1	Echinoderes collinae histone H3 gene, partial cds	418	418	100%	1,00E-113	89%
EU015847.1	Daphnella sp. NP-2008 voucher MNHN:IM:200717927 histone 3 (H3) gene, partial cds	418	418	99%	1,00E-113	89%
DQ284386.1	Elachistocleis ovalis histone H3a gene, partial cds	418	418	97%	1,00E-113	90%
AY749714.1	Meridialaris diguillina histone H3 (H3) gene, partial cds	418	418	99%	1,00E-113	89%
AY326297.1	Siphonosoma vastum MCZ DNA100625 histone H3 gene, partial cds	418	418	100%	1,00E-113	89%

8 Anhang B Morphologie

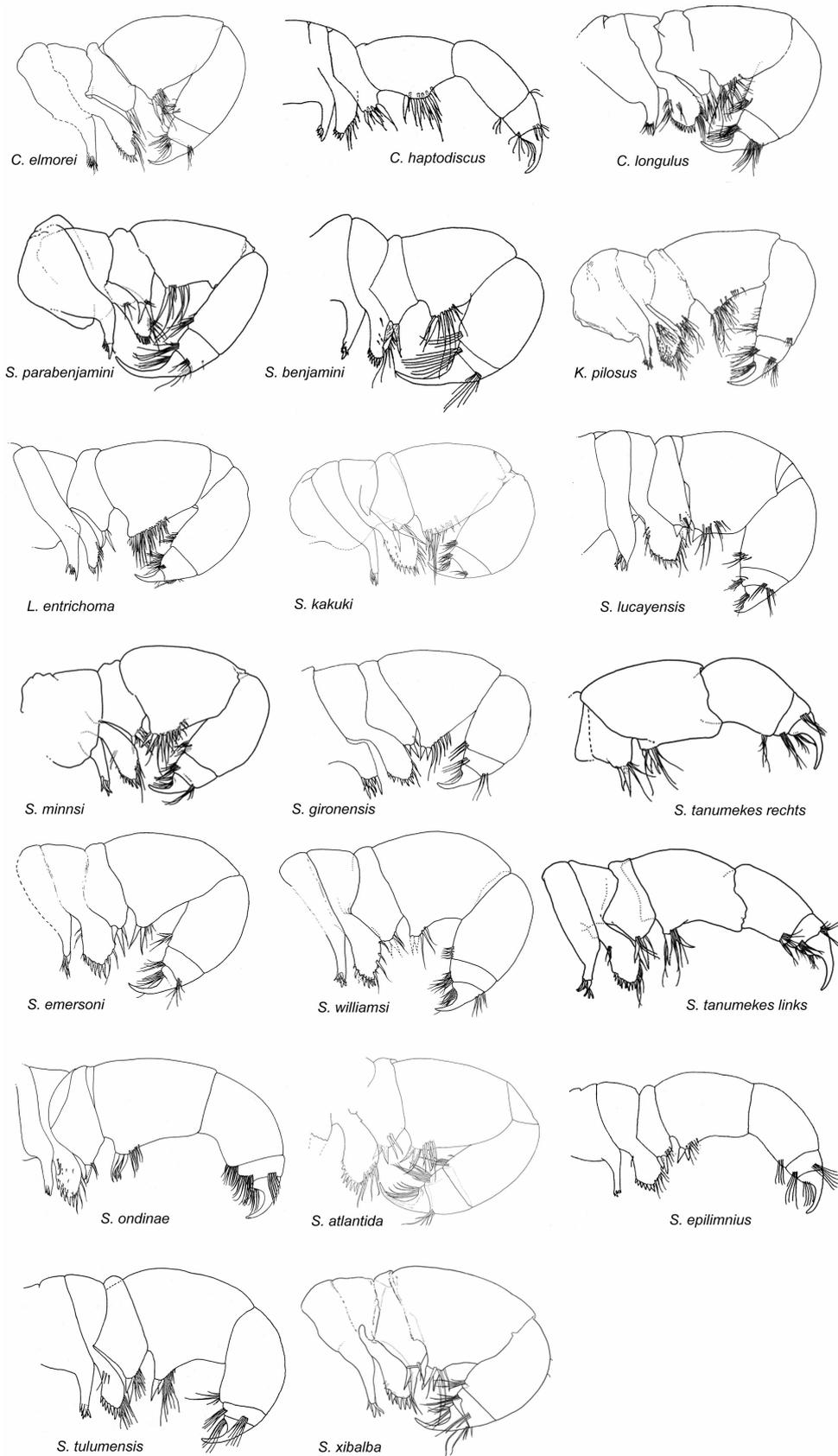


Abbildung 8.1 Übersicht der Zeichnungen der 1. Maxillen aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 1).

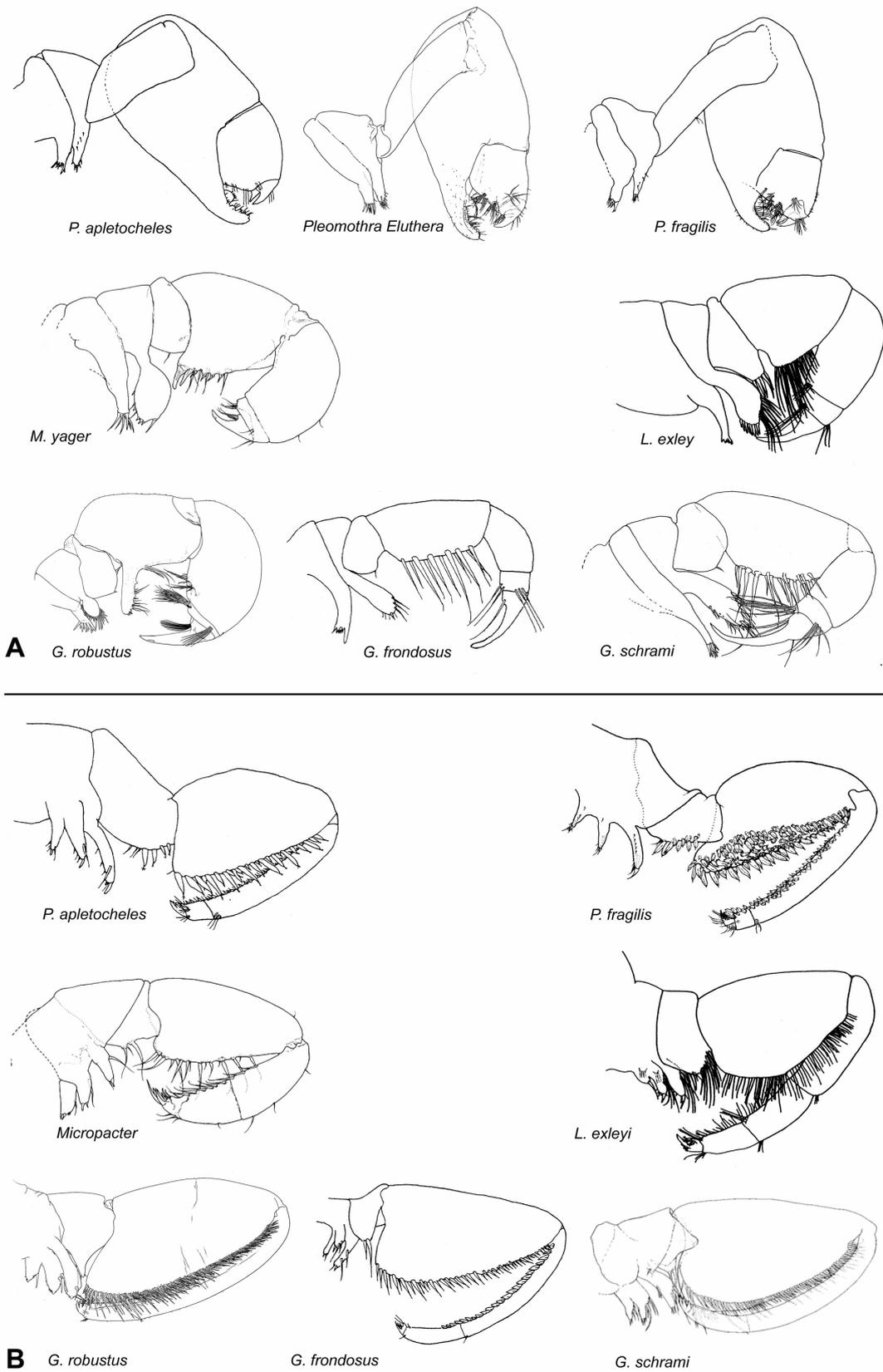


Abbildung 8.2 A = Übersicht der Zeichnungen der 1. Maxillen aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 2), B = Übersicht der Zeichnungen der 2. Maxillen aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 1).

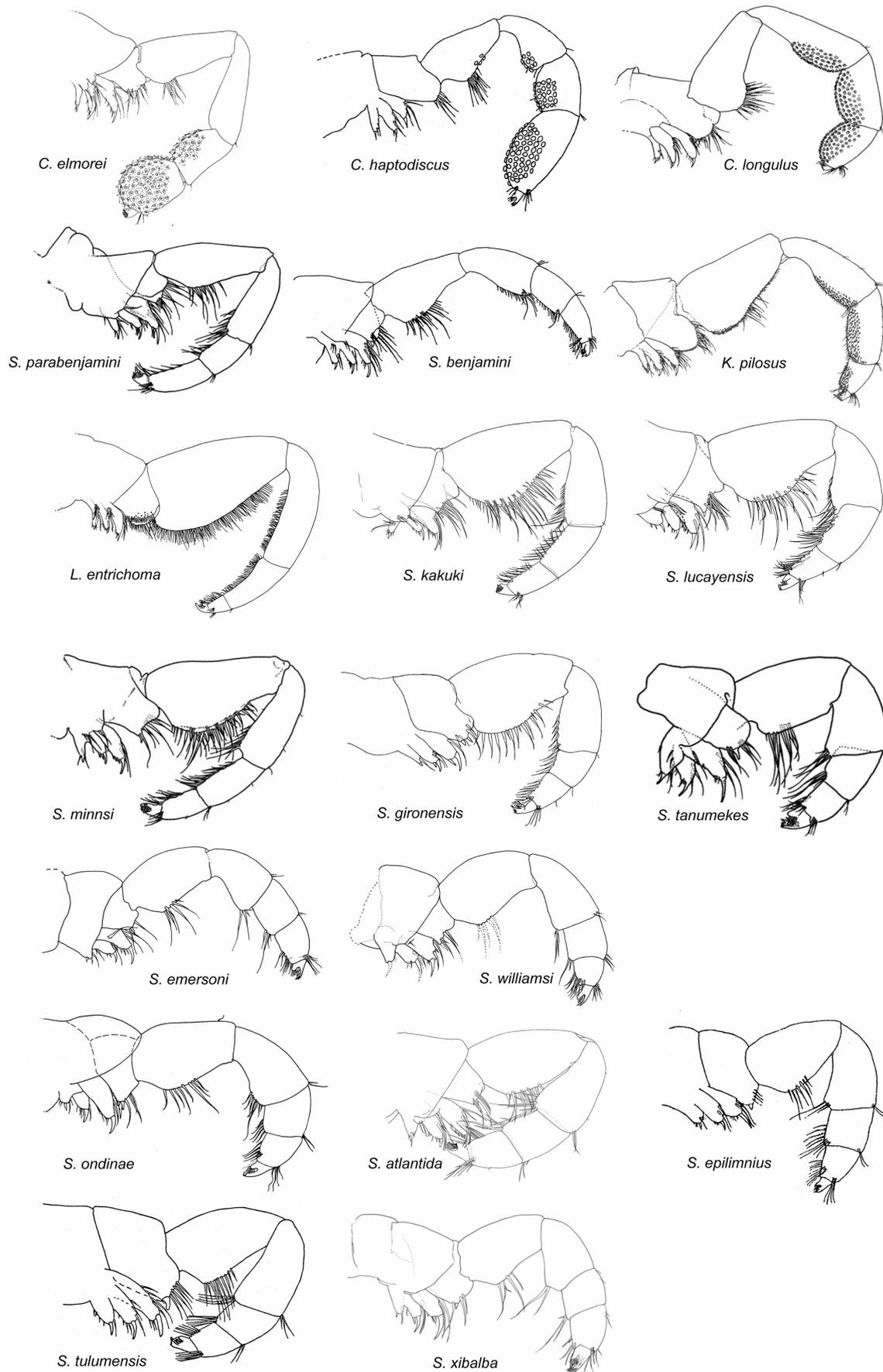


Abbildung 8.3 Übersicht der Zeichnungen der 2. Maxillen aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 2).

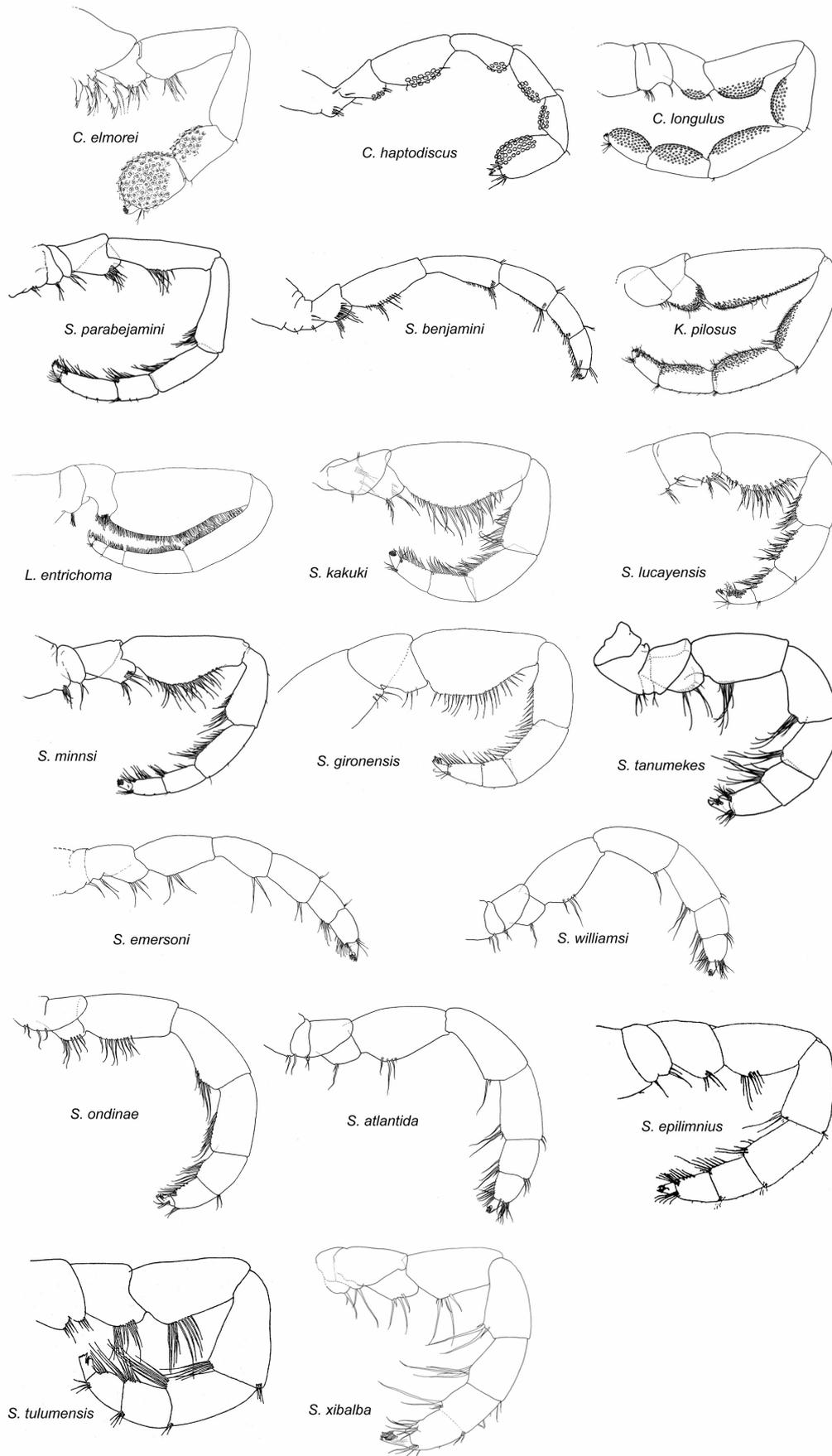


Abbildung 8.4 Übersicht der Zeichnungen der Maxillipeden aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 1).

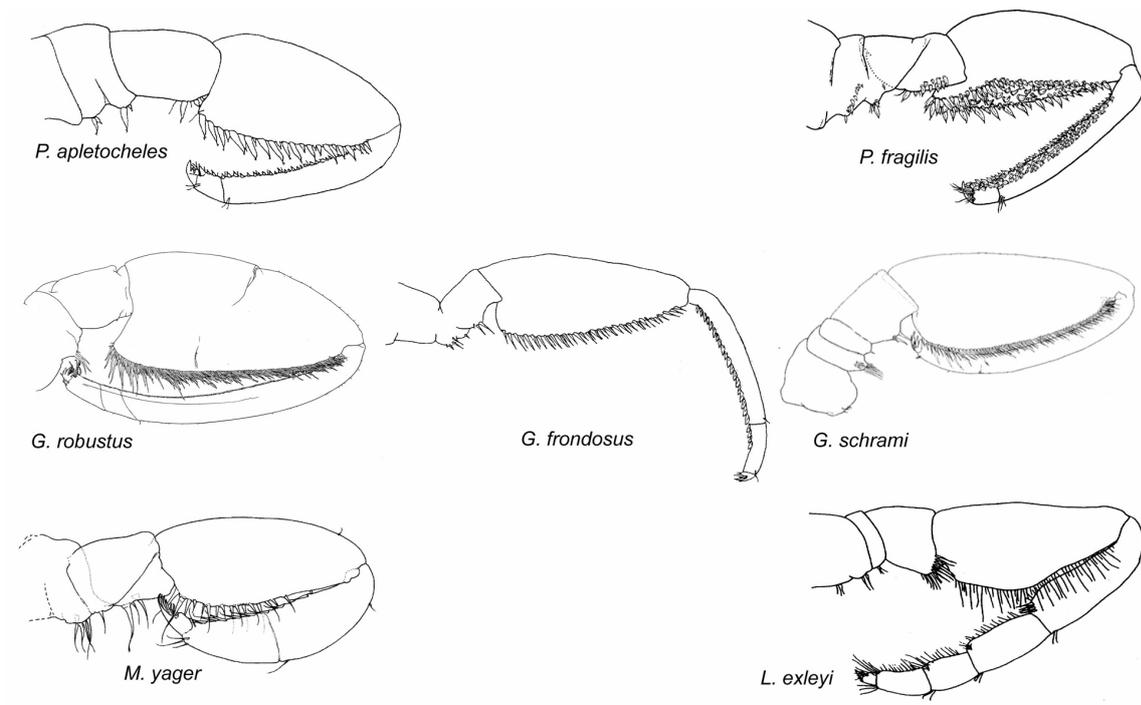


Abbildung 8.5 Übersicht der Zeichnungen der Maxillipeden aller bisher beschriebenen Remipedia (Teil 2).

9 Anhang C

Tabelle 9.1 Liste aller bekannten Remipedia-Arten und ihrer Fundorte (TL = Type Locality).

Art	Fundorte
Micropacteridae (eine Gattung)	
<i>Micropacter yagerae</i> Koenemann et al., 2007	Turks und Caicos Inseln – Providenciales Island: Airport Cave (TL), Old Blue Hill Cave
Godzillidae (3 Gattungen)	
<i>Godzillionomus frondosus</i> Yager, 1989	Bahamas - Grand Bahama Island: Sagittarius Cave (TL), Virgo Cave, Lucy's Cave, Asgard Cave; Abaco Island: Dan's Cave
<i>Godzillionomus schrami</i> Iliffe et al., 2010.	Bahamas - Eleuthera
<i>Godzillus robustus</i> Schram et al., 1986	Turks und Caicos Inseln - North Caicos Island: Cottage Pond (TL?)
<i>Pleomothra apietocheles</i> Yager, 1989	Bahamas - Abaco Island: Dan's Cave (TL); Grand Bahama Island: Sagittarius Cave
<i>Pleomothra fragilis</i> Koenemann et al., 2008	Bahamas - Exuma Cays: Oven Rock
Speleonectidae (4 Gattungen)	
<i>Cryptocorynetes elmorei</i> Hazerli et al., 2009	Bahamas - Eleuthera
<i>Cryptocorynetes haptodiscus</i> Yager, 1987a	Bahamas - Abaco Island: Dan's Cave (TL); Grand Bahama Island: Old Freetown Cave
<i>Cryptocorynetes longulus</i> Wollermann et al., 2007	Bahamas - Cat Island: Big Fountain (Orange Creek)
<i>Kaloketos pilosus</i> Koenemann et al., 2004	Turks und Caicos Inseln - North Caicos Island: Cottage Pond
<i>Lasionectes entrichoma</i> Yager & Schram, 1986	Turks und Caicos Inseln - Providenciales Island: Old Blue Hill Cave (TL), Airport Cave; North Caicos Island: Cottage Pond
<i>Lasionectes exleyi</i> Yager & Humphreys, 1996	West-Australien - Cape Range Peninsula: Cave C-28 (TL)
<i>Speleonectes atlantida</i> Koenemann et al., 2009	Kanarische Inseln - Lanzarote: Tunel de la Atlantida (TL)
<i>Speleonectes benjamini</i> Yager, 1987a	Bahamas - Grand Bahama Island: Asgard Cave (TL), Sagittarius Cave; Abaco Island: Dan's Cave
<i>Speleonectes emersoni</i> Lorentzen et al., 2007	Dominikanisch Republik – near Santo Domingo: Cueva Los Jardines Orientales (TL); Cueva Taina.
<i>Speleonectes epilimnius</i> Yager & Carpenter, 1999	Bahamas - San Salvador Island: Major's Cave (TL)
<i>Speleonectes gironensis</i> Yager, 1994	Cuba - Matanzas Province: Cueva de los Carboneros (TL)
<i>Speleonectes kakuki</i> Daenekas et al., 2009	Bahamas - North Andros: Guardian Cave (TL), Conch Sound Blue Hole, Stargate Blue Hole; Cat Island: Gaiter's Blue Hole
<i>Speleonectes lucayensis</i> Yager, 1981	Bahamas - Grand Bahama Island: Lucayan Cavern (TL); Cat Island: Big Fountain Blue Hole?; Abaco Island?
<i>Speleonectes minnsi</i> Koenemann et al., 2003	Bahamas - Great Exuma Island: Basil Minns Blue Hole (TL)
<i>Speleonectes ordinae</i> (Garcia-Valdecasas, 1984)	Kanarische Inseln- Lanzarote: Tunel de la Atlantida (TL)
<i>Speleonectes parabenjamini</i> Koenemann et al., 2003	Bahamas - Great Exuma Island: Basil Minns Blue Hole (TL)
<i>Speleonectes tanumekes</i> Koenemann et al., 2003	Bahamas - Great Exuma Island: Basil Minns Blue Hole (TL)
<i>Speleonectes tulumensis</i> Yager, 1987b	Mexico - Yuacatan Peninsula: Carwash Cenote (TL), Najaron Cenote
<i>Speleonectes fuchscockburni</i> n. sp.	
<i>Speleonectes williamsi</i> n. sp.	

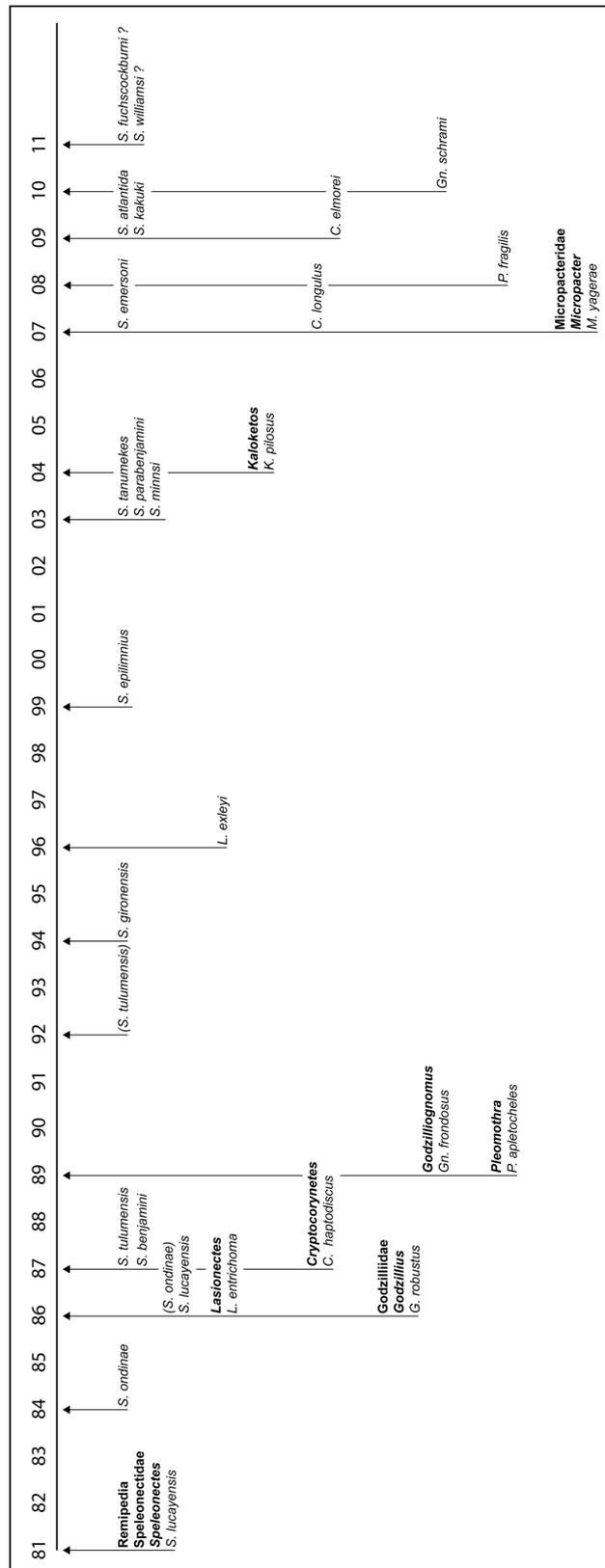


Abbildung 9.1 Darstellung der zeitlichen Reihenfolge der Artbeschreibungen. Die Zahlen geben die Jahre 1981 - 2011 an. Arten in Klammern stellen Überarbeitungen dar. *Speleonectes ondinae* wurde 1984 unter dem Namen *Morlockia ondinae* veröffentlicht, wird hier aus Gründen der Übersichtlichkeit aber unter *S. ondinae* geführt.

10 Danksagung

Als Allererstes möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. Stefan Könemann für seine Betreuung und das Überlassen dieses spannenden und interessanten Themas, sowie für seinen Rat und seine Unterstützung bedanken. Ich danke Prof. Dr. Ute Radespiel für die Übernahme der Korreferenz, ebenso Prof. Dr. Hansjörg Küster für den Vorsitz der Prüfungskommission.

Prof. Thomas M. Iliffe möchte ich ganz herzlich für das Sammeln der vielen Proben danken, ebenso Brian Kakuk, Lara Hinderstein und Brad Gonzales. Jill Yager, William Humphreys, T. Chad Walter und Gonzalo Giribet danke ich für das Überlassen von Probenmaterial. Auch dem United States National Museum und der Smithsonian Institution bin ich zu Dank verpflichtet. Prof. Dr. Fred Schram danke ich für die Ideen und Hinweise zur Diskussion der Morphologie. Ich danke Karl Kjer für seine 16S und 18S Alinierungen, die die Strukturalinierung erheblich erleichtert haben.

Ich danke der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Finanzierung des Projektes (DFG KO 3483/1-1) und dem Boehringer Ingelheim Fond für mein Reisstipendium. Ich danke ganz herzlich allen (ehemaligen) Mitgliedern der Arbeitsgruppe Könemann für ihre Hilfe und ihren Beistand, insbesondere Torben Stemme und Marco Neiber.

Ein besonderer Dank für all die Unterstützung und den Zuspruch gilt meiner Familie und meiner Frau Anna-Dinah.

11 Lebenslauf und Publikationsliste

MARIO HÖNEMANN

Dipl.-Biol.

Gießener Str. 79

35415 Pohlheim

Deutschland



PERSÖNLICHE DATEN

Geburtsort: Hannover, Deutschland

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstatus: verheiratet

AUSBILDUNG

seit 1. April 2006 Promotionsstudent an der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

Oktober 1997 – März 2005 Studium der Biologie an der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover (Diplomstudiengang), Abschluss: Diplom, Note: Sehr gut
Diplomarbeit am Institut für Tierökologie und Zellbiologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Thema: Experimentelle Untersuchung von Bau und Funktion von Opsingenen in *Trichoplax adhaerens*

1989 - 1996 Schule
Georg-Büchner-Gymnasium in Letter (Seelze), Abschluss: Abitur, Note: 2,4

MILLITÄRDIENST

Oktober 1996 – Juni 1997 Wehrdienst im Stab Fliegenden Gruppe Lufttransportgeschwader in Wunstorf, Grundausbildung beim 10./Luftwaffenausbildungsregiment 1 in Goslar

FORTBILDUNGEN

13. - 14. April 2010 „Gentechnische Sicherheit“ Staatlich anerkannter Lehrgang nach § 15 GenTSV für Projektleiter und Beauftragte für Biologische Sicherheit“, Hannover, durchgeführt von der Medizinischen Hochschule Hannover

27. Juli – 8. August 2008 „Workshop on Molecular Evolution“ Marine Biological Laboratory in Woods Hole MA, USA

ABSTRACTS, VORTRÄGE UND POSTERBEITRÄGE

Klimas D., **Höнемann M.**, Ruf S.: Non-Syndromic oligodontia: A Genetic Review of Gene Mutations. Abstract Book, 87th Congress of the European Orthodontic Society, 19-23 June 20011 Istanbul - Turkey

Hoенemann, M. & Koenemann, S. 2008: Phylogeny of Remipedia (Crustacea) – current status. Program and Abstracts, Systematics 2008, Göttingen, Deutschland.

Hoенemann, M., Koenemann, S., Held, C., Schram, F.R., Bloechl, A. & Iliffe, T.M. 2006. Development of Remipedia (Crustacea). Abstractband; 96stes Jahrestreffen von "Deutsche Zoologische Gesellschaft"; Münster, Deutschland.

Hoенemann, M. & Koenemann, S. 2006. Die larvale Entwicklung der Remipedia (Crustacea). Abstractband; Jahrestreffen von „Deutsche Gesellschaft für Limnologie“; Dresden, Deutschland.

Koenemann, S., **Hoенemann, M.**, Held, C., Schram, F.R., Bloechl, A. & Iliffe, T.M. 2006. Naupliar Development of Remipedia (Crustacea). Abstracts; 18th International Symposium of Biospeleology; Cluj-Napoca, Rumänien.

Hoенemann, M., Koenemann, S., Schram, F.R. & Iliffe, T.M. 2006. Phylogenetic relationships of Remipedia (Crustacea). Abstracts; 18th International Symposium of Biospeleology; Cluj-Napoca, Romania.

PUBLIKATIONSLISTE

Sehr K., Bock N., Serbesis C., **Höнемann M.**, Ruf S. 2011. Schwergradige apikale Wurzelresorption - lokale oder genetische Prädisposition? Journal of Orofacial Orthopedics / Fortschritte der Kieferorthopädie Volume 72, Number 4, 321-331.

Koenemann, S., Jenner, R.A., **Hoенemann, M.**, Stemme, T. & Reumont, B.M. von. 2010. Arthropod phylogeny revisited, with a focus on crustacean relationships. Arthropod, Structure & Development 39: 88-110.

Koenemann, S., Bloechl, A., Martinez, A., Iliffe, T.M., **Hoенemann, M.** & Oromi, P. 2009. Discovery of a new species of Speleonectes (Remipedia, Crustacea) on the Canary Islands. Marine Biodiversity 39 (3): 215–225.

Koenemann, S., Olesen, J., Alwes, F., Iliffe, T.M., **Hoенemann, M.**, Ungerer, P., Wolff, C. & Scholtz, G. 2009. The post-embryonic development of Remipedia (Crustacea) - additional results and new insights. Dev Genes Evol 219: 131-145; DOI 10.1007/s00427-009-0273-0.

Koenemann, S., Schram, F.R., Bloechl, A., **Hoенemann, M.**, Iliffe, T.M. & Held, C. 2007. Post-embryonic development of remipede crustaceans. Evolution & Development 9 (2): 117-121.

Koenemann, S., Schram, F.R., **Hoенemann, M.** & Iliffe, T.M.: Phylogenetic analysis of Remipedia (Crustacea). Organisms, Diversity & Evolution 7 (2007) 33-51.