

# UNTERSUCHUNGEN ZUR PHYLOGENIE SEDENTÄRER POLYCHAETEN (ANNELIDA)

---

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.) der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

VORGELEGT VON  
DOMINIK KIESELBACH  
AUS BERLIN

BONN IM AUGUST 2012

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

### **Gutachter**

---

1. Gutachter: Prof. Dr. Thomas Bartolomaeus  
Institut für Evolutionsbiologie  
Math. Nat. Fakultät  
Universität Bonn

2. Gutachterin: PD Dr. Anke Schmitz  
Institut für Zoologie  
Math. Nat. Fakultät  
Universität Bonn

---

Datum der Disputation: 26.10.2012  
Erscheinungsjahr: 2012

## **Erklärung**

---

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne die unzulässige Hilfe Dritter und ohne die Verwendung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angaben der Quellen gekennzeichnet.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Bonn, den 20. August 2012

Dominik Kieselbach

---

---

# INHALTSVERZEICHNIS

---

<b>1. EINLEITUNG</b> .....	1
<b>2. MATERIAL UND METHODEN</b> .....	4
2.1 Zucht und Hälterung.....	4
2.1.1 <i>Megalomma vesiculosum</i> (MONTAGU 1815) .....	4
2.1.2 <i>Sabellaria alveolata</i> (LINNAEUS 1767).....	4
2.1.3 <i>Terebella lapidaria</i> (LINNAEUS 1767).....	5
2.2 Sammlung.....	5
2.2.1 <i>Amphicorina</i> cf. <i>brevicollaris</i> (ROUSE 1990), <i>Amphicorina hynensis</i> KNIGHT-JONES 1983), <i>Fabricia stellaris</i> (MÜLLER 1774), <i>Branchiomma bombyx</i> (DALYELL 1853).....	5
2.2.2 <i>Sabella pavonina</i> (SAVIGNY 1820).....	5
2.3 Präparation .....	5
2.3.1 Transmissionselektronenmikroskopie .....	5
2.3.2 Rasterelektronenmikroskopie .....	6
2.3.3 Lichtmikroskopie .....	6
2.3.4 Konfokale Laserscanmikroskopie.....	7
2.4 Bildbearbeitung und Bildauswertung.....	7
<b>3. ERGEBNISSE</b> .....	8
3.1 <i>Terebella lapidaria</i> .....	8
3.1.1 Larvale Phaosomen .....	8
3.2 <i>Sabellaria alveolata</i> .....	15
3.2.1 Entwicklung .....	15
3.2.2 Nuchalorgane .....	27
3.2.3 Ciliäres Sinnesorgan .....	32
3.3 <i>Megalomma vesiculosum</i> .....	38
3.3.1 Nuchalorgane .....	38
3.3.2 Ciliäres Sinnesorgan .....	46
3.4 Untersuchung der Inversion bei Sabelliden.....	48
3.4.1 <i>Fabricia stellaris</i> .....	48
3.4.2 <i>Amphicorina hynensis</i> .....	49
3.4.3 <i>Amphicorina</i> cf. <i>brevicollaris</i> .....	51
3.4.4 <i>Megalomma vesiculosum</i> .....	53
3.4.5 <i>Branchiomma bombyx</i> .....	56
3.4.6 <i>Sabella pavonina</i> .....	57

<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>58</b>
4.1 Larvale ciliäre Sinnesorgane des Prostomiums.....	58
4.1.1 Ciliäre Sinnesorgane des Prostomiums von <i>Sabellaria alveolata</i> .....	58
4.1.2 Phaosomen des Prostomiums von <i>Terebella lapidaria</i> .....	58
4.2 Nuchalorgane .....	60
4.2.1 Nuchalorgane bei <i>Sabellaria alveolata</i> .....	60
4.2.2 Nuchalorgane bei <i>Megalomma vesiculosum</i> .....	64
4.3 Die Inversion innerhalb der Sabellida.....	66
4.3.1 Die Inversion der Borsten und Rami.....	67
4.3.2 Homologie von Kapillar- und Hakenborsten.....	68
4.3.3 Die Inversion der Fäkalrinne.....	68
4.3.4 Innere Inversionen .....	70
4.3.5 Merkmalskodierung .....	71
4.4 Vergleich der untersuchten Organe und abschließende phylogenetische Bewertung.....	72
4.4.1 Die Verwandtschaft von Sabellariidae, Sabellida und Spionida .....	72
4.4.2 Bedeutung der Phaosomen für die Phylogenie der Annelida .....	74
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>75</b>
<b>6. LITERATUR .....</b>	<b>76</b>

Die Systematik der Polychaeta hat sich in den Jahren seit den ersten kladistischen Analysen des Taxons durch ROUSE & FAUCHALD (1997), die sich noch rein auf morphologische Daten stützten, immer mehr zu einer Phylogenie der Annelida entwickelt. Maßgeblich dazu beigetragen haben molekulare Untersuchungen, die mit großer Unterstützung und zunehmender Konstanz in der Analyse Taxa wie die Echiura (BLEIDORN ET AL. 2003a, 2003b, STRUCK ET AL. 2007, 2011), die Myzostomida (BLEIDORN 2007, BLEIDORN ET AL. 2009) und die Clitellata (ROUSSET ET AL. 2007, STRUCK ET AL. 2007, 2011) als Teilgruppen der dadurch paraphyletischen Polychaeta erkannten. Eine nahe Verwandtschaft der Sipunculida ist ebenfalls sehr wahrscheinlich (MWINYI ET AL. 2009, STRUCK ET AL. 2011) geworden, ob sie sich jedoch innerhalb der bisherigen Polychaeta, innerhalb der Annelida oder als deren Schwestergruppe etablieren werden, ist zurzeit noch nicht mit Sicherheit zu beantworten.

So sicher die neuen Ergebnisse der Großgruppensystematik hinsichtlich der Eingruppierung ehemaliger Außengruppentaxa in die bisherigen Polychaeta auch erscheinen, so unsicher ist nach wie vor die Verwandtschaft der übergeordneten Taxa innerhalb der bisherigen Polychaeta (z.B. ROUSSET ET AL. 2004, 2006, STRUCK ET AL. 2007). Hier setzt sich bei molekularen Analysen ein Trend fort, der auch bei morphologischen Arbeiten immer noch besteht (z.B. HAUSEN 2001, 2005, BARTOLOMAEUS ET AL. 2005, PURSCHKE 2002). Die traditionellen Taxa werden auf Familienebene gut unterstützt, die basalen Abspaltungen aber immer noch unzureichend gestützt (z. B. STRUCK ET AL. 2007, ROUSSET ET AL. 2007). Molekulare Analysen, die die Verwandtschaftsverhältnisse anhand von EST-Daten (Expressed Sequence Tags) auswerten (mit Fokus auf die Polychaeta bisher nur durch STRUCK ET AL. 2011), liefern bisher die beste Unterstützung für die Auflösung basaler Linien. Die genannte Arbeit hat aber den großen Nachteil, dass sie bisher noch sehr wenige Taxa einschließt. Mit lediglich 34 untersuchten Arten wurde nur ein Bruchteil der ca. 80 traditionellen Familien der Polychaeta (FAUCHALD & ROUSE 1997) berücksichtigt.

Gleichzeitig widerspricht die EST-Analyse dem Morphologie-basierten System von ROUSE & FAUCHALD (1997) und der überwiegenden Anzahl vorhergehender molekularer Analysen (vergl. z.B. ROUSSET ET AL. 2007, STRUCK ET AL. 2007, 2008), indem sie die traditionellen Taxa Sedentaria und Errantia als Monophyla einführt. Tatsächlich unterscheiden sich morphologische und neuere molekulare Analysen häufig in der Topologie der resultierenden Bäume, oft stehen sie sogar im völligen Gegensatz zueinander. Dies gilt nicht nur für die Großgruppensystematik innerhalb der Polychaeta bzw. der Annelida, sondern ganz speziell auch für Taxa, die bisher anhand morphologischer Daten als gut abgesichert galten. So widersprechen beispielsweise die kombinierten molekularen und morphologischen Arbeiten von KUPRIYANOVA ET AL. (2006) und LEHRKE ET AL. (2007) Vorstellungen, nach denen die innere Verwandtschaft der Serpulidae anhand einer zunehmenden Komplexität des Operkulums nachvollzogen werden kann (zuletzt KUPRIYANOVA ET AL. 2003). Ebenso kommen KUPRIYANOVA & ROUSE (2008) und CAPA ET AL. (2010) bei ihren Analysen innerhalb der Sabellida zu dem Ergebnis, dass die Fabriciinae, die traditionell zusammen mit den Sabellinae das Taxon Sabellidae bilden (MEYER 1888, DALES 1962, 1977, ROUSE & FAUCHALD 1995, 1997), nun zusammen mit den Serpulidae gruppieren, was die Sabellidae paraphyletisch macht. Das Ergebnis wird molekular zwar gut unterstützt, es fehlen jedoch morphologische Daten, die ein Taxon aus Serpulidae und Fabriciidae (sensu KUPRIYANOVA & ROUSE 2008) stützen. Dass die Monophylie der Sabellidae nur

auf wenigen speziellen Borstenmerkmalen beruhte, war seit den Arbeiten von FITZHUGH (1989, 1991) bekannt, und lässt die Ergebnisse der molekularen Analysen etwas weniger unerwartet erscheinen.

Nach einem ersten Boom molekularer Analysen mit immer mehr Taxa und immer mehr Genen (ROUSSET ET AL. 2004, 2007, STRUCK ET AL. 2007, 2011, ZRZAVY ET AL. 2009 mit kombinierten Daten) wurde es etwas ruhiger auf diesem Gebiet und neue Veröffentlichungen finden sich nicht mehr in der ursprünglich erwarteten Dichte. Dies mag vor allem daran liegen, dass sich die Ergebnisse häufig kontroversen Diskussionen stellen mussten, da sie nicht mit den morphologischen Befunden zusammenpassten, und auch offensichtliche Widersprüche untereinander lieferten. Im Idealfall sollten morphologische und molekulare Analysen jedoch gleiche Phylogenien produzieren. Warum dies seit Beginn der Sequenzanalyse nicht der Fall ist, wird immer wieder heftig diskutiert (z.B. BARTOLOMAEUS ET AL. 2005, ROUSSET ET AL. 2007). Bei den Anneliden handelt es sich vermutlich um eine phylogenetisch alte Radiation. Sollten die Sipunculida tatsächlich innerhalb der Annelida eingegliedert werden, sind Vertreter des Taxons schon für das frühe Kambrium nachgewiesen. Ein Verrauschen des phylogenetischen Signals molekularer Daten ist somit aller Wahrscheinlichkeit nach ein Grund dafür, dass erst die seit wenigen Jahren verfügbaren genomischen Ansätze mit ihren ungemein hohen Datenmengen zu stabileren Ergebnissen führen. Im Gegensatz dazu wurde für morphologische Analysen vor allem der Einfluss von Merkmalverlusten sowie Probleme mit der Kodierung der Daten als erschwerende Umstände für die Datenauswertung ausgemacht (BLEIDORN 2007, BARTOLOMAEUS ET AL. 2005, JENNER 2004a, 2004b). Auf Seiten der Morphologie kommt hinzu, dass viele Daten aktueller Analysen unkritisch aus der häufig älteren Literatur übernommen wurden, was sich vor allem in der Übernahme falscher Homologiehypothesen und falscher Daten an sich widerspiegelt (ROUSE & FAUCHALD 1995).

Molekulare Phylogenien zeigen wiederholt eine nahe Verwandtschaft von Sabellariidae und Spionidae mit den Sabellida als Schwestertaxon (CAPA ET AL. 2012 kombiniert mit morphologischen Merkmalen, BLEIDORN pers. Mitteilung zu neuen EST-Daten). Eine mögliche Verwandtschaft von Sabellariidae und Spionidae wurde bereits von DALES (1962, 1977) anhand deren ähnlicher Ernährungsweisen und entsprechender Homologien des Stomodaeums formuliert, ebenso fiel bereits WILSON (1929) die starke Ähnlichkeit der Larven beider Taxa auf. Häufiger jedoch wurden die Sabellariidae aufgrund des Merkmals der Borsteninversion, das KIESELBACH & HAUSEN (2008) als Homoplasie begründeten, in die Nähe der oder gar in das Taxon der Sabellida (ROUSE & FAUCHALD 1997) gestellt.

An *Trochochaeta*- und *Poecilochaetus*-Arten, Vertretern der Spionida, wurden larvale ciliäre Sinnesorgane und Nuchalorgane bereits ultrastrukturell untersucht (HAUSEN 2001, 2007). Die larvalen ciliären Sinnesorgane zeigen dabei sehr weitgehende Ähnlichkeiten bis in die kleinsten Substrukturen: eine unpigmentierte Stützzelle nimmt in ihrem Extrazellularraum ein Cilium der Rezeptorzelle auf, das sich reich in Mikrovilli verzweigt. Die Nuchalorgane zeigen eine spezifische mikrovilläre Abdeckung der Kutikula oberhalb des Organs, das in Anschnitten eine distinkte pflastersteinartige Struktur zeigt. Bei einer nahen Verwandtschaft der Sabellariidae und Spionidae wäre zu erwarten, dass strukturelle Übereinstimmungen in diesen Organen bei Sabellariidae zu finden sind. Bisher fehlen strukturelle und ultrastrukturelle Informationen zu diesen Organsystemen bei Sabellariidae, deshalb wurden die Organe im Rahmen der hier vorgestellten Doktorarbeit bei den Sabellariidae mit elektronenmikroskopischen Mitteln untersucht.

Die Fragestellung wurde bezüglich der Nuchalorgane dahingehend vertieft, ob sie überhaupt bei dem Taxon vorhanden sind, da es verschiedene widersprüchliche Hinweise zu ihrer Existenz in der Literatur gibt (JOHANSSON 1927, RULLIER 1950, 1951, ORRHAGE 1978). Die gleichen Organe wurden bei der zu den Sabellidae gehörenden Art *Megalomma vesiculosum* ultrastrukturell untersucht, um auch im erweiterten Verwandtschaftsfeld diese Daten zu erheben und eine Verwandtschaft zwischen den Sabellariidae und Sabellida, die häufiger morphologisch begründet wurde (siehe z.B. ROUSE & FAUCHALD 1997), zu prüfen. Des Weiteren wurde der Frage nachgegangen, wie weit verbreitet Phaosomen innerhalb der Polychaeta sind. Da bisher nur sehr wenige Daten zu diesen Organen vorliegen (PURSCHKE 2003, 2005, PURSCHKE ET AL. 2006), wurde für die Untersuchung mit den Terebellida speziell ein Taxon ausgewählt, das nach aktuellen molekularen Daten nahe mit den Clitellata verwandt ist (BLEIDORN ET AL. 2003b, STRUCK ET AL. 2007, 2011). Dies erscheint vor allem vor dem Hintergrund sinnvoll, dass diese Organe die typischen Lichtsinnesorgane der Clitellaten sind (PURSCHKE 2003, PURSCHKE ET AL. 2006) und KALLER (2011) das Vorhandensein von Phaosomen bei den Capitelliden nachweisen konnte. Capitellidae und Echiura sind nach verschiedenen Analysen die mögliche Schwestergruppe der Clitellata oder gehören in deren nächster Verwandtschaft (BLEIDORN ET AL. 2003b, STRUCK ET AL. 2007, 2011).

Zudem wurde der Frage nachgegangen, ob es Hinweise in inneren oder äußeren Strukturen der Sabellida gibt, die die Borsteninversion der Sabellida als ein tatsächliches Inversionsereignis bestätigen oder ob es Hinweise gibt, dass es sich bei der Borsteninversion lediglich um eine Änderung in der Borstenanordnung handelt, die aber nicht notwendigerweise auf einem Inversionsereignis beruht, und entsprechend zu irreführenden Kodierungen dieses Merkmals geführt hat (zu einer ausführlichen Diskussion des Merkmals im Vergleich zu Sabellariidae siehe KIESELBACH & HAUSEN 2008). In diesem Zusammenhang wurden die Längsmuskulatur und die Innervierung der Parapodien histologisch bzw. immunhistologisch untersucht. Ebenso wurde der Borstenbesatz in Thorax und Abdomen anhand verschiedener Arten erneut einer logischen Vereinbarkeit mit dem Ereignis einer Inversion unterzogen. Schließlich wurde ebenfalls untersucht, ob die vermeintliche Borsteninversion mit der Inversion einer sogenannten Fäkalrinne korreliert oder davon unabhängig ist. Aufgrund der erzielten Ergebnisse werden abschließend bisherige Kodierungen der untersuchten Merkmale revidiert.

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden in den meisten Fällen alle Stadien von der Trochophora bis hin zum juvenilen Wurm untersucht. Somit wurden für viele Merkmale erstmals Daten über die komplette Entwicklung hinweg erhoben. Diese nahezu komplette Erfassung der Daten ist bei transitorischen Merkmalen wichtig, um wirklich vergleichbare Merkmalszustände zu vergleichen. Das ist insbesondere bei Untersuchungen zur Inversion wichtig, um entwicklungsbedingte Besonderheiten zu erfassen und deuten zu können.

## 2.1 ZUCHT UND HÄLTERUNG

### 2.1.1 *Megalomma vesiculosum*

Adulti von *Megalomma vesiculosum* (MONTAGU 1815) wurden im Juli 2006 und Juli 2008 vor Roscoff (Frankreich, Bretagne) ausgegraben und unter fließendem Meerwasser im Labor in circa 30x40x10 cm<sup>3</sup> Melanschalen ohne Fütterung über wenige Tage gehältert. Die Tiere begannen ohne weitergehende Beeinflussung Spermien und Eier ins Wasser abzugeben. Die Eier wurden abpipettiert, in Glasschälchen überführt und mit Sperma vermischt. Nach wenigen Minuten wurden die Schalen mehrfach so durchgespült, dass möglichst keine Spermien oder sonstigen Beimischungen im Gefäß verblieben. Die befruchteten Eier zeigten bereits nach einer Stunde erste Zellteilungen und die Trochophora-Larven schwammen nach etwa 10 Stunden auf. Die Larven bauten ab dem 3. Tag erste Schleimröhren an der Schalenwandung im Meniskus des Wasserspiegels, so dass nun alle unbefruchteten Eier problemlos ausgespült und abgesaugt werden konnten. Es wurden während der gesamten Aufzucht und Hälterung keine Antibiotika eingesetzt und kein Substrat eingefüllt. Als Nahrung diente ausschließlich ein Stamm von *Isochrysis galbana*, der erst ab dem 5. Tag zugefüttert wurde. Alle weiteren Wasserwechsel erfolgten mit ultrafiltriertem Meerwasser aus der Bay de Morlaix (Frankreich, Roscoff, Bretagne), wobei der Inhalt der Glasschälchen immer komplett geleert werden konnte, da die Röhren fest an der Glaswand angebracht waren. Ab Befruchtung wurde jeweils eine große Zahl von Individuen (>100 Tiere) im 12 Stunden Turnus sowohl für die Elektronenmikroskopie als auch die konfokale Laserscanmikroskopie fixiert.

### 2.1.2 *Sabellaria alveolata*

Die Zucht von *Sabellaria alveolata* (LINNAEUS 1767) erfolgte im August 2006 im Labor des Instituts in der Freien Universität Berlin, wo adulte Würmer, die im Juli 2006 vom Strand von St. Eflam (bei Plestin, Frankreich, Bretagne) gesammelt wurden, durch das Entfernen der Röhre zur Abgabe ihrer Geschlechtsprodukte gebracht wurden. Spermien und Eier wurden abpipettiert und in Glasschälchen zusammengebracht. Nach wenigen Minuten erfolgten mehrere Wasserwechsel, um überflüssiges organisches Material zu entfernen und Polyspermie zu vermeiden. Da sich die Larven dieser Art im dichten Besatz gerne mit ihren langen Larvalborsten ineinander verhaken, wurden sie in 3 Liter Bechergläsern mit einem zentralen Rührer gehältert. Sobald die Larven das Stadium der Metatrochophora erreichten, wurden sie zu etwa 50 in Glasschälchen überführt und weiterhin ohne die Zugabe irgendeines Sediments gehältert. Als ausschließliche Nahrung diente vom Aufschwimmen der Trochophora nach etwa 12 Stunden an ein Stamm von *Isochrysis galbana*. Die Metamorphose der ersten Larven konnte unter den genannten Bedingungen nach etwa 4 Monaten beobachtet werden.

Vom Zeitpunkt der Befruchtung an wurde im größeren Abstand jeweils eine Anzahl von mindestens 100 Individuen sowohl für die Elektronenmikroskopie als auch die konfokale Laserscanmikroskopie fixiert. Als Orientierung für die Auswahl der Fixierungszeiten, die oftmals im Wochenabstand lagen, diente sowohl das von WILSON (1929) vorgegebene „Staging“, als auch eigene wöchentliche Beobachtungen des

Entwicklungsverlaufs unter dem Lichtmikroskop. Sobald die Larven sich augenscheinlich entwickelten, durch Zunahme an Körpergröße, -länge oder Zuwachs der Larvalborsten, wurde eine neue Charge fixiert.

### 2.1.3 *Terebella lapidaria*

Etwa 40 adulte Individuen von *Terebella lapidaria* (LINNAEUS 1767) wurden im Juli 2008 aus Felsspalten mit schlickigem Material vor der Küste Roscoffs (Frankreich, Bretagne) gesammelt. Die Würmer wurden anschließend im Labor in etwa 25x30x5 cm<sup>3</sup> großen Melaninschalen ohne Fütterung über wenige Tage unter fließendem Meerwasser gehältert. Die Tiere begannen am zweiten Tag spontan mit der Abgabe ihrer Geschlechtsprodukte. Aus der Hälterungsschale wurden die offensichtlich bereits befruchteten Eier abpipetiert und in mehrere Dessertschalen überführt. Dort wurde das Wasser wenige Male hintereinander gewechselt, um organische Verunreinigungen bestmöglich auszuwaschen. Die dotterreichen Trochophora-Larven wurden erst nach 3 Tagen mit einem Stamm *Isochrysis galbana* gefüttert. Die Larven entwickelten sich zunächst gut, doch stieg die Letalität nach einer Woche stark an. Nur wenige Individuen wurden vier Wochen alt, nur eine Handvoll schaffte die komplette Metamorphose nach circa zwei Monaten. Ab Befruchtung wurde in der ersten Woche jeweils eine Anzahl von mindestens 100 Individuen im 12 Stunden Turnus sowohl für die Elektronenmikroskopie als auch die konvokale Laserscanmikroskopie fixiert. Die letzte Fixierung fand aufgrund der hohen Letalität dann erst wieder nach vier Wochen statt.

## 2.2 SAMMLUNG

### 2.2.1 *Amphicorina cf. brevicollaris*, *Amphicorina hynensis*, *Fabricia stellaris*, *Branchiomma bombyx*

Die Individuen von *Amphicorina cf. brevicollaris* (ROUSE 1990), *Amphicorina hynensis* (KNIGHT-JONES 1983), *Fabricia stellaris* (MÜLLER 1774) und *Branchiomma bombyx* (DALYELL 1853) wurden im Juli 2008 aus Laminarien-Wurzeln geschüttelt, die in der Gezeitenzone knapp unterhalb des Litorals vor Roscoff gesammelt wurden. Die Fixierung erfolgte für immunhistologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen gemäß den in den jeweiligen Abschnitten aufgeführten Standardprotokollen.

### 2.2.1 *Sabella pavonina*

Die Individuen von *Sabella pavonina* (SAVIGNY 1820) wurden im Juli 2008 vor Roscoff (Frankreich, Bretagne) ausgegraben. Die Fixierung erfolgte für elektronenmikroskopische Untersuchungen gemäß den in den jeweiligen Abschnitten aufgeführten Standardprotokollen.

## 2.3 PRÄPARATION

### 2.3.1 Transmissionselektronenmikroskopie

Für die Transmissionselektronenmikroskopie wurden die Larven für 40 Minuten, juvenile Würmer und kleine Arten für 50 Minuten bei 4°C mit einer 2,5%igen Glutaraldehyd-Lösung in 0,01 M PB bei einem

pH Wert von 7,2 fixiert. Das Fixativ wurde anschließend in mehreren Schritten mit 0,01 M PB ausgewaschen, bis kein Geruch vom Fixativ mehr wahrnehmbar war. Die Postfixierung erfolgte bei 4 °C mit 1%igem  $\text{OSO}_4$  in 0,01 M PB bei einem pH von 7,2. Nachdem die Postfixierung mit 30%igem Aceton gestoppt wurde, wurden die Proben langsam auf Raumtemperatur gebracht und in einer ansteigenden Aceton-Reihe entwässert. Der letzte Austausch erfolgt mit getrocknetem 100%igem Aceton, wonach die Proben für die Einbettung in Araldit vorbereitet wurden. Hierzu wurden sie über ein 1:1 Gemisch von Aceton und Propylenoxid in reines Propylenoxid überführt. Zur Infiltration mit dem Einbettmedium Araldit (hier zunächst nur Araldit:Araldit-Härter im Verhältnis 1:1) durchliefen die Proben eine Reihe von Araldit:Propylenoxid-Gemischen in den Verhältnissen 1:3, 1:1 und 3:1 von jeweils mindestens 2 Stunden Dauer, bevor sie für 24 Stunden in Blockschälchen mit reinem Araldit zum Entgasen gelagert wurden. Die Einbettung erfolgt in einem Araldit:Araldit-Härter:BDMA-Gemisch von 10:10:0,6. Die Proben härteten nun für mindestens 72 Stunden bei 60 °C aus.

Die Schnittserien wurden an Leica EM UC6 und Reichert Ultracut und Ultracut S Mikrotomen gefertigt. Die silbergrauen Schnittbänder wurden mit Single-Slot-Grids von der Wasseroberfläche aufgefischt, die mit Formvar- oder Pioloform-Folien befilmt waren. Die Kontrastierung erfolgte im Prototyp des Phoenix Kontrastierers oder Nanofilm TEM Stainer für 30 Minuten mit 2%igem Uranylacetat und für 20 Minuten mit Bleicitrat nach Reynolds (1963).

Die Schnitte wurden mit einem Philips CM 120 Biotwin, einem Philips 120 und einem Leica Libra 120 ausgewertet. Fotos wurden auf Imageplates (Ditabis), Negativen oder mit einer Tröndle Bottom-Mount Kamera aufgenommen. Aufnahmen auf Negativmaterial wurden für die weiteren Untersuchungen und Rekonstruktionen mit einem Negativscanner (Epson 10000xl) digitalisiert.

### **2.3.2 Rasterelektronenmikroskopie**

Die Fixierung und Entwässerung der Larven für die Rasterelektronenmikroskopie erfolgte entsprechend der Prozedur für die Transmissionselektronenmikroskopie bis hin zum letzten Schritt der aufsteigenden Acetonreihe. Hier wurde im Folgeschritt nicht mit getrocknetem Aceton sondern mit getrocknetem Reinstalkohol getauscht. Die kritische Punkt Trocknung wurde in einem Balzer CPD 030 oder einem Balzer CPD 040 durchgeführt. Die Besputterung erfolgte mit Gold in einem Balzer SCD 030 oder mit Silber in einem Balzer SCD 040.

Die Auswertung und Dokumentation der Präparate mittels Digitalaufnahmen wurde an einem Fei Quanta 200 durchgeführt.

### **2.3.3 Lichtmikroskopie**

Für die Lichtmikroskopie wurden Semidünnschnitte von den in Araldit eingebetteten Präparaten hergestellt. Dazu wurden Schnittbänder mit einem Jumbodiamanten (Diatome) entsprechend des Protokolls von Ruthensteiner (2008) an einem Reichert Ultracut oder einem Ultracut S erstellt. Die Färbung erfolgte mit Toluidin Blau. Die Aufnahmen wurden an einem Olympus BX-51 mit einer Kamera Olympus cc12 und dem Programm Dotslide 2.2 Olympus erstellt.

### 2.3.4 Konfokale Laserscanmikroskopie

Die Fixierung erfolgte für 45 Minuten bei 4°C mit einer 4%igen Paraformaldehyd-Lösung in 0,01 M PB bei einem pH von 7,2. Das Fixativ wurde im Anschluss durch wiederholtes Spülen mit 0,01 M PB ausgewaschen. Vor der Inkubation mit den primären Antikörpern wurden die auf Raumtemperatur gebrachten Proben für 2 Stunden im Präinkubationspuffer (0,25 % BSA und 0,1 % Triton in 0,01 M PB) vorbehandelt. Die Inkubation mit den primären Antikörpern fand über Nacht bei Raumtemperatur statt. Anschließend wurden die primären Antikörper über 6 Stunden wiederholt mit Tritonpuffer (0,1 % Triton in 0,01 M PB) ausgewaschen. Die geringfügige Beigabe von Triton in den Waschpuffer reduzierte das Festkleben der Larven an den Gefäßwänden der Inkubationsgefäße deutlich. Die Inkubation mit den sekundären Antikörpern erfolgte dann im Anschluss bei Raumtemperatur über Nacht. Nachdem der sekundäre Antikörper am Folgetag über 2 Stunden wiederholt ausgewaschen wurde, wurde bei einem Teil der Proben noch eine Inkubation mit gelabeltem Phalloidin für eine Stunde durchgeführt. Das Auswaschen des Phalloidin geschah wiederum mit drei Waschschrritten über 30 min. Die Auswertung der Proben fand an einem Leica cLSM TCS SPE oder einem Leica cLSM TCS SP2 statt. Bis zur Auswertung am cLSM wurden die Proben in Dunkelheit für maximal zwei Tage bei 4°C in einer Lösung aus 90 % Glycerin und 10 % 0,01 M PB (inklusive 0,25 % Dabco) gelagert. Mit dieser Lösung wurden die Proben zur Untersuchung auch eingedeckelt.

Es wurden maximal dreifache Färbungen durchgeführt, wobei nur der konjugierte Farbstoff für Phalloidin einzeln aufgetragen wurde, alle anderen Antikörper wurden jeweils als Mix angesetzt.

#### Primäre Antikörper

Serotonin IgG	rabbit	Sigma S5545
Tubulin acetyliert	mouse	Sigma T7451

#### Sekundäre Antikörper

Goat anti rabbit	Alexa Fluor 488	Invitrogen A11008
Goat anti rabbit	Alexa Fluor 568	Invitrogen A11011
Goat anti rabbit	Alexa Fluor 633	Invitrogen A21071
Goat anti mouse	Alexa Fluor 488	Invitrogen A11001
Goat anti mouse	Alexa Fluor 568	Invitrogen A11004
Goat anti mouse	Alexa Fluor 633	Invitrogen A21052

#### Konjugierte Farbstoffe

Phalloidin	Alexa Fluor 568	Invitrogen A12380
------------	-----------------	-------------------

## 2.4 BILDBEARBEITUNG UND BILDAUSWERTUNG

Die Bildbearbeitung und -auswertung erfolgte ausschließlich mit den Programmen Adobe Photoshop CS3/CS4, Fiji-ImageJ 1.46a (SCHINDELIN ET AL. 2012), Cell<sup>^</sup>D 3.3 und TrakEM2 (CARDONA ET AL. 2012). Rekonstruktionen wurden mit Hilfe des Adobe Illustrators CS3/CS4 erstellt.

### 3.1 *TEREBELLA LAPIDARIA*

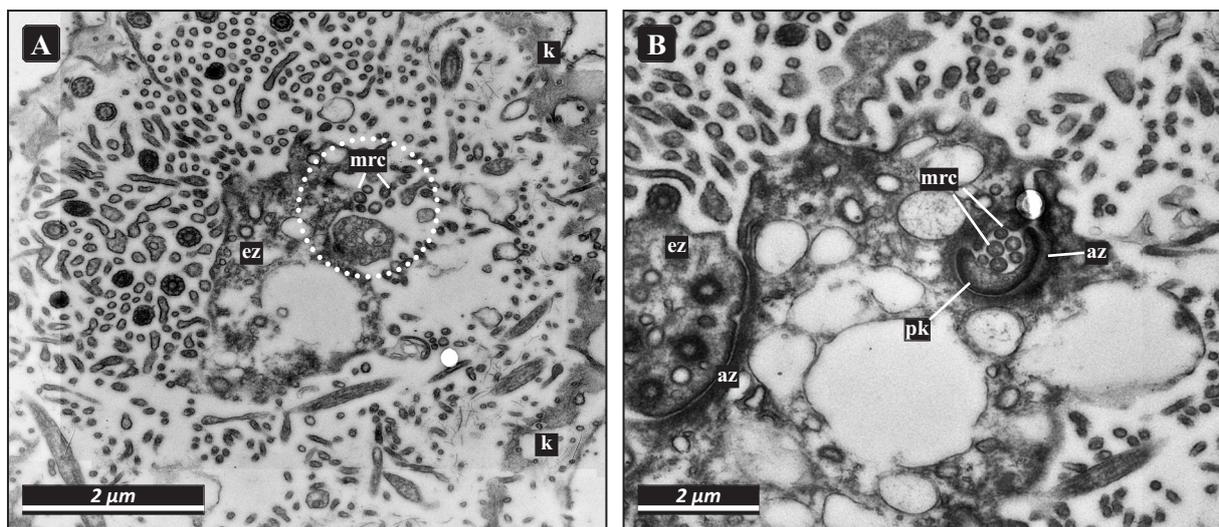
#### 3.1.1 Larvale Phaosomen

Die apikalen ciliären Sinnesorgane entwickeln sich bereits sehr früh. So können recht weit entwickelte Stadien des paarigen ciliären Organs bereits 12 Stunden nach der Befruchtung bei einigen, jedoch keinesfalls bei allen untersuchten Trochophora nachgewiesen werden. Durchweg ist das paarige Organ bei 36 Stunden alten Trochophora ausgebildet. Auch in den mit 4 Wochen ältesten untersuchten Larvenstadien findet sich an gleicher Stelle eine paarige Struktur, die sich ultrastrukturell etwas von der bei den jüngeren unterscheidet.

Die paarigen ciliären Organe befinden sich vor den pigmentierten Augen median eng aneinander liegend apikal im vordersten Bereich des Prostomiums. Jede der sowohl in Schnitten als auch in der Färbung mit acetyliertem  $\alpha$ -Tubulin auffälligen Strukturen wird von einer einzelnen multiciliären Zelle gebildet, die ihre Cilien in einen von ihr selbst gebildeten Extrazellularraum sendet. Es ist keine Stützzelle vorhanden. Somit handelt es sich entsprechend der Definition von EAKIN ET AL. (1988) um ein echtes Phaosom.

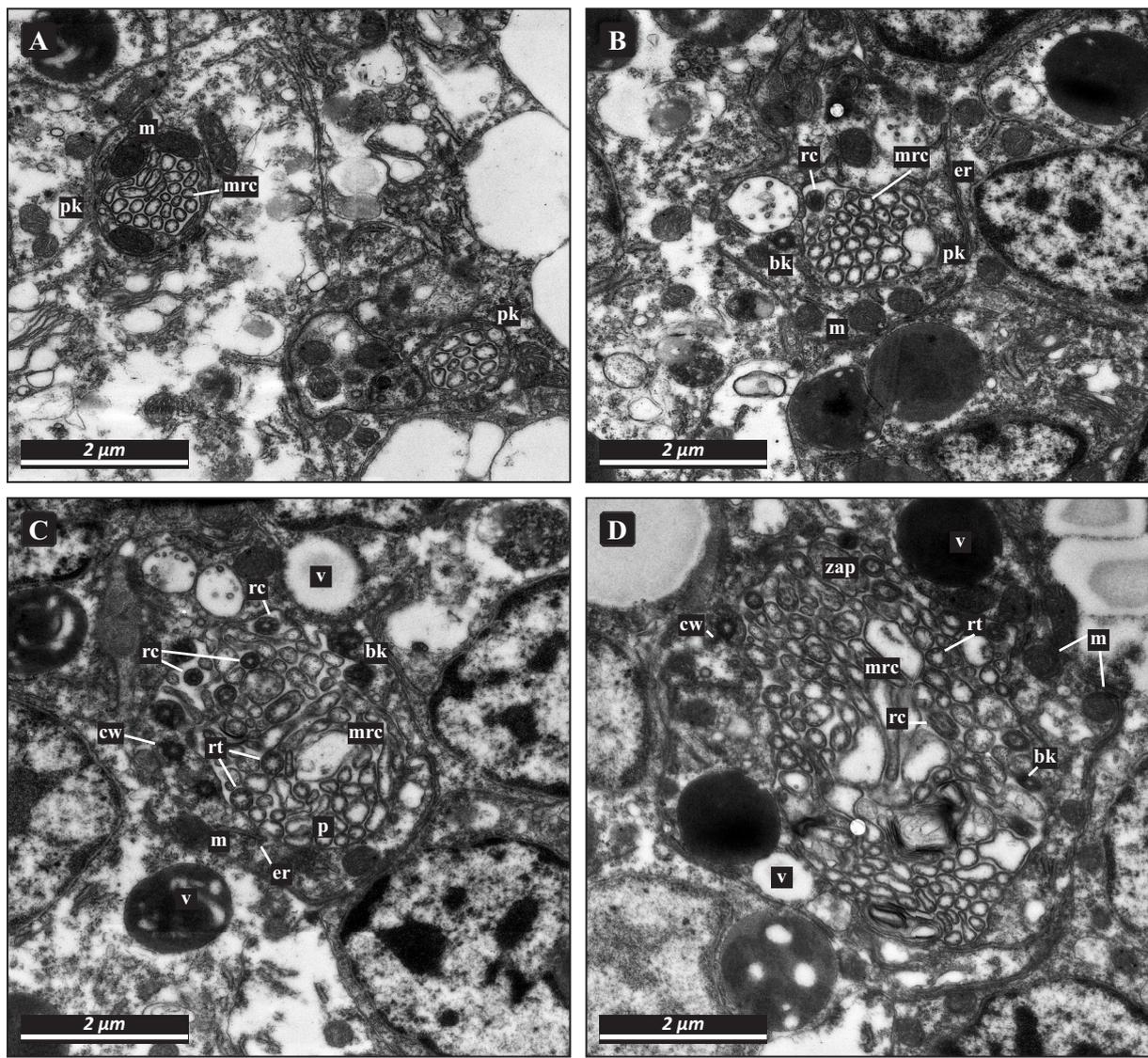
#### Phaosomen bei 84 Stunden alten Individuen

Die Zelle hat eine basoapikale Ausdehnung von etwa  $26\ \mu\text{m}$ . Sie beginnt offen mit einem Kanaleingang direkt unterhalb der Kutikula (Abb. 1.1B). Das Lumen des Kanals misst zu Beginn im Querschnitt circa  $350\ \text{nm}$ . Die von der Zelle selbst gebildete Wandung des Kanals hat eine Dicke von etwa  $150\ \text{nm}$ . Die Öffnung des Kanals endet auf gleicher Höhe mit den angrenzenden Epidermiszellen, mit denen die Zelle



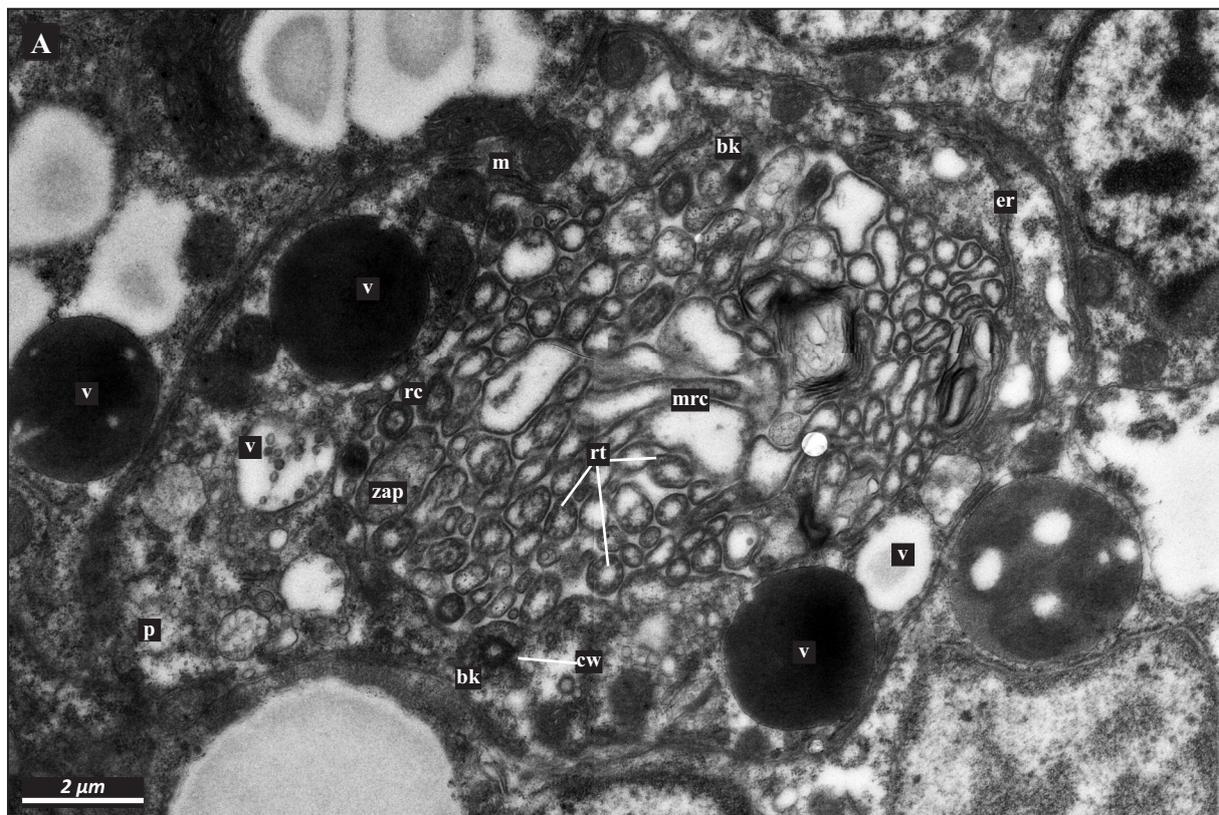
**Abbildung 1.1.** *Terebella lapidaria*. Larve 84 Stunden. TEM. Querschnitte Phaosom. **A.** Schnittebene direkt unterhalb der Kutikula mit ersten Anschnitten epidermaler Zellen und der Mikrovilli-artigen Ausläufer der Rezeptorcilien des Phaosoms (**Kreis**). **B.** Schnittebene etwas tiefer mit beginnendem Kanalabschnitt (**pk**). — **az**: Adhärenzzonen, **ez**: Epidermiszelle, **k**: Kutikula, **mrc**: Mikrovilli-artige Ausläufer der Rezeptorcilien, **pk**: Phaosom (Kanalabschnitt).

rundherum über Adhärenzonen und septate junctions verbunden ist. Dieser enge Kanalabschnitt reicht 10  $\mu\text{m}$  in die Tiefe. Aus dem Lumen des Kanals reichen sechs Mikrovilli-ähnliche Zellausläufer bis in den Extrazellularraum zwischen Epidermis und Kutikula (Abb. 1.1A). Im weiteren Verlauf des Kanals erweitert sich nach etwa 500 nm zunächst dessen Lumen auf bis zu 1  $\mu\text{m}$ , wohingegen die Dicke der Wandung nur auf 200 nm anwächst und von bereits zahlreich vorhandenen Mitochondrien, die etwa 500 nm im Durchmesser messen, regelrecht ausgebeult wird (Abb. 1.2A). Das Lumen ist von Mikrovilli-ähnlichen Zellausläufern ausgefüllt, zwischen denen sich kleine extrazelluläre Spalträume befinden. Der Ursprung der Ausläufer lässt sich im weiteren Verlauf als die distalen Fortsätze der Sinneszellcilien deuten. Die Cilien entspringen in ihrer Masse in einem vergleichsweise kleinen definierten Bereich, der etwa 10  $\mu\text{m}$  tief im Gewebe liegt und zugleich das proximale Ende des engeren Kanalbereichs markiert, der sich in den folgenden 2  $\mu\text{m}$  deutlich schneller vergrößert (Abb. 1.2 C). Hier werden von der Zelle aus einem nur etwa



**Abbildung 1.2.** *Terebella lapidaria*. Larve 84 Stunden. TEM. Querschnitte Phaosom. **A.** und **B.** Kanalabschnitt des Phaosoms, Schnittebene B proximaler als in Abbildung A. **C.** und **D.** Schnittebenen nach dem Kanalabschnitt mit der Ursprungszone der Rezeptorcilien. — **bk:** Basalkörper, **cw:** Cilienwurzel, **er:** Endoplasmatisches Retikulum, **m:** Mitochondrien, **mrc:** Mikrovilliartige Ausläufer der Rezeptorcilien, **p:** Phaosom (Zellkörper), **pk:** Phaosom (Kanalabschnitt), **rc:** Rezeptorcilien, **rt:** Cilienanschnitte ohne Zentraltubuli, **v:** Vakuole, **zap:** Zellausläufer des Phaosoms.

1  $\mu\text{m}$  breiten Gürtel der Großteil der Cilien entsendet - sowohl nach apikal als auch nach basal. Der Durchmesser des erweiterten Kanals beträgt hier bereits über 2,5  $\mu\text{m}$  und auch die Wandung ist so verdickt, dass die im Querschnitt noch immer recht runde nur leicht ovoide Zelle einen Gesamtquerschnitt von etwa 5  $\mu\text{m}$  aufweist. Nur wenige Cilien haben ihren Ursprung nicht in dem definierten Gürtelbereich, sondern entspringen bereits im Kanalbereich (Abb. 1.2B) oder unterhalb der genannten Zone. Alle beobachteten Cilien besitzen einen Basalkörper, aber es konnten in keinem Fall Centriolen oder Wurzelstrukturen beobachtet werden. Die Cilien sind zahlreich. Aus den Serienschnitten in dem Gürtelbereich konnte eine Anzahl von ca. 50 Stück ermittelt werden. Das Axonem zeigt in basalen Abschnitten der Cilien zunächst das typische 9x2 plus 2 Muster, verliert jedoch nach apikal relativ schnell die Zentraltubuli. Die ringförmig angeordneten Tubuli bleiben über eine längere Strecke erhalten. Je weiter man sich in den Schnitten jedoch von dieser Wachstumszone entfernt, desto seltener sieht man das komplette 9x2 Muster, ohne dass dieser Verlust an Tubuli einem erkennbaren Muster folgen würde. Die Cilienfortsätze verzweigen sich im Verlauf kaum, teilweise erweitern sie sich aber unregelmäßig, in Anschnitten wirken sie dadurch gelegentlich verzweigt. Auf vielen Schnitten vor allem im basalen Bereich der Zelle zählt man deutlich mehr als 50 Anschnitte, da sich die Cilien biegen und dann häufig mehrfach angeschnitten werden. Die Zelle hat im Querschnitt nun eine deutlich ovoide Form mit einer Ausdehnung des inneren Extrazellularraums von etwa 6  $\mu\text{m}$  mal 2,5  $\mu\text{m}$  (Abb. 1.2D). Die gesamte Zelle hat eine Ausdehnung von etwa

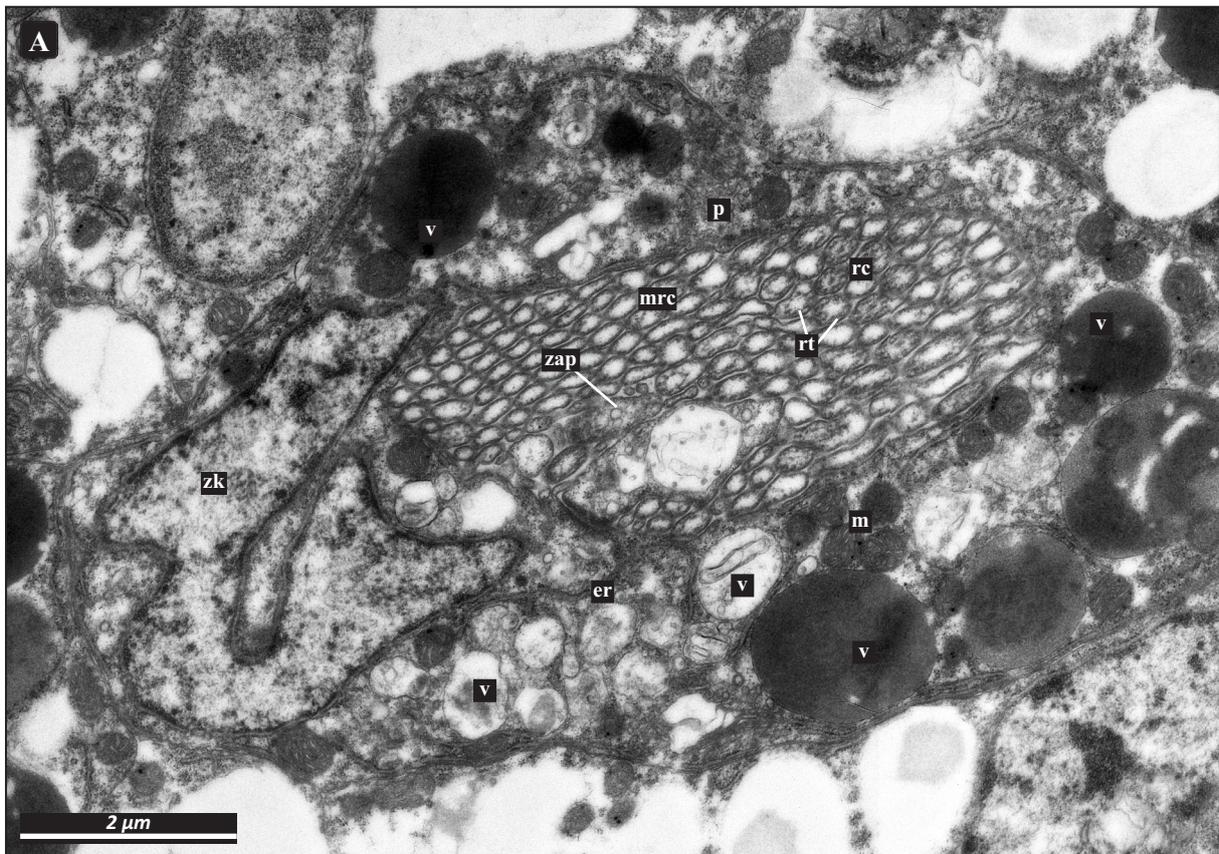


**Abbildung 1.3.** *Terebella lapidaria*. Larval 84 Stunden. TEM. Querschnitt Phaosom. **A.** Schnittebene unterhalb des Kanals durch den Zellkörper oberhalb des Zellkerns. — **bk:** Basalkörper, **cw:** Cilienwurzel, **er:** Endoplasmatisches Retikulum, **m:** Mitochondrien, **mrc:** Mikrovilli-artige Ausläufer der Rezeptorcilien, **p:** Phaosom (Zellkörper), **rc:** Rezeptorcilien, **rt:** Cilienanschnitte ohne Zentraltubuli, **v:** Vakuole, **zap:** Zellausläufer des Phaosoms.

10  $\mu\text{m}$  mal 5  $\mu\text{m}$ . Seltener als die Cilienausläufer, aber dennoch durch ihrer Beschaffenheit sehr auffallend, finden sich vor allem im basalen Bereich der Zelle deutliche Zellfortsätze zwischen den Cilien, die sich mit abnehmendem Durchmesser von den Cilienfortsätzen kaum mehr unterscheiden lassen (Abb. 1.3A). Diese Zellausläufer verzweigen sich einfach und ragen teils sehr weit in den mit Cilien gefüllten Raum. Sie können dabei anfangs sehr massiv und deutlich dicker als die Cilienfortsätze sein. Teils findet man auch in ihren distalen Enden noch einzelne Mitochondrien (Abb. 1.5A). Der Extrazellularraum endet vergleichsweise abrupt, ohne sich erneut in auffälliger Weise zu verzüngen.

Die Zelle besitzt über ihre komplette Ausdehnung eine außergewöhnlich hohe Anzahl an Mitochondrien. Bereits im Kanalabschnitt wird dies, wie bereits erwähnt, deutlich. Die Präsenz erhöht sich nach basal so stark, dass dort in Querschnitten knapp über 30 dieser Organellen gezählt werden können. Zur Zellbasis hin nimmt auch die Anzahl der Vakuolen, die teils durch die Fixierung leergespült, häufig aber mit leicht bis stark elektronendichtem Material gefüllt sind, deutlich zu. Einzelne dieser Vakuolen und Zeileinschlüsse enthalten weitere kleinere Vakuolen oder filamentöses Material. Die Vakuolen weisen Durchmesser von bis zu 1  $\mu\text{m}$  auf.

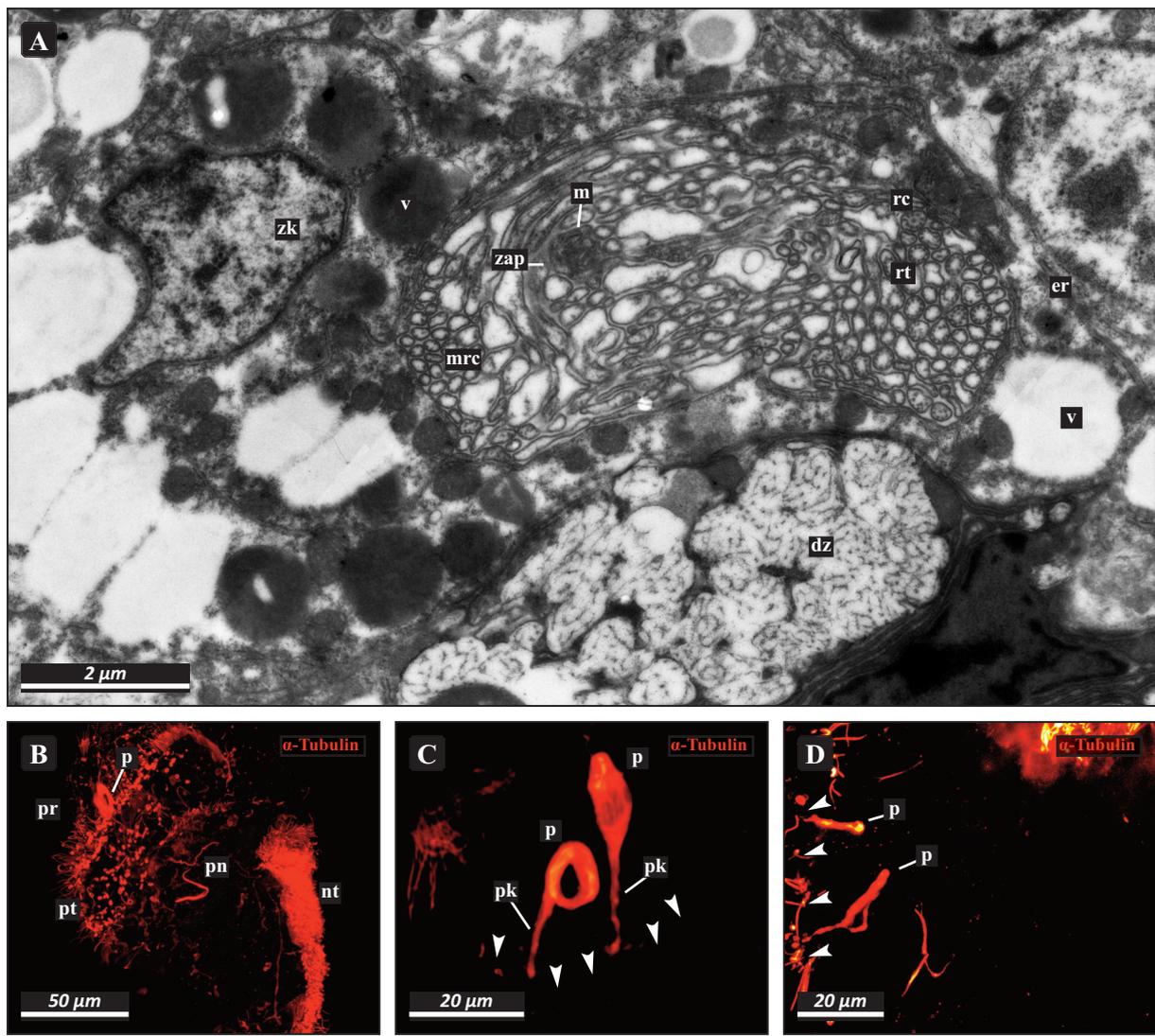
Der Zellkern liegt an einer der schmalen Seiten des Hohlraums (Abb. 1.4A). Er beginnt etwa 17  $\mu\text{m}$  unterhalb des apikalen Endes der Zelle, erstreckt sich etwa weitere 6  $\mu\text{m}$  basad und liegt somit im unteren Drittel der Zelle. Er weist einige tiefe Furchungen auf und enthält überwiegend Heterochromatin. Das



**Abbildung 1.4.** *Terebella lapidaria*. Larve 84 Stunden. TEM. Querschnitt Phagosom. **A.** Schnittebene weiter proximal als vorherige Abbildung auf Höhe des Zellkerns. — **er**: Endoplasmatisches Retikulum, **m**: Mitochondrien, **mrc**: Mikrovilli-artige Ausläufer der Rezeptorcilien, **p**: Phagosom (Zellkörper), **rc**: Rezeptorcilien, **rt**: Cilienanschnitte ohne Zentraltubuli, **v**: Vakuole, **zap**: Zellausläufer des Phagosoms, **zk**: Zellkern.

Cytoplasma ist angefüllt mit weitreichenden Ausläufern des endoplasmatischen Reticulums, das apikal bis weit hinein in die Wandungen des Kanalbereichs der Zelle führt und mit jedem Anschnitt getroffen wird. In direkter Nachbarschaft des Phaosoms liegt nun eine große Drüsenzelle, die direkt mit der Sinneszelle in Berührung kommt, mit ihr aber in keine Wechselwirkung zu treten scheint (Abb. 1.5A). Die Drüsenzelle ist stark von endoplasmatischem Reticulum durchzogen und weist zahlreiche elektronenhelle Zelleinschlüsse auf.

Weder in den ultradünnen Schnittserien noch in den mit acetyliertem  $\alpha$ -Tubulin markierten Präparaten konnte eine nervöse Anbindung der Organe an das prostomiale Gehirn nachvollzogen werden (Abb. 1.5B-D). Es konnten in den ultrastrukturellen Schnittserien keine Strukturen als Axone oder Dendriten der Zellen angesprochen werden.

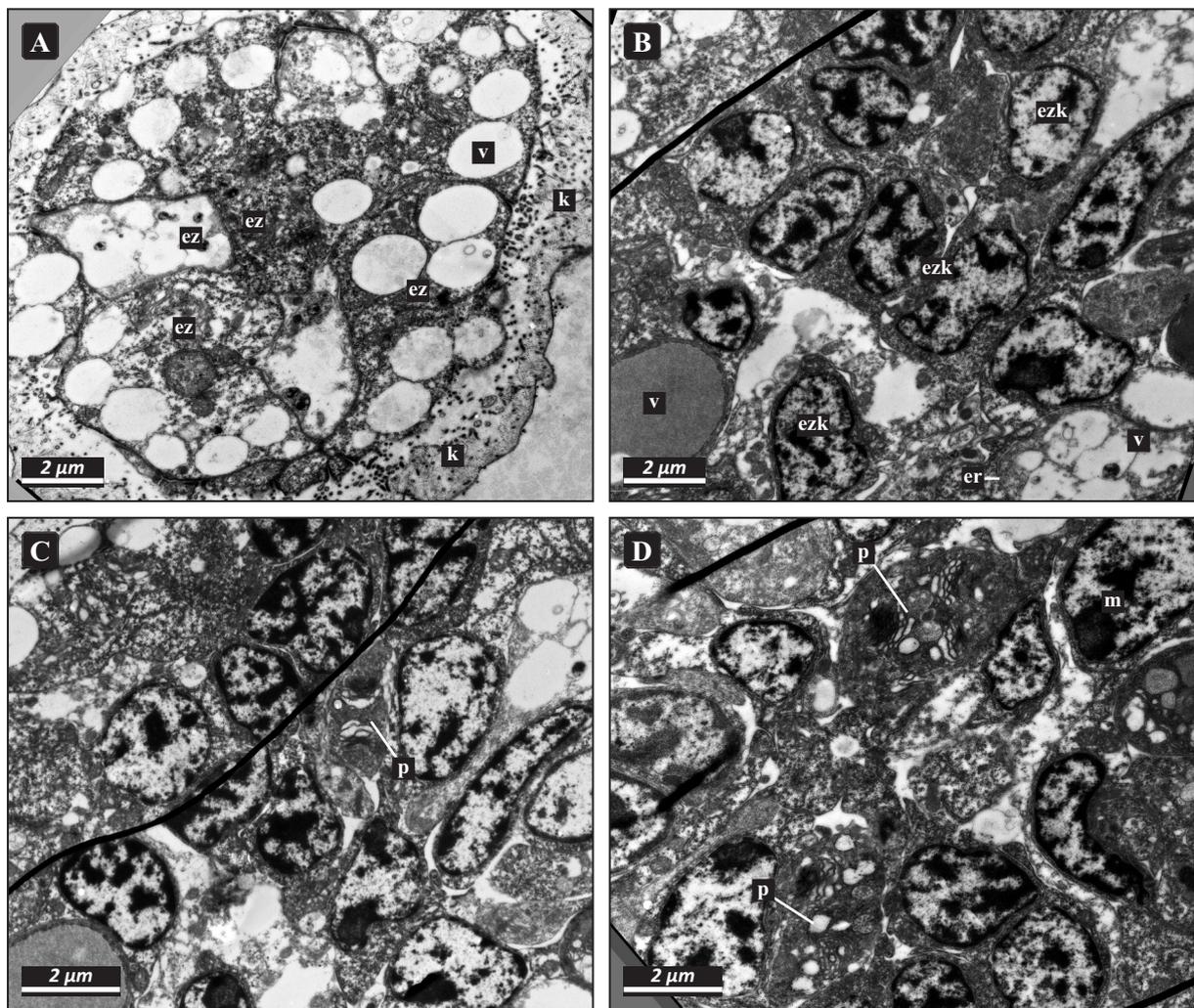


**Abbildung 1.5.** *Terebella lapidaria*. Larve 84 Stunden. Phaosom. **A.** TEM Querschnitt. Schnittebene unterhalb des Zellkerns. **B-D.** CLSM Markierung gegen  $\alpha$ -Tubulin. **B.** Habitusansicht. Lage der Phaosomen (**p**) im Prostomium (**pr**) der Larve. **C.** Die Kanäle (**pk**) der Phaosomen (**p**) ziehen direkt unter die Kutikula (**Pfeilspitzen**). **D.** In der Antikörpermarkierung sind keine Nervenzellen nachweisbar, die die Phaosomen innervieren (**p**). — **dz**: Drüsenzelle, **er**: Endoplasmatisches Reticulum, **m**: Mitochondrien, **mrc**: Mikrovilli-artige Ausläufer der Rezeptorcilien, **nt**: Neurotroch, **p**: Phaosom, **pk**: Phaosom (Kanalabschnitt), **pn**: Protonephridium, **pr**: Prostomium, **pt**: Prototroch, **rc**: Rezeptorcilien, **rt**: reduzierte Zentraltubuli, **v**: Vakuole, **zap**: Zellausläufer des Phaosom, **zk**: Zellkern, **Pfeilspitzen**: Verlauf der Kutikula.

**Phaosomen bei 4 Wochen alten Individuen**

Die am längsten gehälterten Stadien wurden 4 Wochen nach der Fertilisation für die Elektronenmikroskopie fixiert. Aufgrund der hohen Letalität und der schwindenden Larvenzahl konnten für diese Stadien keine Fixierungen für immunhistologische Untersuchungen durchgeführt werden. Der prostomiale Bereich wurde elektronenmikroskopisch nach Organen durchsucht, die den bei jüngeren Stadien gefundenen Phaosomen entsprechen könnten.

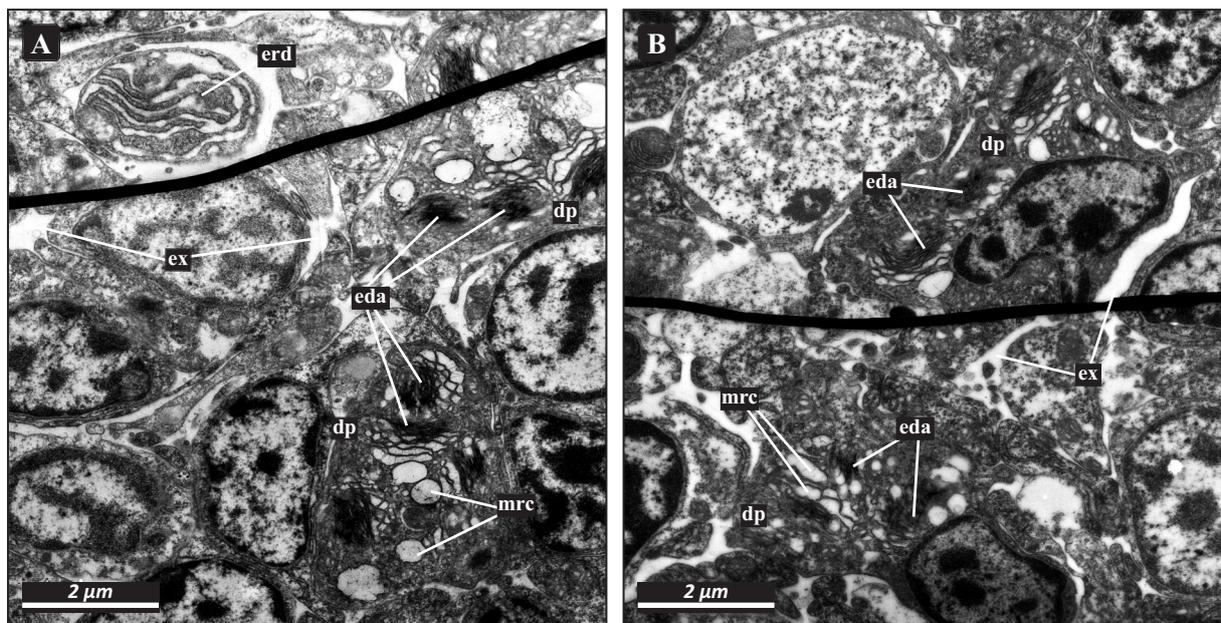
Im vorderen prostomialen Bereich findet sich eine paarige Struktur, die sowohl von ihrer Lage als auch von ihrer Nachbarschaft her den bereits beschriebenen Phaosomen der jüngeren Stadien entsprechen könnte (1.6C). Das mesodermale Gewebe direkt unterhalb der Epidermis, in das die noch näher zu beschreibenden Strukturen eingebunden sind, ist geprägt von seiner lockeren Struktur (Abb. 1.6B). Zwischen vielen Zellen finden sich extrazelluläre Räume und Spalten, viele Zellausläufer durchziehen die Region und es finden



**Abbildung 1.6.** *Terebella lapidaria*. Larve 4 Wochen. TEM. Querschnitte Phaosom. **A.** und **B.** Aufeinander folgende Anschnitte unterhalb der Kutikula mit ersten Epidermiszellen. Kein Phaosom oder deren Kanalbereiche sind nachweisbar. **C.** und **D.** Schnitte weiter proximal im Gewebe mit Anschnitten der mutmaßlich in Auflösung befindlichen Phaosomen. — **er:** Endoplasmatisches Retikulum, **ez:** Epidermiszelle, **ezk:** Zellkern der Epidermiszelle, **k:** Kutikula, **m:** Mitochondrien, **mrc:** Mikrovilli-artige Ausläufer der Rezeptorcilien, **p:** Phaosom, **v:** Vakuole, **zke:** Zellkern Epidermiszellen.

sich viele Zellen mit ausgeprägtem endoplasmatischem Reticulum, das mitunter fast der einzige Zellinhalt im ansonsten sehr elektronenhellen Cytoplasma zu sein scheint (Abb. 1.7A). Auch in der Nachbarschaft der zuvor beschriebenen jüngeren larvalen Phaosome fanden sich viele Zellen, mit einem stark ausgebildeten endoplasmatischen Retikulum, allen voran die dort angesprochenen Drüsenzellen. Die mutmaßlichen späten Phaosome unterscheiden sich in ihrer Struktur stark von den bei jungen Larven beobachteten Organen. Ein Kanal zur Kutikula oder eine ähnliche Verbindung konnte nicht beobachtet werden (Abb. 1.6B). Die Zellen erscheinen nun ausgefüllt von vielen Vakuolen oder Mikrovilliausläufern. Diese inneren Strukturen wirken jedoch eher wie in Golgi-Stapeln geschichtet und scheinen um mehrere sehr elektronendunkle Zentren angeordnet zu sein, ohne dabei eine tatsächliche höhere Ordnung erkennen zu lassen (Abb. 1.6D). Die einzelnen Vakuolen oder Ausläufer sind selten rundlich, sondern eher unregelmäßig im Querschnitt und wirken dabei aber immer etwas eckig. Deutlich ist in ihrem Inneren filamentöses Material zu sehen, das sich quer durch das Lumen zieht und die Wände zu verbinden scheint. Flankiert sind diese Vakuolen-Stapel von Vakuolen-Blasen, so dass man sich auch hier an Golgi-Stapel erinnert fühlt, würde nicht ihre Größe dagegen sprechen. Deutlich unterscheiden sich die beschriebenen Strukturen von den ausgeprägten ERs der umliegenden Zellen. Niemals wirken die Membranen rau oder auch nur annähernd so dick, wie die des benachbarten ERs. Die Ausdehnung des so gefüllten Raumes misst maximal etwa  $6\ \mu\text{m}$  mal  $2\ \mu\text{m}$ . Die knapp unterhalb der Epidermis beginnenden Zellen der beiden mutmaßlichen Phaosomen erstrecken sich jeweils über etwa  $18\ \mu\text{m}$  in das Gewebe. Dies entspricht ungefähr der Ausdehnung des subepidermalen Hohlraums der larvalen Phaosomen ohne den distalen Kanal (Abb. 1.7B).

Die Lage, die Paarigkeit, ihre Nachbarschaft zu Zellen, die auffallend reich an rauen ER sind und die übereinstimmenden Dimensionen werden als Anhaltspunkte dafür gesehen, dass es sich hier tatsächlich um die Degenerationsstadien der larvalen Phaosomen handelt.



**Abbildung 1.7.** *Terebella lapidaria*. Larve 4 Wochen. TEM. Querschnitte Phaosom. **A.** und **B.** Fortführung der Schnittserie weiter nach proximal. Im Umfeld der Phaosomen finden sich zahlreiche Extrazellularräume und Zellen, die ein ausgeprägtes ER aufweisen. — **eda**: elektronendunkle Anteile, **erd**: Endoplasmatisches Retikulum Drüsenzelle, **ex**: Extrazellularraum, **mrc**: Mikrovilli-artige Ausläufer der Rezeptorcilien, **dp**: degenerierendes Phaosom, **v**: Vakuole.

## 3.2 SABELLARIA ALVEOLATA

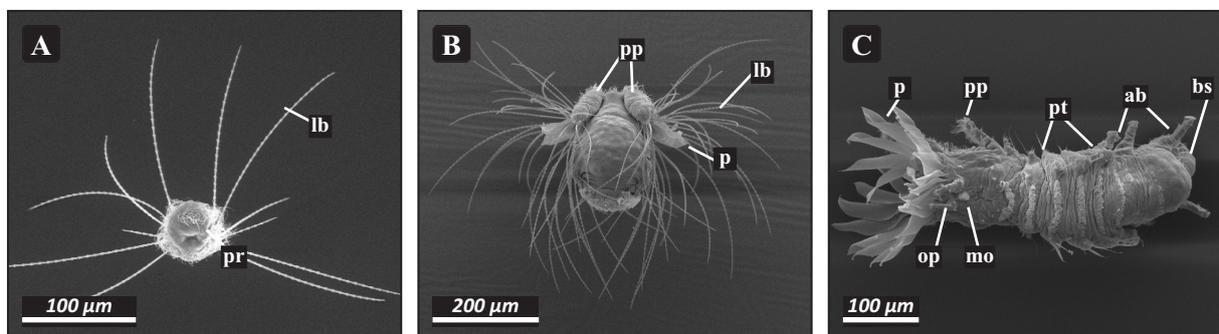
### 3.2.1 ENTWICKLUNG

Die Zucht von *Sabellaria alveolata* gelingt auch im Labor problemlos und wurde bereits häufig beschrieben. WILSON (1929, 1970, 1977) lieferte detaillierte Veröffentlichungen über die larvale Entwicklung bis hin zum metamorphierten juvenilen Individuum. Auf eine Revision seiner Erkenntnisse wird hier verzichtet. Der Focus der vorliegenden ontogenetischen Untersuchung liegt ganz darauf, die Umwandlung der Kopfregion vom juvenilen zum adulten Wurm zu verstehen und die Lageveränderungen der beteiligten Kopfanhänge und Gewebe nachzuvollziehen, da die Nuchalorgane von *S. alveolata* bisher nur bei Adulti beschrieben wurden (JOHANSSON 1927, RULLIER 1950, 1951, ORRHAGE 1978).

Einbezogen in die Untersuchungen werden die pro- und peristomiale Gewebe, die an der Basis der Palpen und die Kopfanhänge in Form von Palpen und Operkularlappen. Dabei werden die Nuchalorgane in den semidünnen Schnittserien oder den REM Aufnahmen nicht beschrieben.

Die Nuchalorgane selbst wurden ultrastrukturell an vollständig metamorphierten juvenilen Würmern untersucht. Dies bietet zwei Vorteile. Zum einen können wegen der geringeren Größe der Tiere komplette Querschnitte gefertigt werden, zum anderen zeigen die juvenilen Würmer noch nicht in Gänze die komplexe Cephalisation der Adulti. So lassen sich die anzusprechenden Gewebe besser ihrem ontogenetischen Ursprung zuordnen. Die geringe Lageveränderung vom juvenilen zum adulten Wurm wird sowohl anhand semidünner lichtmikroskopischer Schnittserien als auch durch den Vergleich rasterelektronenmikroskopischer Untersuchungen nachvollzogen.

Durch rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen wird ferner die Entwicklung der Larven- und Juvenilstadien dokumentiert. Da sich die Larven von *S. alveolata* nicht nur individuell, sondern auch von Zuchtansatz zu Zuchtansatz sehr uneinheitlich entwickeln, erscheint dies sinnvoll. Eine Einteilung der Larven erfolgt somit besser nach ihrer morphologischen Gestalt, als nach ihrem Alter (Abb. 2.1A-C, siehe z. B. BRINKMANN ET AL. 2010).



**Abbildung 2.1.** *Sabellaria alveolata*. REM. Entwicklungsstadien. **A.** Ansicht frontal, 8 Tage. **B.** Ansicht dorsocaudal, 13 Wochen. **C.** Ansicht dorsal, 15 Wochen. — **ab:** Abdomen, **bs:** borstenlose Schwanzregion, **ca:** Cilien des Apikalorgans, **lb:** Larvalborsten, **mo:** Medianorgan, **op:** Operkularpapillen, **p:** Paleen, **pp:** Palpen, **pr:** Prototroch, **pt:** Parathorax.

## ERGEBNISSE DER RASTERELEKTRONENMIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNGEN

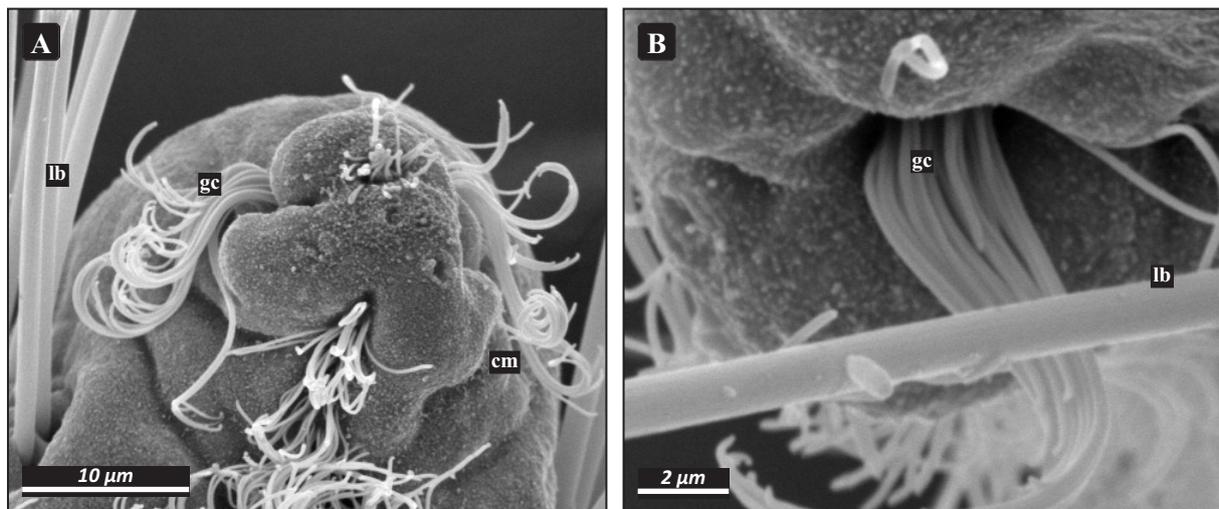
Von allen Stadien, die für spätere ultrastrukturelle TEM-Untersuchungen fixiert wurden, wurden auch Präparate für REM-Untersuchungen gefertigt. Ferner wurden einige Präparate adulter Würmer zur Klärung der möglichen Lage der Nuchalorgane für die Rasterelektronenmikroskopie in speziellen Schnittebenen präpariert.

Da die vermuteten Nuchalorgane bei adulten Würmern median an der Basis der Palpen beschrieben wurden, wird bei der folgenden Dokumentation der Entwicklung besonderes Augenmerk auf drei Aspekte gelegt: Wie genau erfolgt die Umwandlung der paleotragenden Gewebe (Operkularlappen), wie erreichen die Palpen ihre Adultlage und welche Gewebe des umgewandelten juvenilen Wurms können als pro- bzw. peristomial angesprochen werden? Dabei sollen die einleitend genannten Arbeiten Wilsons als grundlegend gelten und in dieser Arbeit nicht überarbeitet, sondern im Sinne der speziellen Fragestellung stellenweise präzisiert werden.

Die Metamorphose fand bei diesem Zuchtansatz, der bewusst knapp an Nahrung gehalten wurde, um auf Antibiotikagabe verzichten zu können, um die 12. Woche nach Fertilisation statt. In diesem Zeitraum wurden möglichst die am weitesten fortgeschrittenen Individuen mit 9 Wochen, 13 Wochen, 15 Wochen und 16 Wochen fixiert. Die letzte Fixierung erfolgte nach 20 Wochen.

### 9 Wochen alte Stadien

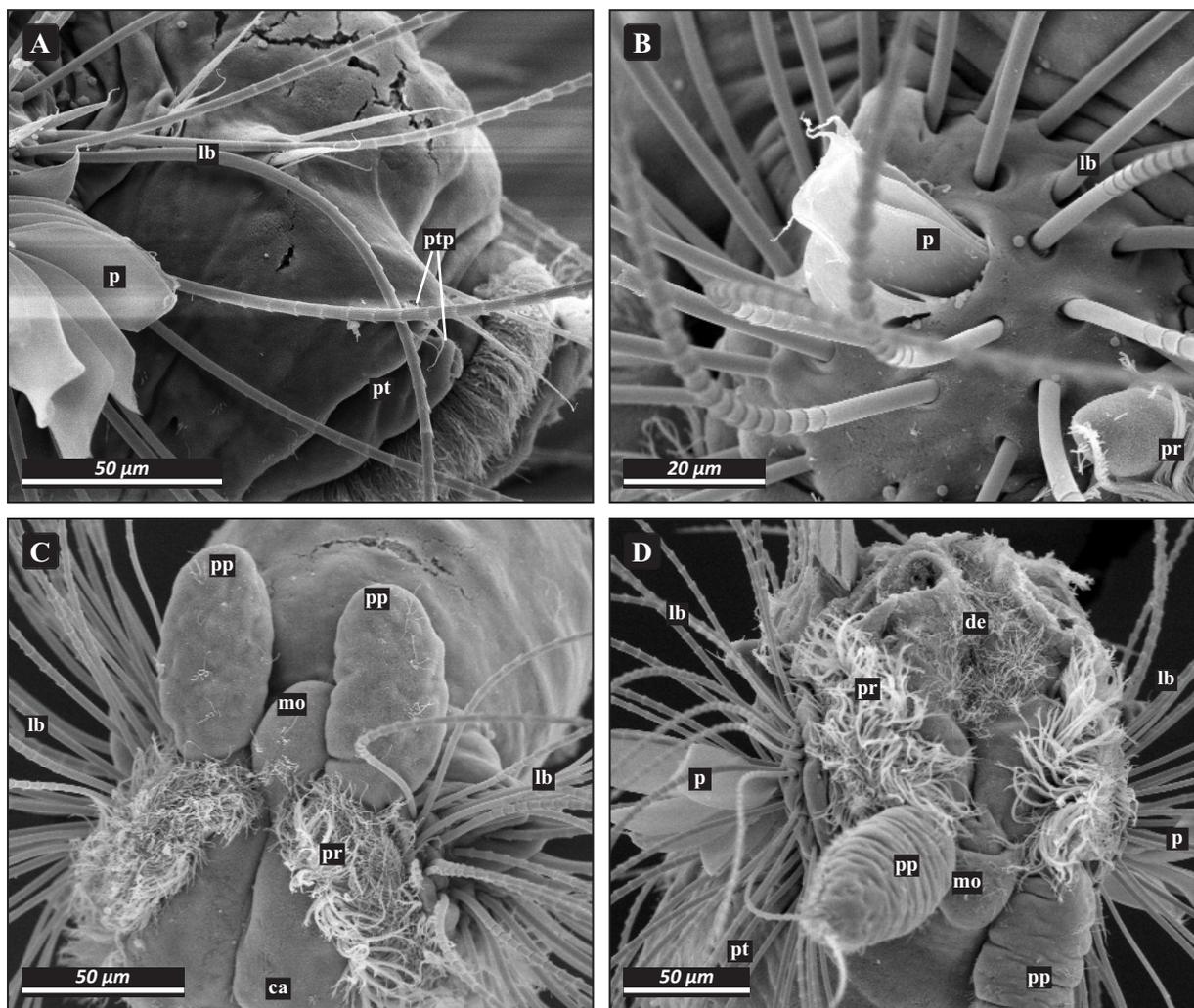
Die 9 Wochen alten Individuen befanden sich im letzten Trochophora-Stadium, das auch als Metatrochophora bezeichnet wird. Bis auf ein kleines caudales Schwänzchen, das allerdings weder Borsten noch äußerlich sichtbare Anzeichen einer Segmentierung aufweist (Abb. 2.2A), gibt es keine Hinweise auf eine beginnende Metamorphose. Caudolateral befindet sich je ein Büschel längerer Cilien, die bereits von WILSON (1968) als *grasping-cilia* beschrieben wurden (Abb. 2.2A, B).



**Abbildung 2.2.** *Sabellaria alveolata*. REM. Metatrochophora 9 Wochen. **A.** Detailansicht des caudalen Bereichs der Metatrochophora. Deutlich elongiert noch ohne Borsten. **B.** Detailansicht der *grasping-cilia*. — **cm**: caudaler Bereich der Metatrochophora, **gc**: *grasping cilia*, **lb**: Larvalborsten.

13 Wochen alte Stadien

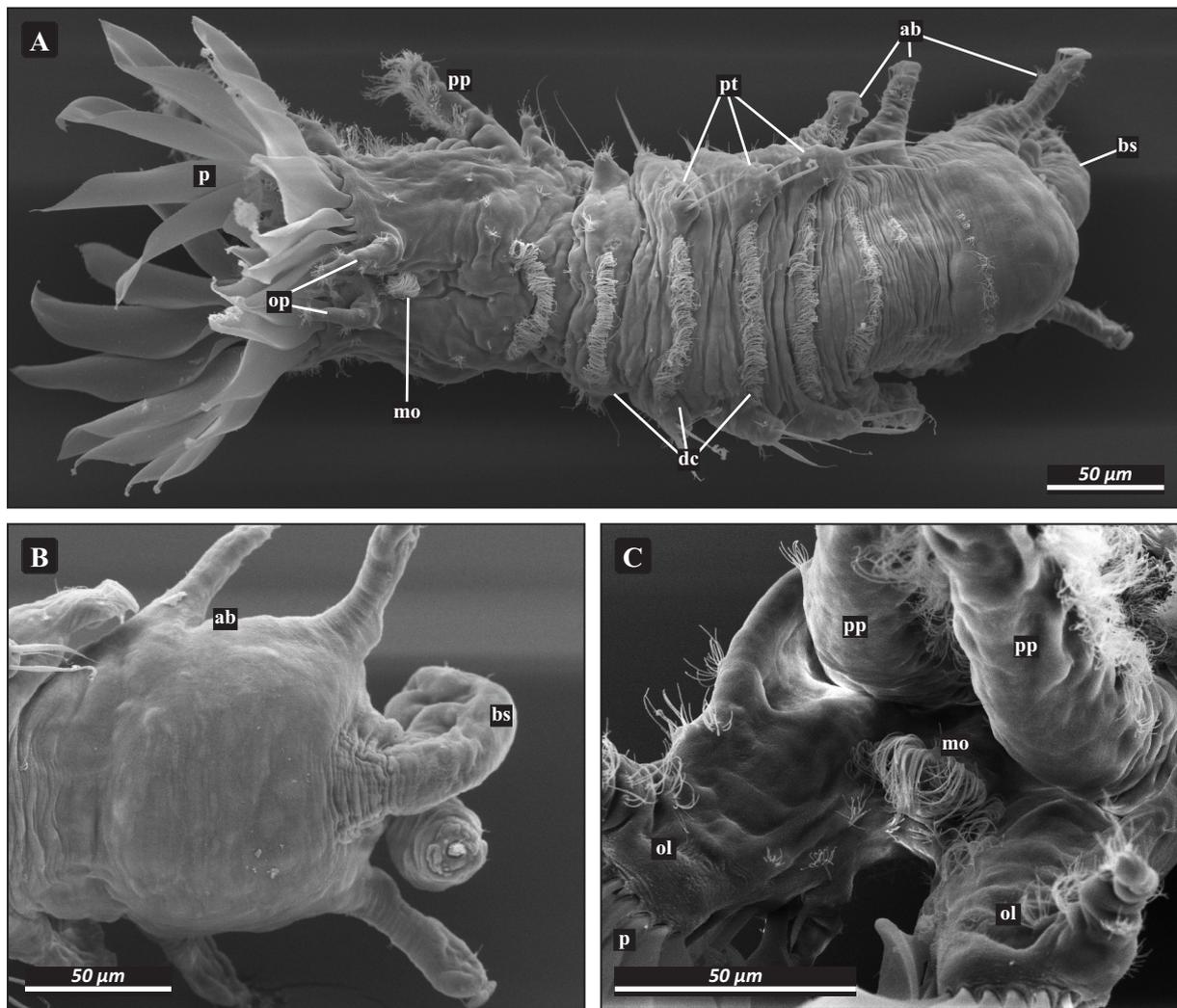
Bei den 13 Wochen alten Individuen handelt es sich um das letzte frei schwimmende Stadium, das aber bereits deutliche Zeichen der beginnenden Metamorphose zeigt. Abgesehen davon, dass die Larve nun deutlich kompakter ist und in der Körperform eher tonnenartig als tropfenförmig erscheint (Abb. 2.1B), haben sich die drei borstentragenden parathorakalen Segmente ausgebildet (Abb. 2.3A). Noch umfangreicher sind jedoch die Veränderungen im Bereich des zukünftigen Kopfes. In der Mitte der beidseitig lateral unmittelbar hinter dem Prototroch liegenden Larvalborsten zeigen sich die Spitzen der ersten Paleen (Abb. 2.3B). Dorsal direkt hinter dem Prototroch wächst deutlich ein Paar nach caudal gerichteter Palpen aus (Abb. 2.3C). Das Prostomium weist bei allen fixierten Individuen dieses Stadiums eine unregelmäßige äußere Form mit Einbuchtungen und Ausstülpungen auf (Abb. 2.3D), was nicht als Fixierungsartefakt angesehen wird, da alle übrigen Körperstrukturen bestens erhalten sind und die Individuen in unterschiedlichen Batches fixiert wurden.



**Abbildung 2.3.** *Sabellaria alveolata*. REM. Larve 13 Wochen. **A.** Detail Parathorax mit ersten Borstentragenden Setigern. **B.** Detail laterale Larvalborsten mit ersten Paleen. **C.** Dorsale Detailansicht apikal mit auswachsenden Palpen und dem mutmaßlichen Medianorgan. **D.** Dorsale Detailansicht des apikalen Körperabschnitts. Etwas weiter entwickeltes Stadium mit ersten Paleen. — **ca:** Cilien des Apikalorgans, **de:** degenerierender Teil der Episphäre, **lb:** Larvalborsten, **mo:** Medianorgan, **p:** Paleen, **pp:** Palpen, **pr:** Prototroch, **pt:** Parathorax, **ptp:** Parathorakale Parapodien.

**15 und 16 Wochen alte Stadien**

Die 15 und 16 Wochen alten Stadien (Abb. 2.4A) haben die Metamorphose vollständig durchlaufen, sich niedergelassen und eine Röhre gebaut, die aufgrund fehlenden Sediments in den Zuchtbehältern allein aus dem selbstproduzierten Kit besteht und somit durchsichtig ist. Die nur eine Woche auseinanderliegenden Stadien unterscheiden sich morphologisch nicht voneinander. Die Larvalborsten wurden offensichtlich erst nach dem Festsetzen innerhalb kürzester Zeit abgestoßen, denn sie befanden sich in jeweils zwei Ansammlungen rechts und links der Röhre. Caudal der drei parathorakalen Segmente befinden sich weitere drei abdominale Segmente und abschließend die borstenlose caudale Schwanzregion (Abb. 2.4B). Die Umwandlungen im Kopfbereich sind deutlich weiter fortgeschritten. Die vor der vollständigen Metamorphose lateral beidseitig nach außen gerichteten Paleenbündel weisen nun wie beim Adultus den Operkularlappen aufsitzend nach frontal. Die Operkularlappen sind dorsomedian allerdings noch nicht so weit verwachsen wie beim Adultus. Während der frontalen Ausrichtung müssen sie die dorsal angelegten Palpen überwachsen oder verschoben haben, denn die Palpen befinden sich nun relativ zu den Operkularlappen gesehen ventral.



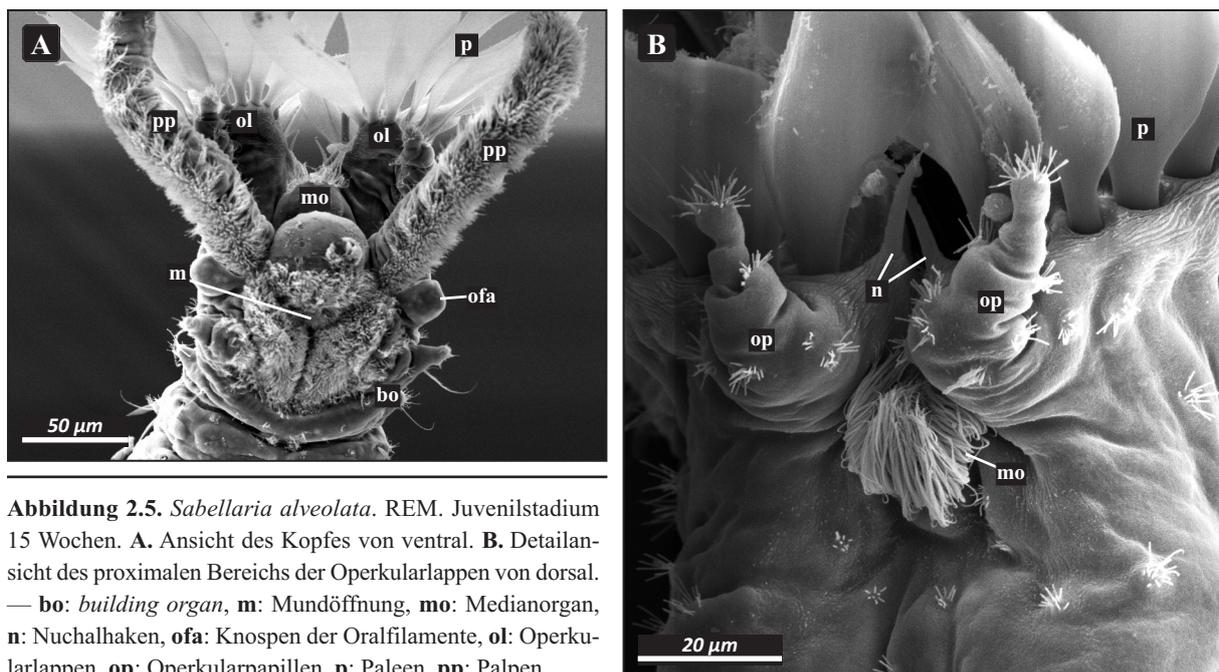
**Abbildung 2.4.** *Sabellaria alveolata*. REM. Juvenilstadium 15 Wochen. **A.** Habitus, Ansicht dorsal. **B.** Detailansicht Abdomen von dorsal. **C.** Detailansicht Kopfbregion von ventral. — **ab:** Abdomen, **bs:** borstenlose Schwanzregion, **dc:** dorsale Cilienbänder, **mo:** Medianorgan, **ol:** Operkularlappen, **op:** Operkularpapillen, **p:** Paleen, **pp:** Palpen, **pt:** Parathorax.

Zwischen den Operkularlappen sitzt dorsal ein nicht nur durch seine etwas exponierte Lage auffälliges, unpaares Cilienbüschel, dessen Cilien länger sind und das deutlich größer ist als die übrigen Cilienbüschel in der Region (Abb. 2.4C, 2.5B). Lateral eingerahmt wird dieses Büschel, das von seiner Lage dem Medianorgan des Adultus entspricht, durch zwei Borsten, die Nuchalhaken.

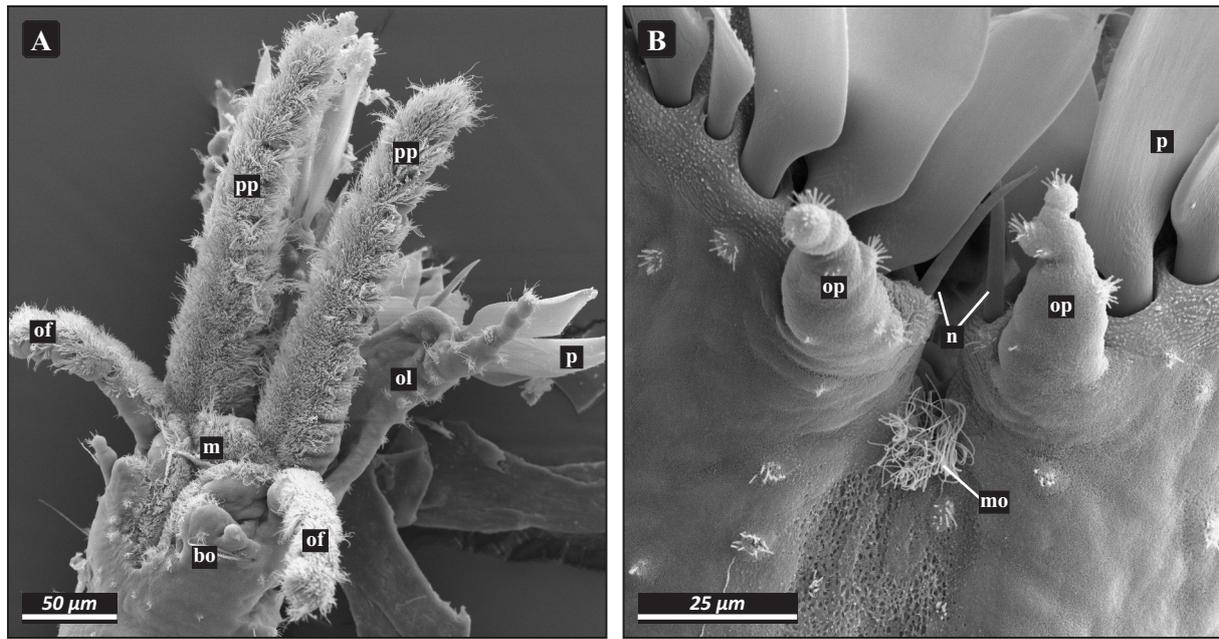
Die Palpen sind in diesem Stadium zusammen mit den Operkularlappen die dominierenden Kopfhänge, überragen die Operkularlappen jedoch deutlich (Abb. 2.5A). Auch die Palpen haben ihre Ausrichtung im letzten Teil der Metamorphose deutlich verändert. Wiesen sie beim 13 Wochen alten Individuum noch nach caudal, so sind sie nun frontal ausgerichtet. Dabei scheint der Mechanismus der Lageveränderung aber kein über die Längsachse erfolgtes nach vorne Klappen gewesen zu sein, denn die cilienbesetzte Seite der Palpen lag beim 13 Wochen alten Stadium dem Rücken auf und müsste nach einem einfachen Klappen nun nach dorsal zeigen. Die cilienbesetzte Seite weist aber nach ventral, was die Vermutung nahelegt, dass die Palpen eine Uhrzeiger-artige Drehung um 180° vollzogen haben, ähnlich wie dies die Operkularlappen um etwa 90° taten.

Auf der Ventralseite ist das typische hufeisenförmige *building organ* nur angedeutet zu erkennen. Ebenso liegt der Mund ventral offen, die vielen ihn säumenden Cilien sind zu sehen (Abb. 2.5A). Diese Teile werden beim Adultus noch weiter ausdifferenziert. Die Ansätze der Oralfilamente sind, wenn überhaupt, noch immer nur andeutungsweise ausgebildet.

Kommt man auf die Fragestellung zurück, wo sich nach dieser komplexen Metamorphose noch prostomiales Gewebe befinden könnte, dann kann dies nur von den Palpen und den Operkularlappen umschlossen vorliegen. Diese jeweils paarigen Strukturen entstammen eindeutig aus einer Lage direkt caudal des Prototrochs, so dass sie peristomiale Ursprungs sein müssen. Von ontogenetisch prostomiale Gewebe kann man demnach bei diesen juvenilen Stadien höchst wahrscheinlich immer noch dann sprechen, wenn man es frontal der Basen von Palpen und Operkularlappen findet. Dies träfe auf Teile des zuvor als unregelmäßig eingebaulten, ja faltigen prostomialen Bereich zu.



**Abbildung 2.5.** *Sabellaria alveolata*. REM. Juvenil stadium 15 Wochen. **A.** Ansicht des Kopfes von ventral. **B.** Detailansicht des proximalen Bereichs der Operkularlappen von dorsal. — **bo:** *building organ*, **m:** Mundöffnung, **mo:** Medianorgan, **n:** Nuchalhaken, **ofa:** Knospen der Oralfilamente, **ol:** Operkularlappen, **op:** Operkularpapillen, **p:** Paleen, **pp:** Palpen.



**Abbildung 2.6.** *Sabellaria alveolata*. REM. Juvenil 20 Wochen. **A.** Ansicht des Kopfes von ventrolateral. **B.** Detailansicht des proximalen Bereichs der Operkularlappen von dorsal. — **bo:** *building organ*, **m:** Mundöffnung, **mo:** Medianorgan, **n:** Nuchalhaken, **of:** Oralfilamente, **ol:** Operkularlappen, **op:** Operkularpapillen, **p:** Paleen, **pp:** Palpen.

### 20 Wochen alte Stadien

Im Wesentlichen setzt sich die Differenzierung des Kopfbereiches weiter fort. Das erste Paar oraler Filamente ist ausgeprägt, um die Mundöffnung schreitet die Kompartimentierung fort (Abb. 2.6A). Das *building organ* tritt deutlicher hervor und auch die Mundöffnung wird ventral nun ansatzweise durch eine Lippe abgeschlossen.

Die Operkularlappen wachsen weiter aus und flachen sich offensichtlich ab. Auch in diesem Alter sind die Nuchalhaken und das auffällige Cilienbüschel (Medianorgan) dazwischen noch deutlich zu sehen (Abb. 2.6B).

### Adultus

Die Cephalisation ist beim Adultus noch ausgeprägter als bei den untersuchten juvenilen Würmern. Die Paleen-tragenden Operkularlappen sind dorsal median komplett miteinander verwachsen (Abb. 2.7A) und umgeben die Palpen hier so weit, dass man diese nur noch von der ventralen Seite erkennen kann (Abb. 2.7B). Die Palpen ragen bei den Adulti nicht mehr über das Operkulum hinaus. Die beherrschenden Kopfanhänge sind nun die zahlreichen Oralfilamente, die die Operkularlappen ventrolateral in sequentiellen Reihen säumen. Die Ventralseite des Kopfes ist deutlich differenzierter. Das *building organ* hat die typische Hufeisenform, und die Mundöffnung ist nicht mehr so deutlich von außen zu erkennen (Abb. 2.7C). Im medianen Sagittalschnitt kann man im Kopfbereich ober- und unterhalb der Mundöffnung jeweils ein blind endendes Kompartiment erkennen (Abb. 2.7D). Ventral grenzt das eine Kompartiment an das *building organ*, dorsal liegen die Palpen in der anderen Einbuchtung.

Schaut man von ventral auf die Operkularlappen, dann fällt sofort ein Fischgräten-artiges Geflecht aus Cilienbahnen auf (Abb. 2.7B). Median, entlang der Verwachsungslinie der Operkularlappen, zieht sich die dominierende Cilienbahn vom vordersten Ende des Operkulum bis hin zur Mundregion, wo sie im dorsalen Kompartiment zusammen mit den Palpen endet. Hier, an der Basis der Palpen, werden in der bekannten Literatur (JOHANSSON 1927, RULLIER 1950, 1951, ORRHAGE 1978) auch die Nuchalorgane vermutet. Die feineren Cilienbahnen ziehen jeweils vom lateralen Rand der Operkularlappen zur medianen Bahn. Die Nuchalhaken sind beim Adultus nicht mehr äußerlich erkennbar (Abb. 2.7A). Sie sind im Zuge der fortschreitenden Cephalisation und dem Zusammenwachsen der Operkularlappen komplett in deren dorsalen Gewebeanteil eingebettet.

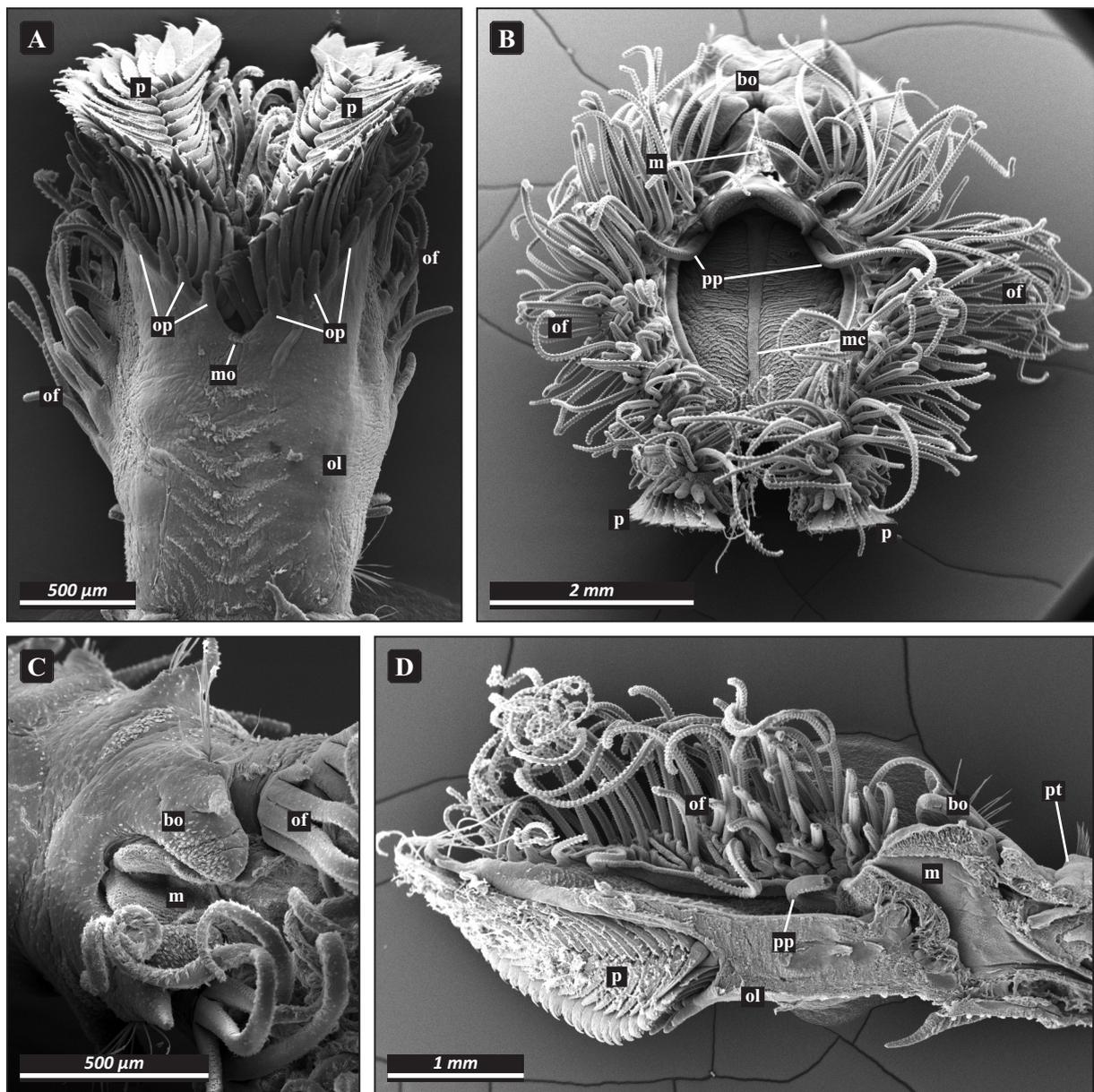


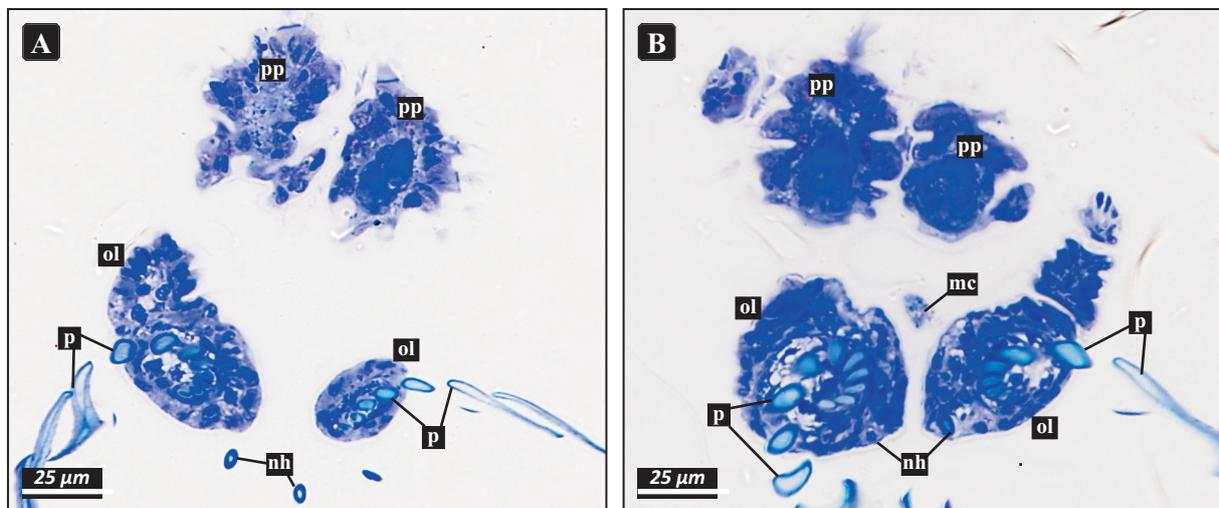
Abbildung 2.7. *Sabellaria alveolata*. REM. Adultus. **A.** Dorsalansicht des Kopfes. **B.** Ventrofrontalansicht des Kopfes. **C.** Frontoventrale Detailansicht der Mundregion. **D.** Medianschnitt durch den Kopfbereich. — **bo**: building organ, **m**: Mundöffnung, **mc**: mediane Cilienbahn, **mo**: Medianorgan, **n**: Nuchalhaken, **of**: Oralfilamente, **ol**: Operkularlappen, **op**: Operkularpapillen, **p**: Palpen, **pp**: Palpen, **pt**: Parathorax.

ERGEBNISSE DER LICHTMIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNGEN

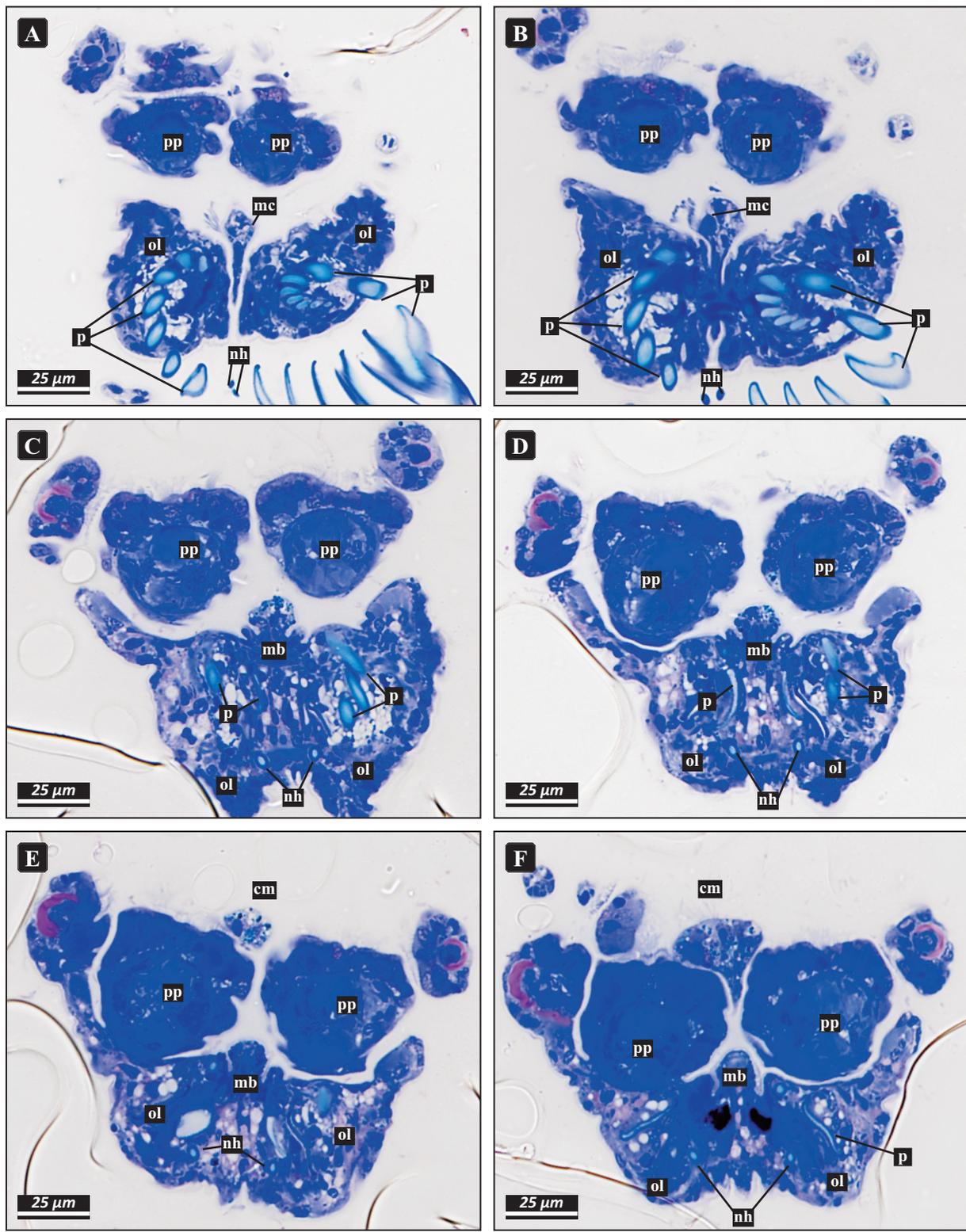
Besonderes Augenmerk wurde bei den semidünnen Schnittserien auf die Region median der Palpenbasis gelenkt, wo vorangegangene Veröffentlichungen die Nuchalorgane direkt hatten (JOHANSSON 1927, RULLIER 1950, 1951) oder indirekt über die Existenz von Nervenbahnen, die anhand ihrer Abzweigung vom Gehirn beschrieben (ORRHAGE 1978). Anhand der semidünnen Schnittserien der metamorphierten juvenilen und der adulten Würmer soll ergänzend zu den rasterelektronischen Untersuchungen geklärt werden, wie sich die Lage der Gewebe des juvenilen mit der des adulten Wurms homologisieren lässt.

**Juveniles Stadium (16 Wochen alt)**

Die 16 Wochen alten, semidünn geschnittenen Stadien entsprechen in ihrem Entwicklungsstand den für die Rasterelektronenmikroskopie präparierten Würmern. Es wurden Querschnittserien genutzt. Die Beschreibung erfolgt grundsätzlich entlang der Schnittfolge von frontal nach caudal beginnend mit der Region, in der bereits sowohl die beiden Operkularlappen, als auch die Palpen angeschnitten werden. Auf ersten Schnitten sieht man vier relativ gleichgroße Gewebeanschnitte, von denen zwei offensichtlich die Paleen-tragenden Operkularlappen darstellen, die beiden anderen die Anschnitte der Palpen (Abb. 2.8A). Durchfährt man nach Alignierung die Schnitte nach caudal, so erscheinen nach einer Weile medioventral der Operkularlappen Cilien, die einem darauf folgenden Gewebe entspringen (Abb. 2.8B). Das cilientragende Gewebe wächst dorsal spitz aus, bleibt am cilientragenden ventralen Teil eher kugelförmig. Nachdem der spitze dorsale Abschnitt in der Folge mit den beiden Operkularlappen und diese auch miteinander verwachsen sind, bleibt der ventrale Teil als deutliche Erhöhung median der Operkularlappen erhalten (Abb. 2.9A-C). Allerdings weist die Epidermis der Ausbuchtung keine Cilien mehr auf. Im Folgenden senken sich jeweils lateral kleine Taschen zwischen dieser Erhebung und dem Gewebe der Operkularlappen ein. Im zuvor beschriebenen Verlauf werden nun auch ventrolateral der beiden Palpen zwei kleine Gewebereiche angeschnitten (Abb. 2.9D), die sich noch weiter caudal über jeweils schmale Gewebebrücken lateral mit den Operkularlappen verbinden.

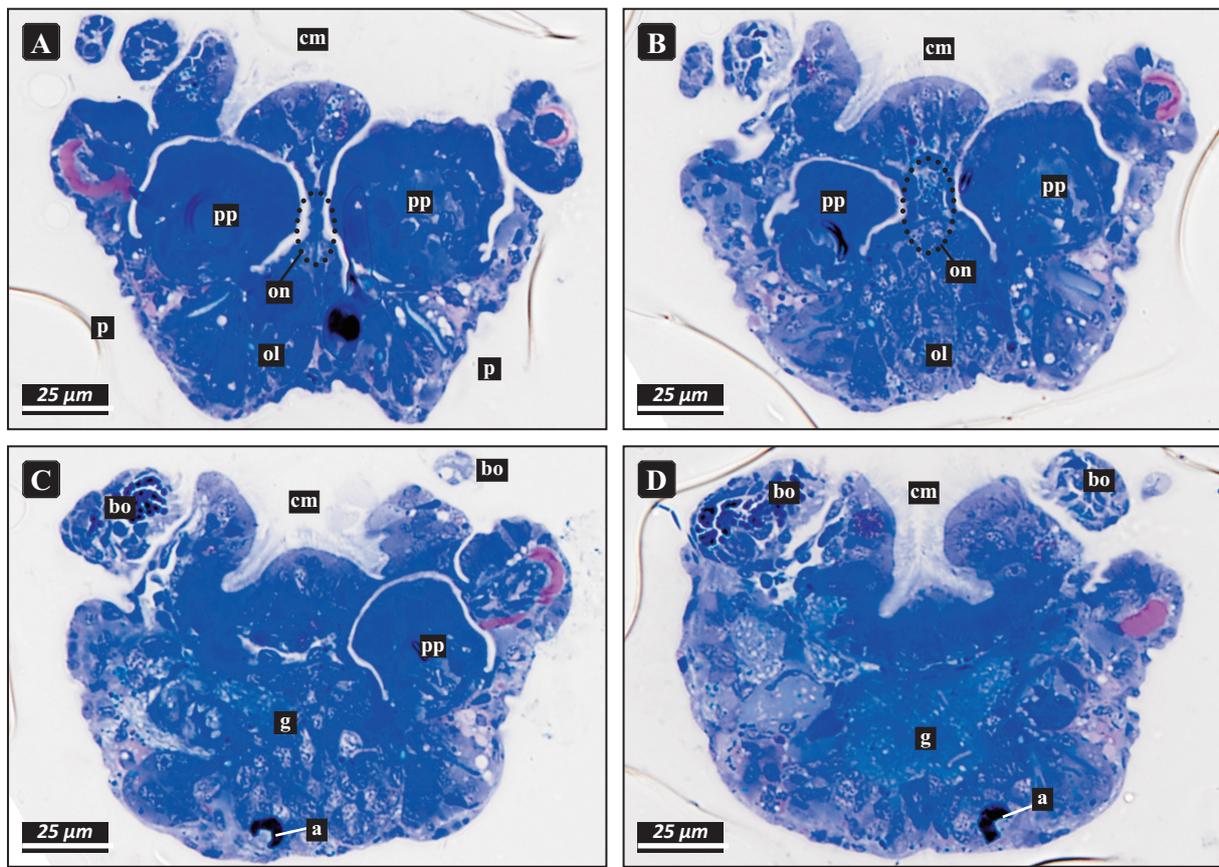


**Abbildung 2.8.** *Sabellaria alveolata*. Juvenilstadium 16 Wochen. LM Querschnitte. **A.** Distaler Schnitt durch Operkularlappen und Palpen. **B.** Schnittebene weiter proximal. Die Paleen sind spiralförmig in der Borstentasche angeordnet. — **mc**: medianes Cilienbüschel, **nh**: Nuchalhaken, **ol**: Operkularlappen, **p**: Paleen, **pp**: Palpen.



**Abbildung 2.9.** *Sabellaria alveolata*. Juvenilstadium 16 Wochen. LM Querschnitte. A. bis F. Schnittserie nach proximal. Entwicklung der Gewebe um die Palpen.— **cm**: bewimpertes Mundfeld, **mb**: mediane Cilienbahn, **mc**: medianes Cilienbüschel, **nh**: Nuchalhaken, **ol**: Operkularlappen, **p**: Palpen, **pp**: Palpen.

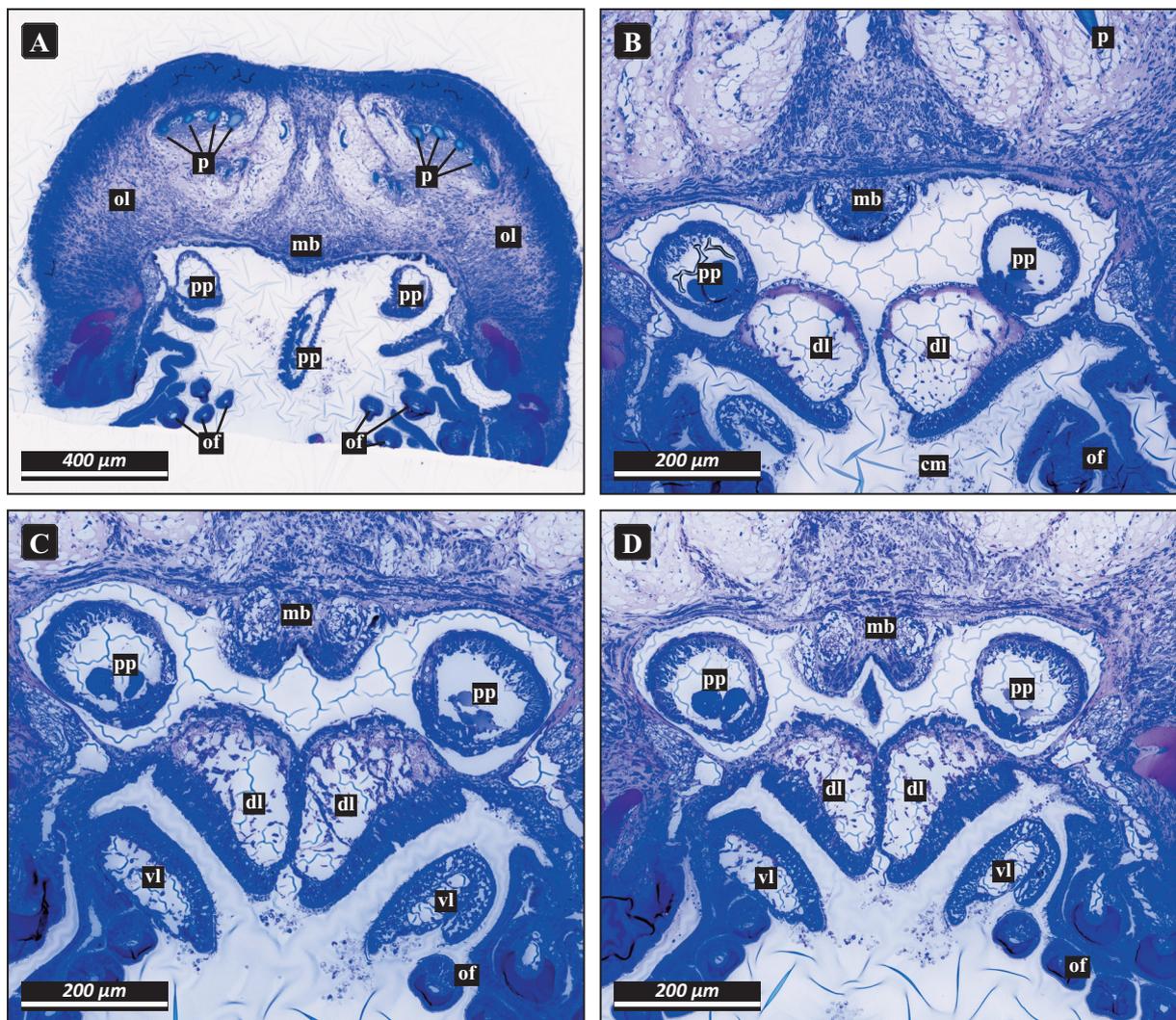
Während dieses Verlaufs wird ventromedian der beiden Palpen ein weiteres unpaares Gewebe angeschnitten, das ventral mit Cilien besetzt ist (Abb. 2.9E). Im weiteren Verlauf wächst dieses Gewebe dorsal spitz aus (Abb. 2.9F), wobei die auswachsende Spitze im Verlauf median mit den Operkularlappen an der Stelle verwächst, an der sich zuvor die Erhebung aus der Verwachsung der beiden Operkularlappen mit dem zuerst angeschnittenen ciliären Gewebe befand (Abb. 2.10A). Caudal dazu verwächst das neue Gewebe auch ventral über laterale Ausläufer mit den jetzt in der Schnittserie auftretenden Lappen, die die sich formierende Mundöffnung seitlich begrenzen und als Lippen gedeutet werden können (Abb. 2.10B). Diese wiederum verwachsen dorsolateral mit den Operkularlappen, so dass sich die Palpen, nun komplett von Gewebe umgeben, im Inneren eines Mundvorraums befinden (Abb. 2.10C). Bevor die Palpen letztendlich inserieren (Abb. 2.10D), befinden sie sich in einem Kompartiment dorsal der Mundöffnung und ventral der Operkularlappen. Zwischen den noch frei liegenden Palpen findet sich dorsal das Gewebe, das zu dem ersten cilienbesetzten Gewebe zwischen den noch unverwachsenen Operkularlappen führt, und ventral das Gewebe, das im Verlauf zwischen den Palpen angeschnitten wurde und dessen Ventralseite weiter caudal Teil der Mundöffnung wird. Diese beiden Gewebe sind über eine zwischen den Palpen liegende Gewebebrücke verbunden. Auch die Auswertung der semidünnen Schnittserie des juvenilen Wurms lässt vermuten, dass das dorsomedian der Palpen gelegene Gewebe, welches caudal mit dem ersten, zwischen den Operkularlappen entstehenden, mit Cilien bedeckten Gewebe verwächst, prostomiales Ursprungs ist.



**Abbildung 2.10.** *Sabellaria alveolata*. Juvenilstadium 16 Wochen. LM Querschnitte. A. bis D. Schnittserie nach proximal. Entwicklung der Gewebe um die Palpen. Lage der mutmaßlichen Nuchalorgane markiert (gepunktetes Oval). — bo: building organ, cm: bewimpertes Mundfeld, g: Gehirn, a: Auge, m: Mundöffnung, on: Ort der Nuchalorgane, p: Palpen, pp: Palpen.

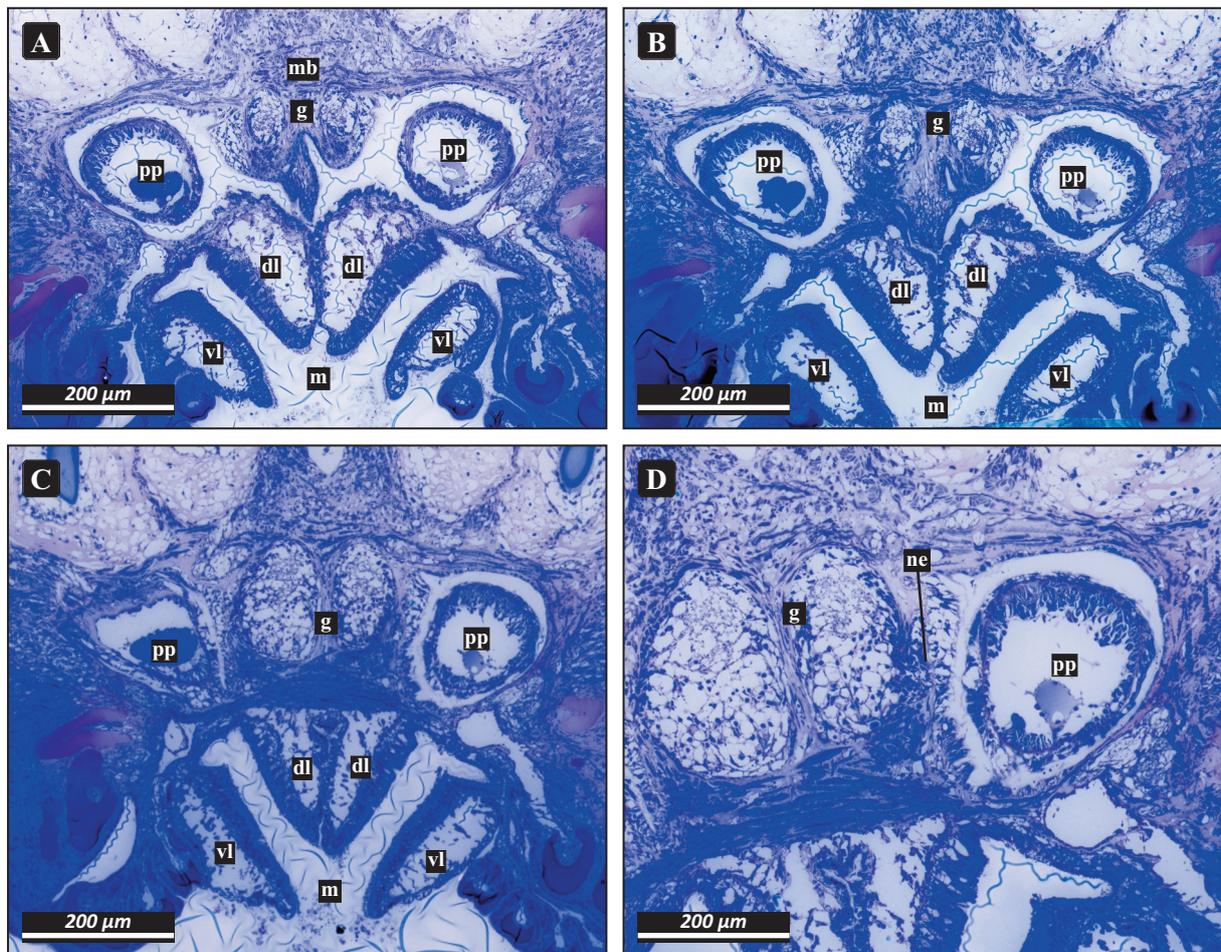
**Adultes Stadium**

Die Auswertung der semidünnen Schnittserie der Adulti beginnt schon etwas tiefer im Gewebe der Operkularlappen auf der Höhe der ersten Anschnitte der Palpen. Die Beschreibung erfolgt auch bei dieser Serie anhand von Querschnitten und entsprechend der Schnittreihenfolge von frontal nach caudal. Auf den ersten Schnitten sieht man das dominierende Gewebe der Paleen-tragenden Operkularlappen, an deren lateralen Ausläufern die Oralfilamente angeschnitten sind. Median an der Ventralseite der Operkularlappen ist die bei den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen beschriebene dominierende Cilienbahn angeschnitten, die als leichte ventrale Erhebung deutlich zu erkennen ist (Abb. 2.11A). Etwas weiter caudal fällt zunächst vor allem eine Gewebestruktur auf, die ventral der Palpen an den Innenseiten beider lateraler Auswüchse der Operkularlappen sitzt. An der Verbindung zu den Operkularlappen ist dieses Gewebe recht dünn und bleibt dies auch im weiteren Verlauf nach caudal, erweitert sich aber an seinen distalen Enden zunehmend. Diese erweiterten Enden des Gewebes wachsen ventral der Palpen median von beiden Seiten aufeinander zu und verwachsen caudal miteinander um letztendlich den dorsalen Teil der Mundöffnung, die dorsalen Lippen, zu bilden (Abb. 2.11B).



**Abbildung 2.11.** *Sabellaria alveolata*. Adultus. LM Querschnitte. **A.** Übersicht. **B. bis D.** Detailansicht des Bereichs um die Palpen. Schnittfolge von frontal nach caudal. — **cm:** bewimpertes Mundfeld, **dl:** dorsale Lippen, **g:** Gehirn, **mb:** mediane Cilienbahn, **of:** Oralfilamente, **ol:** Operkularlappen, **p:** Paleen, **pp:** Palpen, **vl:** ventrale Lippen.

Parallel zu dieser Entwicklung delt sich die mediane Cilienbahn leicht in ihrer Mitte nach innen ein (Abb. 2.11C), so dass die Bahn nunmehr eine längsgerichtete Mulde mit zwei parallelen Erhebungen an ihren Rändern aufweist. In diese Mulde fügt sich im weiteren Verlauf ein Cilien-besetztes, keilförmiges Gewebe ein (Abb. 2.11D), das rasch sowohl dorsal mit der Cilienbahn verwächst als auch ventral mit dem zuvor beschriebenen Gewebe das den dorsalen Teil der Mundöffnung bildet (Abb. 2.12A, B). Gleichzeitig findet sich in den zwei parallelen Erhebungen der Cilienbahn jeweils eine Nervenbahn. Diese beiden Nervenbahnen gewinnen im Querschnitt nach caudal an Volumen und bilden letztendlich das Gehirn (Entwicklung auf Abb. 2.12C). Noch vor der endgültigen Vereinigung der Nervenbahnen, auf einer Schnittebene, in der die in den beiden vorherigen Absätzen beschriebenen Entwicklungen bereits abgeschlossen sind und der Raum um die Palpen stark beengt ist, findet man die Stelle bzw. Schnittebene, auf die sich JOHANSSON (1927) bei seinen Ausführungen zu möglichen Nuchalorganen bei *S. alveolata* bezieht (Abb. 2.12D). Hier ist zu erkennen, wie Zellen des Gehirns eine enge Verbindung mit der jeweils den Palpen zugewandten Epidermis eingehen. Diese Stellen deutet er als mögliche Orte der Nuchalorgane, ohne jedoch bei seiner Untersuchung einen Flimmer, was als fehlender Cilienbesatz zu deuten ist, zu sehen. Ebenso können in der vorliegenden Untersuchung an diesen Stellen keine Cilien beschrieben werden. Im weiteren Verlauf verwachsen die Palpen an ihrer Basis endgültig mit dem umgebenden Gewebe.



**Abbildung 2.12.** *Sabellaria alveolata*. Adultus. LM Querschnitte. **A.** bis **C.** Detailansicht des Bereichs um die Palpen. Schnittfolge von distal nach proximal. **D.** Ausschnittsvergrößerung des neuronalen Epithels. — **g:** Gehirn, **dl:** dorsale Lippen, **m:** Mundöffnung, **mb:** mediane Cilienbahn, **ne:** neuronales Epithel, **ol:** Operkularlappen, **p:** Paleen, **pp:** Palpen, **vl:** ventrale Lippen.

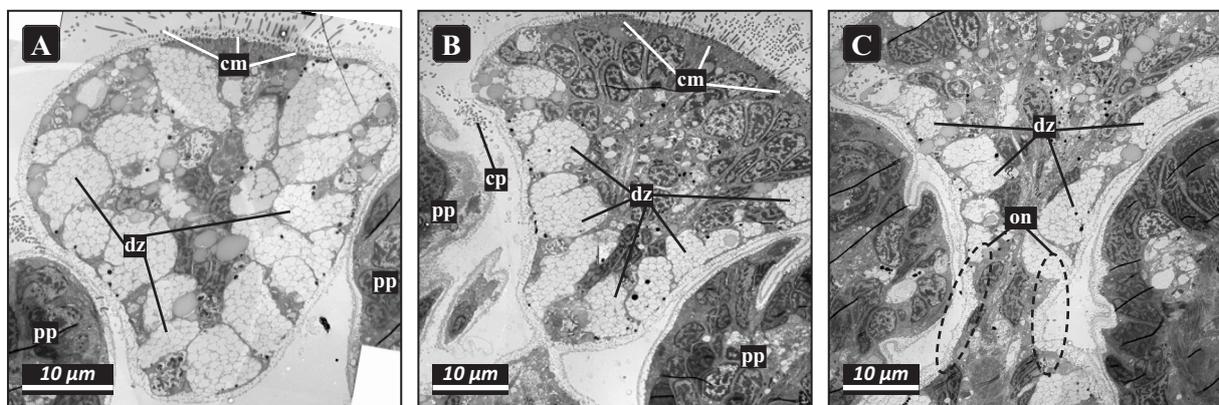
### 3.2.2 NUCHALORGANE

Die Nuchalorgane von *S. alveolata* wurden ultrastrukturell an vollständig metamorphierten juvenilen Würmern untersucht. Durch ihre geringe Körpergröße lassen sich komplette Körperquerschnitte ultrastrukturell auswerten. Die juvenilen Würmer zeigen noch nicht in Gänze die komplexe Cephalisation der Adulti. Das hat zum einen den Vorteil, dass sich einzelne Kopf- und Körperabschnitte und -anhänge wie Palpen, Operkularlappen sowie pro- und peristomiale Anteile besser ansprechen lassen, auf der anderen Seite muss die in der Literatur beschriebene Lage der beim Adultus vermuteten Nuchalorgane im juvenilen Wurm identifiziert werden. Dies wurde im Abschnitt 3.2.1 ENTWICKLUNG umfassend anhand von semidünnen Schnittserien und Beobachtungen mit dem Rasterelektronenmikroskop getan.

#### Juveniles Nuchalorgan (15 Wochen altes Stadium)

Beschrieben werden die Zellstrukturen median nahe der Palpenbasis, da diese Lage in der vorhandenen Literatur als der Ort der möglichen Nuchalorgane genannt wird. Die Organe wurden bisher allerdings uneinheitlich entweder allein anhand der beteiligten Nerven in ihrer Lage oder zellulär anhand lichtmikroskopischer Präparate beschrieben (ORRHAGE 1978, NIELSSON 1929, RULLIER 1950, 1951), so dass ultrastrukturelle Daten für eine Bewertung als mögliche Nuchalorgane bisher fehlen.

Basal zwischen den noch komplett frei liegenden Palpen liegt ein Bereich vor, der dorsal mit den beiden apikal noch unverbundenen paleentragenden Operkularlappen verwachsen ist (Abb. 2.14A). Ventral ist die Oberfläche dieser Ausbuchtung stark mit Cilien besetzt die von multiciliären Epidermiszellen ausgehen. Im weiteren proximalen Verlauf der Schnittserie stellt sich heraus, dass dieser bewimperte Bereich Teil der Mundöffnung ist. Je nach Schnittführung wird dieses Bereich entweder nahezu von Beginn an wie eine dorsoventral zwischen den Palpen verlaufende Brücke angeschnitten oder in der Art, dass der ventrale und der dorsale Part zunächst getrennt vorliegen und sich langsam in der Schnittserie über eine dünne Verbindung vereinen (Abb. 2.13A-C), dessen dünnste Stelle dann ebenfalls zwischen den Palpen liegt. In beiden Fällen findet man in ultradünnen Schnittserien die Dendriten der bipolaren mono- und biciliären Sinneszellen jeweils im mittleren Bereich an der den Palpen zugewandten Innenseite dieses Gewebes.



**Abbildung 2.13.** *Sabellaria alveolata*. Juvenilstadium 15 Wochen. TEM Querschnitte. Region vor und bei den Nuchalorganen. **A.** Ansicht des ventromedian zwischen den Palpen gelegenen Gewebes. **B.** und **C.** Das ventromedian gelegene Gewebe verwächst dorsal mit den Operkularlappen. — **cm:** bewimpertes Mundfeld, **cp:** Cilien der Palpen, **dz:** Drüsenzellen, **on:** mutmaßliche Nuchalorgane, **pp:** Palpen.



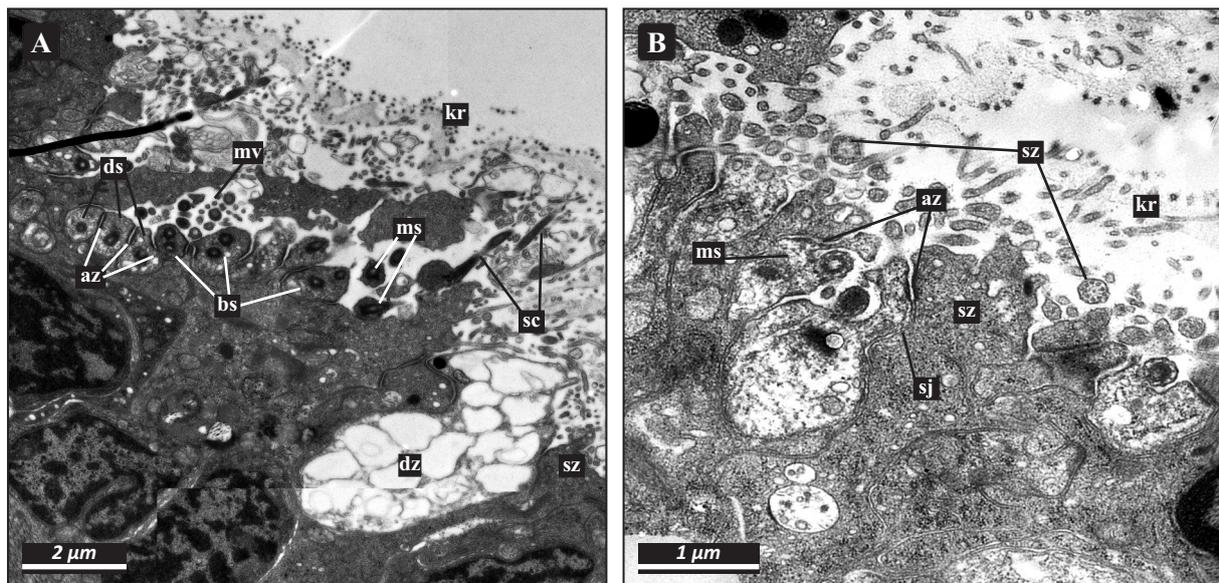
**Abbildung 2.14.** *Sabellaria alveolata*. Juvenilstadium 15 Wochen. TEM Querschnitt. Nuchalorgan. Übersicht des Gewebes basal zwischen den noch unverwachsenen Palpen. — **cm**: bewimpertes Mundfeld, **cp**: Cilien der Palpen, **dz**: Drüsenzellen, **on**: mutmaßliche Nuchalorgane, **pz**: Pigmentzelle, **pp**: Palpen, **rz**: rhabdomerische Rezeptorzelle.

Auffallend ist, dass es Dendriten-Cluster der bipolaren Sinneszellen gibt, die jeweils ein einzelnes Cilium tragen, und Dendriten-Cluster, die zwei Cilien aussenden. Die Cluster sind räumlich deutlich voneinander getrennt, eine Vermischung beider Typen wurde in keinem Fall beobachtet. Die biciliären Dendriten liegen ausnahmslos auf dem dorsalen Abschnitt (Abb. 2.15A).

Die Epidermis ist in dem gesamten Bereich zwischen den Palpen von vielen großen Drüsenzellen durchsetzt, die nahezu vollständig mit Vakuolen gefüllt sind, die ausschließlich sehr elektronenhelles Material enthalten. Die Drüsenzellen befinden sich auf der ventralen Seite des Gewebes zwischen den multiciliären Zellen, die zur Mundöffnung führen. Die am weitesten dorsal liegenden Drüsenzellen bilden eine Art Trennlinie zwischen den mono- und biciliären Sinneszeldendriten. Die Cilien der monociliären Sinneszellen besitzen einen Basalkörper und ein akzessorisches Centriol, Wurzelstrukturen konnten für keine der Zellen beobachtet werden. Die Sinneszeldendriten sind untereinander und mit den benachbarten Drüsenzellen und Epidermiszellen über Adhärenzzonen und septate junctions verbunden (Abb. 2.15B).

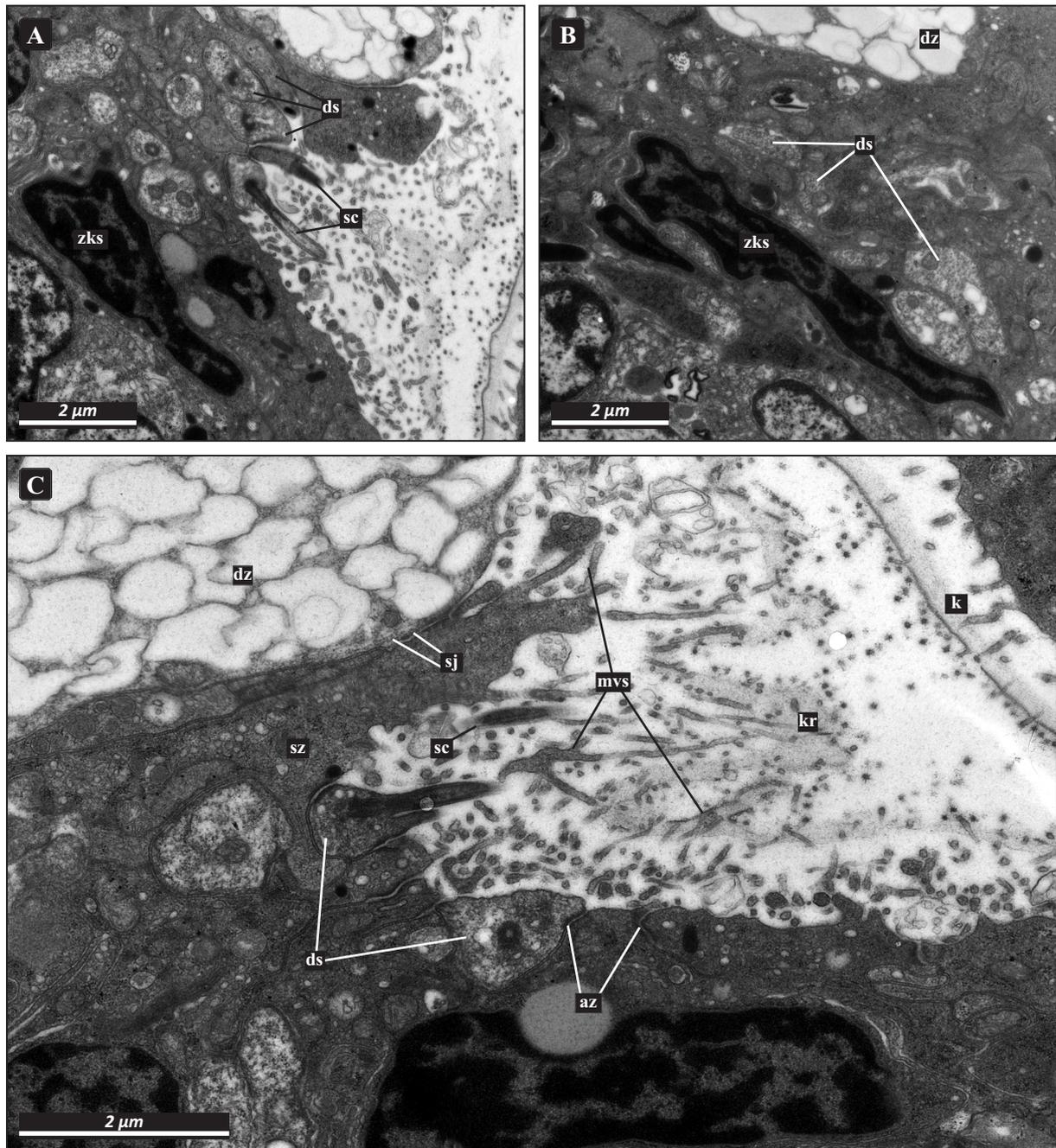
Das Cytoplasma der Sinneszellen ist apikal recht elektronendunkel, wird jedoch im Verlauf zunehmend von vielen elektronenhellen Vakuolen durchzogen. Die Zellkerne sitzen nicht allzu tief im Gewebe (Abb. 2.16A), das hier durch eine Vielzahl angeschnittener Dendriten der Sinneszellen geprägt wird, die sich in Clustern caudodorsal erstrecken und dort ins Gehirn münden (Abb. 2.16B).

Die Kutikula ist über den Bereichen der Sinneszellen deutlich stärker von den Epidermiszellen entfernt, als im sonstigen Bereich dieses Abschnitts. So kann der Zwischenraum bis knapp über 1 µm betragen, wohingegen der Abstand ansonsten nur bei maximal 500 nm liegt. Die Kutikula erscheint oberhalb des Organs deutlich elektronenheller als oberhalb der benachbarten Epidermis (Abb. 2.16C). Auch erscheint hier die äußerste in der Nachbarschaft immer deutlich elektronendunkle Schicht der Kutikula vollkommen reduziert. In den Zwischenraum entsenden nicht nur die Sinneszellen ihre relativ kurzen Cilien,



**Abbildung 2.15.** *Sabellaria alveolata*. Juvenilstadium 15 Wochen. TEM Querschnitte. Nuchalorgan. **A.** Dorsale Region des Nuchalorgans mit biciliären Sinneszellen (**bs**). **B.** Ventrale Region des Nuchalorgans mit monociliären Sinneszellen. — **az:** Adhärenzzone, **bs:** biciliäre Sinneszelle, **ds:** Dendriten der Sinneszellen, **dz:** Drüsenzellen, **kr:** Kutikula reduziert, **ms:** monociliäre Sinneszelle, **mv:** Mikrovilli, **sc:** Sinnescilien, **sj:** septate junctions, **sz:** Stützzelle.

auch Mikrovilli sind hier in teils sehr hoher Anzahl angeschnitten. Diese werden sowohl von den Sinnes- als auch den Drüsenzellen, in besonderer Anzahl jedoch von vereinzelt, relativ elektronendichten Epidermiszellen ausgesendet. Es sind vor allem deren Mikrovilli, die sich charakteristisch verzweigen und ein teils sehr enges Geflecht unterhalb der Kutikula aufspannen. In manchen dieser Epidermiszellen konnte ein Centriol gefunden werden, allerdings gehen in aller Regel keine weiteren Cilien von diesen Zellen aus, so dass sie der klassischen Beschreibung einer Stützzelle nicht entsprechen, jedoch gleichwohl eine olfaktorische Kammer aufspannen.

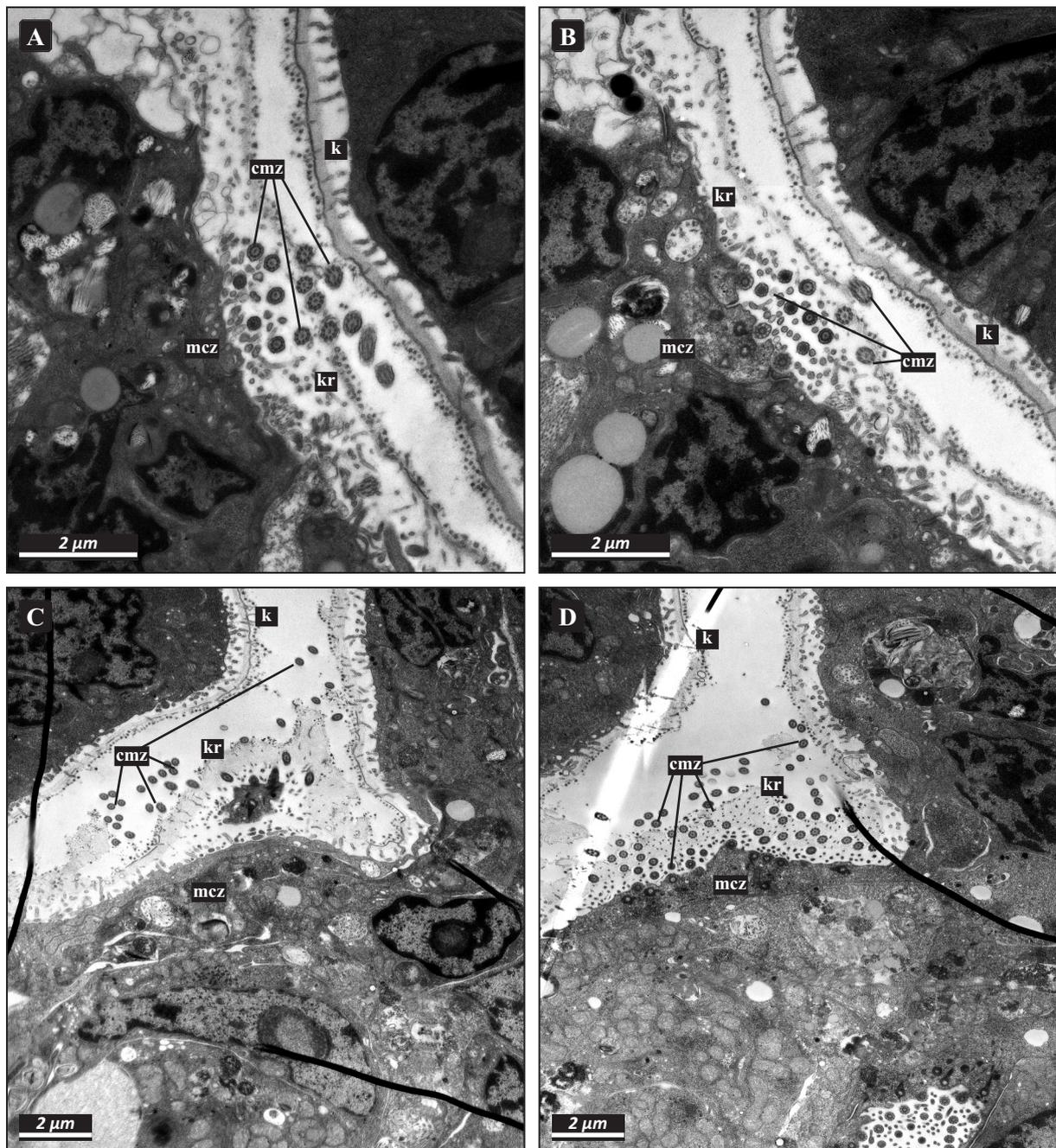


**Abbildung 2.16.** *Sabellaria alveolata*. Juvenilstadium 15 Wochen. TEM Querschnitte. Nuchalorgan. **A.** Dendriten der Sinneszellen, reduzierte Kutikula. **B.** Zellkern der Sinneszelle. **C.** Verzweigte Mikrovilli der Stützzellen. — **az:** Adhärenzzone, **ds:** Dendriten der Sinneszelle, **dz:** Drüsenzellen, **kr:** Kutikula reduziert, **ms:** monociliäre Sinneszelle, **mvs:** Mikrovilli der Stützzelle, **sc:** Sinnescilien, **sj:** septate junctions, **sz:** Stützzelle **zks:** Zellkern der Sinneszelle.

Insgesamt konnten in den Schnittserien nur in einem Fall Cilien in der Nähe der Sinneszellcilien beobachtet werden, die die Kutikula durchstoßen und nicht eindeutig der Mundöffnung oder den Palpen zugeordnet werden konnten (Abb. 2.17A, B). Die Cilien besitzen einen Basalkörper, allerdings wurden kein akzessorisches Centriol und keine Wurzelstrukturen gefunden.

Im Umfeld der Sinneszellen sind Cilienbüschel auch außerhalb der Kutikula äußerst zahlreich, lassen sich aber immer der beginnenden Mundöffnung oder den benachbarten Palpen zuordnen. Diese Cilien weisen zudem an ihrer Basis immer eine deutliche Wurzelstruktur auf (Abb. 2.17C, D).

Ein Retraktormuskel konnte nicht nachgewiesen werden.



**Abbildung 2.17.** *Sabellaria alveolata*. Juvenilstadium 15 Wochen. TEM Querschnitte. A. und B. Multiciliäre Zelle dorsomedian der Palpen. C. und D. Multiciliäre Zellen ventral der Palpen. — **cmz**: Cilien der multiciliären Zelle, **k**: Kutikula, **kr**: Kutikula reduziert, **mcz**: multiciliäre Zelle.

### 3.2.3 CILIÄRES SINNESORGAN

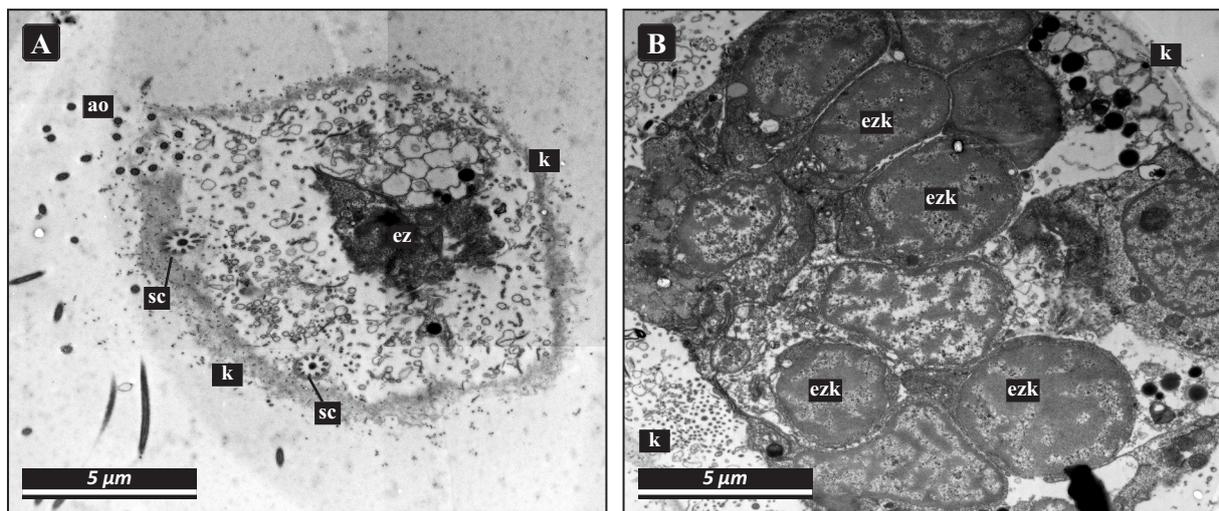
#### Larvales ciliäres Sinnesorgan

Apikal in der Epispähre der Trochophora liegt direkt unterhalb der Kutikula in unmittelbarer Nähe des Apikalorgans ein unpaares Sinnesorgan, das von einer Stützzelle und einer monociliären Rezeptorzelle gebildet wird. Das noch näher zu beschreibende Sinnesorgan konnte in erst acht Tage alten Trochophora noch nicht gefunden werden (Abb. 2.18A, B), ist jedoch bereits in drei Wochen alten Stadien, die aufgrund ihrer Morphologie als voll ausgebildete Trochophora bzw. Metatrochophora anzusprechen sind, vollständig ausgebildet. Das ciliäre Organ wird von fünf bis sieben bipolaren Sinneszellen flankiert. Alle Zellen des Organs enden unterhalb der Kutikula und sind in die Epidermis eingebettet.

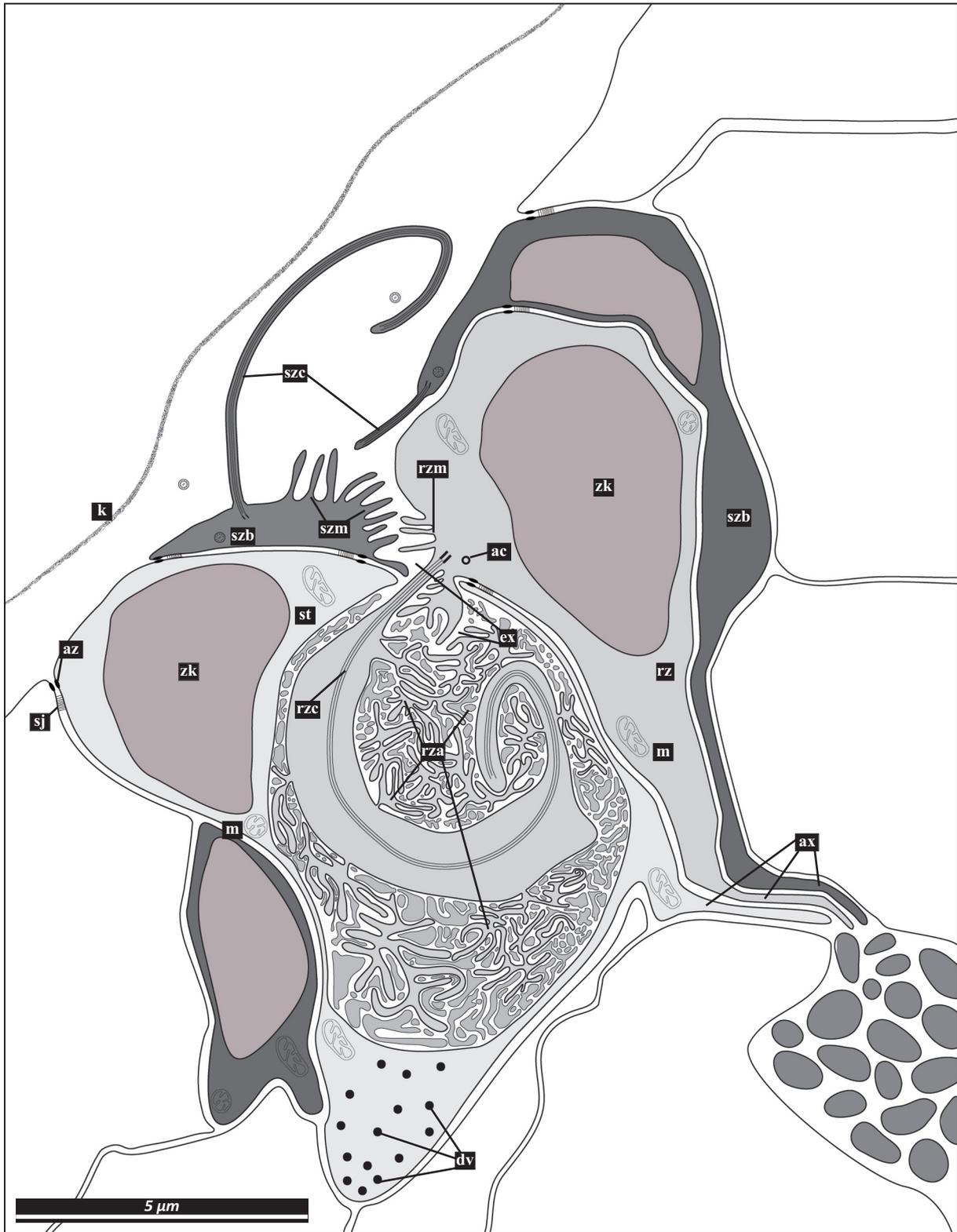
Das Organ konnte morphologisch im Wesentlichen unverändert bis hin zu zehn Wochen alten Stadien gefunden werden, die kurz vor der Metamorphose standen. In vollständig metamorphierten juvenilen Würmern fanden sich in einem Fall Reste des allem Anschein nach degradierenden Organs, bei einem weiteren juvenilen Wurm des äußerlich gleichen Entwicklungsstadiums konnte es nicht mehr nachgewiesen werden.

Beschrieben wird der Organzustand im Stadium der Metatrochophora, da das Organ hier vollständig ausgebildet ist und noch keine Anzeichen einer Degeneration festzustellen sind. Soweit sich die Morphologie des Organs in weiteren untersuchten Stadien unterscheidet, wird dieses erwähnt.

Die gestreckte Stützzelle besitzt die Form einer länglichen, ovalen Vase, deren schmale Öffnung am apikalen Ende leicht lateral versetzt liegt (Abb. 2.18A). Durch diese Öffnung sendet die seitlich über ihre komplette Länge der Stützzelle anliegende, ebenfalls gestreckte Rezeptorzelle ihr Cilium bis in den extrazellulär von der Stützzelle gebildeten Hohlraum. Mit ihren apikalen Enden bilden die Rezeptorzelle und

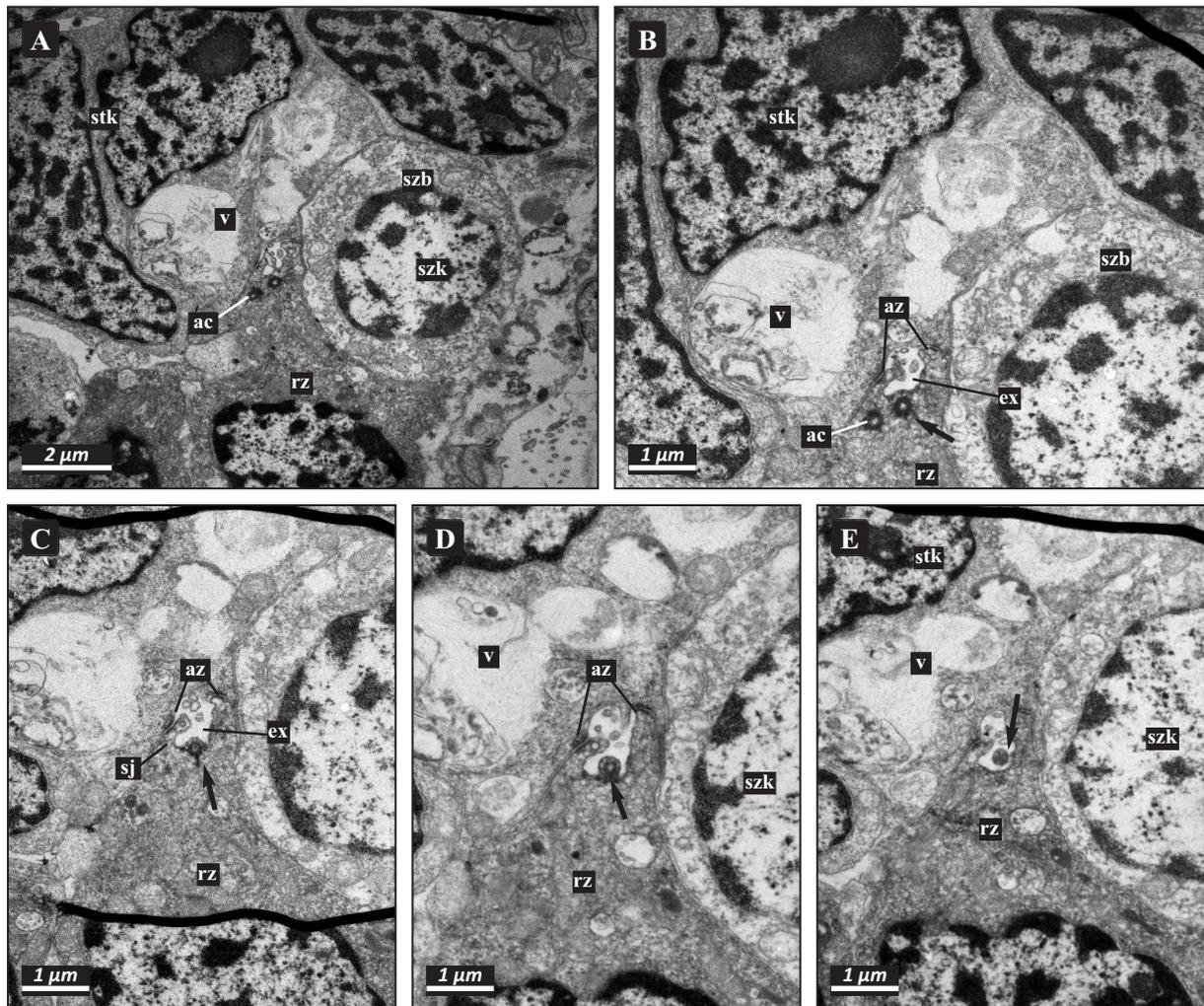


**Abbildung 2.18.** *Sabellaria alveolata*. Larve 9 Wochen. TEM Querschnitte. Prostomium direkt unterhalb der Kutikula. **A.** Schnittebene direkt unterhalb der Kutikula mit ersten Anschnitten der Epidermiszellen. **B.** Schnittebene etwas weiter proximal, auch hier ist kein ciliäres Sinnesorgan erkennbar. — **ao:** Cilien des Apikalorgans, **ez:** Epidermiszelle, **ezk:** Zellkern Epidermiszelle, **k:** Kutikula, **sc:** sensorische Cilien.



**Abbildung 2.19.** *Sabellaria alveolata*. Rekonstruktion. Ciliäres Sinnesorgan einer 5 Wochen alten Metatrochophora. Die Rekonstruktion eines Längsschnittes durch das ciliäre Sinnesorgan zeigt die Lage des Rezeptorciliums in der von der Stützzelle gebildeten Rezeptorhöhle. Die Rezeptorzelle ist nicht an der Bildung dieser Höhle beteiligt. Die Stützzelle enthält elektronendunkle Vakuolen, die eventuell der Lichtabschirmung dienen. — **ac**: akzessorisches Centriol, **ax**: Axon, **az**: Adhärenzzone, **dv**: elektronendunkle Vakuolen, **ex**: Extrazellulärraum, **k**: Kutikula, **m**: Mitochondrium, **rz**: Rezeptorzelle, **rza**: Ausläufer des Rezeptorzellciliums, **rzc**: Rezeptorzellcilium, **rzm**: Mikrovilli der Rezeptorzelle, **sj**: septate junctions, **st**: Stützzelle, **szb**: bipolare Sinneszelle, **szc**: Sinneszellcilium, **szm**: Mikrovilli der Sinneszelle, **zk**: Zellkern.

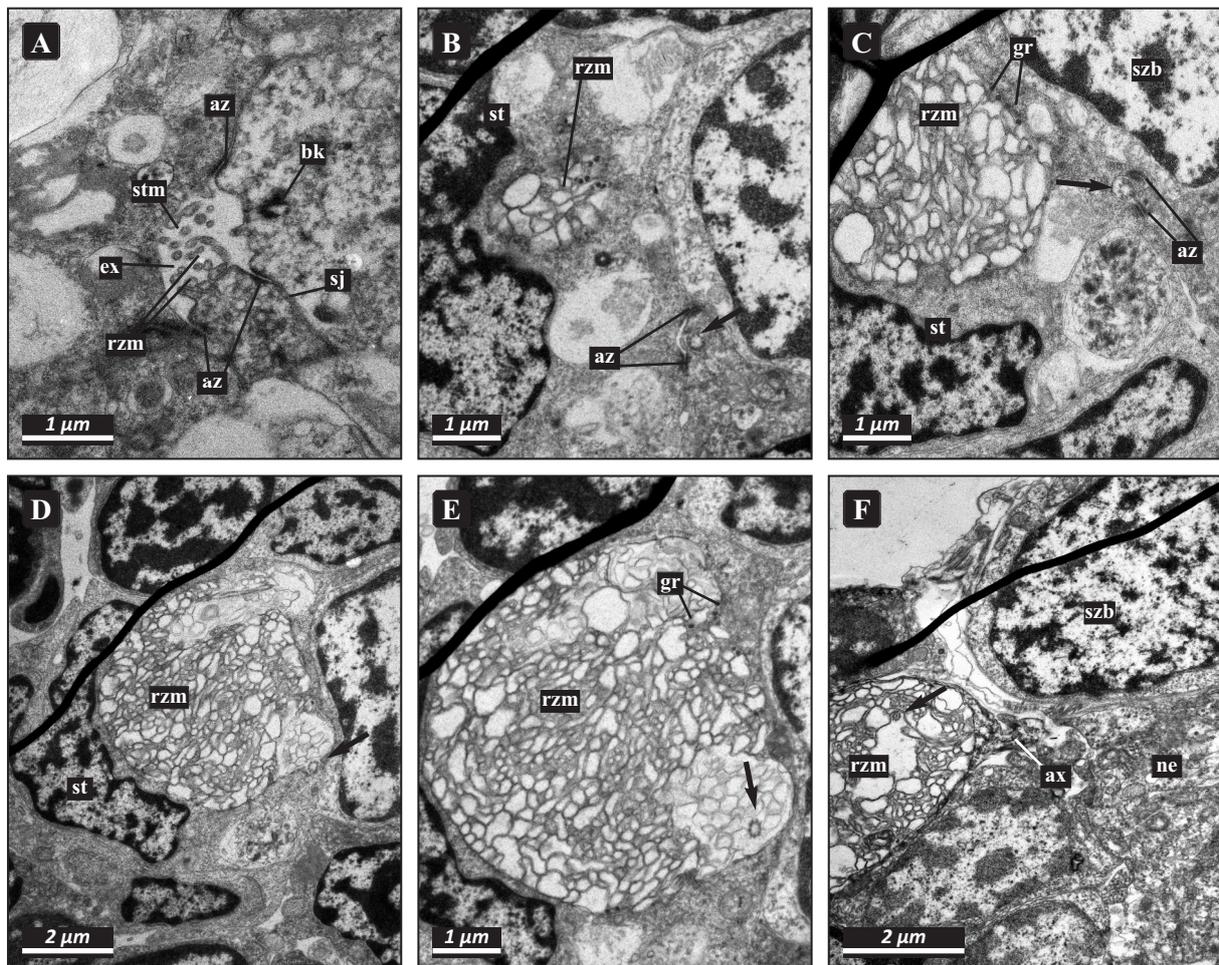
die Stützzelle einen bei älteren Stadien längeren (circa 2  $\mu\text{m}$ ) und bei jüngeren Stadien sehr viel kürzeren Kanal, indem sie sich wie zwei Dachrinnen aneinanderlegen und den so entstandenen Kanal beidseitig durch Adhärenzonen und septate junctions abdichten (Abb. 2.20A). Der Querschnitt durch den Kanal beträgt oberhalb der Einmündung des Ciliums in die laterale Öffnung etwas mehr als 300 nm. In diesem Bereich entsendet vor allem die Rezeptorzelle auch noch einige Mikrovilli in das Lumen (Abb. 2.20B). Sobald das Cilium einmündet, verengt sich der Kanal zunehmend, bis er dem Cilium dicht anliegt. Das ist spätestens dort der Fall, wo der Kanal alleine durch die Stützzelle gebildet wird. Hier beträgt dessen Durchmesser nur noch etwa 250 nm. Beide Zellen sind auch oberhalb des Kanals weiterhin durch Adhärenzonen und septate junctions miteinander verbunden. Eine absolut abdichtende Verbindung zwischen den Zellen direkt oberhalb des Kanals besteht aber dennoch nicht, da keine Verbindung zwischen dem Cilium der Rezeptorzelle und der Membran der Stützzelle besteht (Abb. 2.20C-E). Da sich der Kanal oberhalb des Cilieneintritts weiter öffnet, sind der Hohlraum der Stützzelle und der subkutikuläre Extrazellularraum, der im Anschluss noch näher beschrieben wird, unterhalb der Kutikula miteinander verbunden. Mit den Epidermiszellen sind sie über Adhärenzonen und septate junctions verbunden.



**Abbildung 2.20.** *Sabellaria alveolata*. Metatrochophora 9 Wochen. TEM Querschnitte. Ciliäres Sinnesorgan. **A.** Beginn des Kanals im subkutikulären Extrazellularraum. **B. bis E.** Detail der Einmündung des Rezeptorzellciliums in den Kanal. — **ac:** akzessorisches Centriol, **az:** Adhärenzzone, **ex:** Extrazellularraum, **rz:** Rezeptorzelle, **sj:** septate junctions, **st:** Stützzelle, **stk:** Zellkern der Stützzelle, **szb:** bipolare Sinneszelle, **szk:** Zellkern der Sinneszelle, **v:** Vakuole, **Pfeil:** Rezeptorzellcilium.

Stützzelle, Rezeptorzelle und einige wenige der begleitenden bipolaren Sinneszellen bilden vor dem Eintrittskanal in den Stützzellenhohlraum eine Art Vorkammer unterhalb der Kutikula, die eine maximale Ausweitung von circa 2 µm erreicht (Abb. 2.21A). Mit den Epidermiszellen sind diese Zellen über Adhärenzzonen und septate junctions verbunden. In den so gebildeten Raum entsenden alle beteiligten Zellen wenige unverzweigte Mikrovilli, wobei die meisten der Rezeptorzelle entwachsen. Ferner entsendet jede der bipolaren Sinneszellen, nicht aber die Stütz- oder die Rezeptorzelle ein Cilium in das Lumen zwischen den Epidermiszellen und der Kutikula. Die Cilien durchlaufen dabei teils auch den zuvor beschriebenen Hohlraum direkt oberhalb des Organs. An der Basis der Sinneszellcilien finden sich Basalkörper und ein Centriol, allerdings keine Wurzelstrukturen.

Das Cilium der Rezeptorzelle besitzt einen Basalkörper und ein akzessorisches Centriol, jedoch keine Wurzelstrukturen (Abb. 2.20A, B). Das Axonem löst sich distal auf, ist aber bei jüngeren Stadien noch so weit erhalten und aufgerollt, dass es in tiefer liegenden Querschnitten teils dreifach angeschnitten wird. In den ältesten Stadien findet es sich nur einmal pro Querschnitt (Abb. 2.21E, F) und ist im degradierenden



**Abbildung 2.21.** *Sabellaria alveolata*. Metatrochophora 9 Wochen. TEM Querschnitte. Ciliäres Sinnesorgan. **A.** Extrazellularräum oberhalb des Kanals. **B. bis E.** Verlauf des Rezeptorciliums und Verzweigungen der Mikrovilli-artigen Ausläufer. **F.** Axon der Stützzelle. — **ax:** Axon, **az:** Adhärenzzone, **ex:** Extrazellularräum, **gr:** Granuli, **ne:** Nervengewebe, **bk:** Basalkörper (Sinneszelle), **rza:** Ausläufer des Rezeptorzellciliums, **rzm:** Mikrovilli der Rezeptorzelle, **sj:** septate junctions, **st:** Stützzelle, **stm:** Mikrovilli der Stützzelle, **szb:** bipolare Sinneszelle, **Pfeil:** Rezeptorzellcilium.

Zustand beim juvenilen Wurm nicht mehr erkennbar. Das Axonem erstreckt sich dabei auch in den jüngsten Stadien nur maximal bis zur Hälfte des Hohlraums bevor es sich zurück nach apikal biegt. Dabei bleibt die 9x2-Struktur des Axonems erhalten, die Zentraltubuli scheinen jedoch von Beginn an nicht vorhanden zu sein (Abb. 2.21B-E). Das Cilium verzweigt sich innerhalb des Hohlraums stark in Mikrovilli, lediglich die Bereiche um das intakte Axonem weisen ein deutlich größeres Lumen auf. Die sich vielfach verzweigenden Ausläufer füllen den von der Stützzelle gebildeten Extrazellularraum nahezu vollständig aus, der einen maximalen Durchmesser von etwa 6  $\mu\text{m}$  und eine Länge von etwa 9  $\mu\text{m}$  erreicht und in Querschnitten nahezu rund wirkt (Abb. 2.21E). Ein Muster ist in der Anordnung der Verzweigungen und Ausläufer nicht zu erkennen, die Ausläufer scheinen sich vielmehr ungerichtet ineinander zu ranken. Nur an wenigen Stellen wird dieses enge Geflecht ausschließlich randständig von wenigen kurzen Cytoplasmaausläufern der Stützzelle durchdrungen (Abb. 2.21D). Nur selten finden sich zwischen den Ausläufern einzelne elektronendunkle Granuli, die auch im Cytoplasma der Stützzelle vorhanden sind. Der Zellkern der Rezeptorzelle liegt mittig bis apikal in einer lateralen Ausbuchtung der Zelle und weist einen Nucleolus auf. Das teils rauhe endoplasmatische Reticulum findet sich nur in direkter Umgebung des Kerns. Das Cytoplasma ist nicht auffallend reich an Organellen; neben Mitochondrien und Golgi Stapeln werden nur vereinzelt Vakuolen angeschnitten.

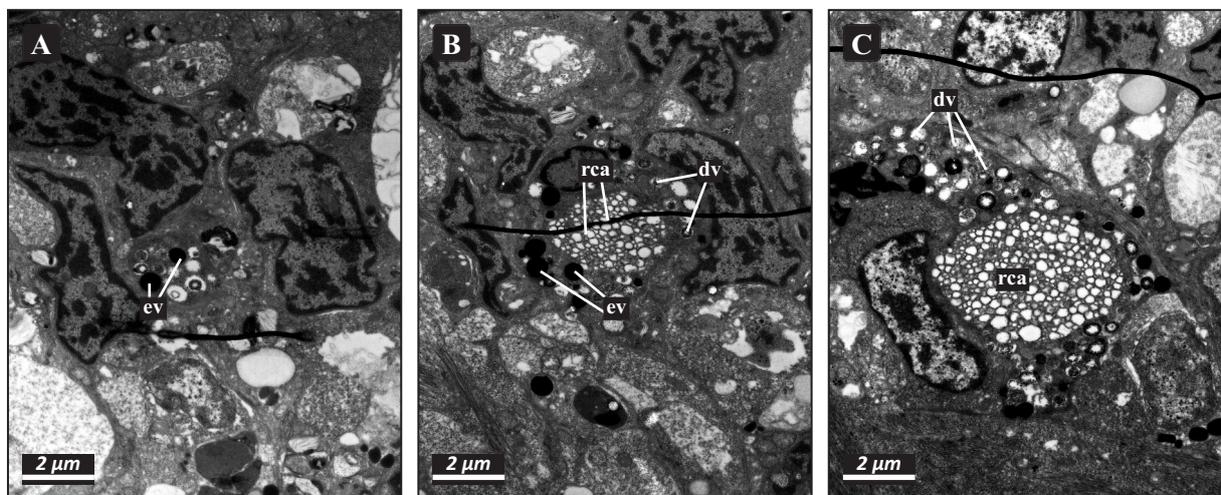
Der Zellkern der Stützzelle erstreckt sich beinahe über die gesamte Zelllänge. Im Bereich des extrazellulären Hohlraums wird er stark und nimmt in Querschnitten eine sichelförmige Gestalt an (Abb. 2.21D, E). Apikal ist das Cytoplasma der Stützzelle bei dem neun Wochen alten Stadium äußerst reich an großen Vakuolen und Zelleinschlüssen (Abb. 2.20A, B), die häufig reich an elektronenhellem Material sind oder tubuläre Strukturen beinhalten. Diese auffallende Ansammlung von Vakuolen fand sich nicht bei jüngeren Stadien, jedoch bei dem vermutlich degradierenden Organ eines juvenilen Tieres in noch weit größerem Ausmaß. An der Basis der Stützzelle finden sich im Cytoplasma immer einige dunkle Einschlüsse, die weit größer sind als die angesprochenen dunklen Granuli und als Pigmente gedeutet werden können. Diese kommen jedoch nicht annähernd so zahlreich vor, wie man dies gemeinhin von den Pigmentzellen pigmentierter Sinnesorgane kennt. Auch hier bildet das degenerierende Organ im juvenilen Stadium insofern eine Ausnahme, als dass verhältnismäßig größere Pigmentansammlungen sehr wohl vorhanden sind, die allerdings gleichmäßig um den Extrazellularraum verteilt sind und sich nicht auf den basalen Abschnitt der Stützzelle beschränken. Dennoch müssen diezu großen Teilen der Stützzelle zugeschrieben werden. Die Stützzelle besitzt nie ein Cilium, jedoch konnte ein Centriol in einem Fall beobachtet werden. Die Zelle ist relativ reich an Mitochondrien. Glattes und rauhes endoplasmatisches Reticulum sind vorhanden, auch Golgi-Stapel finden sich in vielen Schnitten.

Die Kutikula ist auch über dem Organ vollständig geschlossen und wird nicht von Cilien des Organs durchdrungen. Die Zellkerne der begleitenden bipolaren Sinneszellen liegen entfernt der Kutikula. Neben den bipolaren Sinneszellen entsenden sowohl die Rezeptorzelle als auch die Stützzelle jeweils an ihrem basalen Ende Dendriten in das im Prostomium liegende Gehirn (Abb. 2.21F).

### Juveniles ciliäres Sinnesorgan

Bei Untersuchungen zum Vorhandensein und zur Lage von Nuchalorganen bei juvenilen Würmern konnte in einer Schnittserie eine unpaare Struktur entdeckt werden, die auffallend an das larvale ciliäre Sinnesorgan erinnert. Sie liegt in dem Gewebe, das sich basal freiliegend zwischen den noch unverwachsenen Palpen befindet und welches an seiner den Palpen zugewandten Seite die bipolaren Sinneszellen des vermuteten Nuchalorgans trägt.

In Querschnitten sieht man einen apikal eher runden, im Verlauf zunehmend ovoid erscheinenden Raum, der dicht angefüllt ist mit Mikrovilli-ähnlichen Ausläufern. Diese scheinen ungeordnet durcheinander zu laufen und reichlich verzweigt zu sein (Abb. 2.22B). Dies entspricht genau dem Bild, das man auch in Querschnitten des mit Ausläufern gefüllten extrazellulären Raumes der Stützzelle beim larvalen ciliären Sinnesorgan erhält. Mit einer Länge von ungefähr 8  $\mu\text{m}$  und einem maximalen Durchmesser auf den Querschnitten von circa 5 bis 9  $\mu\text{m}$  entspricht dieser Extrazellulärraum in seiner Ausdehnung dem beim larvalen Sinnesorgan beschriebenen Extrazellulärraum. Jedoch können in diesem Stadium eine Stützzelle und eine Rezeptorzelle nicht zweifelsfrei benannt werden. In der ausgewerteten Schnittserie konnten in den Ausläufern innerhalb des Extrazellulärraums kein Axonem und keine Mikrotubuli zweifelsfrei angesprochen werden. So konnten diese Strukturen auch nicht zu einer cilientragenden Rezeptorzelle verfolgt werden. Der mit Ausläufern dicht gefüllte Hohlraum wird von vielen Zellkernen umgeben, von denen sich keiner eindeutig der eventuellen Stützzelle zuordnen ließe. Um den Extrazellulärraum finden sich Pigmenteinschlüsse in relativ hoher Anzahl (Abb. 2.22A, C). Kleinere Cytoplasma gefüllte Ausläufer ragen in den Hohlraum hinein und durchdringen das Geflecht der Mikrovilli-artigen Ausläufer randständig. Bemerkenswerter Weise liegt die beschriebene Struktur in unmittelbarer Nähe der bipolaren Sinneszellen des möglichen Nuchalorgans. Einige dieser Sinneszellen grenzen mit ihren basalen Ausläufern direkt an diese Zelle. Die direkte Nähe bipolarer Sinneszellen wurde auch beim larvalen Sinnesorgan dokumentiert. Auch die apikale Lage noch vor den pigmentierten rhabdomerischen Augen korrespondiert mit dem larvalen Zustand.



**Abbildung 2.22.** *Sabellaria alveolata*. Juvenilstadium 15 Wochen. TEM Querschnitte. Ciliäres Sinnesorgan. **A.** Distale Schnittebene durch das mutmaßlich degenerierende ciliäre Sinnesorgan. Mikrotubuli des Rezeptorciliums sind nicht mehr nachweisbar. **B.** und **C.** Schnittebenen weiter proximal. — **dv**: mutmaßlich degenerierende Vakuolen, **ev**: elektronendunkle Vakuolen, **rca**: Ausläufer des Rezeptorciliums.

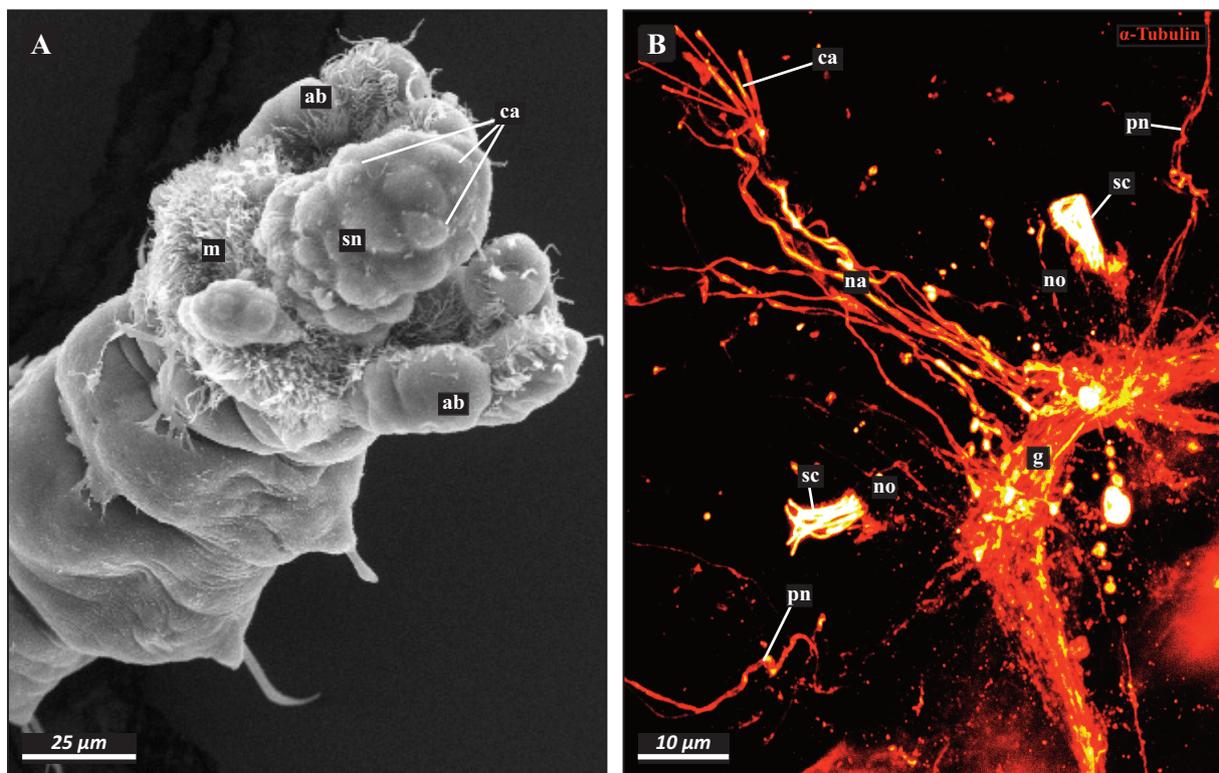
### 3.3 MEGALOMMA VESICULOSUM

#### 3.2.1 NUCHALORGANE

Nuchalorgane wurden bei wenige Stunden alten Trochophora, bei mit der Metamorphose beginnenden und bei komplett umgewandelten juvenilen *M. vesiculosum* ultrastrukturell und nach Färbung mit acetyliertem  $\alpha$ -Tubulin im CLSM untersucht. Dabei konnten bei den jüngeren Trochophora Stadien (36 und 60 Stunden alt) keine Nuchalorgane gefunden werden. Erst bei sechseinhalb Tage alten Würmern, die bereits zwei bis vier borstentragende Segmente und deutliche Ansätze der Branchialkrone mit ersten Verzweigungen besaßen, konnten Nuchalorgane nachgewiesen werden, die in ihrem Aufbau bereits deutlich die typischen Merkmale der adulten Organe aufwiesen.

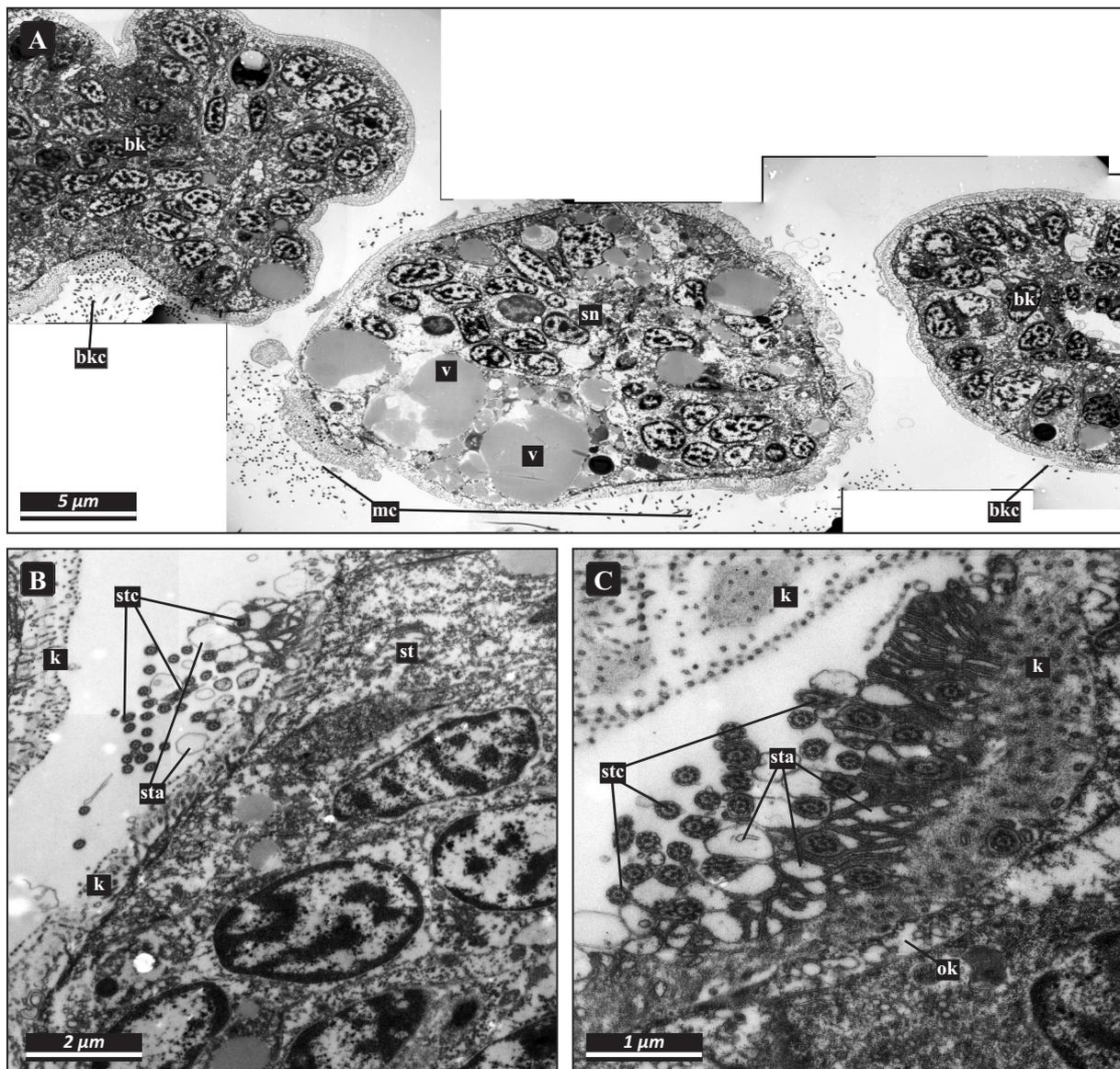
#### Larvales NO (sechseinhalb Tage alte Stadien)

Die paarigen larvalen Nuchalorgane liegen jeweils in einem Spalt, der sich zwischen den lateral auswachsenden ersten Filamenten der Branchialkrone und dem sich teilweise bereits abbauenden Prostomium, der *snout*, befindet (Abb. 3.2A). Das Organ kann rasterelektronenmikroskopisch aufgrund seiner Position tiefer in diesem Spalt nicht dargestellt werden (Abb. 3.1A), jedoch können die Lage und die Innervierung sehr gut mit dem CLSM dokumentiert werden (Abb. 3.1B). Der zelluläre Aufbau wird durch ultradünne Schnittserien mittels TEM dokumentiert.



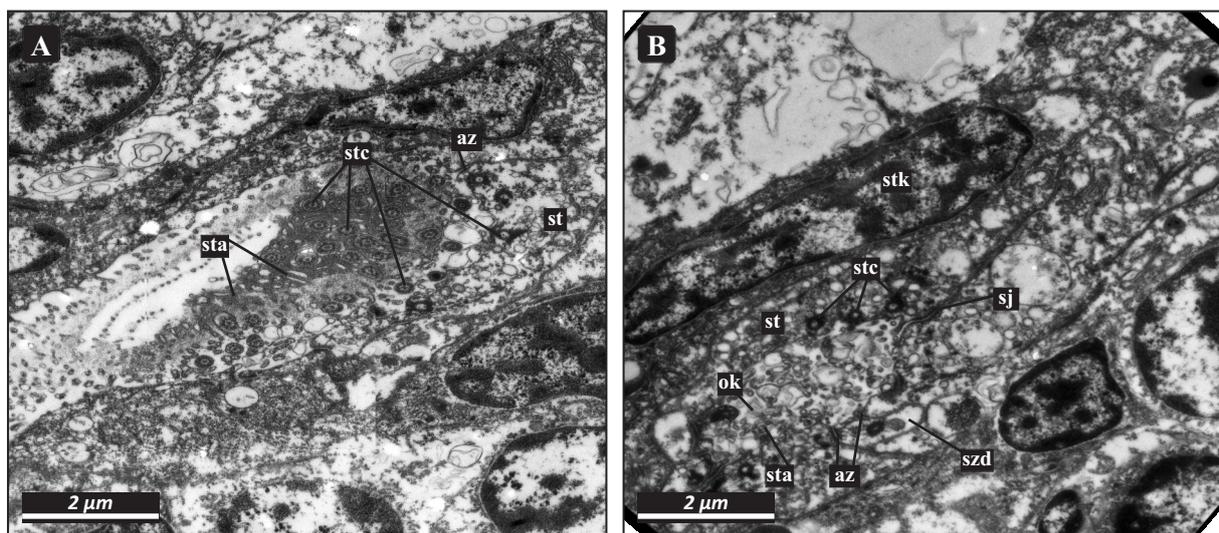
**Abbildung 3.1.** *Megalomma vesiculosum*. Juvenilstadium 6,5 Tage. **A.** REM. Ventrolaterale Detailansicht des Kopfes. **B.** CLSM Markierung gegen  $\alpha$ -Tubulin. Dorsale Detailansicht des Kopfes. — **ab:** Knospen der Branchialkrone, **ca:** Cilien des Apikalorgans, **g:** Gehirn, **m:** Mundöffnung, **na:** Innervierung des Apikalorgans, **no:** Nuchalorgan, **pn:** Palpenerv, **sc:** Cilien der Stützzellen des , **sn:** *snout*.

Das larvale Nuchalorgan wird ausschließlich von zwei Zelltypen gebildet, den bipolaren, monociliären Sinneszellen und den multiciliären Stützzellen. Die multiciliären Stützzellen finden sich am Rand dieses im Querschnitt nahezu runden Organs, das sich zur Mitte hin leicht trichterförmig einsenkt. Die bipolaren Sinneszellen finden sich ausschließlich am Boden des Trichters. In diesem frühen Entwicklungsstadium sind vier Stützzellen vorhanden, die mit den benachbarten Zellen, seien es angrenzende Epidermiszellen, Stützzellen oder eingebettete bipolare Sinneszellen, durch zonulae ahaerens und septate junctions verbunden sind. Ausschließlich oberhalb dieses Organs befindet sich zwischen der geschlossenen Kutikula und den beteiligten Zellen ein extrazellulärer Raum, der bei Nuchalorganen als olfaktorische Kammer bezeichnet wird. Hier rein entsenden die bipolaren Sinneszellen ihre meist nur kurzen Cilien. Ansonsten finden sich in diesem extrazellulären Raum viele Mikrovilli und Cytoplasma gefüllte Zellausläufer vor allem der Stützzellen, nur wenige Mikrovilli gehen von den Dendriten der Sinneszellen aus.



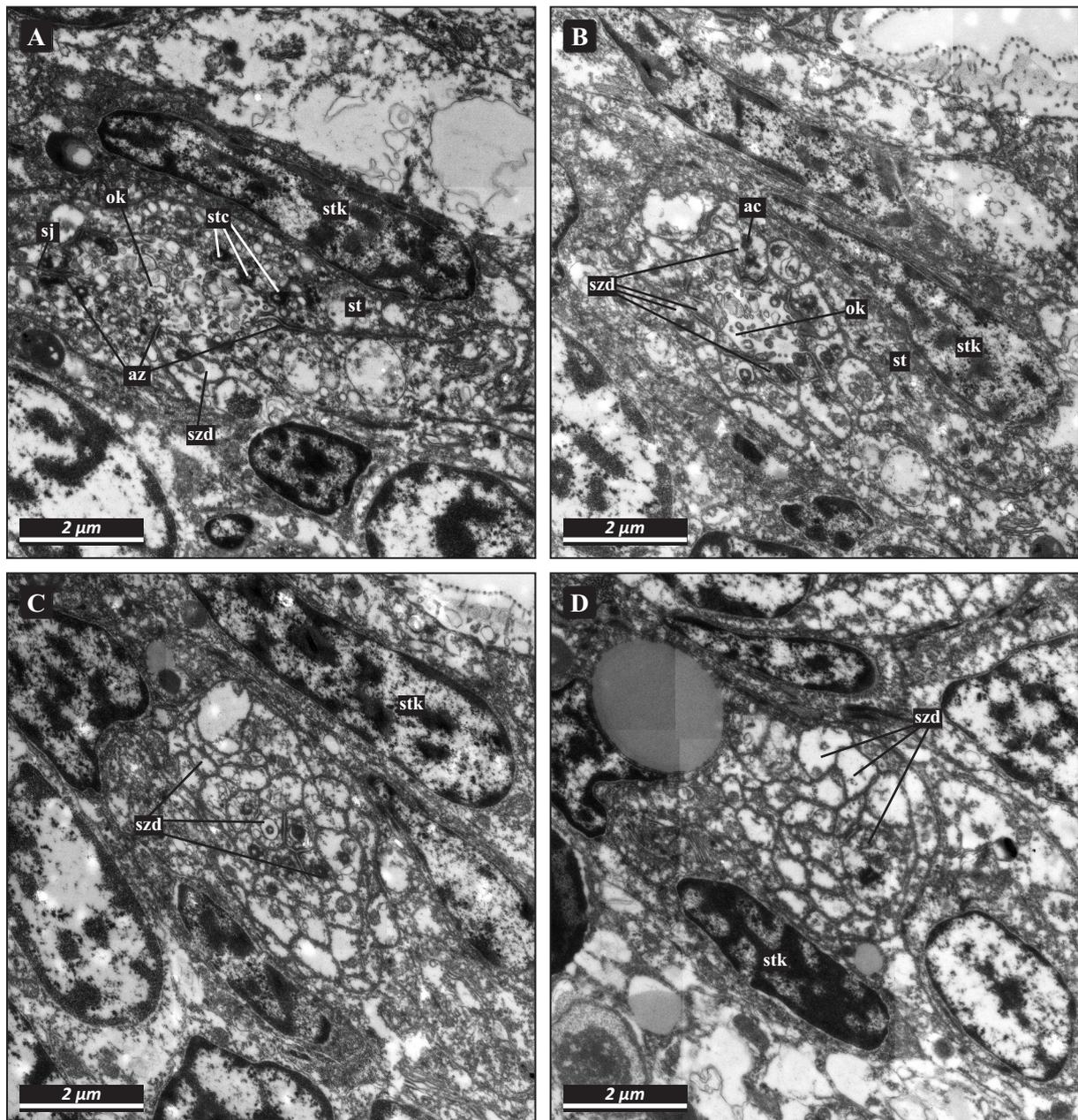
**Abbildung 3.2.** *Megalomma vesiculosum*. Juvenilstadium 6,5 Tage. TEM. Querschnitte Kopffregion und Nuchalorgan. **A.** Übersicht mit Anschnitten der Branchialkrone (**bk**) und der Snout (**sn**). **B.** Distaler Abschnitt des Nuchalorgans. **C.** Detail der Pflasterstein-artigen Abdeckung. — **bk**: Branchialkrone, **bkc**: Cilien der Branchialkrone, **k**: Kutikula, **mc**: Cilien des Mundfeldes, **ok**: Olfaktorische Kammer, **sn**: snout, **st**: Stützzelle, **sta**: Stützzellausläufer, **stc**: Cilien der Stützzelle, **v**: Vakuolen.

Aufgespannt wird die olfaktorische Kammer durch die die Kutikula durchwachsenden Cilien der multiciliären Stützzellen (Abb. 3.2B). Jede Stützzelle sendet etwa zehn Cilien aus. Die Cilien besitzen je ein Centriol, einen Basalkörper und eine vergleichsweise gedrungene Cilienwurzel. Sie durchlaufen die olfaktorische Kammer, um sodann die Kutikula zu durchdringen. Die Kutikula weist in diesem Bereich oberhalb der gesamten Organe einen deutlichen Dichtegradienten auf und ist mit einer Ausdehnung von bis zu 750 nm dicker als über der benachbarten Epidermis, wo sie lediglich bis circa 500 nm misst. Ferner durchdringen Mikrovilli der Stützzellen in großer Anzahl die Kutikula und bilden auf ihr die für die Nuchalorgane bestimmter Taxa typische pflastersteinartige Abdeckung (Abb. 3.2C). Die Abdeckung liegt der Kutikula direkt auf und wird, soweit dies nachvollzogen werden konnte, ausschließlich von den Mikrovilli der Stützzellen gebildet. Die Mikrovilli weiten sich oberhalb der Kutikula und bedecken diese lückenlos im Verbund mit den einzeln herausstehenden Cilien der Stützzellen. Die gleichmäßigen, etwa 25 nm breiten Räume, die wie die Fugen der Pflastersteine wirken, sind deutlich elektronendichter als die Mikrovilli und zeigen, wo sie an einander treffen, eine elektronendunkle Naht. Neben den die Kutikula durchdringenden Mikrovilli senden die Stützzellen auch äußerst viele mit Cytoplasma gefüllte, teils verzweigte Zellausläufer und Mikrovilli in die olfaktorische Kammer. Die Stützzellen sind vor allem apikal auffällig vesikelreich. Je weiter man sich von der pflastersteinartigen Abdeckung sowohl Richtung des Zentrums des Nuchalorgans als auch der umgebenden Epidermiszellen entfernt, desto heller erscheint die Kutikula (Abb. 3.3A). Der Übergang vom Extrazellularraum mit seinen vielfach angeschnittenen Zellausläufern und Mikrovilli zu dem vesikelgefüllten apikalen Cytoplasma der Stützzellen kann nur durch den Verlauf der Zellmembran ausgemacht werden. Es besteht kaum ein optischer Unterschied. Die Vesikel erscheinen fast ausnahmslos sehr elektronenhell. Um die Zellkerne herum (Abb. 3.3B), die recht weit apikal liegen, findet man ein ausgeprägtes, teils raues endoplasmatische Retikulum. Neben einigen Golgi-Stapeln werden auch viele Mitochondrien angeschnitten.



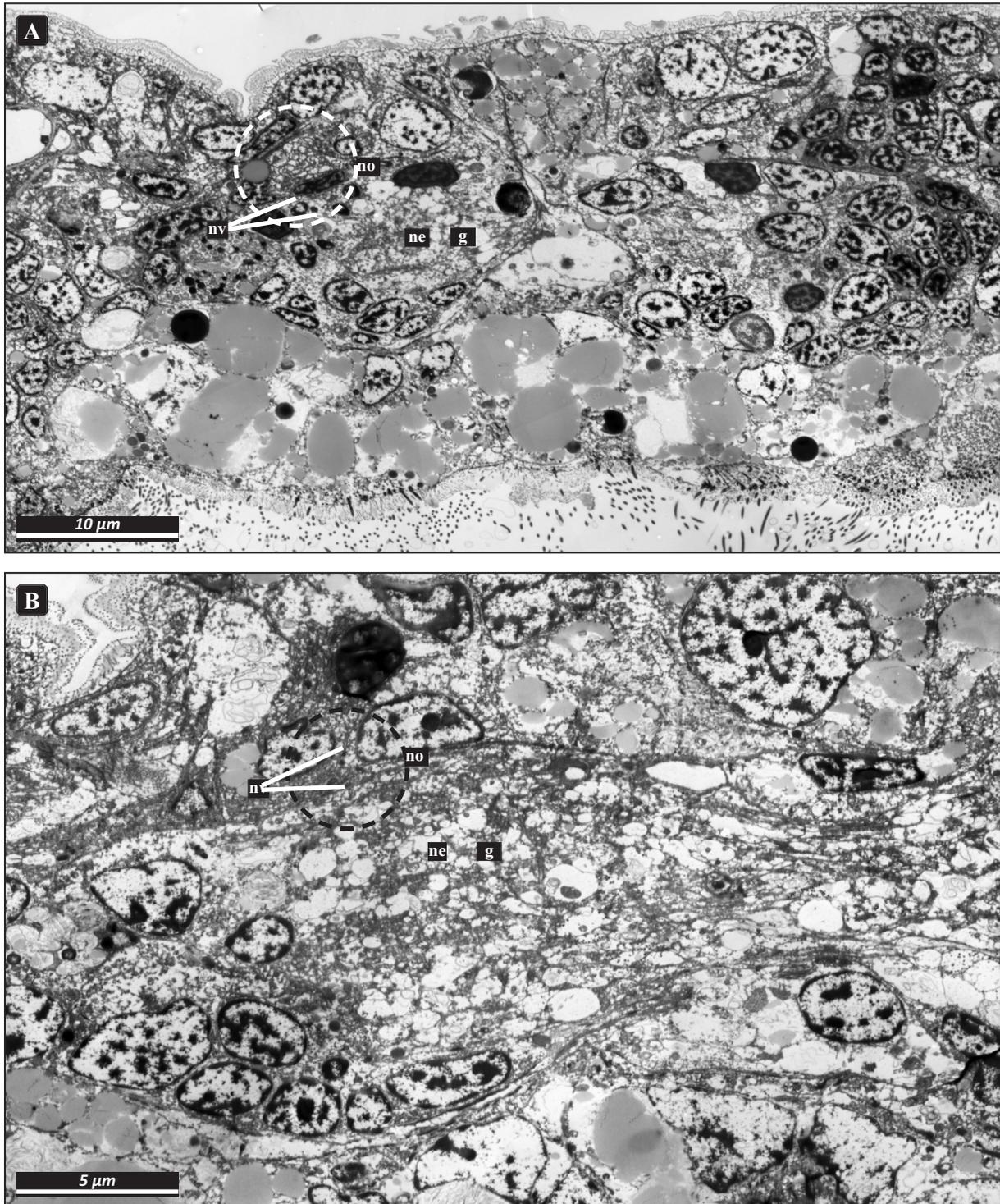
**Abbildung 3.3.** *Megalomma vesiculosum*. Juvenilstadium 6,5 Tage. TEM. Querschnitte Nuchalorgan. **A.** Tiefer im Gewebe liegende Schnittebene mit Stützzellen und Abdeckung. **B.** Schnittebene weiter proximal mit Stützzellen und Sinneszeldendriten. — **az:** Adhärenzzone, **ok:** Olfaktorische Kammer, **sj:** septate junctions, **st:** Stützzelle, **sta:** Stützzellausläufer, **stc:** Cilien der Stützzelle, **stk:** Zellkern der Stützzelle, **szd:** Sinneszelle, **szd:** Sinneszeldendrit.

Die bipolaren Sinneszellen entsenden apikal ein kurzes Cilium in die olfaktorische Kammer (Abb. 3.4A, B). Dem ansonsten vollständigen Axonem der Cilien scheinen durchgängig die Zentraltubuli zu fehlen oder sich mindestens in Auflösung zu befinden, da gelegentlich Reste eines Zentraltubulus zu sehen sind. Das bei allen Cilien der Stützzellen deutliche 9x2 plus 2 Muster lässt sich hier nicht erkennen. Die Cilien besitzen einen Basalkörper, jedoch keine erkennbare Cilienwurzel. Ein akzessorisches Centriol konnte bei einigen klar zugewiesen werden. Die Dendriten der Sinneszellen ziehen in einem gebündelten, im Durchmesser knapp 1,5 µm messenden Cluster zum sich entwickelnden Gehirn, das den Großteil des Prostomiums ausfüllt (Abb. 3.4C, D; Abb. 3.5A, B).



**Abbildung 3.4.** *Megalomma vesiculosum*. Juvenilstadium 6,5 Tage. TEM. Querschnitte Nuchalorgan. **A.** und **B.** Schnittebenen weiter proximal, zunehmend sind Dendriten der Sinneszellen zu sehen. Median noch immer Extrazellulärer Raum (**ok**). **C.** und **D.** Am Rand des Organs sind die Zellkerne der Stützzellen sichtbar, in der Mitte ein Cluster aus Dendriten der Sinneszellen. — **ac:** akzessorisches Centriol, **az:** Adhärenzzone, **ok:** Olfaktorische Kammer, **sj:** septate junctions, **st:** Stützzelle, **sta:** Stützzellausläufer, **stc:** Cilien der Stützzelle, **stk:** Zellkern der Stützzelle, **sz:** Sinneszelle, **szd:** Sinneszellendrit.

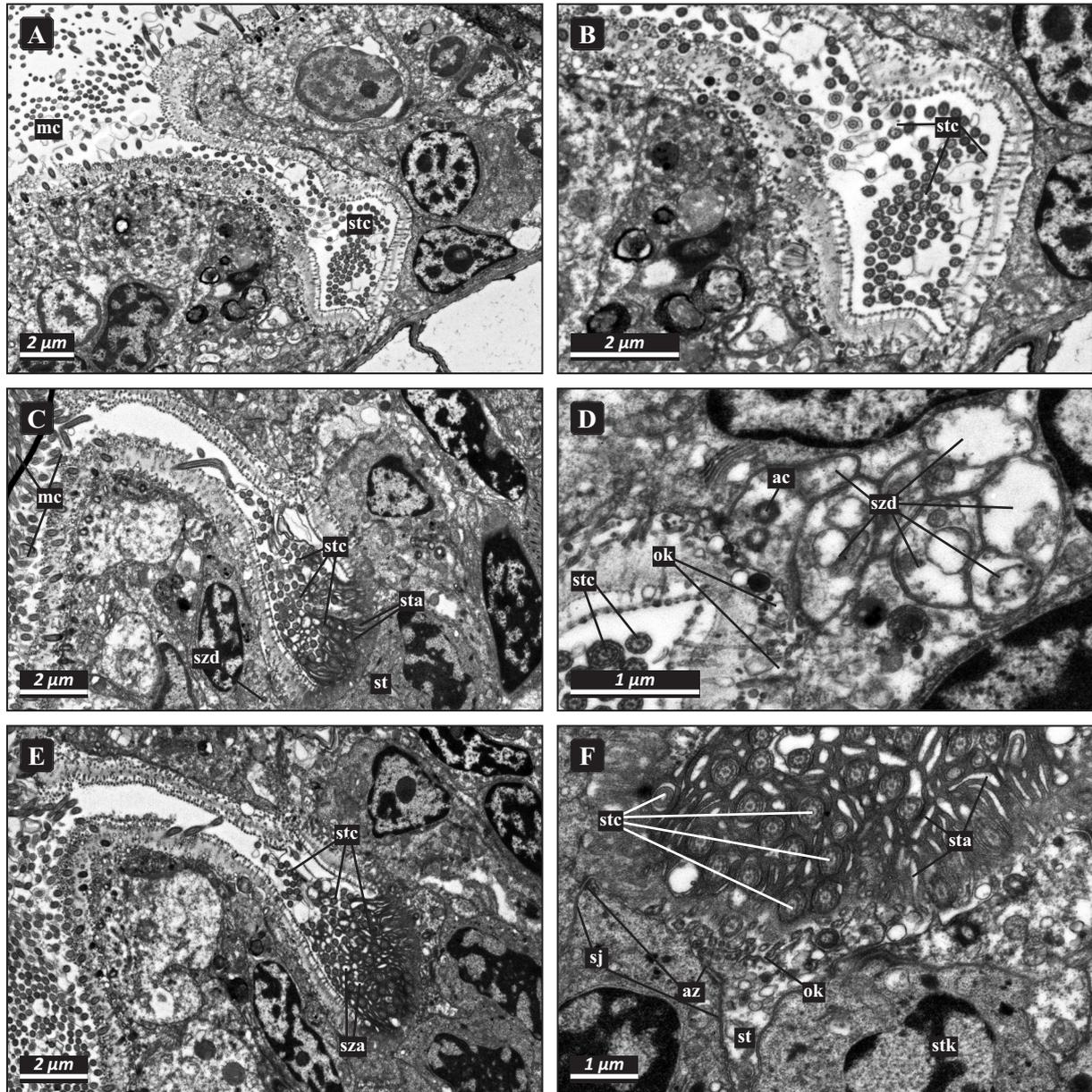
Immunmarkierungen gegen acetyliertes  $\alpha$ -Tubulin legen den Schluss nahe, dass die Sinneszellen nicht direkt im Gehirn eingebettet sind, sondern ein gesondertes Axon entsenden (Abb. 3.1B). Deutlich ist in den Aufnahmen zu sehen, dass zwischen den Cilien der Sinneszellen und der Innervierung des Gehirns ein kleiner Bereich nicht markiert wurde. Dieser Bereich wird als die Stelle der Perikaryen gedeutet. Ein Retraktormuskel, wie er für viele Nuchalorgane typisch ist, wurde nicht gefunden.



**Abbildung 3.5.** *Megalomma vesiculosum*. Juvenilstadium 6,5 Tage. TEM. Querschnitte Nuchalorgan (gestricheltes Oval). **A.** Übersicht an der Basis der Nuchalorgane. **B.** Ansicht der Innervierung zum Gehirn. — **g**: Gehirn, **ne**: Nervengewebe, **no**: proximaler Teil des Nuchalorgans, **nv**: nervöse Anbindung an das Gehirn.

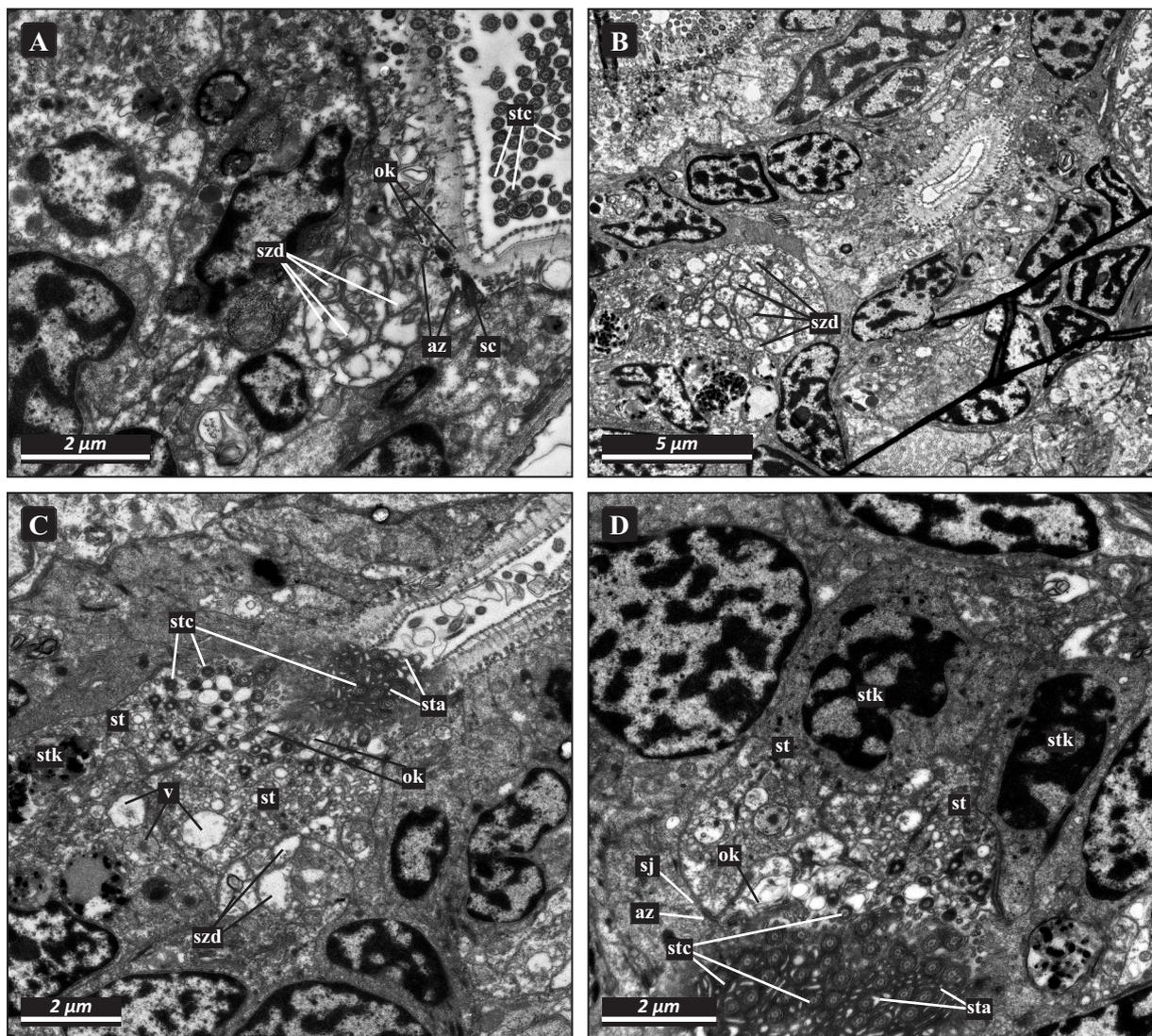
**Juveniles Nuchalorgan (100 Tage alte Stadien)**

Durch das starke laterale Auswachsen der Branchialkrone und den nach der Metamorphose vollständigen Abbau der *snout* liegt das Nuchalorgan des juvenilen Wurms nunmehr paarig in zwei Taschen, die dorsolateral vom Inneren des Mundvorraums noch vor dem Beginn des Ösophagus abzweigen (Abb. 3.6A, B). Die Organe lassen sich somit nicht im REM nachweisen, jedoch ist ihre Lage und Innervierung in Schnittserien und mit dem CLSM sehr gut zu dokumentieren. Der zelluläre Aufbau wird mittels ultradünnen Schnittserien im TEM nachvollzogen.



**Abbildung 3.6.** *Megalomma vesiculosum*. Juvenilstadium 100 Tage. TEM. Querschnitte Nuchalorgan. **A.** Übersichtsaufnahme der dorsolateralen Tasche, in der das Nuchalorgan liegt. **B.** Detailansicht des dorsalen Abschnitts. **C.** und **E.** Beginn der Pflasterstein-artigen Abdeckung. **D.** Detail der Sinneszellendrite. **F.** Detail der Abdeckung. — **ac:** akzessorisches Centriol, **az:** Adhärenzzone, **bk:** Basalkörper, **mc:** Cilien des Mundfeldes, **ok:** Olfaktorische Kammer, **sc:** Sinnescilien, **sj:** septate junctions, **st:** Stützzelle, **sta:** Stützzellausläufer, **stc:** Cilien der Stützzelle, **stk:** Zellkern der Stützzelle, **szd:** Sinneszellendrit, **v:** Vakuolen.

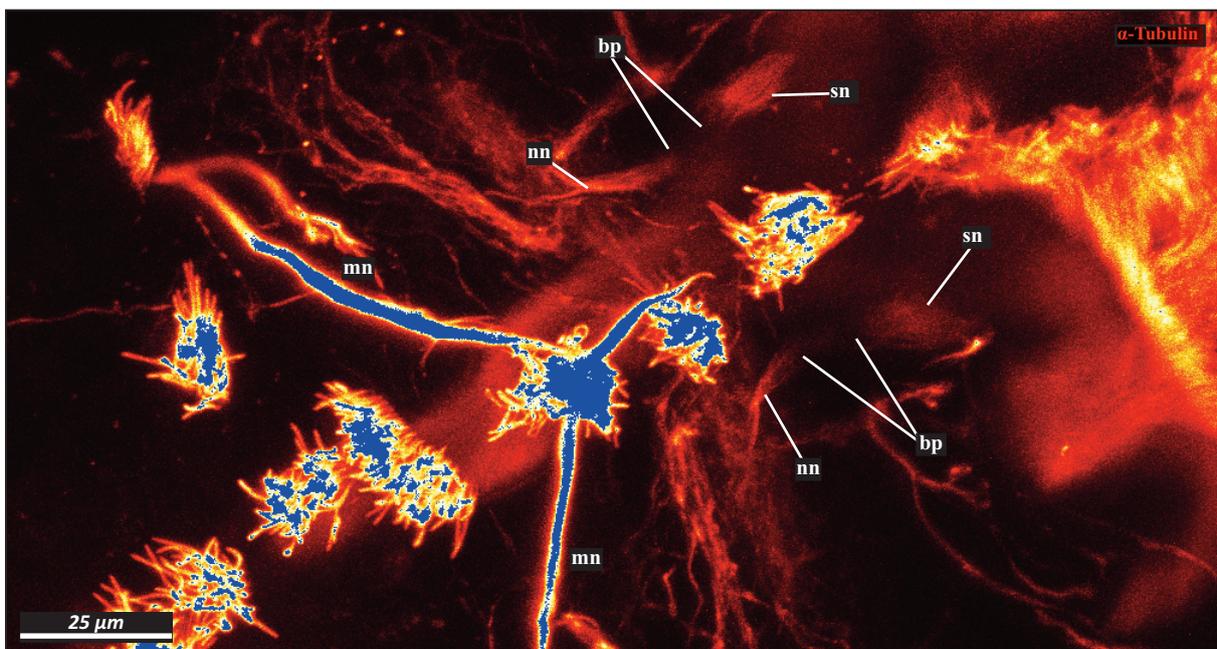
Auch das juvenile Nuchalorgan, das bereits die gleiche Lage wie im Adultus besitzt, wird ausschließlich durch zwei Zelltypen, die bipolaren, monociliären Sinneszellen und die multiciliären Stützzellen, aufgebaut (Abb. 3.6C). Zwischen den Zellen des Nuchalorgans und der Kutikula findet sich die für Nuchalorgane typische olfaktorische Kammer als extrazellulärer Raum (Abb. 3.6D). Dieser scheint durch die Cilien der Stützzellen, die ihn durchziehen und die alsbald als einzige Cilien in dieser Region die Kutikula durchdringen, aufgespannt zu sein. Die Cilien der Sinneszellen durchdringen die Kutikula hingegen nie. Der geschlossenen Kutikula liegt im Bereich des gesamten Organs die schon beim larvalen Nuchalorgan beobachtete pflastersteinartige Abdeckung auf (Abb. 3.6E), die auch hier augenscheinlich ausschließlich von Mikrovilli der Stützzellen gebildet wird, welche die Kutikula durchdringen und sich oberhalb soweit seitlich ausweiten, dass aus ihnen im Verbund mit den Cilien der Stützzellen eine geschlossene Fläche entsteht (Abb. 3.6F). Die Kutikula ist oberhalb des Nuchalorgans elektronendichter und mit fast 750 nm deutlich breiter als oberhalb der Epidermiszellen, wo sie nur maximal 500 nm misst und den Zellen direkt aufliegt.



**Abbildung 3.7.** *Megalomma vesiculosum*. Juvenilstadium 100 Tage. TEM. Querschnitte Nuchalorgan. **A.** Detailansicht eines Clusters aus Sinneszeldendriten. **B.** Übersichtsabbildung zur Lage des Dendritenclusters. **C.** Lage der Stützzellen. **D.** Detailansicht der Stützzellen. — az: Adhärenzzone, ok: Olfaktorische Kammer, sc: Sinnescilien, sj: septate junctions, st: Stützzelle, sta: Stützzellausläufer, stc: Stützzellcilien, stk: Zellkern der Stützzelle, sz: Sinneszelle, szd: Sinneszeldendrit, v: Vakuolen.

Betrachtet man das Organ von seiner Basis aus, dem dorsal im Mundvorraum gelegenen Taschenboden, dann enden die Dendriten der bipolaren Sinneszellen in zwei Clustern pro Organ ausschließlich hier und entsenden ihre Cilien in die subkutikuläre olfaktorische Kammer (Abb. 3.7A, B). Alle näher betrachteten Cilien besitzen einen Basalkörper und ein akzessorisches Centriol, aber keine Cilienwurzel. Die Dendriten laufen in Bündeln aus etwa sechs bis acht Fortsätzen dorsomedian zum Gehirn. Die Aufnahmen mit dem CLSM legen auch bei diesem Stadium nahe, dass die Zellen nicht direkt im Gehirn eingebettet sind, sondern über ein Axon mit dem Gehirn verbunden sind. Dies wird aus der Tasche abgeleitet, dass in der  $\alpha$ -Tubulin Färbung die Cilien der Sinneszellen angefärbt sind und sich dann im weiteren Verlauf bis zur Innervierung des Gehirns ein schmaler ungefärbter Spalt befindet, der als Ort der Sinneszellperikaryen gedeutet wird (Abb. 3.8A). Die Zellen sind vergleichsweise arm an Organellen, jedoch finden sich Mitochondrien und Golgi-Stapel. Die Zellkerne liegen ausnahmslos tiefer im Gewebe unterhalb der Stützzellen. Apikal sind alle Sinneszellen untereinander und mit den angrenzenden Stützzellen über Adhärenzonen und septate junctions verbunden.

Die multiciliären Stützzellen entsenden jeweils etwa zehn Cilien, die alle einen Basalkörper, eine eher gedrungene Cilienwurzel und ein akzessorisches Centriol besitzen (Abb. 3.7C, D). Das Cytoplasma ist an der apikalen Seite äußerst reich an Vesikeln, die Membran ist dort ausgezeichnet durch sehr viele Zellausläufer und Mikrovilli. Es findet sich neben rauem, auch glattes endoplasmatisches Reticulum. Häufig sind Golgi-Stapel angeschnitten, die Zellen sind mitochondrienreich. Alle Zellen sind apikal durch deutliche Adhärenzonen und septate junctions verbunden, die sich auch an den Grenzen zu den Sinneszellen und weiteren Epidermiszellen finden lassen. Die Zellkerne liegen nicht so weit basal wie bei den Sinneszellen. Ihre apikale Oberfläche nimmt deutlich mehr Platz am gesamten Organ ein, als die zwischen ihnen endenden Dendriten der Sinneszellen. Ein Retraktormuskel konnte nicht nachgewiesen werden.

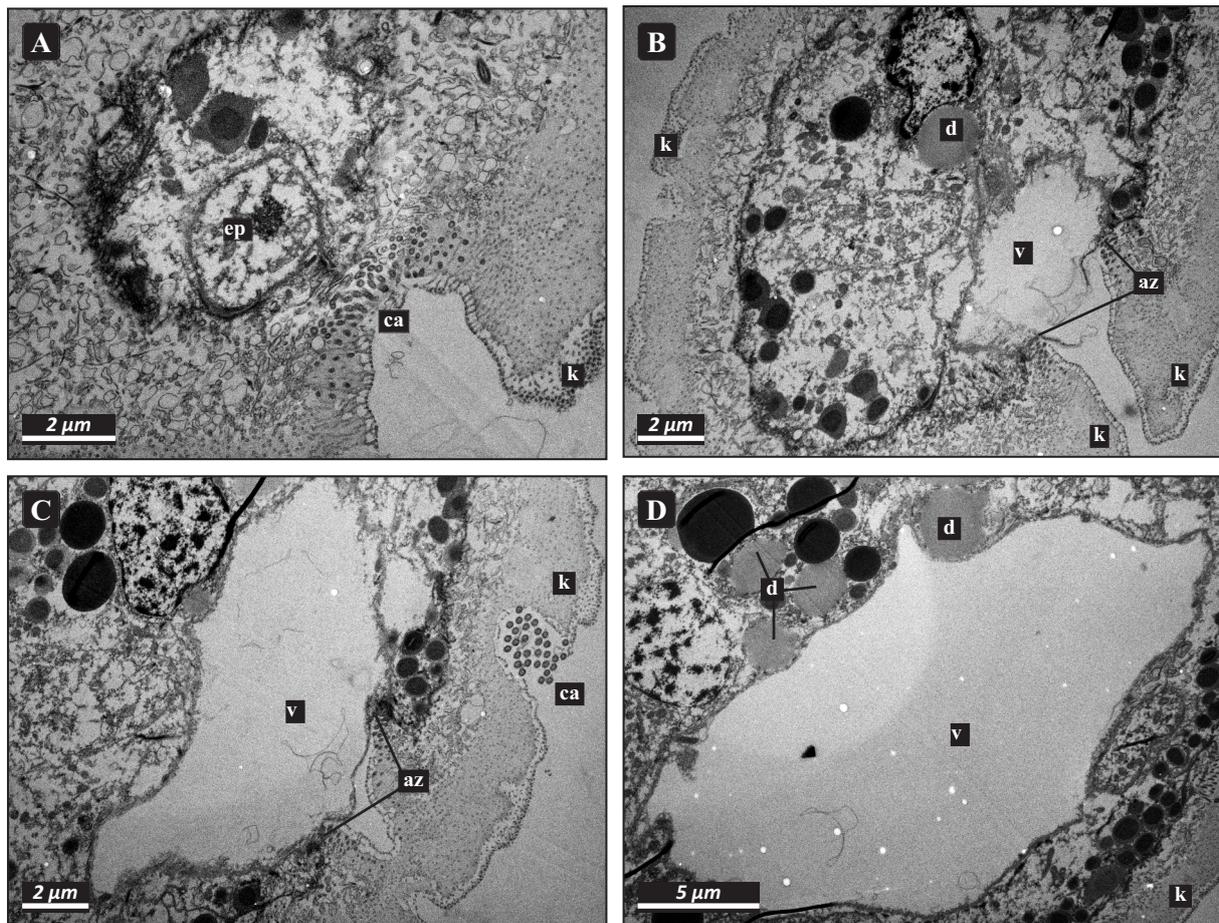


**Abbildung 3.8.** *Megalomma vesiculosum*. CLSM Markierung gegen  $\alpha$ -Tubulin. Juvenilstadium 100 Tage. Thorax und proximaler Teil der Branchialkrone. — **bp**: Bereich der Perikaryendes bipolaren Sinneszellen des Nuchalorgans, **mn**: Metamephridien, **nn**: Nuchalnerv, **sn**: Sinneszilien des Nuchalorgans.

### 3.2.2 CILIÄRES SINNESORGAN

Die freischwimmende Phase der lecithotrophen Trochophora ist bei *M. vesiculosum* sehr kurz. Die ersten Larven setzen sich bereits 3 Tage nach der Befruchtung fest und beginnen sofort mit dem Bau einer Schleimröhre. Da larvale ciliäre Sinnesorgane häufig nach dem Festsetzen abgebaut werden (eigene Untersuchung an *Sabellaria alveolata*, siehe auch HAUSEN 2001, 2005, KALLER 2011), wurden für die Untersuchungen zwei noch freischwimmende Stadien gewählt. Die Trochophora schwimmen etwa 10 bis 12 Stunden nach der Befruchtung auf und setzen sich nach ungefähr 72 Stunden fest, weswegen für die ultrastrukturellen Untersuchungen 36 und 60 Stunden alte Stadien gewählt wurden. Für die vergleichenden immunhistologischen Untersuchungen wurden zusätzlich 24 und 72 Stunden alte Stadien mit  $\alpha$ -Tubulin markiert.

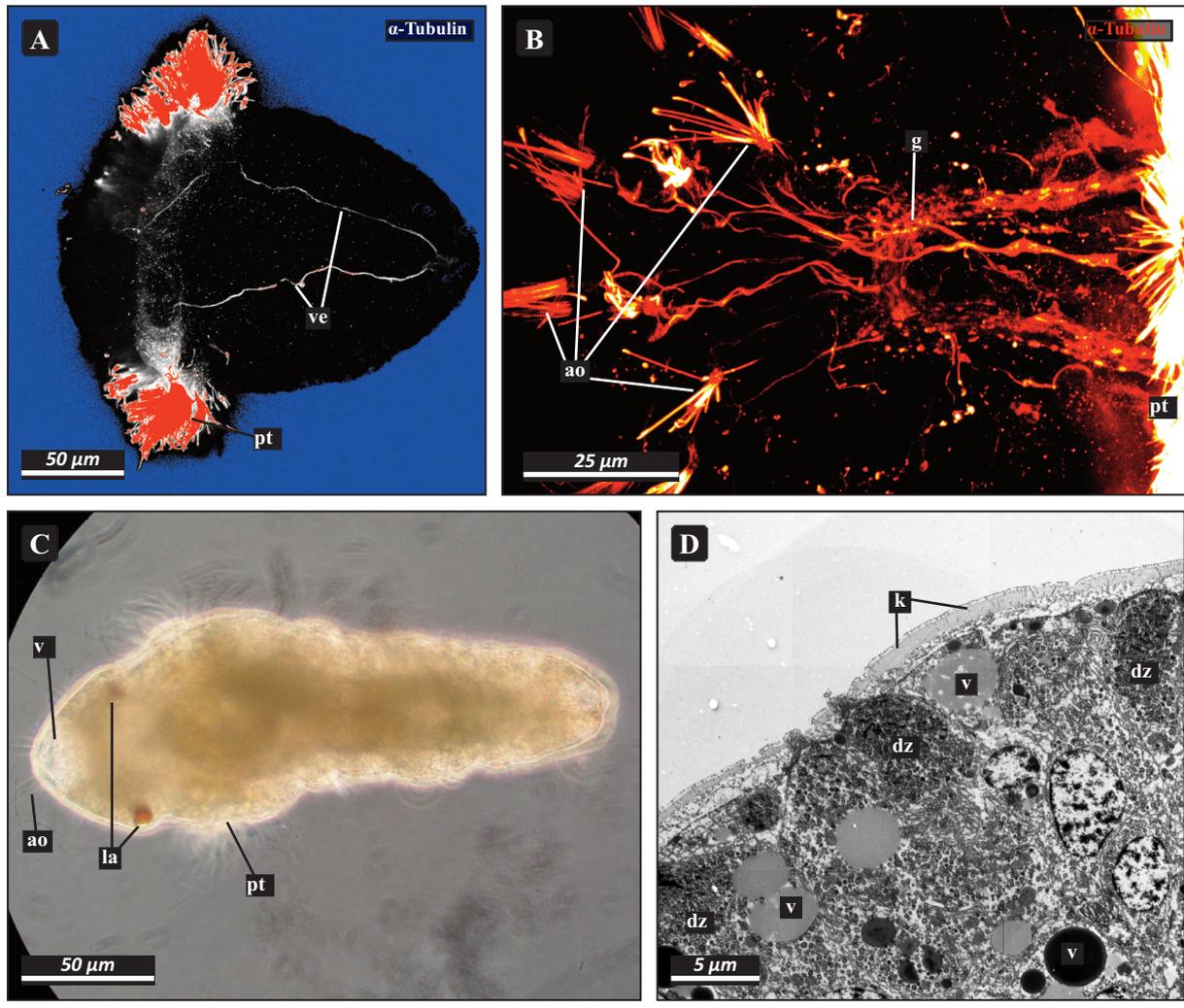
In den ultradünnen Schnittserien wurden bei keinem Individuum der untersuchten Stadien ciliäre Sinnesorgane entdeckt (Abb. 3.9A-D). Die gesamte Episphäre erscheint sehr strukturarm. Viele Epidermiszellen sind reich an Dotter. Zentral liegt ein großer elektronenheller Bereich, der als eine auffallend leere Vakuole einer spezialisierten Zelle gedeutet werden muss und auch bei lichtmikroskopischer Betrachtung auffallend ist. Mit den epidermalen Nachbarzellen ist diese Zelle über Adhärenzonen verbunden. Die Schnittserie wurde bis zum Prototroch gesichtet. Auffallend ist im weiteren Verlauf die Vielzahl von Drüsenzellen in der Epidermis kurz vor dem Prototroch (Abb. 3.10D).



**Abbildung 3.9.** *Megalomma vesiculosum*. Larve 60 Stunden. TEM. Querschnitte Prostomium mit großer terminaler Vakuole. A. bis D. Schnittserie von distal nach proximal beginnend mit den ersten Epidermiszellen unterhalb der Kutikula. — az: Adhärenzzone, ca: Cilien des Apikalorgans, d: Dotter, ep: Epidermiszelle, k: Kutikula, v: Vakuole.

## ERGEBNISSE

Auch die Aufnahmen der konfokalen Laserscanmikroskopie geben keinen Hinweis auf innere ciliäre Organe. Deutlich dominierend auf den Aufnahmen sind bei Stadien älter als 36 Stunden die äußeren Cilien des Apikalorgans und ihre ausgeprägte Innervierung, die die gesamte Episphäre und teilweise das spätere Prostomium durchziehen und dem prostomialen reifenden Gehirn entspringen. Die 24 Stunden alten Larven zeigen eine Innervierung mit zwei Längsnerven lediglich im caudalen Bereich (Abb. 3.10A). Erst bei den 96 Stunden alten Larven zeigt sich deutlich das Gehirn im Prostomium und die Innervierung des Apikalorgans ist weiter ausgebildet und verdichtet (Abb. 3.10D).



**Abbildung 3.10.** *Megalomma vesiculosum*. **A.** Trochophora 24 Stunden Habitus. CLSM Markierung gegen  $\alpha$ -Tubulin. **B.** Juvenil stadium 96 Stunden. CLSM Markierung gegen  $\alpha$ -Tubulin. Innervierung der Apikalorgane. **C-D.** Larve 60 Stunden. **C.** LM. Habitus. **D.** TEM. Detail kurz vor dem Prototroch. — ao: Apikalorgan, dz: Drüsenzelle, ep: Epidermiszelle, g: Gehirn, k: Kutikula, la: larvales Auge, pt: Prototroch, v: Vakuole, ve: Ventralnerv.

### 3.4 UNTERSUCHUNG DER INVERSION BEI SABELLIDEN

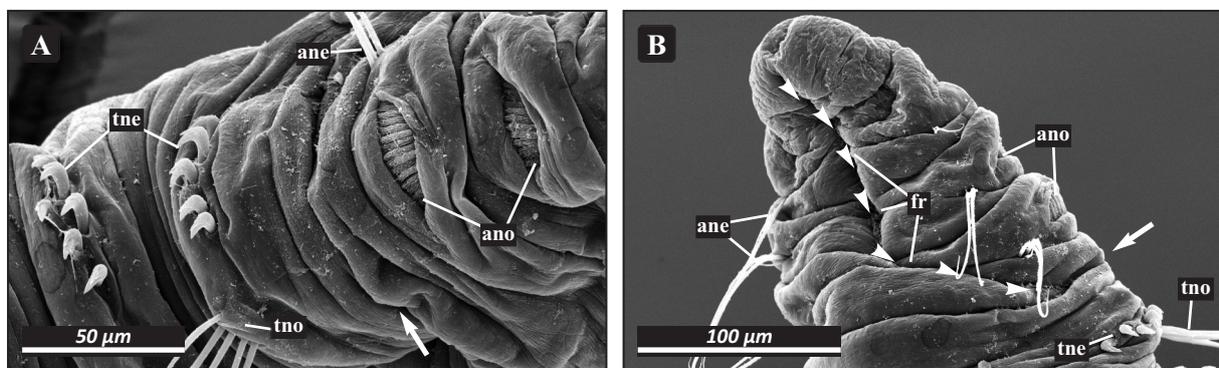
Alle folgenden Untersuchungen wurden jeweils nur im Bereich der Inversion am Übergang vom Thorax zum Abdomen gemacht, wo der Borstenbesatz in den Notopodien von Kapillarborsten zu Hakenborsten und in den Neuropodien von Hakenborsten zu Kapillarborsten wechselt. Ebenso wechselt hier die Fäkalrinne von einer dorsalen Position im Thorax zu einer ventralen im Abdomen. Die gesammelten Daten sollen helfen, das Merkmal Borsteninversion bei den Sabellida besser dahingehend bewerten zu können, ob es sich hier um einen aus Einzelmerkmalen zusammengesetzten Komplex handelt, der in seiner Gesamtheit keiner Variation innerhalb unterschiedlicher Taxa unterworfen ist, oder ob es sich beim Merkmal der Borsteninversion um einen Verbund unabhängiger Merkmale handelt, die innerhalb einzelner Taxa sehr wohl differieren können. Der zweite Fall würde der heute gängigen Praxis (z.B. KPRIYANOVA ET AL. 2008 oder CAPA ET AL. 2010, 2011) widersprechen, die Borsteninversion als ein Merkmal zu kodieren, gleichzeitig diesen Autoren aber darin recht geben, zumindest die Inversion der Fäkalrinne getrennt zu kodieren, was nicht immer gemacht wurde (z.B. ROUSE & FAUCHALD 1997).

#### 3.4.1 *FABRICIA STELLARIS*

##### Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Adulti von *F. stellaris* wurden rasterelektronenmikroskopisch untersucht. Dabei wurde, wie bei den folgenden Arten auch, besonderes Augenmerk auf den Verlauf der Noto- und Neuropodien über den Punkt der Inversion hinweg gelegt. Die gesammelten Daten sollen helfen, die Inversion über den augenscheinlichen Effekt einer Vertauschung von Neuro- und Notopodium hinaus zu charakterisieren.

Über die gesamte Körperlänge bilden die Hakenborsten tragenden Rami der Parapodien eine durchgehende Linie, die etwa entlang der lateralen Mittellinie des Körpers verläuft (Abb. 4.1A). Die Kapillarborsten bildenden Rami befinden sich dementsprechend im Thorax dorsal der Hakenborsten tragenden Rami oder ventral dazu im Abdomen. Die Parapodien sind dabei kaum von der normalen Körperwand abgesetzt. Die Hakenborsten scheinen im Thorax einfach aus der Kutikula zu ragen bzw. die Uncini im Abdomen in einem Spalt zu liegen. Ebenso ragen die Kapillarborsten über den gesamten Körper einfach aus der Körperwand heraus, ohne in irgendwelchen Strukturen eingebettet zu sein.

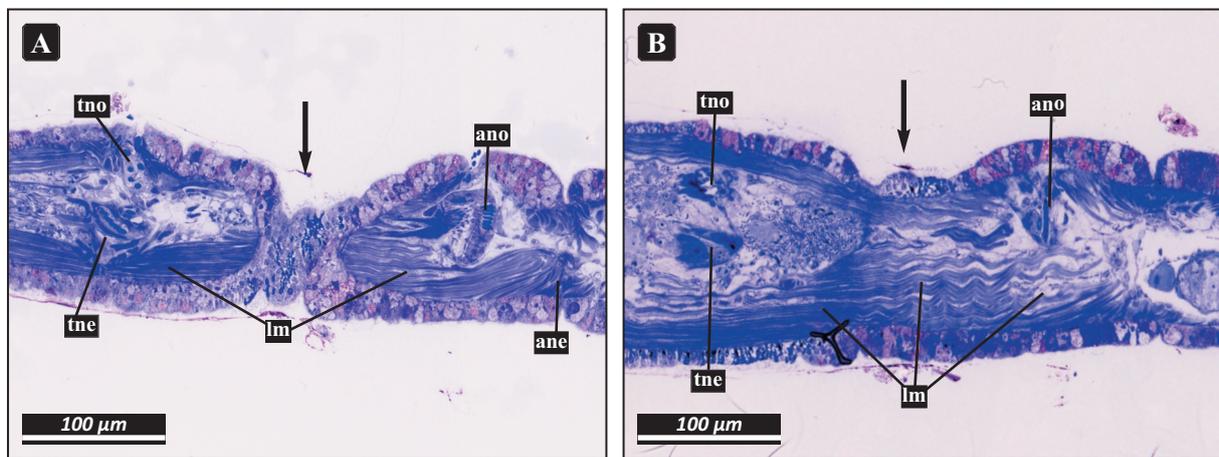


**Abbildung 4.1.** *Fabricia stellaris*. Adultus. REM. Detailansicht Übergang Thorax zu Abdomen. **A.** Lateral. **B.** Ventral. — **ane:** abdominale Neuropodien, **ano:** abdominale Notopodien, **fr:** Fäkalrinne, **tne:** thorakale Neuropodien, **tno:** thorakale Notopodien, **Pfeil:** Grenze Thorax/Abdomen, **Pfeilspitze:** Verlauf Fäkalrinne.

Die Inversion der Fäkalrinne ist deutlich sichtbar und vollzieht sich wie bei allen Sabellida am Übergang von der dorsalen Lage im Thorax zur ventralen Lage im Abdomen über die rechte Körperseite (Abb. 4.1B).

### Lichtmikroskopische Untersuchungen

An lichtmikroskopischen semidünnen Längsschnitten wurde ausschließlich der Verlauf der lateralen Längsmuskulatur über den Punkt der Inversion hin untersucht. Dabei konnten keinerlei Auffälligkeiten in der Art entdeckt werden, dass sich diese Muskulatur in irgendeiner Art und Weise einer äußeren Inversion anpassen würde. Die Muskulatur verläuft vielmehr unterbrechungsfrei und unverändert über die Grenze vom Thorax zum Abdomen hinweg (Abb. 4.2A, B). Die Muskulatur der Borstensäcke ist dem jeweiligen Borstentyp angepasst. Da hier keine vom Borstenbesatz unabhängige Lage vermutet werden kann, wurde sie bei keiner Art weiter untersucht. Gleiches gilt für die bei den Sabellida nur schwach ausgeprägte Ringmuskulatur.



**Abbildung 4.2.** *Fabricia stellaris*. Adult. LM. Paramediane Längsschnitte an der Grenze Thorax/Abdomen. **A.** distaler als **B.** — **ane**: abdominale Neuropodien, **ano**: abdominale Notopodien, **lm**: Längsmuskulatur, **tne**: thorakale Neuropodien, **tno**: thorakale Notopodien, **Pfeil**: Grenze Thorax/Abdomen.

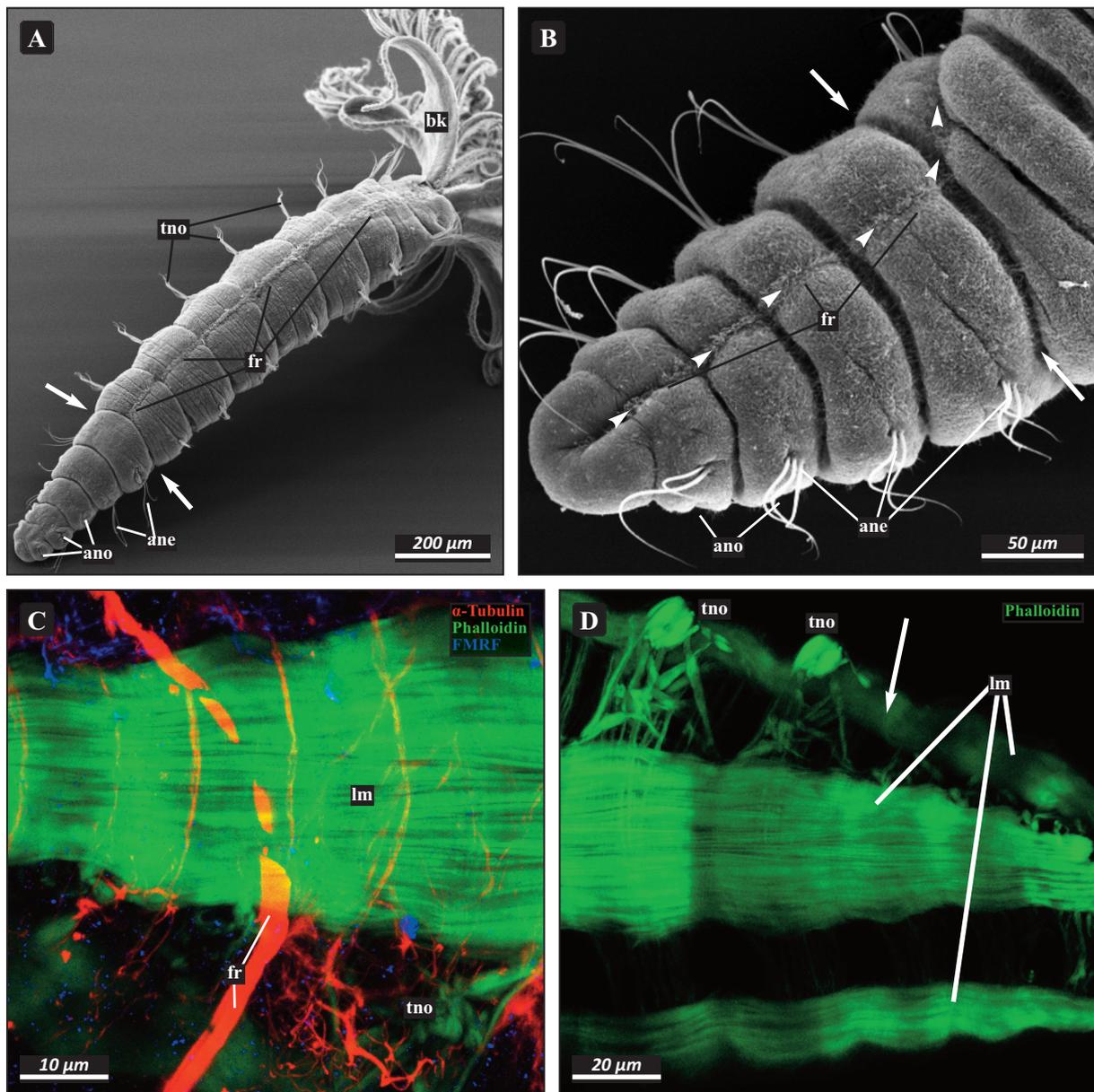
### 3.4.2 AMPHICORINA HYNENSIS

#### Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Adulti von *A. hynensis* wurden rasterelektronenmikroskopisch untersucht. Bei *A. hynensis* scheinen über die gesamte Körperlänge betrachtet die Hakenborsten tragenden Rami der Parapodien eine durchgehende Linie zu bilden. Die Kapillarborsten bildenden Rami liegen im Thorax dorsal der Hakenborsten und sind von diesen deutlich abgesetzt. Im Abdomen liegen die Kapillarborsten tragenden Neuropodien ventral dicht an den Uncini tragenden Notopodien, so dass keine Lücke zwischen den Rami entsteht.

Lediglich die Notopodien des Abdomens zeigen eine Torus-artige Struktur, in denen die Uncini eine Reihe bilden, die übrigen Borsten des Abdomens und des Thorax scheinen einfach aus der Körperwand zu wachsen, ohne in auffälligen Strukturen verankert zu sein.

Die Fäkalrinne invertiert am Übergang von Thorax zu Abdomen von dorsal nach ventral in der typischen für *F. stellaris* exemplarisch beschriebenen Art (Abb. 4.3A, B).



**Abbildung 4.3.** *Amphicorina hynensis*. Adultus. **A-B.** REM. **C-D.** CLSM Markierung von Muskulatur, FMRF und  $\alpha$ -Tubulin. **A.** Habitus dorsal. **B.** Abdomen mit Übergang zum Thorax ventral. **C.** Muskulatur und Verlauf der Fäkalrinne an der Grenze Thorax/Abdomen von lateral. **D.** Grenze Thorax/Abdomen von dorsal. — **ane:** abdominale Neuropodien, **ano:** abdominale Notopodien, **bk:** Branchialkrone, **fr:** Fäkalrinne, **Im:** Längsmuskulatur, **tno:** thorakale Neuropodien, **tno:** thorakale Notopodien, **Pfeil:** Grenze Thorax/Abdomen, **Pfeilspitze:** Verlauf Fäkalrinne.

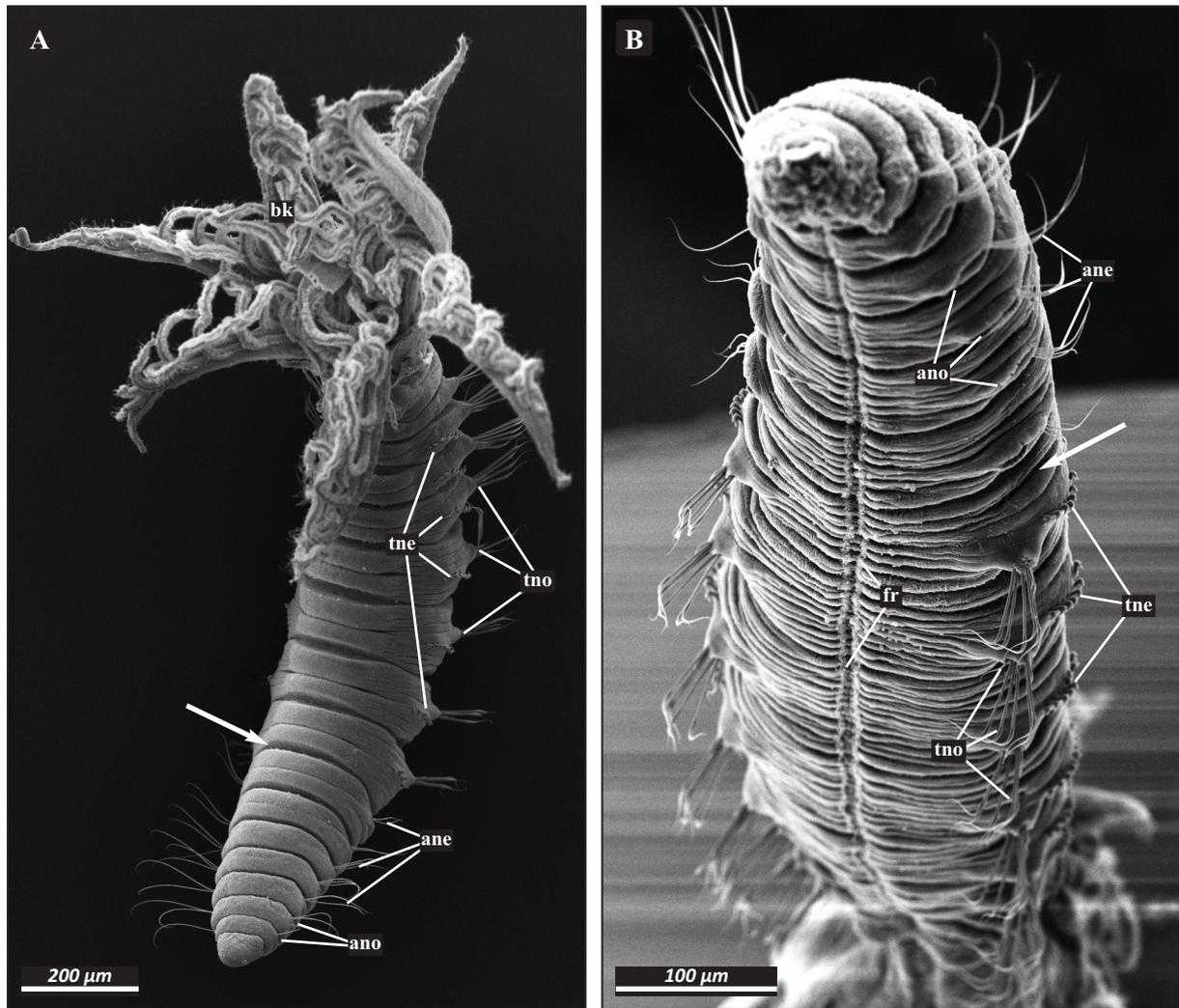
### Konvokale Laserscanmikroskopie

Die Inversion der Fäkalrinne zeigt sich deutlich in der Markierung gegen  $\alpha$ -Tubulin, auch hier der Wechsel der bewimperten Rinne an der Körpergrenze vom Thorax (dorsal) zum Abdomen (ventral) nachvollzogen werden (Abb. 4.3C). Die mit Phalloidin markierte Längsmuskulatur weist an dieser Stelle lateral in keiner Weise eine Lageveränderung oder Diskontinuität auf (Abb. 4.3D). Die nur äußerst schwach ausgebildete Ringmuskulatur wird für eine Bewertung der Inversion aus den vorgeannten Gründen nicht ausgewertet.

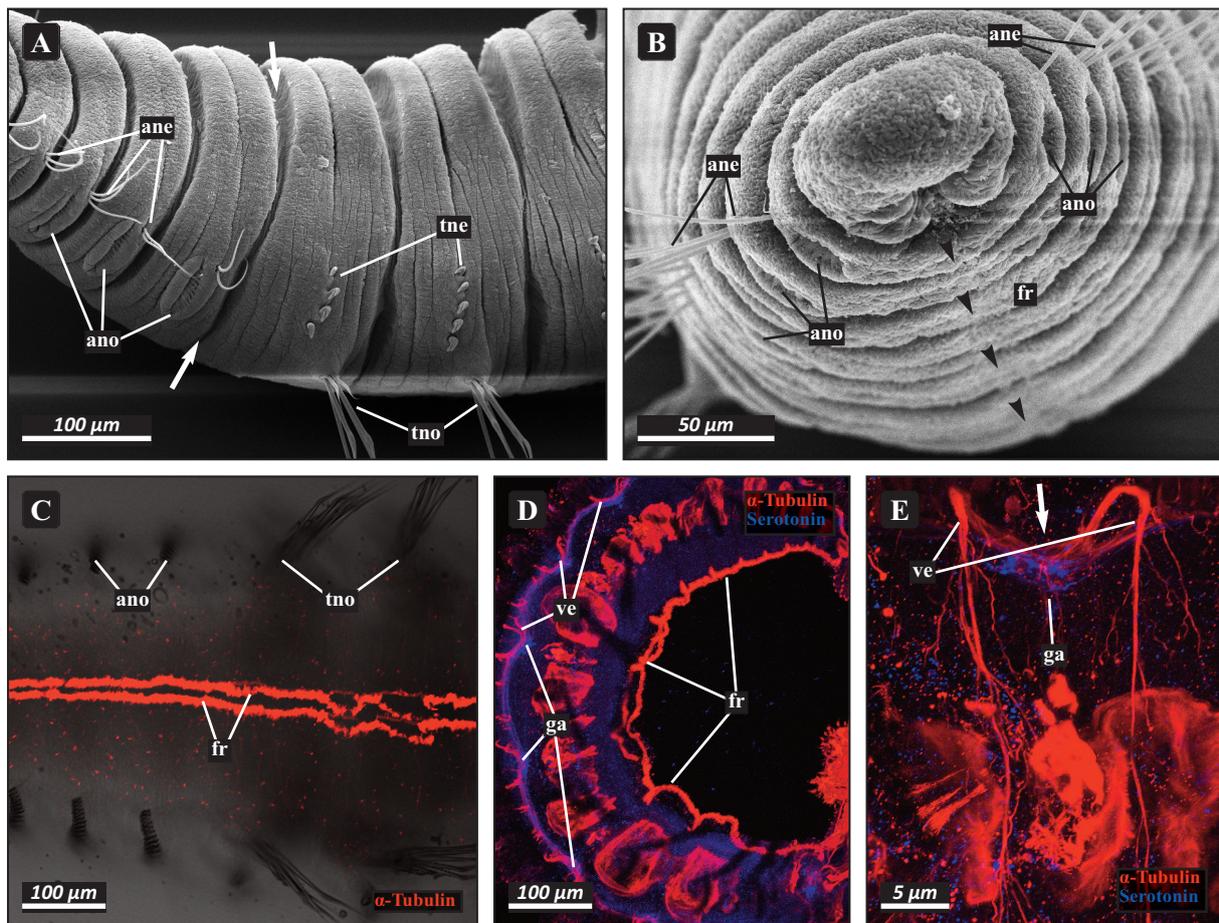
3.4.3 AMPHICORINA CF. BREVICOLLARIS

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Auch bei *A. cf. brevicollaris* scheinen über die gesamte Körperlänge betrachtet die Hakenborsten tragenden Rami der Parapodien eine durchgehende Linie zu bilden (Abb. 4.5A), wohingegen sich die Kapillarborsten bildenden Notopodien im Thorax deutlich ein Stück dorsal absetzen, im Abdomen stehen die Kapillarborsten bildenden Neuropodien sehr eng ventral an den Uncini besetzten Notopodien. Lediglich die Notopodien des Abdomens zeigen eine Torus-artige Struktur, in denen die Uncini eine Reihe bilden, die übrigen Borsten des Abdomens und Thorax scheinen einfach aus der Körperwand zu wachsen. Der interessanteste Befund an dieser Art scheint jedoch zu sein, dass die Fäkalrinne nicht der Borsteinversion folgt (Abb. 4.4A), sondern von dem dorsal gelegenen After bis zum Kopf durchweg dorsal verläuft (Abb. 4.4B; Abb. 4.5B). Dies ist kein Einzelbefund und konnte bei späteren Sammlungen weiterer Tiere bestätigt werden.



**Abbildung 4.4.** *Amphiloricina cf. brevicollaris*. Adultus. REM. Habitus. **A.** Ventral. **B.** Dorsal ohne Branchialkrone. Die Fäkalrinne verläuft in zwei Bahnen durchgehend entlang der dorsalen Mittellinie. — **ane**: abdominale Neuropodien, **ano**: abdominale Notopodien, **bk**: Branchialkrone, **fr**: Fäkalrinne, **lm**: Längsmuskulatur, **tne**: thorakale Neuropodien, **tno**: thorakale Notopodien, **Pfeil**: Grenze Thorax/Abdomen, **Pfeilspitze**: Verlauf Fäkalrinne.



**Abbildung 4.5.** *Amphicorina cf. brevicollaris*. Adulti. Übergang Thorax/Abdomen. **A-B.** REM. **C-E.** CLSM Markierung von Serotonin und  $\alpha$ -Tubulin. **A.** Lateralansicht der Inversion. **B.** Ansicht Anus und Fäkalrinne. **C.** Grenze Thorax/Abdomen. Die Fäkalrinne (**fr**) weist zwei parallel verlaufende Cilienbänder auf. **D.** Habitus lateral. **E.** Detail Inversion lateral. — **ane**: abdominale Neuropodien, **ano**: abdominale Notopodien, **fr**: Fäkalrinne, **ga**: Ganglion, **tne**: thorakale Neuropodien, **tno**: thorakale Notopodien, **ve**: Ventralnerv, **Pfeil**: Grenze Thorax/Abdomen, **Pfeilspitze**: Verlauf Fäkalrinne.

### Konvokale Laserscanmikroskopie

Die Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Beobachtungen lassen sich im CLSM bestätigen. Die durchgängige Fäkalrinne zeigt sich deutlich in der Markierung gegen  $\alpha$ -Tubulin (Abb. 4.5C). Eine Besonderheit im Vergleich zu allen anderen in dieser Arbeit untersuchten Fäkalrinnen ist neben ihrem Verlauf auch ihre Morphologie. Die Cilienrinne verläuft in zwei dünnen, parallel angeordneten einzelnen Cilienbahnen, die an eine gleisartige Struktur erinnern lassen. Zwischen den Cilienbahnen zeigt die Kutikula keine Besonderheiten, es finden sich auch keine weiteren Cilien dort. Alle anderen untersuchten Cilienrinnen verlaufen ungeteilt in einer breiteren Bahn.

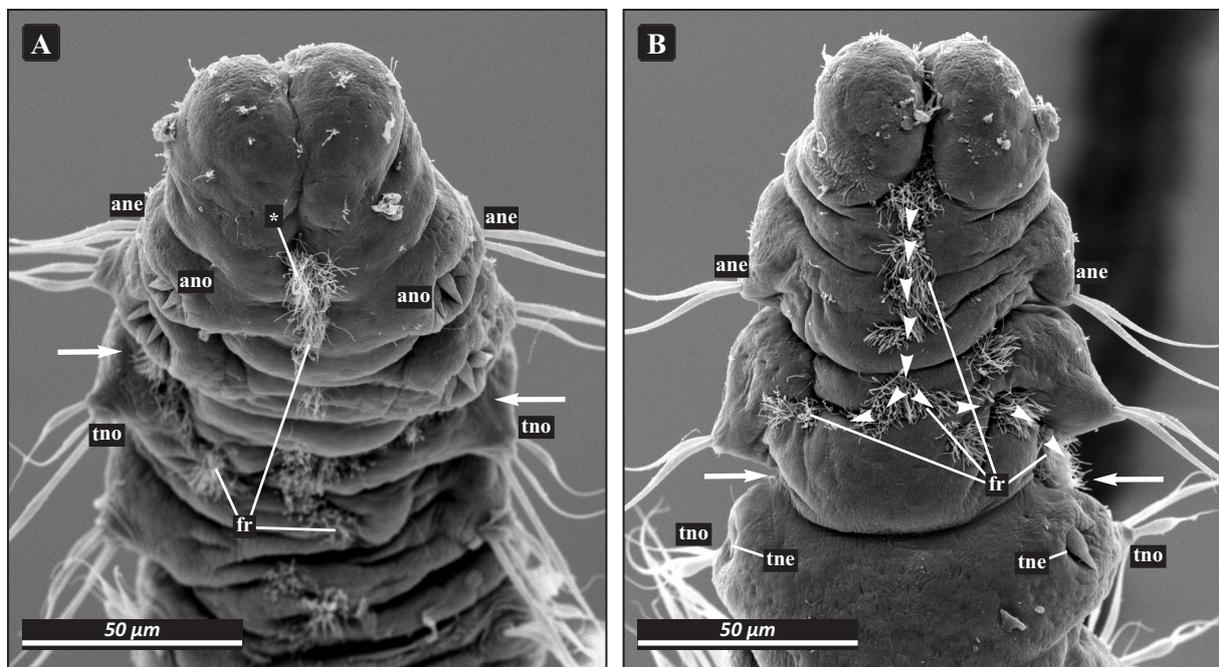
Die beiden ventralen Nervenbahnen mit einer Kommissur pro Segment (Abb. 4.5D) nebst ihren Abzweigungen in die Parapodien zeigen keinerlei Veränderung über den Punkt der Inversion hinaus. Die serotonergen Zellen zeigen keine Veränderung in ihrer Lage (Abb. 4.5E), ihrer Anordnung oder in ihrer Häufigkeitsverteilung. Ebenso kann anschaulich demonstriert werden, dass zumindest die laterale und ventrale Längsmuskulatur in keiner Weise eine Lageveränderung oder Diskontinuität aufweist, auch wenn bei dem Präparat leider der Muskel im ventralen Bereich eingerissen ist.

### 3.4.4 MEGALOMMA VESICULOSUM

Die Entwicklung von *Megalomma vesiculosum* wurde von WILSON (1936) anhand von Larven beschrieben, die durch künstliche Befruchtung gezeugt wurden. Obgleich in der vorliegenden Untersuchung erstmals eine quasi natürliche Befruchtung im Labor gelungen ist und die Ergebnisse durch die immense Anzahl von Larven deutlich dichter sind, liegt der Focus der aktuellen Arbeit nicht auf einer Revision der Arbeiten WILSONS. Vielmehr soll anhand der entwicklungspezifischen Daten gezielt der Fragestellung nach der Entstehung der Borsten- und Fäkalrinneninversion nachgegangen werden. Die Beschreibung der Entwicklungsstadien beschränkt sich somit auf die für diese Fragestellungen relevanten Stadien und Strukturen.

#### Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

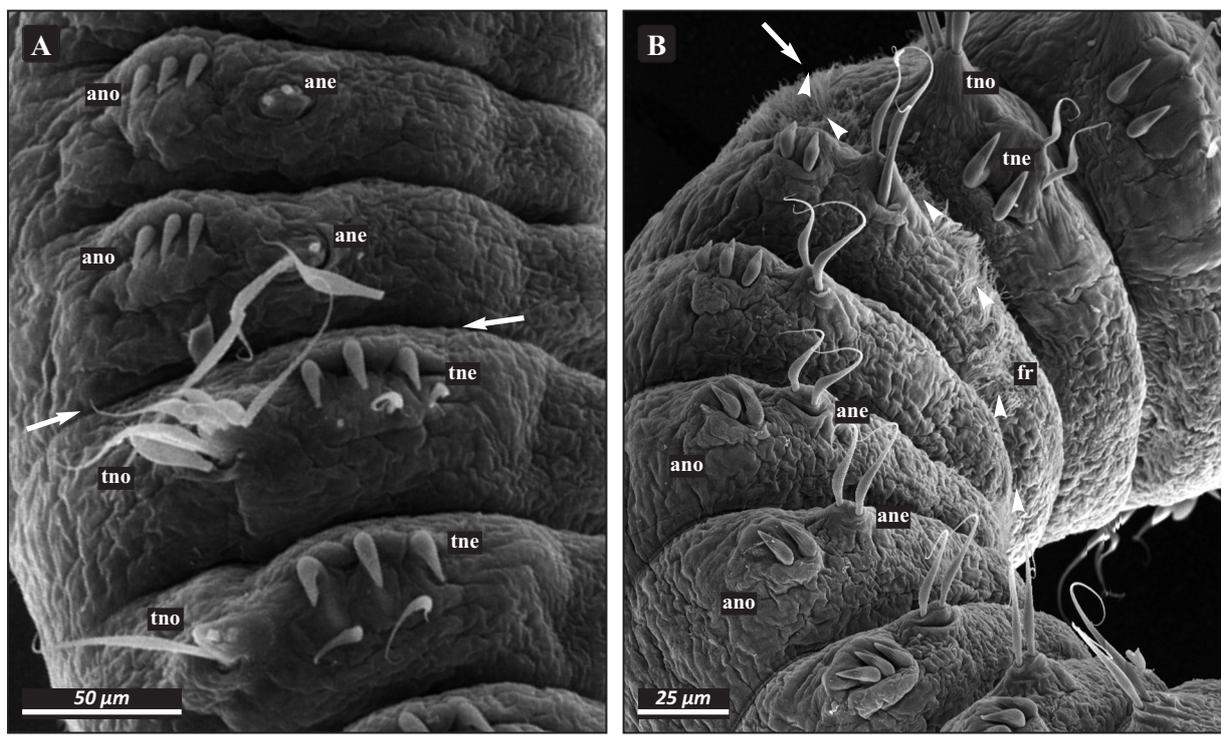
Die juvenilen Würmer bildeten nach frühestens 100 Tagen erste abdominale Segmente aus. Dabei erfolgt die Inversion der Borsten und Parapodien ohne Übergang, das heißt, das erste sich entwickelnde abdominale Segment zeigt den für alle weiteren abdominalen Segmente typischen Borstenbesatz und Aufbau der Parapodien. Die Inversion der Fäkalrinne bildet sich im Gegensatz dazu während der Entwicklung graduell aus (Abb. 4.6A, B). Der zunächst dorsal angelegte After verschiebt sich nach ventral. Dabei bleibt die dorsale Cilienrinne auf den ersten sich entwickelnden abdominalen Segmenten auch noch über den Punkt erhalten, an dem sich die neue ventrale Cilienrinne auf den gleichen abdominalen Segmenten



**Abbildung 4.6.** *Megalomma vesiculosum*. Adultus. REM. Übergang Abdomen/Thorax. **A.** Dorsal. Reste der ursprünglich dorsal gelegenen Fäkalrinne bleiben auf den hinteren Abdominalsegmenten erhalten (**Sternchen**). **B.** Ventral. Die ventral neu angelegte Fäkalrinne wechselt zunächst noch über beide Körperseiten nach dorsal. — **ane**: abdominale Neuropodien, **ano**: abdominale Notopodien, **fr**: Fäkalrinne, **tne**: thorakale Neuropodien, **tno**: thorakale Notopodien, **Pfeil**: Grenze Thorax/Abdomen, **Pfeilspitze**: Verlauf Fäkalrinne.

bereits ausgebildet hat. Man bekommt demnach das Bild einer sich vom After sowohl nach dorsal als auch nach ventral auswachsenden Fäkalrinne. Ebenso findet die Verbindung der abdominal ventralen Rinne mit der thorakal dorsalen Rinne zunächst über beide Körperseiten statt. Erst allmählich scheint sich auch der für alle Sabellida typische Wechsel über die rechte Körperseite zu etablieren.

Die Kapillarborsten tragenden Rami der Parapodien scheinen über die gesamte Körperlänge eine durchgehende Linie zu bilden (Abb. 4.7A), die Hakenborsten tragenden Rami liegen der Körperregion entsprechend dorsal oder ventral von diesen. Die Kapillarborsten sitzen in leicht erhöhten Tori, wohingegen die Hakenborsten in weniger auffälligen Strukturen gereiht sind (Abb. 4.7B). Die Hakenborsten sind bei dieser Art durchgehend als Uncini anzusprechen.



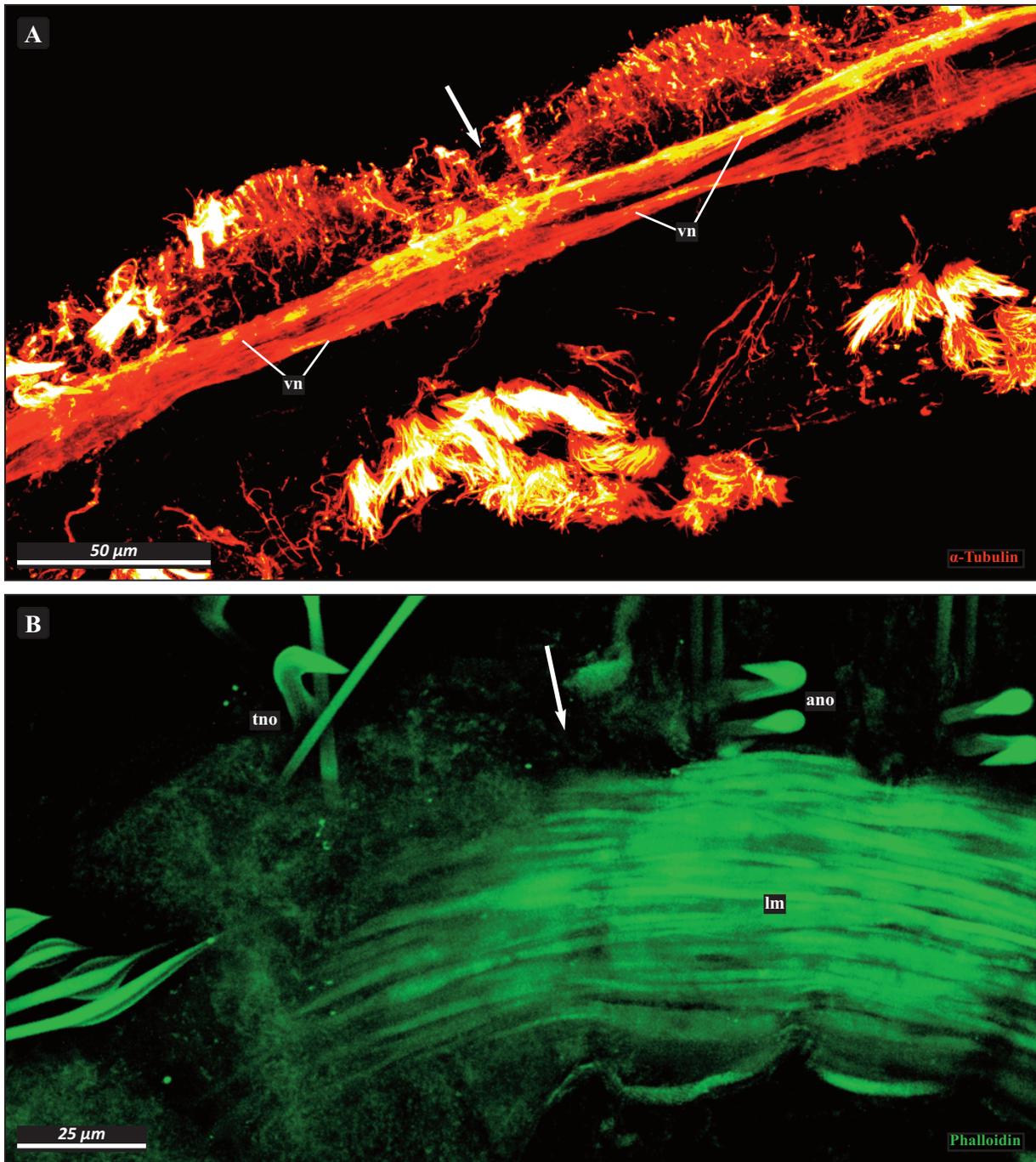
**Abbildung 4.7.** *Megalomma vesiculosum*. Juvenil 15 Monate. REM. Übergang Thorax/Abdomen. **A.** Lateralansicht der linken Körperhälfte, Anordnung der Parapodien. **B.** Lateralansicht der rechten Körperhälfte, Verlauf der Fäkalrinne (**Pfeilspitzen**). — **ane**: abdominale Neuropodien, **ano**: abdominale Notopodien, **fr**: Fäkalrinne, **tne**: thorakale Neuropodien, **tno**: thorakale Notopodien, **Pfeil**: Grenze Thorax/Abdomen, **Pfeilspitze**: Verlauf Fäkalrinne.

### Konvokale Laserscanmikroskopie

Adulte circa 15 Monate alte Stadien von *M. vesiculosum* aus eigenem Zuchtansatz wurden im Bereich der Inversion untersucht. Die mit Phalloidin markierte laterale und ventrale Längsmuskulatur weist keine Hinweise auf eine Inversion auf. Sie verläuft vielmehr unterbrechungsfrei und ohne erkennbare Störung über die Stelle der Inversion hinweg (Abb. 4.8B). Die nur schwach entwickelte Ringmuskulatur wurde auch bei dieser Art aus den angegebenen Gründen nicht weiter untersucht.

## ERGEBNISSE

In dem mittels Antikörper gegen  $\alpha$ -Tubulin markierten Nervensystem kann hinsichtlich der beiden großen ventralen Nervenbahnen keinerlei Hinweis darauf gefunden werden, dass zentrale Nervenfasern in irgendeiner Weise der Inversion folgen, noch dass sie in irgendeiner Weise in ihrer Ausprägung von dieser beeinflusst werden (Abb. 4.8A).



**Abbildung 4.8.** *Megalomma vesiculosum*. Adultus. CLSM Markierung von  $\alpha$ -Tubulin und Muskulatur. Übergang Thorax/Abdomen. **A.** Verlauf der ventralen Nervenstränge von lateral. **B.** Aufsicht auf die Längsmuskulatur von ventral. — **ano**: abdominale Notopodien, **lm**: Längsmuskulatur, **tno**: thorakale Notopodien, **vn**: Ventralnerv, **Pfeil**: Grenze Thorax/Abdomen.

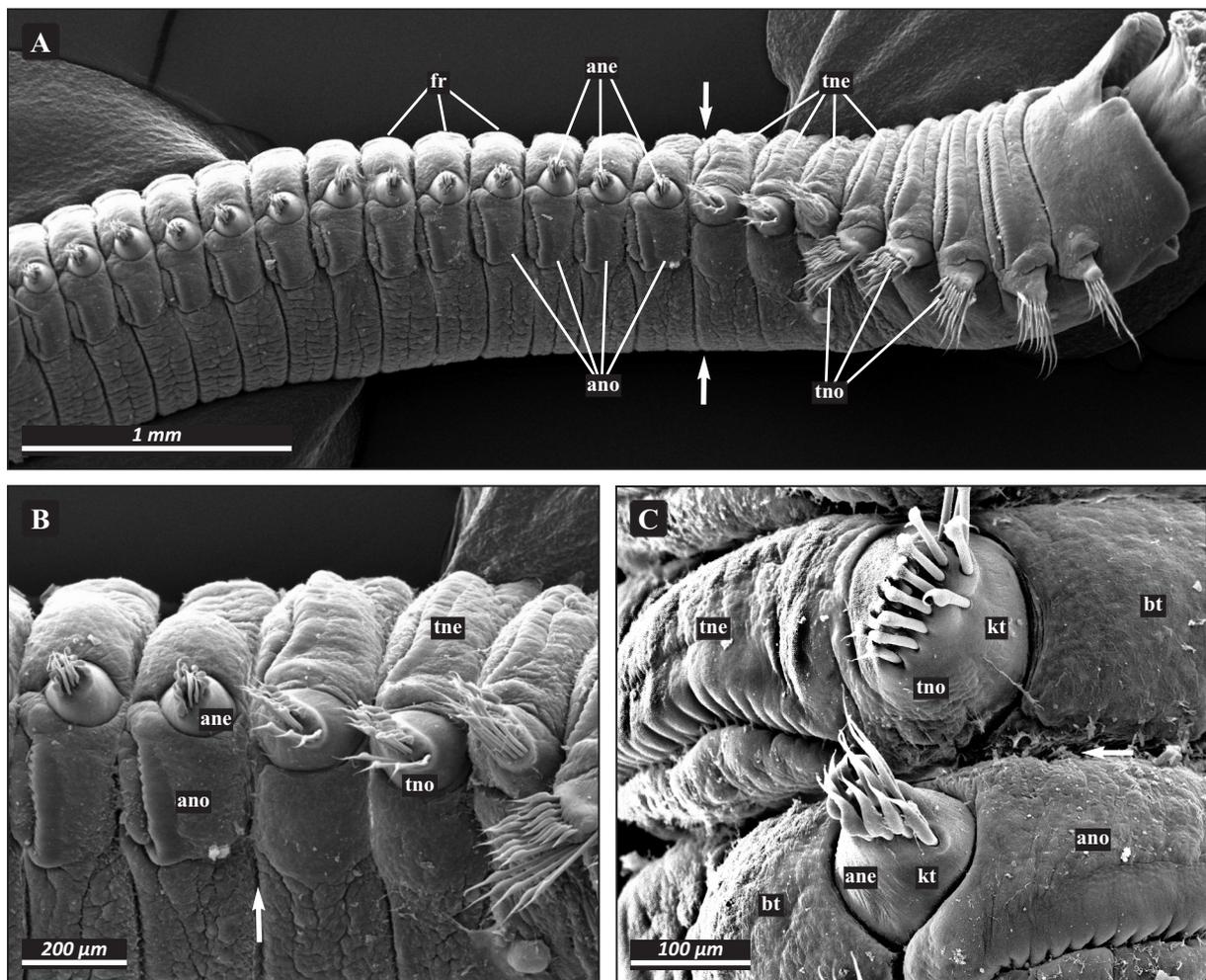
3.4.5 *BRANCHIOMMA BOMBYX*

**Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen**

Bei *B. bombyx* bilden die Kapillarborsten tragenden Rami der Parapodien eine durchgehende Linie. Die Hakenborsten sind dementsprechend im Thorax relativ zu den Kapillarborsten tragenden Rami nach ventral verlagert und im Abdomen nach dorsal verlagert. Sowohl im Thorax als auch im Abdomen grenzen die Hakenborsten tragenden Rami direkt an die Kapillarborsten tragenden Rami an.

Zudem erscheint es so, als würden die kegelförmigen Tori der Kapillarborsten selbst mittig aus einem Torus ragen, der sich lateral dorsoventral erstreckt und entsprechend der Körperregion entweder dorsal oder ventral den Hakenborsten tragenden Ramus enthält, ansonsten aber borstenlos bleibt.

Die Fäkalrinne invertiert am Übergang vom Thorax zum Abdomen in der für *F. stellaris* beschriebenen typischen Art.



**Abbildung 4.9.** *Branchiomma bombyx*. Adult. REM. Übergang Thorax/Abdomen. **A.** Habitus ohne Branchialkrone. **B.** Die thorakalen Notopodien (**tno**) und die abdominalen Neuropodien (**ane**) bilden eine durchgehende Linie, während die tne und ano sich ventral bzw. dorsal zu dieser Linie befinden. **C.** Relative Lage der Parapodien an der Grenze Thorax/Abdomen. — **ane:** abdominale Neuropodien, **ano:** abdominale Notopodien, **kt:** kegelförmiger Torus, **tne:** thorakale Neuropodien, **tno:** thorakale Notopodien, **bt:** borstenloser Torus, **Pfeil:** Grenze Thorax/Abdomen, **Pfeilspitze:** Verlauf Fäkalrinne.

3.4.6 *SABELLA PAVONINA*

**Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen**

Adulti von *S. pavonina* wurden rasterelektronenmikroskopisch untersucht. Auffallend bezüglich der Inversion sind folgende Punkte: Auch bei dieser Art bilden die Kapillarborsten tragenden Rami der Parapodien über die gesamte Körperlänge hinweg eine durchgehende Linie, die Hakenborsten bildenden Rami befinden sich der Körperregion entsprechend angrenzend dorsal im Abdomen und ventral im Thorax. Die Kapillarborsten ragen aus einem kegelförmigen Torus, die Hakenborsten aus einem eher flachen ovoiden Torus. Beide Rami liegen innerhalb einer klar umrissenen Einheit, deren Mittelpunkt der kegelförmige Torus der Kapillarborsten bildet. Der Hakenborsten tragende Ramus sitzt je nach Körperregion im laterodorsalen oder lateroventralen Part dieser stets gleichen Grundstruktur. Abdominal grenzt sich das Kapillarborsten tragende Neuropodium etwas stärker von dem Torus ab.

Die Fäkalrinne invertiert am Übergang vom Thorax zum Abdomen in der für *F. stellaris* beschriebenen typischen Art.



**Abbildung 4.6.** *Sabella pavonina*. Adultus. REM. Übergang Thorax/Abdomen Lateralansicht. **A.** Anordnung der Parapodien an der linken Körperseite. **B.** Anordnung der Parapodien und Verlauf der Fäkalrinne an der rechten Körperseite. — **ane:** abdominale Neuropodien, **ano:** abdominale Notopodien, **fr:** Fäkalrinne, **tne:** thorakale Neuropodien, **tno:** thorakale Notopodien, **Pfeil:** Grenze Thorax/Abdomen, **Pfeilspitze:** Verlauf Fäkalrinne.

## 4.1 LARVALE CILIÄRE SINNESORGANE DES PROSTOMIUMS

### 4.1.1 Ciliäre Sinnesorgane des Prostomiums von *Sabellaria alveolata*

Das ciliäre Sinnesorgan von *S. alveolata* gleicht in vielen Details den bei larvalen Spioniden gefundenen Sinnesorganen (HAUSEN 2007). Der zelluläre Aufbau mit einer Stützzelle, in deren Extrazellularraum eine zweite Zelle, die Rezeptorzelle, ihr Cilium sendet, dessen Mikrovilli-artige Fortsätze sich stark verzweigen, und die flankierenden bipolaren Sinneszellen sind einige klare strukturelle Gemeinsamkeiten. Die Lage im vordersten Abschnitt des Prostomiums stützt die Annahme der Homologie zusätzlich, auch wenn das Organ bei *S. alveolata* im Gegensatz zu den Organen der untersuchten Spioniden unpaar vorliegt. Kladistische Analysen morphologischer Merkmale (vor allem ROUSE & FAUCHALD 1997) ergaben jedoch bisher keine nähere Verwandtschaft von Sabellariidae und Spionida, auch wenn einzelne Merkmale, wie beispielsweise der Besitz langer Larvalborsten, schon häufiger als mögliche Hinweise hierauf gesehen wurden (z. B. WILSON 1929, ROUSE & PLEJEL 2001, 2003). Gestützt wird ein Schwestergruppenverhältnis der beiden Taxa allerdings durch aktuelle molekulare und kombinierte Untersuchungen (STRUCK ET AL. 2007, ZRZAVY ET AL. 2009, CAPA ET AL. 2010, 2012). Ein gemeinsamer evolutiver Ursprung der ciliären Sinnesorgane lässt sich danach sparsam erklären, das würde aber dem von ROUSE & FAUCHALD (1997) favorisierten System der Anneliden widersprechen. Ein ähnliches Organ wurde bisher bei keinem anderen Taxon gefunden (HAUSEN 2007). Damit erscheint es momentan wahrscheinlicher, dass das beschriebene ciliäre Sinnesorgan eine Autapomorphie eines Taxons aus Spionida und Sabellariidae darstellt. Die Homologie der innerhalb der Spionida beschriebenen Organe wird von HAUSEN (2007) schlüssig dargelegt. In der vorliegenden Untersuchung wurde bei *Megalomma vesiculosum* kein larvales ciliäres Sinnesorgan im Prostomium entdeckt. Die bei *Terebella lapidaria* gefundenen Phaosomen unterscheiden sich deutlich von den ciliären Sinnesorganen der Spioniden und Sabellariiden und liefern keinen Hinweis auf eine Homologie.

### 4.1.2 Phaosomen des Prostomiums von *Terebella lapidaria*

EAKIN ET AL. (1988: 137) definieren ein Phaosom als „an intracellular vacuole into which the photoreceptors project [...], it arises by invagination of the cell membrane, [...]“. Auf den folgenden Seiten wird der Ausdruck Phaosom als Synonym für die gesamte Rezeptorzelle verwendet, die solch eine Struktur beinhaltet. Der Begriff wurde von PURSCHKE (2003) schließlich auf solche Zellen erweitert, deren photorezeptive Strukturen, Mikrovilli und/oder Cilien, auch nur in eine von der Zelle selbst gebildeten Invagination projizieren; das Phaosom muss demnach keine geschlossene Vakuole sein. Dieser Terminologie wird hier gefolgt, da sie auch in aktuellen Veröffentlichungen in aller Regel so übernommen wurde (z.B. PURSCHKE ET AL. 2006, HAUSEN 2007, WILKENS & PURSCHKE 2009). Die beschriebene Entstehung des intrazellulären phaosomaln Raumes und das Auftreten photorezeptiver Strukturen darin lassen den von EAKIN ET AL. (1988) eingeführten Begriff Vakuole ungeeignet erscheinen. Dies wird besonders durch die Erweiterung der Begrifflichkeit durch PURSCHKE (2003) deutlich, da hier die Einstülpung keinen geschlossenen Raum innerhalb der Zelle mehr bildet. Zudem wird die Definition eines Phaosoms als

photorezeptive Zelle durch PURSCHKE (2003) auch von aktuellen molekularen Untersuchungen bezüglich der Opsin-Expression gestützt (KALLER 2011).

Phaosomen sind bisher erst bei sehr wenigen Taxa der Polychaeta untersucht worden. Die veröffentlichten Befunde sind nicht immer zweifelsfrei, da vor allem der Nachweis der Einzelligkeit des Sinnesorgans nicht eindeutig erbracht wurde oder nicht als obligatorisch erachtet wurde (für eine Zusammenfassung siehe PURSCHKE 2003, PURSCHKE ET AL. 2006). Etwas zahlreicher finden sich Untersuchungen innerhalb der Clitellata, deren Ergebnisse allerdings häufig nicht auf ultrastrukturellen Untersuchungen beruhen. Dort gelten Phaosomen als die einzige Form von Photorezeptoren (siehe zusammenfassend JAMIESON 1981 oder PURSCHKE 2003, PURSCHKE ET AL. 2006).

Das erste mutmaßliche Phaosom innerhalb der Polychaeta wurde von ZAHID & GOLDING (1974) bei *Nephtys* beschrieben. In weiteren Arbeiten wurden Phaosomen bei einigen Protodrilidae untersucht (PURSCHKE 1990, PURSCHKE & JOUIN-TOULMOND 1993). Innerhalb der Polychaeta finden sich in den letzten Jahren nur zwei Erstveröffentlichungen, die Phaosomen beschreiben, HESSLING & PURSCHKE (2000 bei *Aeolosoma hemprichi*) bzw. WILKENS & PURSCHKE (2009 bei *Scoloplos armiger*). Ein weiteres ciliäres Phaosom bei *Capitella teleta* wird von KALLER (2011) kurz ultrastrukturell und immunhistologisch charakterisiert. Dieses Organ entspricht in seiner Morphologie am stärksten den bei *T. lapidaria* gefundenen Phaosomen, da auch dort eine große Anzahl von unverzweigten Cilien den phaosomalen Raum fast vollständig ausfüllt. Auch spricht der Autor von einer größeren Anzahl von Mitochondrien und einer auffälligen Dichte von rauem ER im Zellkörper. Im Gegensatz zu den Phaosomen bei *T. lapidaria* verändern die Phaosomen von *C. teleta* in der Larvalentwicklung ihre Position nach dorsocaudal, sie werden aber ebenso wie bei *T. lapidaria* nach dem Festsetzen abgebaut. Details zur Entwicklung des phaosomalen Raumes und zur Anordnung der Cilien darin fehlen für *C. teleta*, so dass ein Vergleich mit den hier erhobenen Daten nicht möglich ist; auch zur Innervierung sind keine Daten verfügbar. In den Abbildungen der immunhistologischen Präparate erscheinen die Cilien gerollt. Anhand der ultrastrukturellen Abbildungen kann die Anzahl der Cilien auf > 50 geschätzt werden.

Die Homologie der Phaosome innerhalb der Polychaeta bleibt auch nach den aktuellen Untersuchungen unklar (PURSCHKE & JOUIN-TOULMOND 1993, PURSCHKE ET AL. 2006). Die wenigen ultrastrukturell untersuchten Phaosome unterscheiden sich stark voneinander (WILKENS & PURSCHKE 2009). Der sich in der Entwicklung einstülpende Extrazellularraum kann komplett geschlossen werden (WILKENS & PURSCHKE 2009) oder nach außen offen bleiben (ZAHID & GOLDING 1974), die photorezeptiven Fortsätze können ciliär oder mikrovillär (PURSCHKE & JOUIN-TOULMOND 1993, HESSLING & PURSCHKE 2000, KALLER 2011) sein, die Lage im Körper ist nicht auf eine Region beschränkt, auch wenn die meisten Phaosome bisher im Prostomium entdeckt wurden (z.B. PURSCHKE & JOUIN-TOULMOND 1993, aber auch ZAHID & GOLDING 1974). Ihre Innervierung ist bisher nicht immer vollständig geklärt (z.B. HESSLING & PURSCHKE 2000, WILKENS & PURSCHKE 2009, KALLER 2011).

Die Homologie der als Phaosomen bezeichneten Sinnesorgane bei Polychaeten und Clitellaten ist ebenso unklar. Der einfache Aufbau aus einer Zelle und das Auftreten von ciliären oder rhabdomerischen Rezeptorstrukturen deutet darauf hin, dass Phaosomen mehrfach konvergent durch Reduktion aus anderen Photorezeptoren entstanden sind (PURSCHKE 2003, PURSCHKE ET AL. 2006, KALLER 2011).

Die unsichere Phylogenie der Annelida macht es gleichzeitig unmöglich, Homologiehypothesen zu den Phaosomen durch Rekonstruktion der möglichen Merkmalsevolution auf einem abgesicherten Stammbaum zu testen.

Mit den Befunden zu einem Vertreter der Terebelliformia wurde ein weiteres Phaosom innerhalb der Sedentaria nachgewiesen. Nach den phylogenetischen Analysen von ROUSSET ET AL. (2007), ZRZAVY ET AL. (2009) und STRUCK ET AL. (2011) besteht eine relativ nahe Verwandtschaft der Terebelliformia mit den Capitellidae. Die Analyse von STRUCK ET AL. (2011) ordnet zudem die Clitellaten in ein Taxon aus Capitellidae, Echiura, Opheliidae und Terebelliformia ein. Dementsprechend erscheint hier eine Homologie der Phaosomen möglich, die allerdings dann anhand struktureller Merkmale geprüft werden muss.

Tatsächlich unterscheidet sich das bei *T. lapidaria* beschriebene Phaosom in einem interessanten Punkt auch von den bisher innerhalb der Polychaeta beschriebenen Phaosomen. Es liegt eingebettet in Epidermiszellen und der phaosomale Raum öffnet sich unterhalb der Kutikula. Somit zeigt es eine Morphologie, die bisher nur bei den Clitellata beschrieben wurde (z.B. PURSCHKE 2003), allerdings auch innerhalb dieses Taxons nicht immer gefunden wird (z.B. MYHRBERG 1979 bei *Lumbricus terrestris*). Um bewerten zu können, ob es sich bei dieser Eigenheit um ein Merkmal der Clitellaten und nahe verwandter Polychaetentaxa handelt, müssen Daten von weiteren sedentären Polychaeten erhoben werden. Aufgrund der geringen Anzahl untersuchter Taxa ist es momentan schwierig, die vorhandenen morphologischen Daten innerhalb der Polychaeta zu vergleichen und Aussagen über ihr Auftreten bei übergeordneten Taxa zu treffen. Dies ist umso mehr der Fall, als dass in vielen morphologischen Untersuchungen, und somit auch vielen morphologischen Merkmalsmatrizen, primär Adultmerkmale detailliert erhoben bzw. analysiert werden und Phaosomen innerhalb der Polychaeta häufiger nur larval aufzutreten scheinen (KALLER 2011, diese Untersuchung) bzw. bei adulten Individuen eventuell nicht entdeckt wurden. Entwicklungsbiologische Untersuchungen an Larven im Detail sind im Verhältnis noch rar. So sind auch die wenigen beschriebenen Phaosomen adulter Polychaeta bisher vor allem bei kleinen bzw. interstitiellen Arten beschrieben (PURSCHKE & JOUIN-TOULMOND 1993, HESSLING & PURSCHKE 2000), deren mutmaßlich paedomorpher Ursprung einen Vergleich erschwert. Nur bei wenigen Larven wurden diese Organe bisher gefunden bzw. dokumentiert.

## 4.2 NUCHALORGANE

### 4.2.1 Nuchalorgane bei *Sabellaria alveolata*

Das mögliche Vorhandensein von Nuchalorganen bei *S. alveolata* wurde erstmals von JOHANSSON (1927) erwähnt. Seine Abbildung 3 auf Tafel IV zeigt einen Ausschnitt eines semidünnen Schnittes an der Palpenbasis. Die Palpen sind dort bereits lateral mit dem umgebenden Kopfgewebe verwachsen, mediad jedoch noch nicht, so dass hier in einem Spalt jeweils zwischen dem Palpus und dem median liegenden Kopfgewebe Außenmedium vorliegt. Im Kopfgewebe eingebettet ist das Gehirn deutlich erkennbar. Dieses liegt auf das Engste dem an dem Spalt liegenden epithelialen Gewebe an. JOHANSSON (1927: 33) beschreibt diese epitheliale Region des Gehirns, die an die Palpen grenzt, wie folgt:

„... irgendwelchen Flimmer habe ich nicht entdecken können. [...] keinerlei Sinneszellen in dem abgegrenzten Epithelpolster nachweisen können, [...] als habe man es hier doch mit einem Sinnesorgan zu tun, möglicherweise einem Nuchalorgan.“

Warum JOHANSSON (1927) trotz des fehlenden Nachweises von Sinneszellen in der abgebildeten Struktur ein Sinnesorgan vermutet, muss offen bleiben. Vermutlich beruht seine Assoziation allein auf der Lage des epithelialen Gewebes nahe den Palpen, die Taxa-übergreifend typisch ist für die meisten Nuchalorgane (z. B. PURSCHKE 1997), und auf der engsten Nachbarschaft der epithelialen Zellen zum Gehirn. Diese Untersuchung liefert damit kaum Argumente dafür, dass Nuchalorgane bei *S. alveolata* existieren. Sie wird später jedoch häufiger zitiert, wenn die Existenz dieser Organe bei *S. alveolata* diskutiert wird (RULLIER 1950, 1951, ORRHAGE 1978).

Die von JOHANSSON (1927) beschriebene Region wurde im Rahmen dieser Arbeit in einer semidünnen Schnittserie an einem Adultus nachuntersucht. Die Befunde stützen die Originalbeschreibung, sie lassen aber ebenso offen, wie diese epitheliale Region interpretiert werden muss. Die enge Verbindung zum Gehirn deutet auf eine Sinnesfunktion hin, die Interpretation als Nuchalorgan hingegen erscheint aufgrund einer Vielzahl fehlender morphologischer Details wie multiciliärer Stützzellen, monociliärer bipolarer Sinneszellen und eines Retraktormuskels (PURSCHKE 1997) schwierig, wenn man nicht von vornherein Reduzierungen annimmt. Da die eindeutige Charakterisierung des Organs als Nuchalorgan jedoch nur ultrastrukturell erfolgen kann, wird hierauf weiter unten eingegangen.

Eine detailliertere morphologische Beschreibung und weitere Zeichnungen der Lage und des zellulären Aufbaus des Nuchalorgans von *Sabellaria alveolata* finden sich in der Veröffentlichung von RULLIER (1951). Auffallend ist zunächst, dass RULLIER (1951) die Arbeit von JOHANSSON (1927) und dessen Aussagen über die Existenz und Lage des Nuchalorgans bei *S. alveolata* zwar zitiert, im Folgenden aber nicht auf die offensichtlichen Unterschiede zu seinen eigenen Beobachtungen eingeht. Schon die Beobachtung Rulliers (1951: 272) „Il existe ainsi un seul organe nucal, ...“ deckt sich nicht mit der von JOHANSSON (1927) beschriebenen und für Nuchalorgane typischen paarigen Ausbildung.

Mit JOHANSSON (1927) stimmt er hingegen darin überein, dass das Organ direkt an das Gehirn angrenzt und insofern keine spezielle Innervierung zeigt. Auf Seite 273 als Fig. 24 finden wir drei Zeichnungen des Organs, die RULLIERS (1951) eigenen Beobachtungen widersprechen. Die Abbildungen A und B zeigen die Lage des Nuchalorgans auf der Ventralseite des Kopfes mit äußerlich sichtbaren Cilien. Es liegt somit nicht wie beschrieben an der Palpenbasis, denn hier wären die Cilien von außen nicht sichtbar, da selbst die noch frei liegende Palpenbasis tief im Kopfgewebe eingebettet ist. Die Abbildung B zeigt einen Sagittalschnitt, auf dem das Nuchalorgan als ventraler Fortsatz des Gehirns eingezeichnet ist, der bis in die Epidermis reicht. Dieser Zustand kann so nicht mit JOHANSSONS (1927) Beobachtungen in Einklang gebracht werden und wirft auch Fragen über die genaue Lage des Sagittalschnittes auf. Die Mundöffnung wird teilweise angeschnitten, die Paleen des Operkulum sind ventral und dorsal getroffen, es sind keine Buccalentakeln und keine Reste der Palpen gezeichnet. Dieser Zustand wird eigentlich nur sehr weit lateral angetroffen, doch da ist kein Gehirn mehr, es sei denn, die Schnittführung läge recht schräg zur Sagittalebene, was den übrigen Beobachtungen widerspräche. Zudem müsste sich dann das beobachtete „... un seul organe ...“ entweder sehr breit

erstrecken, was der Bemerkung, es handele sich um ein sehr kleines Organ, widerspräche oder es läge doch paarig vor.

RULLIERS (1951) Abbildung C letztlich zeigt eine zelluläre Detailansicht, die das Nuchalorgan als eine einschichtige Epidermis zeigt, die direkt einer Basallamina aufsitzt und aus epidermalen Nervenzellen (ohne Axone oder Dendrite), multiciliären Zellen, deren Cilien eine sehr lange Cilienwurzel besitzen, aus Vesikel-gefüllten Drüsenzellen und aus Stützzellen („cellules de soutien“) besteht. Die beschriebene direkte Innervierung durch Ausläufer des Gehirns kann anhand dieser Zeichnung nicht nachvollzogen werden. Die cilienlosen Stützzellen *sensu* RULLIER (1951) entsprechen nicht den multiciliären Stützzellen im Nuchalorgan anderer Anneliden (siehe z. B. PURSCHKE 1997, 2005). In eigenen semidünnen Schnittserien findet sich die von RULLIER (1951) als Nuchalorgan gezeichnete Zellgemeinschaft an jeder der vielen langgestreckten Cilienbahnen, die von den Oraltentakeln zur Mundöffnung ziehen. Bis ins Detail entspricht die gezeichnete Morphologie dem Zustand eines Querschnittes durch die größte und längste Cilienbahn, die sich median von der Operkulumspitze bis zur Mundöffnung zieht. In dem Bereich hingegen, der von JOHANSSON (1927) als Ort der Nuchalorgane angesprochen wird, findet man eine derartige Zellanordnung nicht. Insgesamt erscheint die Untersuchung von RULLIER (1951) aufgrund der vielen inneren und äußeren Widersprüche wenig vertrauenswürdig.

ORRHAGE (1978) untersucht das Vorderende der Sabellariidae genauer in Bezug auf die Entstehung und den Ursprung des Operkulum und die Innervierung der Kopfanhänge. Hierbei homologisiert er die Nerven des Gehirns entsprechend ihrer Abzweigungen taxonübergreifend innerhalb der Polychaeta und bekräftigt die Ergebnisse JOHANSSONS (1927), indem er die Innervierung der Region median der Palpen bei den Sabellariidae mit der Innervierung der Nuchalorgane bei Trochochaetiden, Spioniden und Flabelligeriden homologisiert (zusammenfassend siehe ORRHAGE & MÜLLER 2005). Neben der Innervierung begründet ORRHAGE (1978) die Homologie des vermutlichen Nuchalorgans der Sabellariidae zu den übrigen Nuchalorganen auch mit der Morphologie der in Frage stehenden epithelialen Region. Hier muss allerdings angenommen werden, dass dies allein ein Verweis auf die Arbeit JOHANSSONS (1927) ist, da ORRHAGES (1978) Veröffentlichung keinerlei Bildmaterial oder neue, detailliertere Beschreibungen auf zellulärer Ebene beigefügt wurden.

Entsprechend den Untersuchungen von ORRHAGE (1978) und JOHANSSON (1927) wurde als Ort für die eigene ultrastrukturelle Untersuchung die Gegend um die Palpenbasis gewählt. Da aus bisherigen Untersuchungen bekannt ist (PURSCHKE 1997, HAUSEN 2001), dass sich die Nuchalorgane von larvalen bzw. juvenilen Individuen weder auf der zellulären noch auf der strukturellen Ebene, sondern lediglich in ihrer Größe von denen der Adulti unterscheiden, was durch die eigenen Untersuchungen an *M. vesiculosum* weiter bestätigt werden konnte, wurde ein juveniles, jedoch vollständig metamorphosiertes Stadium von *S. alveolata* für die Untersuchung gewählt. So konnten komplette ultradünne Querschnitte gefertigt werden. Da *S. alveolata* eine ausgeprägte Cephalisation zeigt, die nach der Metamorphose noch an Komplexität gewinnt, mussten die Erkenntnisse zur Lage der Nuchalorgane beim Adultus (JOHANSSON 1927, RULLIER 1951, ORRHAGE 1978) auf den Juvenilen abgeleitet werden. Aufgrund der Eindeutigkeit sowohl der direkt beteiligten als auch der benachbarten Strukturen, wie Palpen, Palpen, Schlund und Oraltentakeln, die bei adulten und juvenilen Stadien vorhanden sind, ist dies zweifelsfrei möglich.

Wie bereits in den Ergebnissen der Entwicklung beschrieben, findet sich beim juvenilen Wurm an der Basis zwischen den noch weitestgehend unverwachsenen Operkularlappen ein cilienbesetzter Bereich, der sich im weiteren Verlauf zur dorsoventralen Brücke auswächst, die median zwischen den Palpen entlang zieht und die als Nuchalorgane zur Diskussion stehenden Sinnesorgane beinhaltet. Sucht man eine vergleichbare Gewebestruktur im Adultus, so findet man diese median auf der ventralen Seite der Operkularlappen in Form einer mächtigen Cilienbahn, die sich vom apikalen Ende des Operkulums caudal bis zur Mundregion zieht, dann aber nicht direkt in dieser, sondern in dem beschriebenen, dorsalen Kompartiment zusammen mit den Palpenbasen enden wird. Verfolgt man diese stark mit Cilien besetzte Struktur in der Schnittserie nach caudal, so wird sie sich analog zu der Situation im juvenilen Wurm zu einer Gewebebrücke mit dem ventralen Bereich der späteren Mundöffnung verbinden und median der Palpen liegen. Dies ist an der Palpenbasis der Bereich, der in der Literatur als mögliche Region adulter Nuchalorgane genannt wird. Betrachtet man zudem rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen adulter Würmer, dann wird klar, dass die hier homologisierte Region beidseitig lateral am Ursprung der Palpen und der mächtigen Cilienbahn liegt, die median auf der Ventralseite des Operkularlappens adulter Würmer entlangläuft.

Die Ergebnisse der ultrastrukturellen Analyse zeigen zunächst eindeutig, dass sich in der untersuchten Region, dem medianen Gewebe zwischen den Palpenbasen, ciliäre Sinneszellen befinden, deren Dendriten in Clustern direkt bis unterhalb der Kutikula ziehen und dort ihre Cilien in einen Raum ebenfalls unterhalb der Kutikula entsenden. Kein Cilium der Sinneszellen durchwächst dabei die Kutikula. Die einzelnen Cluster - es befinden sich in diesem Stadium jeweils drei an der dem Palpus angrenzenden Gewebeaussenseite - werden nicht, wie es für Nuchalorgane typisch ist (PURSCHKE 1997), durch multiciliäre Stützzellen getrennt, sondern hier liegen große Drüsenzellen zwischen ihnen. Auch die übrigen etwas elektronendunkleren Zellen, die an dieser Stelle geschnitten wurden, sind cilienlos und können somit nicht als Stützzellen gemäß der Definition einer Stützzelle im Nuchalorgan angesprochen werden. Diese Zellen scheinen gleichwohl als Stützzelle zu fungieren, da ihre vielen und unterhalb der Kutikula teils reich verzweigten Mikrovilli einen Raum gleich einer olfaktorischen Kammer aufzuspannen scheinen, ein Merkmal, das jedoch typisch für viele olfaktorische Organe ist und nur in Verbindung mit multiciliären Stützzellen als Nachweis für Nuchalorgane zu sehen ist. Untypisch für bisher beschriebene Nuchalorgane ist die deutliche räumliche Aufteilung von monociliären und biciliären Sinneszellen. Auch wenn es Berichte über das Vorhandensein beider Sinneszelltypen in Nuchalorganen gibt, sind diese dann nicht räumlich getrennt, und die Sinneszellen sind üblicherweise monociliär (PURSCHKE 1997, HAUSEN 2001).

So fällt auch nach dieser ultrastrukturellen Untersuchung eine abschließende Bewertung schwer, ob die gefundenen Sinnesorgane tatsächlich Nuchalorgane darstellen. Zum einen sind die Organe paarig an korrespondierenden Körperstellen vorhanden und mit der Nähe zu den Palpen liegen sie auch an typischer Stelle. Sie haben ihren Gewebsursprung sehr sicher im Prostomium, ihre Sinneszellen sind mono- bzw. biciliär und bipolar, den Ergebnissen nach auch direkt im Gehirn innerviert. Die Dendriten erreichen die Epidermis in Clustern und senden ihre Cilien in olfaktorische Kammern. Nicht typisch, aber keinesfalls einzigartig, ist das Fehlen eines Retraktormuskels (HAUSEN 2001, eigene Untersuchungen an *M. vesiculosum* s. u.). Die Ausbildung cilienloser Stützzellen ist diejenige Eigenschaft, welche einer

Identifikation als Nuchalorgan am meisten widerspricht, auch wenn sie durch ihre Mikrovilli zur Bildung einer olfaktorischen Kammer beitragen und sich über dem Organ an diesen Stellen die Kutikula deutlich verändert. Es ist aber gerade das Vorhandensein von multiciliären Stützzellen, das ein Nuchalorgan von sonstigen olfaktorischen Organen unterscheidet (Purschke 1997). Da die Funktion der durch die Mikrovilli gebildeten plastersteinartigen Abdeckung nicht bekannt ist, ist es schwierig, das Fehlen von Cilien oder ihre mögliche Reduktion auf funktionellen Gründe zurückzuführen.

Dass in einem einzigen Fall tatsächlich eine einzelne multiciliäre Zelle gefunden wurde, kann unterschiedlich gedeutet werden. Da die Zelle tatsächlich etwas weiter dorsal lag, wird an dieser Stelle davon ausgegangen, dass es sich um eine nicht assoziierte Zelle handelt. Dafür sprechen zwei Gründe: Zum einen sind juvenile und selbst larvale Nuchalorgane, wie bereits angesprochen, hinsichtlich ihrer Morphologie und Zellzusammensetzung sehr früh vollständig ausgeprägt. Es ist also unwahrscheinlich, dass wir es hier zufällig mit der ersten von vielen folgenden Stützzellen zu tun haben. Zum anderen müsste man die Organe bei Adulti einfach an ihren vorhandenen Cilien erkennen können, sollten auch multiciliäre Stützzellen ausgebildet werden. Dies ist aber bei den untersuchten Schnittserien nicht der Fall gewesen (siehe auch JOHANSSON 1927).

Die Lage der Organe, ihr Aufbau aus mono- und biciliären Sinneszellen unterhalb einer olfaktorischen Kammer und die mutmaßlichen Stützzellen machen eine Homologie zu den Nuchalorganen anderer Polychaeten jedoch sehr wahrscheinlich. Im Falle einer konvergenten Entstehung dieser Sinnesorgane müsste eine komplette Reduktion der Nuchalorgane und die Entwicklung evolutiv neuer olfaktorischer Organe angenommen werden. Besonders die hier anhand der Entwicklung nachgewiesene übereinstimmende Lage lässt solch eine Reduktion und anschließende Neuentwicklung sehr unwahrscheinlich erscheinen, da sich diese neuentstandene Organe dann an genau der selben Stelle entwickelt haben müssten, an der zuvor die Nuchalorgane waren. Eine Reduktion oder Modifikation der Nuchalorgane erscheint hier die wesentlich sparsamere Erklärung zu sein.

### 4.2.2 Nuchalorgane bei *Megalomma vesiculosum*

Die vorliegende Arbeit zeigt erstmals detailliert die Entwicklung der Nuchalorgane bei einem Sabelliden von der Trochophora bis hin zum juvenilen Wurm. Die Ergebnisse bestätigen frühere Untersuchungen an Nuchalorganen juveniler Stadien anderer Taxa (siehe z. B. HAUSEN 2001 oder als Review PURSCHKE 1997) dahingehend, dass bereits sehr früh in der Organogenese alle relevanten Zelltypen ausdifferenziert und in ihrer typischen Anordnung vorhanden sind. Mit zunehmendem Alter wird das Organ zwar zellreicher und größer und mag seine Lage leicht ändern; die zelluläre und ultrastrukturelle Identität ändert sich indes kaum (HAUSEN 2001, PURSCHKE 1997).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass sich die spezielle Lage der Nuchalorgane bei adulten Sabellida in lateralen Taschen kurz vor der eigentlichen Mundöffnung beim Adultus allein durch das fortschreitende frontolaterale Auswachsen der Branchialkrone, die den Palpen anderer Polychaeta homolog ist (ORRHAGE & MÜLLER 2005), erklären lässt. Hierdurch werden die Organe, die sich beim metamorphosierenden Wurm noch an typischer Stelle posterior am Prostomium in der Nähe der Palpen befinden, immer mehr verinnerlicht. Wenn schließlich mit Abschluss der Metamorphose die *snout*, der Großteil

des Prostomiums, abgestoßen wird (diese Arbeit, WILSON 1936), verlagern sich die Organe endgültig auf die Innenseite der Branchialkronen- bzw. Palpenbasis.

Das untersuchte Organ entspricht in seiner zellulären und ultrastrukturellen Organisation weitestgehend der für Nuchalorgane bei den Polychaeta generalisierten Form, für die PURSCHKE (1997) sieben charakteristische Substrukturen nennt. Die anteriore Lage und das paarige Auftreten werden hier ebenso bestätigt wie die charakteristische Innervierung.

Auch ultrastrukturell zeigt das Organ, das aufgrund seiner Lage nicht rasterelektronenmikroskopisch zu erfassen ist, wenige Abweichungen vom generellen Bauplan (PURSCHKE 1997). Es besteht aus nur zwei Zelltypen, den multiciliären Stützzellen und den (vermutlich) monociliären Sinneszellen. Da die Perikarien der Sinneszellen nicht eindeutig zugewiesen werden konnten, ist hier keine zweifelsfreie Aussage möglich. Auch wenn dieses Merkmal als charakteristisch für Nuchalorgane gilt, ist es häufig nicht eindeutig zu klären (z.B. HAUSEN 2001, KOCH 2005). Die Bipolarität der Sinneszellen leitet sich, auch wenn sie in den ultradünnen Schnittserien nicht geklärt werden konnte, aus den konfokalen Aufnahmen ab. In diesen befindet sich zwischen den Tubulin-markierten sensorischen Cilien des Organs und den ebenfalls markierten Axonen ein nicht markierter Bereich, der mit aller Wahrscheinlichkeit von den Perikaryen ausgefüllt wird und somit in der Tubulin-Färbung dunkel bleibt. Ebenso unzweifelhaft senden die in Bündeln auftretenden Dendriten der Sinneszellen ihre Cilien in eine olfaktorische Kammer. Die Kutikula oberhalb des Organs ist leicht reduziert und wird durch eine von den Mikrovilli der Stützzellen ausgebildete, pflastersteinartige Schicht abgedeckt. Ein Retraktormuskel konnte nicht entdeckt werden. Die Reduktion des Retraktormuskels ist auch bei anderen Arten beschrieben (HAUSEN 2001), was an der nach innen verlagerten Position der Organe liegen mag.

Die Homologie der nach den Kriterien PURSCHKES (1997) als Nuchalorgane identifizierten Sinnesorgane innerhalb der Annelida ist in mehreren Veröffentlichungen diskutiert und als wahrscheinlich angenommen worden. Das hierbei einzelne Merkmale innerhalb unterschiedlicher Taxa fehlen können, ist nach schlüssiger Diskussion unproblematisch (PURSCHKE 1997, 2005, HAUSEN 2001, KOCH 2005). Die bei *M. vesiculosum* gefundenen Organe sind mit Sicherheit als Nuchalorgane anzusprechen, besitzen sie doch bis auf den Retraktormuskel, dessen Reduktion sich schlüssig als Anpassung an die introvertierte Lage deuten lässt, alle typischen Merkmale eines Nuchalorgans.

Eine Kodierung der Nuchalorgane innerhalb des auch in der vorliegenden Arbeit untersuchten Verwandtschaftsverhältnisses von Sabellida und Sabellariidae wird von CAPA ET AL. (2012) vorgeschlagen und erweitert die von ROUSE & FAUCHALD (1997) verwendete leicht. Aufgrund der vorliegenden ultrastrukturellen Untersuchungen wird zusätzlich für die veränderlichen Merkmale Retraktormuskel und pflastersteinartige mikrovilläre Abdeckung der Kutikula eine einfache absent/present Kodierung ergänzt.

Die phylogenetische Bewertung der Ergebnisse im Zusammenhang mit der Merkmalsevolution wird im abschließenden Kapitel diskutiert.

### 4.3 DIE INVERSION INNERHALB DER SABELLIDA

Der Übergang von Thorax zu Abdomen wird bei den Sabellida *sensu* DALES (1962) von einer Inversion der Borsten begleitet. Hierbei finden sich in den thorakalen Notopodien und den abdominalen Neuropodien Kapillaborsten und in den thorakalen Neuropodien und den abdominalen Notopodien Hakenborsten. Die *chaetal inversion*, die Inversion der Borsten, gilt als eine Autapomorphie der Sabellida (z. B. ROUSE & FAUCHALD 1997). Die abdominalen Notopodien der Sabellariidae tragen ebenfalls Hakenborsten (Uncini), was in der Literatur und phylogenetischen Analysen (basierend auf DALES 1952, ROUSE & FAUCHALD 1997, SCHULZE 2003, ROUSSET ET AL. 2004, 2007, KUPRIYANOVA & ROUSE 2008, als Review siehe KIESELBACH & HAUSEN 2008) ebenfalls als *chaetal inversion* bezeichnet und kodiert wurde. Allerdings zeigen genauere Analysen der Borstenanordnung und des Borstenbesatzes in thorakalen und abdominalen Segmenten der Sabellariidae, dass die *chaetal inversion* wahrscheinlich konvergent bei den Sabellida und Sabellariidae entstanden ist (KIESELBACH & HAUSEN 2008). Diese Veröffentlichung zeigte auch, dass für die Annahme eines einmaligen Inversionsereignisses bei den Sabellida entweder einige spezielle Voraussetzungen beim letzten nicht invertierten Vorgänger erfüllt oder einige Veränderungen sekundär nach der Inversion entstanden sein mussten.

In engem Zusammenhang mit der Inversion der Borsten scheint die Ausprägung der Fäkalrinne bei den Sabellida zu stehen, die von einer ventralen Position im Abdomen zu einer dorsalen im Thorax wechselt. Mit dieser Cilienrinne befördert der Wurm seine Fäkalien, aber auch seine Geschlechtsprodukte aus der Wohnröhre nach außen.

Die Inversion der Borsten wurde in aktuellen phylogenetischen Analysen häufig als zusätzliches Merkmal neben der ebenfalls durchgeführten differenzierten Kodierung der Borstenanordnung in Thorax und Abdomen erfasst (z.B. ROUSE & FAUCHALD 1997, ROUSSET ET AL. 2004, KUPRIYANOVA & ROUSE 2008, CAPA ET AL. 2010, 2012, als Review KIESELBACH & HAUSEN 2008). Hier muss hinterfragt werden, ob nicht einerseits von einander abhängige Merkmale kodiert werden und ob andererseits hinter dem geänderten Borstenbesatz überhaupt eine genetische Information für ein Inversionsereignis steht, das als Inversion kodiert werden könnte. Anderenfalls wäre die Begrifflichkeit Inversion zwar zur Beschreibung der Borstenanordnung beispielsweise im Rahmen eines Bestimmungsschlüssels geeignet (wie FAUCHALD 1977), nicht aber als phylogenetisches Merkmal. Die parallele Inversion der Fäkalrinne wirft zudem die Fragen auf, ob es für beide Merkmale eine gemeinsame genetische Grundlage eines Inversionsereignisses gibt und ob weitere Organsysteme einer Inversion an der Grenze von Thorax zu Abdomen unterworfen sind. In neueren Analysen werden die Fäkalrinne und teils auch ihre Inversion als von der Borsteninversion unabhängige Merkmale kodiert (ROUSSET ET AL. 2004, KUPRIYANOVA & ROUSE 2008, CAPA ET AL. 2010, 2012). Um die Frage nach einer Abhängigkeit der Merkmalskomplexe Muskulatur, Nervensystem, Borstenanordnung und Fäkalrinne zu klären, wurden diese bei einer Reihe von Sabellidenarten untersucht.

### 4.3.1 Die Inversion der Borsten und Rami

Tatsächlich wechselt der Borstenbesatz an der Grenze von Thorax zu Abdomen innerhalb der Sabellida in der zuvor beschriebenen Art. Allerdings ist kein Sabellide bekannt, bei dem sich über die Inversion hinweg genau die gleichen Kapillaborsten oder auch genau die gleichen Hakenborsten in Thorax und Abdomen finden würden. Ebenso zeigen die Kapillaborsten tragenden Rami des Thorax eine andere Anordnungen der Wachstumszonen als die des Abdomens (KIESELBACH & HAUSEN 2008). Unter der Annahme eines Inversionsereignisses müssen demnach die Unterschiede der Borsten und Wachstumszonen von Thorax zu Abdomen entweder bereits vor der Inversion bestanden oder sich erst danach entwickelt haben.

Innerhalb der Annelida gibt es kein Taxon, das die Borsten- und Wachstumszonenanordnung der Sabellida in uninvertierter Anordnung zeigt. Ebenso gibt es wissentlich innerhalb der Annelida kein Taxon, das über den gesamten Körper hinweg notopodial bzw. neuropodial genau den gleichen bzw. einen von Thorax zum Abdomen einmal abrupt wechselnden Borstentyp besitzt. In den mutmaßlich nächst verwandten Taxa der Sabellida, zu denen nach aktuellen phylogenetischen Untersuchungen die Spionida und Sabellariidae gehören (BLEIDORN mdl. Mitteilung, CAPA ET AL. 2010, 2012, ZRZAVY ET AL. 2009), findet sich keine Borstenanordnung, die durch ein Inversionsereignis in den bei den Sabellida zu findenden Zustand zu transformieren wäre. Die Borstenanordnung des gemeinsamen Vorfahren der drei genannten Taxa lässt sich aufgrund der starken Unterschiede nahezu beliebig rekonstruieren. Da die Verwandtschaftsbeziehungen zu anderen Annelidentaxa ungeklärt sind, ist ein Außengruppenvergleich nicht möglich. Genau diese Umstände machen es unmöglich, allein aufgrund der Borstenanordnung eine Aussage darüber zu treffen, ob die spezielle Anordnung innerhalb der Sabellida auf einem Inversionsereignis beruht oder nicht. Die Annahme eines Inversionsereignisses kann sich demnach nicht allein auf die morphologische Untersuchung der Borstenverteilung in Noto- und Neuropodien stützen.

Hinzu kommt, dass es, abgesehen von den Unterschieden im Borstenbesatz, auch kaum äußerliche morphologische Befunde an den Parapodien und deren Anordnung gibt, die ein Inversionsereignis in dem Sinne stützen würden, dass hier ein einfacher Tausch der Lage von Noto- und Neuropodium vorliegt. So zeigen die rasterelektronischen Aufnahmen von *Sabella pavonina*, *Branchiomma bombyx* und *Megalomma vesiculosum* das Bild einer über die gesamte Körperlänge durchgehenden Reihe Kapillaborsten tragender Rami, deren kegelförmige Tori auch eine ähnliche Morphologie aufweisen. Lediglich die Hakenborsten tragenden Rami wechseln ihre Position von einer ventrolateralen Anordnung im Thorax zu einer dorsolateralen im Abdomen. Bei den kleineren untersuchten Arten *Fabricia stellaris*, *Amphicorina* cf. *brevicollaris* und *Amphicorina hynensis* ist die Situation genau umgekehrt, hier bilden die Hakenborsten tragenden Rami eine über die gesamte Körperlänge durchgehende Linie und die Kapillaborsten tragenden Rami wechseln ihre Position analog. Damit liefert die Anordnung der Rami möglicherweise ein nutzbares Merkmal für die Phylogenie innerhalb der Sabellida.

### 4.3.2 Homologie von Kapillar- und Hakenborsten

Die Homologie von Hakenborsten (bei Maldanida, Arenicolida und Psammodrilida) und Uncini (bei Terebellida, Sabellida und Sabellariidae) wird angenommen (BARTOLOMAEUS 1995, als Review siehe HAUSEN 2005). Ultrastrukturelle Erkenntnisse in der Bildung dieser Borsten geben genügend Hinweise, die die primäre Homologiehypothese erhärten, auch wenn sich die Lage der Borstenbildungszone unterscheiden kann (BARTOLOMAEUS 1995).

Die Struktur der Kapillaborsten hingegen ist wenig komplex und macht somit die Begründung einer Homologiehypothese schwierig. Einer solchen Hypothese wurde aus diesen Gründen bisher auch nicht vertiefend nachgegangen (BARTOLOMAEUS pers. Kommunikation). Kapillaborsten werden allgemein als der plesiomorphe Zustand der Annelida angenommen (z.B. BARTOLOMAEUS ET AL. 2005, STRUCK ET AL. 2011), inwieweit allerdings alle Kapillaborsten homolog sind, kann derzeit nicht beantwortet werden. Ebenso stehen der Homologiehypothese der Hakenborsten neue molekulare und kombinierte Phylogenien entgegen, die es unwahrscheinlich machen, dass die Uncini der Terebellida, Sabellida und Sabellariidae homolog sind (ZRZAVY ET AL. 2009, STRUCK ET AL. 2011).

Interessanterweise bleiben die Segmente der Sabellida, was die Bildung ihrer Parapodien und Borsten angeht, ein Leben lang omnipotent, wie die Regenerationsexperimente von BERRILL (1931, 1977, 1978) zeigen. Verliert ein Sabellide thorakale Segmente, dann wird neben der Branchialkrone nur eine begrenzte Anzahl der Thorakalsegmente regeneriert. Der Großteil neuer thorakaler Setiger entsteht durch die Metamorphose verbliebener abdominaler Setiger, deren Parapodien und Borsten komplett resorbiert werden. Anschließend werden die Parapodien und Borsten neu aufgebaut und sind dann von ursprünglichen thorakalen Setigern nicht mehr zu unterscheiden (BERRILL 1931, 1977, 1978). Was diese Umbildung veranlasst, ist unbekannt.

Beide Tatsachen, die ungeklärte Homologie von Kapillaborsten und Hakenborsten einerseits und die Omnipotenz der Setiger zur Ausbildung verschiedener Borstentypen andererseits, machen deutlich, dass die Borstenanordnung der Sabellida nicht auf ein spezielles Inversionsereignis zurückgehen muss und erst Recht nicht alleinig hierdurch entstanden sein kann.

Die Versuche BERRILLS (1931, 1977, 1978) lassen neben diesen aufschlussreichen Erkenntnissen zur Regeneration der Setiger auch interessante Einblicke in die Natur der Fäkalrinneninversion zu.

### 4.3.3 Die Inversion der Fäkalrinne

Ein weiteres Merkmal, das mehr oder weniger regelmäßig zum Merkmalskomplex der Inversion gerechnet (als Review siehe KIESELBACH & HAUSEN 2008, aber auch ROUSE & FAUCHALD 1997), in neueren Veröffentlichungen aber auch als Einzelmerkmal kodiert wird (siehe z.B. CAPA ET AL. 2010, 2012, KUPRIYANOVA & ROUSE 2008, ROUSSET ET AL. 2004), ist die Fäkalrinne. Dieses Cilienband verläuft vom Anus aus ventromedian im Abdomen und wechselt dann über eine rechtsseitige laterale Verbindung, exakt zwischen dem letzten thorakalen und dem ersten abdominalen Segment, ihre Position nach dorsomedian im Thorax. Dieser Verlauf ist jedoch keineswegs unabänderlich wie ausgedehnte Versuchsreihen von BERRILL (1931, 1977, 1978) zur Regeneration verschiedener Sabellida gezeigt haben. Amputiert man bei den Versuchstieren die Branchialkrone und weitere thorakale Setiger, so werden zur Vervollständigung des Thorax

die Branchialkrone und nur ein bis zwei thorakale Setiger *de novo* regeneriert. Weitere Segmente werden durch die Metamorphose abdominaler Setiger zu thorakalen umgebildet, wobei die Fäkalrinne auch in den ansonsten vollständig umgewandelten thorakalen Setigern stets ihre ventrale Position beibehält. Die Ausbildung und der Verlauf der Fäkalrinne scheinen demnach von anderen genetischen Mechanismen gesteuert zu werden als die Gestaltung der Parapodien. Für diese Hypothese sprechen zwei weitere Beobachtungen der aktuellen Untersuchung.

Die Inversion der Fäkalrinne findet während der Ontogenese nicht abrupt statt, wie es der Wechsel des Borstenbesatzes tut (KIESELBACH & HAUSEN 2008). In der juvenilen Entwicklung zeigt sich bei *M. vesiculosum*, dass sich der Lagewechsel der Fäkalrinne von der dorsalen Position im Thorax zur ventralen im Abdomen über die Ausbildung von mindestens zwei, vermutlich mehr Setigern einstellt. In dieser Zeit zeigt sich ein eher diffuses Bild der Cilienverteilung auf den sich entwickelnden abdominalen Setigern, denn die Fäkalrinne verläuft nun eine Zeit lang vom sich nach ventral verschiebenden Anus aus sowohl entlang der dorsalen Mittellinie als auch entlang der ventralen Mittellinie. Ebenso verläuft der Wechsel von der dorsalen Lage im Thorax zur ventralen im Abdomen noch eine Weile sowohl über die linke als auch die rechte Körperseite, bevor die Fäkalrinne später alleinig über die rechte Körperseite ihren Wechsel vollziehen wird. Die Ausbildung der Fäkalrinne ist also offensichtlich nicht nur bei der Regeneration, sondern auch bei der Ontogenese einem von der Borstenbildung unabhängigen genetischen Mechanismus unterworfen, denn einen solchen Übergangsgradienten gibt es, wie erwähnt, bei der Borstenbestückung der Parapodien nicht. Der erste abdominale Setiger zeigt bereits bei der Genese die Borstenanordnung und -bestückung des Abdomens, ohne dass hier eine auch nur vorübergehende Vermischung stattfinden würde (ebenso zeigt der letzte thorakale Setiger noch die Borstenbestückung und -anordnung des Thorax).

Ein dritter Befund spricht für die Unabhängigkeit der Merkmale Fäkalrinneninversion und Borsteninversion. *Amphicorina brevicollaris* (ROUSE 1990 als *Oriopsis brevicollaris*), zeigt zwar die für Sabelliden typische Borstenanordnung mit dem Wechseln von Thorax zu Abdomen, die Fäkalrinne invertiert hingegen nicht, sondern zeigt einen komplett dorsalen Verlauf (ROUSE 1990). Aufgrund der Untersuchungen BERRILLS (1931) lässt sich mit einiger Sicherheit vermuten, dass es sich hierbei tatsächlich um ein ontogenetisches Phänomen und kein Regenerationsartefakt handelt, da die bei der Regeneration beobachteten uninvertierten Fäkalrinnen immer ein Produkt der Metamorphose abdominaler Setiger waren und immer zu einem komplett ventralen und niemals einem komplett dorsalen Verlauf der Fäkalrinne führten. Die in dieser Arbeit als *Amphicorina cf. brevicollaris* bestimmten Individuen zeigen genau denselben dorsalen Verlauf der Fäkalrinne. Die Bestimmung stützte sich aber nicht auf dieses Merkmal allein, sondern auf Übereinstimmungen in Merkmalen der Borsten, des Kragens, der Branchialkrone u. a. Ob es sich tatsächlich um die gleiche Art handelt, muss aufgrund der weit auseinanderliegenden Fundorte angezweifelt werden, zumal populationsgenetische Untersuchungen an vermeintlich kosmopoliten Polychaetenarten häufiger bestätigen, dass es sich um Artkomplexe und keine Kosmopoliten handelt (z. B. BLEIDORN ET AL. 2006 für *Scoloplos armiger*).

Eine Entscheidung, inwieweit die in dieser Untersuchung auffällige gleisartige Anordnung der Fäkalrinne in zwei parallelen Cilienbänder für *A. cf. brevicollaris* typisch ist, lässt leider ein Vergleich mit der detaillierten Beschreibung und Bebilderung von ROUSE (1990) nicht zu. Ob auch die uninvertierte Fäkalrinne nur innerhalb dieser Art oder innerhalb der *Amphicorina* häufiger auftritt, kann nicht beantwortet werden, da umfassendere Daten anderer Arten fehlen.

Die in der vorliegenden Arbeit zum Vergleich untersuchte und als *Amphicorina hynensis* bestimmte Art zeigt im Gegensatz zu *A. cf. brevicollaris* eine Inversion der Fäkalrinne, somit scheint die fehlende Inversion kein Charakteristikum des gesamten Taxon *Amphicorina* zu sein. Auch die gleisartige Morphologie der Fäkalrinne fehlt bei *A. hynensis*.

Insgesamt erscheint es tatsächlich unwahrscheinlich, dass eine uninvertierte Fäkalrinne der pleisiomorphe Zustand innerhalb der Sabellida ist, denn dann müsste ihre Inversion mehrfach unabhängig voneinander innerhalb von *Amphicorina* und den sonstigen Sabelliden evolviert sein. Hier ist die einmalige Entstehung der komplett dorsalen Lage innerhalb von *Amphicorina* sparsamer, auch wenn dieses Taxon in verschiedenen Analysen basal abzweigt (FITZHUGH 2003, CAPA ET AL. 2010, 2012). Sollte sich nach der Analyse weiterer Sabellidenarten herausstellen, dass die Fäkalrinne auch in anderen Taxa nicht invertiert ist, muss diese Annahme zum Grundmuster der Sabellida erneut zur Prüfung gestellt werden.

Subsumierend soll hier die Erkenntnis im Vordergrund stehen, dass die Fäkalrinneninversion als unabhängiges Merkmal existiert.

#### 4.3.4 Innere Inversionen

Wenn die Inversion der Borsten und der Fäkalrinne die äußerlich sichtbaren Folgen einer umfassenderen Inversion der Abdominalsegmente wären, die nicht nur die äußerliche Merkmale einschließt, dann wäre zu erwarten, dass auch innere Organe wie Längsmuskulatur und Nervensystem entlang der Thorax-Abdomen-Grenze invertieren. Dabei stehen in der vorliegenden Arbeit keine Untersuchungen an der direkten parapodialen Muskulatur im Fokus, denn hier kann ein so enger Zusammenhang mit der Funktionalität der Parapodien angenommen werden, dass die Muskulatur an die Morphologie und Funktion der Borsten angepasst sein muss. Allerdings würde eine Inversion der Segmente bedeuten, dass auch zentrale Bestandteile dieser Strukturen wie die ventralen Nervenstränge oder die Längsmuskulatur Hinweise auf eine Inversion liefern oder selbst invertiert sind.

Die im Ergebnisteil vorgestellten Befunde sind schnell interpretiert. Weder die eigenen Untersuchungen noch die Veröffentlichung von RÜSCHEL & MÜLLER (2007), die einen speziellen Blick auf die inneren Merkmale der Inversion der Sabelliden richten, finden einen Hinweis darauf, dass innere Strukturen wie Nerven oder Muskeln durch ein Inversionsereignis beeinflusst werden. Im Speziellen zeigen weder die Längsmuskulatur noch die ventralen Nervenbahnen an der Stelle der Inversion auffällige Änderungen. Einzig die Beobachtung von RÜSCHEL & MÜLLER (2007), dass die Längsmuskulatur bei einigen der im CLSM untersuchten Individuen am Übergang von Thorax zu Abdomen gerissen war, konnte in der eigenen Untersuchung bei zwei Individuen von *Amphicorina cf. brevicollaris* bestätigt werden. Ob an dieser Stelle eine wie auch immer zu bewertende besondere Situation in der Entwicklung vorliegt, die diesen Bereich für Rupturen anfällig macht, kann aufgrund der wenigen Daten nicht beurteilt wer-

den. In intakten Präparaten zeigt sich keine im CLSM erkennbare Auffälligkeit am Übergang von Thorax zu Abdomen.

Als ein weiterer Ansatz wurde die Möglichkeit geprüft, die Innervierung der Parapodien bis in die interramischen Verzweigungen zu untersuchen. Die Idee dahinter war, dass die Hakenborsten tragenden Rami gemeinsam von einem Nervenstrang innerviert werden, um die Reaktionszeit zur Verankerung in der Röhre zu verkürzen. Die gleiche Überlegung galt für die Kapillarborsten bei der Fort- oder Rückzugsbewegung. In der höchst möglichen Vergrößerung konnten allerdings die nervösen Verzweigungen nicht soweit aufgelöst werden, dass Unterschiede in der Innervierung der einzelnen Rami der thorakalen und abdominalen Parapodien vergleichend dargestellt werden könnten.

### 4.3.5 Merkmalscodierung

Die vorliegenden Ergebnisse lassen abschließend folgende Interpretation des Merkmals Inversion zu:

- Die mutmaßliche Inversion bei den Sabellida zeigt sich ausschließlich in der speziellen Anordnung der Borsten. Diese Anordnung lässt sich im Detail jedoch nur schwer mit einem Inversionsereignis erklären, da die unterschiedliche Anordnung der Wachstumszonen und die im Detail abweichenden Borstentypen von Thorax und Abdomen weitere Annahmen unbedingt notwendig machen.
- Es gibt keine Anzeichen dafür, dass die Inversion innere Strukturen betrifft.
- Auch die häufige Inversion der Fäkalrinne scheint unabhängig von der speziellen Borstenanordnung zu sein.
- Daraus ergeben sich folgende Forderungen an die Kodierung:
- Die Inversion von Borsten und Fäkalrinne sollte nicht als ein einziges komplexes Merkmal kodiert werden.

Die Inversion der Sabellida sollte nicht als unabhängiges Merkmal kodiert werden, sondern die einzelnen Merkmalsausprägungen als solche im Rahmen der ganz normalen Kodierung der im jeweiligen Körperabschnitt vorkommenden Borstentypen.

Daraus ergeben sich folgende Kodierungsschemata für die Borstenanordnung:

(A) Rumpf, Differenzierung in Thorax and Abdomen: (0) absent, (1) present.

Nur auf terminale Taxa mit Thorax und Abdomen anwendbar:

(B) Thorax, notopodiale Borsten: (0) Typ 1; (1) Typ 2; (2) etc. ...

(C) Thorax, neuropodiale Borsten: (0) Typ 1; (1) Typ 2; (2) etc. ...

(D) Abdomen, notopodiale Borsten: (0) Typ 1; (1) Typ 2; (2) etc. ...

(E) Abdomen, neuropodiale Borsten: (0) Typ 1; (1) Typ 2; (2) etc. ...

Entsprechend sollte die Fäkalrinne und ihre Inversion wie folgt kodiert werden:

(F) Fäkalrinne: (0) absent, (1) present.

(G) Fäkalrinne, Verlauf: (0) dorsal, (1) dorsal entlang des Thorax, ventral entlang des Abdomens

## 4.4 VERGLEICH DER UNTERSUCHTEN ORGANE UND ABSCHLIESSENDE PHYLOGENETISCHE BEWERTUNG

Ein Schwestergruppenverhältnis oder zumindest eine nähere Verwandtschaft zwischen Sabellida und Sabellariidae wird in phylogenetischen Analysen, die sich auf morphologische Merkmale beziehen, gestützt (z.B. ROUSE & FAUCHALD 1997, ROUSE & PLEIJEL 2001). Detailliertere morphologische Untersuchungen widersprechen jedoch traditionellen Autapomorphien des resultierenden Taxons, allen voran wurde die Borsteninversion als homologes Merkmal zurückgewiesen (KIESELBACH & HAUSEN 2008). Neuere molekulare bzw. kombinierte molekulare und morphologische Stammbäume bestätigen jedoch ein engeres Verwandtschaftsverhältnis dieser Taxa, stellen jedoch die Sabellariidae näher den Spionida, die dann gemeinsam das Schwestertaxon der Sabellida bilden (STRUCK ET AL. 2007, 2011, ZRZAVY ET AL. 2009, CAPA ET AL. 2010, 2012). Die Terebellida, die gelegentlich aufgrund ihrer Uncini (BARTOLOMAEUS 1995) oder aufgrund der Ähnlichkeit der Paleen von Sabellariidae und Pectinariidae (z.B. FAUCHALD 1977, ROUSE & PLEIJEL 2001, 2003) in die nähere Verwandtschaft der Sabellida und Sabellariidae gebracht wurden, rücken in aktuellen molekularen und kombinierten Untersuchungen weiter von diesen weg (STRUCK ET AL. 2007, 2011; ZRZAVY ET AL. 2009, CAPA ET AL. 2010, 2012).

### 4.4.1 Die Verwandtschaft von Sabellariidae, Sabellida und Spionida

Nuchalorgane wurden vergleichsweise häufig histologisch (vor allem durch RULLIER 1950, 1951) und bei verhältnismäßig vielen Taxa auch ultrastrukturell untersucht (für Zusammenfassungen siehe z.B. PURSCHKE 1997, 2005, PURSCHKE ET AL. 2006, HAUSEN 2001, KOCH 2005). Die bei *M. vesiculosum* entdeckte pflastersteinartige Abdeckung kommt auch bei anderen Taxa vor. Sie wurde ultrastrukturell beschrieben bei den Spionidae (SCHLÖTZER-SCHREHARDT 1986, 1987, RHODE 1990), Capitellidae (RHODE 1986, 1990), Protodrilidae (PURSCHKE 1990, 1997), *Trochochaeta*, *Poecilochaetus*, Paraonidae (HAUSEN 2001) und Orbiniidae (KOCH 2005). Interessanterweise findet PURSCHKE (1997) eine solche Abdeckung bei *Fabricia stellaris* (dort als *Sabella stellaris*), einem weiteren Vertreter der Sabellida, nicht. Der Nachweis dieser Abdeckung bei *M. vesiculosum* vermag zwar aufgrund der weiten Verbreitung dieses Merkmals innerhalb der Sedentaria eine nähere Verwandtschaft gerade von Spionida und Sabellida nicht zu bestärken, und auch die bei beiden Taxa nachgewiesenen in Clustern angeordneten Dendriten sind weit innerhalb der Sedentaria verbreitet, jedoch lassen die aktuellen Befunde eine nähere Verwandtschaft weiterhin zu. KOCH (2005) konnte eine pflastersteinartige Abdeckung der Nuchalorgane auch bei einem Vertreter der Orbiniidae (*Scoloplos armiger*) nachweisen, die nach neuesten EST-Analysen an der Basis der Sedentaria stehen (BLEIDORN pers. Mitteilung, im Gegensatz zu der Analyse von STRUCK ET AL. 2011, die die Orbiniidae innerhalb der Errantia auflöst). Somit kann der Zustand als Autapomorphie der Sedentaria gedeutet werden.

Die Frage, ob es sich bei den Organen der Sabellariidae um reduzierte Nuchalorgane oder um sonstige olfaktorische Organe handelt, ist auch nach den vorliegenden detaillierten Untersuchungen über einen langen Entwicklungszeitraum nur eingeschränkt zu beantworten. Der Vergleich mit den Untersuchungen ORRHAGES (1978) zur Innervierung der Nuchalorgane macht es wahrscheinlich, dass es sich bei den hier

untersuchten Organen von *S. alveolata* tatsächlich um ein Nuchalorgan handelt, dass allerdings stark abgewandelt ist. In diesem Fall muss man davon ausgehen, dass Retraktormuskel und multiciliäre Stützzellen reduziert wurden. Zumindest das Fehlen letzterer könnte eine Autapomorphie der Sabellariidae darstellen, wenn zu erhebende Daten von weiteren Sabellariiden-Arten diesen Befund ultrastrukturell bestätigen können. Durch das Fehlen der multiciliären Stützzellen ist es leider unmöglich zu beurteilen, ob die pflastersteinartige Abdeckung des Organs ggfs. sekundär reduziert wurde. Es wäre in diesem Zusammenhang sicher interessant, einen Vertreter der Sabellariidae mit nicht so weit fortgeschrittener Cephalisation zu untersuchen. Hier wäre anzunehmen, dass die Nuchalorgane noch an exponierterer Stelle sitzen und ggfs. weniger stark reduziert sind. Interessante Untersuchungsobjekte wären Vertreter der Taxa *Phalacrostemma* und *Lygdamis*. Aktuelle Untersuchungen zur Phylogenie der Sabellariidae basierend auf molekularen und morphologischen Merkmalen durch CAPA ET AL. (2012) stützen die Annahme, dass Taxa mit weniger fortgeschrittener Cephalisation basal abzweigen.

Die spezifischen ultrastrukturellen Übereinstimmungen in den larvalen ciliären Sinnesorganen von *Trochochaeta*-, *Poecilochaetus*- und Sabellariiden-Arten stützen eine nahe Verwandtschaft zwischen diesen Taxa, zumal diese Organe bisher bei keinem anderen Anneliden-Taxon beschrieben wurden. Sie finden sich auch innerhalb der Sabellida nicht und könnten eine Synapomorphie der Sabellariidae und Spionida darstellen. Damit stützen die Untersuchungen an den larvalen ciliären Sinnesorganen morphologisch dieses in neueren phylogenetischen Analysen häufiger bestätigte Taxon (STRUCK ET AL. 2007, CAPA ET AL. 2010, 2012, ZRZAVY ET AL. 2009).

Eine nähere Verwandtschaft von Sabellariiden und Spionida wurde bereits von WILSON (1929) vermutet und auch DALES (1952, 1962) ordnet beide Taxa als Schwestertaxa ein. Die schon von WILSON (1929) gefundene auffällige Ähnlichkeit bezüglich der Trochophora-Larven der Sabellariidae und der Spionida, mit ihren langen, kurz hinter dem Prototroch inserierenden Larvalborsten, wurde in den hier untersuchten Entwicklungsstadien von *S. alveolata* bestätigt. Insgesamt unterstützen die Untersuchungen an den larvalen ciliären Sinnesorganen eine Verwandtschaft von Sabellariidae und Spionida erstmals auf ultrastruktureller Ebene.

Die Untersuchung an den Nuchalorganen von *M. vesiculosum* erweitert die Gruppe der Taxa, die eine pflastersteinartige Abdeckung der Organe zeigen. Das Merkmal muss als plesiomorph innerhalb der Sedentaria eingeschätzt werden, wenn weitere Untersuchungen dies bestätigen.

Die Borstenversion wird als Merkmal für die Kodierung des Borstenmusters bei Sabellida verworfen. Es ist aufgrund der vorhandenen morphologischen Daten unmöglich, ein Inversionsereignis hinter dem Borstenmuster zu verifizieren. Der bei den Sabellida ausgeprägte Wechsel des Borstenbesatzes an der Grenze von Thorax zu Abdomen ist von keinem weiteren Inversionsereignis begleitet. Nur in bestimmten Taxa innerhalb der Sabellida scheint mit dem Borstenbesatz auch die Morphologie der Rami einer Änderung unterworfen zu sein. Dies gilt jedoch bei weitem nicht für alle untersuchten Taxa und kann problemlos als sekundäre Anpassung interpretiert werden. Kein weiteres Organsystem, wie Muskeln oder Nerven, unterstützt ein tiefergehendes Inversionsereignis. Somit ist für die Borstenanordnung morphologisch nicht zu klären, ob es sich hier um ein genetisch fixiertes Inversionsereignis oder einen Wechsel des Borstenbesatzes handelt, wie er bei vielen Taxa der Polychaeta üblich ist.

Die Kodierung der Borstenmuster der Sabellida als Inversion wie beispielsweise bei ROUSE & FAUCHALD (1997), ROUSE & PLEIJEL (2001), SCHULZE (2003), KUPRIYANOVA & ROUSE (2008) und CAPA ET AL. (2010, 2012) ist damit unzulässig.

Die Inversion der Fäkalrinne sollte den vorliegenden Untersuchungen zufolge als eigenständiges Merkmal kodiert werden, wie dies auch zunehmend in phylogenetischen Untersuchungen geschieht (z. B. KUPRIYANOVA & ROUSE 2008, CAPA ET AL. 2010, 2012). Die Fäkalrinne zeigt sowohl in der Ontogenese als auch in der Regeneration einen von der Ausprägung der Borstenanordnung unterschiedlichen Entwicklungsmodus, was die Einstufung als unabhängiges Merkmal zu rechtfertigen scheint. Dies gilt auch, obwohl eine uninvertierte Fäkalrinne bisher nur für manche *Amphicorina*-Arten (eigene Untersuchungen, ROUSE 1990) dokumentiert wurde und eine sekundäre Entkopplung nicht auszuschließen ist.

#### 4.4.2 Bedeutung der Phaosomen für die Phylogenie der Annelida

Die Beschreibung der ciliären Phaosomen bei *T. lapidaria* erweitert die Erkenntnisse zur Verbreitung dieser speziellen Organe innerhalb der Annelida, sie lässt sich aber aufgrund der insgesamt nach wie vor dürftigen Datenlage zurzeit nicht weiter phylogenetisch auswerten. Die Kodierung der Organe für eine kladistische Analyse erscheint derzeit aus unterschiedlichen Gründen nur schwer möglich. Zum einen ist die Definition eines Phaosoms bisher kaum präzisiert. So entspricht jeder einzellige Photorezeptor der aktuellsten Definition nach PURSCHKE ET AL. (2006) einem Phaosom, der die Eigenschaften der Rezeptor- und Stützzelle in sich vereint. Zusätzlich können separate Pigmentzellen vorhanden sein. Im Gegensatz dazu stehen alle übrigen Photorezeptoren. Wenn jedoch das einzige Merkmal eines Phaosoms der Aufbau aus nur einer Zelle ist, dann ist gleichzeitig die Wahrscheinlichkeit sehr hoch, dass Phaosomen mehrmals konvergent entstanden sind (PURSCHKE ET AL. 2006). Dies kann entweder durch Reduktion aus anderen Augen oder als *de novo* Photorezeptor gemäß ARENDT ET AL. (2004, oder auch PURSCHKE ET AL. 2006) möglich sein. Die unterschiedliche Ausprägung der Rezeptorbereiche in Form von rhabdomerischen oder ciliären Strukturen deutet auf konvergente Entstehung hin, da ciliäre und rhabdomerische Zelltypen schon bei den Urbilateriern getrennten Entwicklungsbahnen entstammt sein sollen, die dann eine weitergehende unabhängige Evolution durchgemacht haben (ARENDT 2008).

Damit sind Phaosomen innerhalb der Anneliden wahrscheinlich nicht homolog. Wenn sie aber mehrfach unabhängig aus anderen Augen oder Photorezeptoren entstanden sind, dann müssen sie auch mit diesen verglichen werden und können daher auch nur als homolog mit anderen Photorezeptoren kodiert werden. Zurzeit liegen jedoch noch zu wenige Daten vor, um eine Hypothese aufzustellen, welche Photorezeptortypen mit welchen Phaosomen homolog sein könnten (PURSCHKE ET AL. 2006, KALLER 2011). Das Auftreten ähnlicher Genexpressionsmuster in den Phaosomen von Capitelliden und Clitellaten (KALLER 2011, pers. Mitteilung HAUSEN) zeigt jedoch, dass sie als phylogenetische Merkmale gut geeignet sind, wenn für mehr Arten ultrastrukturelle und molekulare Daten verfügbar werden.

---

# ZUSAMMENFASSUNG

---

Trotz der zunehmenden Anzahl molekularer Analysemethoden ist die Phylogenie der Annelida nach wie vor unklar. Neuere molekulare Analysen liefern Stammbäume, die sich mit den Ergebnissen morphologischer Analysen kaum in Deckung bringen lassen. Eine frühe Radiation der Annelida bereits im Kambrium wird sowohl bei molekularen als auch bei morphologischen Analysen häufig als Erklärung für die Schwierigkeiten angeführt, vor allem die basalen Aufspaltungen mit einer guten statistischen Unterstützung aufzulösen. Auf morphologischer Seite besteht ebenso das Problem, dass Merkmale in der Evolution stark verändert wurden oder sekundär verloren gegangen sind, so dass sich kaum eindeutige Synapomorphien finden, die basale Verwandtschaftsverhältnisse stützen könnten. Da die Merkmalskodierungen aktueller morphologischer Matrizen zu einem Großteil auf historischen Daten beruhen, ist eine genaue strukturelle Untersuchung dieser Merkmale notwendig, um die bisherigen Homologieannahmen zu prüfen. Damit stehen auch Erkenntnisse zur Überprüfung an, die teils seit Jahrzehnten in Merkmalsmatrizen übernommen werden, wie beispielsweise die spezielle Borsteninversion innerhalb der Sabellida oder die mutmaßlichen Nuchalorgane bei den Sabellariiden.

Zu diesem Zwecke wurden in der vorliegenden Arbeit erstmalig die Nuchalorgane von *Sabellaria alveolata* und *Megalomma vesiculosum*, die ciliären Sinnesorgane von *S. alveolata* und die Phaosomen von *Terebella lapidaria* ultrastrukturell untersucht. Dabei wurde die Organogenese vollständig von frühesten Trochophorastadien bis zum metamorphosierten juvenilen Wurm verfolgt.

Die Nuchalorgane von *M. vesiculosum* zeigen in der Ultrastruktur eine für viele Sedentaria typische pflastersteinartige Abdeckung der Kutikula über dem Organ. Die in der Literatur als ungewöhnlich beschriebene Lage der Organe in lateralen Taschen des Mundvorraums lässt sich in der Organogenese auf das frontale Auswachsen der Branchialkrone zurückführen, wodurch die zunächst in typischer Weise am hinteren Rand des Prostomiums angelegten Organe ihre abgeleitete innere Position erlangen. Die mutmaßlichen Nuchalorgane von *S. alveolata* zeigen in der Ultrastruktur eine vergleichsweise einfache Morphologie. Mit den multiciliären Stützzellen fehlt diesen Organen zwar ein charakteristisches Merkmal von Nuchalorganen, doch deuten ihre paarige Anordnung, die Lage an der Palpenbasis, ihr prostomialer Ursprung, ihre Nervenansbindung und die zelluläre Zusammensetzung darauf hin, dass es sich um sekundär vereinfachte Nuchalorgane handelt.

Das larvale ciliäre Sinnesorgan von *S. alveolata* gleicht in seiner Ultrastruktur den bei Spioniden untersuchten larvalen ciliären Sinnesorganen in vielen Details, so dass hier Homologie zweifellos angenommen werden muss. Die Organe sind bei keinen weiteren Annelidentaxa in dieser speziellen Form nachgewiesen und bilden somit die erste ultrastrukturelle Synapomorphie eines in aktuellen molekularen Phylogenien häufig gefundenen Taxons aus Sabellariidae und Spionida.

Die Phaosomen von *T. lapidaria* sind aufgrund ihres offenen, die Epidermis durchziehenden Kanals einzigartig innerhalb der traditionell zu den Polychaeten gezählten Taxa. Sie heben sich zudem von den meisten bisher untersuchten Phaosomen durch eine außergewöhnlich hohe Zahl von unverzweigten Sinnescilien ab, die die einzigen Rezeptoren der Zelle sind. Aufgrund der wenigen verfügbaren Daten zu Phaosomen innerhalb der Annelida und speziell innerhalb der bisherigen Polychaeta ist eine phylogenetische Interpretation derzeit nicht möglich.

Die Untersuchung vermeintlicher Inversionsereignisse bei verschiedenen Arten der Sabellida ergibt, dass die Verlagerung der Fäkalrinne als unabhängig von der sogenannten Borsteninversion zu betrachten ist. Für die äußerlich invertiert erscheinende Borstenanordnung der Sabellida lässt sich auf morphologischer Ebene kein schlüssiges Argument finden, dass der Wechsel des Borstenbesatzes an der Grenze von Thorax zu Abdomen auf einer genetisch fixierten Information für eine Inversion beruht. Die Daten deuten vielmehr darauf, dass dieser Wechsel lediglich eine Änderung des Borstenbesatzes innerhalb verschiedener Körperregionen darstellt, die auch bei vielen anderen Annelidentaxa vorkommt. Bisherige Kodierungen der untersuchten Merkmale für kladistische Analysen werden mit den neuen Befunden korrigiert und erweitert.

- ARENDR, D. (2008): The evolution of cell types in animals: emerging principles from molecular studies. *Nature Reviews Genetic*, **9**(11): 868–882.
- ARENDR, D., TESSMAR-RAIBLE, K., SNYMAN, H., DORRESTEIJN, A. W. & WITTBRODT, J. (2004): Ciliary Photoreceptors with a Vertebrate-Type Opsin in an Invertebrate Brain. *Science*, **306**(5697): 869–871.
- BARTOLOMAEUS, T. (1995): Structure and formation of the uncini in *Pectinaria koreni*, *Pectinaria auricomma* (Terebellida) and *Spirorbis spirorbis* (Sabellida): implications for annelid phylogeny and the position of the Pogonophora. *Zoomorphology*, **115**: 161–177.
- BARTOLOMAEUS, T., PURSCHKE, G. & HAUSEN, H. (2005): Polychaete phylogeny based on morphological data – a comparison of current attempts. *Hydrobiologia*, **535-536**(1): 341–356.
- BERRILL, N. J. (1931). Regeneration in *Sabella pavonina* (Sav.) and other sabellid worms. *J Exp Zool*, **58**: 495–523.
- BERRILL, N. J. (1977): Functional morphology and development of segmental inversion in sabellid polychaetes. *The Biological Bulletin*, **153**(3): 453–467.
- BERRILL, N. J. (1978): Induced segmental reorganization in sabellid worms. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, **47**: 85–96.
- BLEIDORN, C. (2007): The role of character loss in phylogenetic reconstruction as exemplified for the Annelida. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **45**(4): 299–307.
- BLEIDORN, C., EECKHAUT, I., PODSIADLOWSKI, L., SCHULT, N., MCHUGH, D., HALANYCH, K. M., MILINKOVITCH, M. C. & TIEDEMANN, R. (2007): Mitochondrial Genome and Nuclear Sequence Data Support Myzostomida As Part of the Annelid Radiation. *Molecular Biology and Evolution*, **24**(8): 1690–1701.
- BLEIDORN, C., HILL, N., ERSÉUS, C. & TIEDEMANN, R. (2009): On the role of character loss in orbiniid phylogeny (Annelida): Molecules vs. morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **52**(1): 57.
- BLEIDORN, C., KRUSE, I., ALBRECHT, S. & BARTOLOMAEUS, T. (2006): Mitochondrial sequence data expose the putative cosmopolitan polychaete *Scoloplos armiger* (Annelida, Orbiniidae) as a species complex. *BMC Evolutionary Biology*, **6**:47.
- BLEIDORN, C., VOGT, L. & BARTOLOMAEUS, T. (2003a): A contribution to sedentary polychaete phylogeny using 18S rRNA sequence data. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **41**(3): 186–195.
- BLEIDORN, C., VOGT, L. & BARTOLOMAEUS, T. (2003b): New insights into polychaete phylogeny (Annelida) inferred from 18S rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **29**(2): 279–288.
- CAPA, M., HUTCHINGS, P., AGUADO, M. T. & BOTT, N. J. (2010): Phylogeny of Sabellidae (Annelida) and relationships with other taxa inferred from morphology and multiple genes. *Cladistics*, **26**: 1–21.
- CAPA, M., HUTCHINGS, P. & PEART, R. (2012): Systematic revision of Sabellariidae (Polychaeta) and their relationships with other polychaetes using morphological and DNA sequence data. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **164**: 245–284.

- CARDONA, A., SAALFELD, S., SCHINDELIN, J., ARGANDA-CARRERAS, I., PREIBISCH, S., LONGAIR, M., TOMANCAK, P., HARTENSTEIN, V. & DOUGLAS, R. J. (2012): TrakEM2 Software for Neural Circuit Reconstruction. *PLoS ONE*, **7**(6).
- DALES, R. (1952): The development and structure of the anterior Region of the body in the Sabellariidae, with special reference to *Phragmatopoma californica*. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, **93**(4): 435–452.
- DALES, R. (1962): The polychaete stomodeum and the inter-relationships of the families of Polychaeta. *Proceedings of the Zoological Society of London*, **139**: 389–428.
- EAKIN, R. M. & HERMANS, C. O. (1988): Eyes. In W. Westheide & C.O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta. Microfauna Marina* **4**: 135–156.
- FAUCHALD, K. (1977): *The Polychaete Worms Definitions and Keys to the Orders, Families and Genera. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series*, **28**: 1–190.
- FAUCHALD, K. & ROUSE, G. W. (1997): Polychaete systematics: Past and present. *Zoologica Scripta*, **26**(2): 71–138.
- FITZHUGH, K. (2003): A new species of *Megalomma* Johansson, 1927 (Polychaeta: Sabellidae: Sabellinae) from Taiwan, with comments on sabellid dorsal lip classification. *Zool. Stud.* **42**: 106–134.
- HAUSEN, H. (2001): Untersuchungen zur Phylogenie „spiomorpher“ Polychaeten (Annelida). Dissertation, Universität Bielefeld.
- HAUSEN, H. (2005): Chaetae and chaetogenesis in polychaetes (Annelida). *Hydrobiologia*, **535-536**: 37–52.
- HAUSEN, H. (2007): Ultrastructure of presumptive light sensitive ciliary organs in larvae of Poecilochaetidae, Trochochaetidae, Spionidae, Magelonidae (Annelida) and its phylogenetic significance. *Zoology*, **126**: 185–201.
- HESSLING, R. & PURSCHKE, G. (2000): Immunohistochemical (cLSM) and ultrastructural analysis of the central nervous system and sense organs in *Aeolosoma hemprichi* (Annelida, Aeolosomatidae). *Zoomorphology*, **120**: 65–78.
- JAMIESON, B. (1981): *The Ultrastructure of the Oligochaeta. Academic Press Inc., London.*
- JENNER, R. A. (2004a): Towards a phylogeny of the metazoa: evaluating alternative phylogenetic positions of Platyhelminthes, Nemertea, and Gnathostomulida, with a critical reappraisal of cladistic characters. *Contributions to Zoology*, **73**: 3–163.
- JENNER, R. A. (2004b): The scientific status of metazoan cladistics: why current research practice must change. *Zoologica Scripta*, **33**(4): 293–310.
- JOHANSSON, K. E. (1927): Beiträge zur Kenntnis des Polychaeten-Familien Hermellidae, Sabellidae und Serpulidae. *Zoologiska Bidrag Från Uppsala*, **11**: 1–184.
- KALLER, T. (2011): Molekulare und ultrastrukturelle Charakterisierung von Photorezeptorzellen und Augen bei Annelida. Dissertation, Freie Universität Berlin.

- KIESELBACH, D. & HAUSEN, H. (2008): Chaetal arrangement provides no support for a close relationship of Sabellidae and Sabellariidae (Annelida). *Journal of Morphology*, **269**(1): 104–117.
- KOCH, C. (2005): Ultrastruktur der Nuchal- und Dorsalorgane bei *Scoloplos armiger* (Annelida: Orbiniidae) und deren phylogenetische Bedeutung. Diplomarbeit, Freie Universität Berlin.
- KUPRIYANOVA, E. K. (2003): Live history evolution in Serpulimorph polychaetes: a phylogenetic Analysis. *Hydrobiologia*, **496**: 105–114.
- KUPRIYANOVA, E. K., MACDONALD, T. A. & ROUSE, G. W. (2006): Phylogenetic relationships within Serpulidae (Sabellida, Annelida) inferred from molecular and morphological data. *Zoologica Scripta*, **35**(5): 421–439.
- KUPRIYANOVA, E. K. & ROUSE, G. W. (2008): Yet another example of paraphyly in Annelida: molecular evidence that Sabellidae contains Serpulidae. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **46**: 1174–1181.
- LEHRKE, J., HOVE, H. A., MACDONALD, T. A., BARTOLOMAEUS, T. & BLEIDORN, C. (2007): Phylogenetic relationships of Serpulidae (Annelida). *Organisms Diversity & Evolution*, **7**(3): 195–206.
- MEYER, E. (1888): Studien über Körperbau der Anneliden. IV. Die Körperform der Serpulaceen und Hermmellen. *Mitteilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel*, **8**: 462–662.
- MWINYI, A., MEYER, A., BLEIDORN, C., LIEB, B., BARTOLOMAEUS, T. & PODSIADLOWSKI, L. (2009): Mitochondrial genome sequence and gene order of *Sipunculus nudus* give additional support for an inclusion of Sipuncula into Annelida. *BMC Genomics*, **10**(27).
- MYHRBERG, H. (1979): Fine structural analysis of the basal epidermal receptor cells in the earthworm (*Lumbricus terrestris*). *Cell and Tissue Research*, **203**: 257–266.
- ORRHAGE, L. (1978): On the structure and evolution of the anterior end of the Sabellariidae (Polychaeta Sedentaria). With some remarks on the general organisation of the polychaete brain. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Anatomie und Ontogenie der Tiere*, **100**: 343–374.
- ORRHAGE, L. & MÜLLER, M. C. M. (2005): Morphology of the nervous system of Polychaeta (Annelida). *Hydrobiologia*, **535-536**: 79–111.
- PURSCHE, G. (1990): Comparative electron microscopic investigation of the nuchal organs in *Protodriloides*, *Protodrilus*, and *Saccocirrus* (Annelida, Polychaeta). *Canadian Journal of Zoology*, **68**: 325–338.
- PURSCHE, G. (1997): Ultrastructure of Nuchal Organs in Polychaetes (Annelida) – New Results and Review. *Acta Zoologica*, **78**(2): 123–143.
- PURSCHE, G. (2002): On the ground pattern of Annelida. *Organisms Diversity & Evolution*, **2**(3): 181–196.
- PURSCHE, G. (2003): Ultrastructure of phaesomous photoreceptors in *Stylaria lacustris* (Naididae, „Oligochaeta“, Clitellata) and their importance for the position of the Clitellata in the phylogenetic system of the Annelida. *Journal of Zoological Systematics & Evolutionary Research*, **41**(2): 100–108.
- PURSCHE, G. (2005): Sense organs in polychaetes (Annelida). *Hydrobiologia*, **535-536**: 53–78.

- PURSCHE, G., ARENDT, D., HAUSEN, H. & MÜLLER, M. C. M. (2006): Photoreceptor cells and eyes in Annelida. *Arthropoda Structure and Development*, **35**(4): 211–230.
- PURSCHE, G. & JOUIN-TOULMOND, C. (1993): Ultrastructure of presumed ocelli in *Parenterodrilus taenoides* (Polychaeta, Protodrilidae) and their phylogenetic significance. *Acta Zoologica*, **74**(3): 247–256.
- PURSCHE, G., WOLFRATH, F. & WESTHEIDE, W. (1997): Ultrastructure of the nuchal organ and cerebral organ in *Onchnesoma squamatum* (Sipuncula, Phascolionidae). *Zoomorphology*, **117**: 23–31.
- RHODE, B. (1986): Vergleichende Untersuchungen der Kopfsinnesorgane mariner Anneliden. Dissertation, Universität Hamburg.
- RHODE, B. (1990): Ultrastructure of nuchal organs in some marine polychaetes. *Journal of Morphology*, **206**: 95–107.
- ROUSE, G. W. (1990): New species of *Oriopsis* and a new record for *Augeneriella* cf. *dubia* Hartmann-Schröder, 1965 from eastern Australia (Polychaeta: Sabellidae). *Records of the Australian Museum* **42**(2): 221–235.
- ROUSE, G. & FAUCHALD, K. (1995): The articulation of annelids. *Zoologica Scripta*, **24**(4): 269–301.
- ROUSE, G. & FAUCHALD, K. (1997): Cladistics and polychaetes. *Zoologica Scripta*, **26**(2): 139–204.
- ROUSE, G. W. & PLEIJEL, F. (2001): Polychaetes. *Oxford University Press, New York*.
- ROUSE, G. W. & PLEIJEL, F. (2003): Problems in polychaete systematics. *Hydrobiologia*, **496**: 175–189.
- ROUSSET, V., PLEIJEL, F., ROUSE, G. W., ERSÉUS, C. & SIDDALL, M. (2007): A molecular phylogeny of annelids. *Cladistics*, **23**(1): 41–63.
- ROUSSET, V., ROUSE, G. W., SIDDALL, M. E., TILLIER, A. & PLEIJEL, F. (2004): The phylogenetic position of Siboglinidae (Annelida) inferred from 18S rRNA, 28S rRNA and morphological data. *Cladistics*, **20**(6): 518–533.
- RÜSCHEL J. & MÜLLER M. C. M. (2007): F-actin framework in *Spirorbis* cf. *spirorbis* (Annelida: Serpulidae): phalloidin staining investigated and reconstructed by cLSM. *Invertebrate Biology*, **126**(2): 173–182.
- RULLIER, F. (1950): Role de l'organe nuchal des annélides polychètes. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, **75**: 18–24.
- RULLIER, F. (1951): Etude morphologique, histologique et physiologique de l'organe nuchal chez les Annelides polychètes sédentaires. *Année biologique, Paris*, **27**: 208–341.
- SCHINDELIN, J., ARGANDA-CARRERAS, I., FRISE, E., KAYNIG, V., LONGAIR, M., PIETZSCH, T., PREIBISCH, S., RUEDEN, C., SAALFELD, S., SCHMID, B., TINEVEZ, J.-Y., WHITE, D. J., HARTENSTEIN, V., ELICEIRI, K., TOMANCAK, P. & CARDONA, A. (2012): Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, **9**(7): 676–682.
- SCHLÖTZER-SCHREHARDT, U. (1986): Ultrastructural investigation of the nuchal organs of *Pygospio elegans* (Polychaeta). I. Larval nuchal organs. *Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, **40**: 397–417.

- SCHLÖTZER-SCHREHARDT, U. (1987): Ultrastructural investigations of the nuchal organs of *Pygospio elegans* (Polychaeta). II. Adult nuchal and dorsal organs. *Zoomorphology*, **107**: 169–179.
- SCHULZE, A. (2003): Phylogeny of Vestimentifera (Siboglinidae, Annelida) inferred from morphology. *Zoologica Scripta*, **32**(4): 321.
- STRUCK, T. H., NESNIDAL, M. P., PURSCHKE, G. & HALANYCH, K. M. (2008): Detecting possibly saturated positions in 18S and 28S sequences and their influence on phylogenetic reconstruction of Annelida (Lophotrochozoa). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **48**(2): 628–645.
- STRUCK, T. H., PAUL, C., HILL, N., HARTMANN, S., HOSEL, C., KUBE, M., LIEB, B., MEYER, A., TIEDEMANN, R., PURSCHKE, G. & BLEIDORN, C. (2011): Phylogenomic analyses unravel annelid evolution. *Nature*, **471**(7336): 95–98.
- STRUCK, T. H., SCHULT, N., KUSEN, T., HICKMAN, E., BLEIDORN, C., MCHUGH, D. & HALANYCH, K. M. (2007): Annelid phylogeny and the status of Sipuncula and Echiura. *BMC Evolutionary Biology*, **7**(57): 1–11.
- WILKENS, V. & PURSCHKE, G. (2009): Pigmented Eyes, Photoreceptor-Like Sense Organs and Central Nervous System in the Polychaete *Scoloplos armiger* (Orbiniidae, Annelida) and Their Phylogenetic Importance. *Journal of Morphology*, **270**(11): 1296–1310.
- WILSON, D. P. (1929): The larvae of the british sabellarians. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **16**: 221–269.
- WILSON, D. P. (1936): The Development of the Sabellid *Branchiomma vesiculosum*. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, **78**(312): 543–603.
- WILSON, D. P. (1968): Some Aspects of the Development of Eggs and Larvae of *Sabellaria alveolata* (L.). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **48**: 367–386.
- ZAHID, Z. & GOLDING, D. (1974): Structure and ultrastructure of the central nervous system of the polychaete *Nephtys*, with special reference to photoreceptor elements. *Cell and Tissue Research*, **149**: 657–576.
- ZRZAVY, J., RIHA, P., PIALEK, L. & JANOUSKOVEC, J. (2009): Phylogeny of Annelida (Lophotrochozoa): total-evidence analysis of morphology and six genes. *BMC Evolutionary Biology*, **9**(1): 189.