

**Verhaltensphysiologische Untersuchungen zur Reaktion von
Ackerschnecken (*Deroceras* ssp.) auf körpereigene und
aus der Nahrung stammende flüchtige Substanzen**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Constanze E. Kuckuck

aus Moers

Düsseldorf 2000

Referent: Prof. Dr. H. Greven
Korreferent: Prof. Dr. J. D'Haese
Tag der mündlichen Prüfung: 15.02.2001

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1. Einleitung | 1 |
| 2. Material und Methoden | 8 |
| 2.1. Herkunft und Haltung der Versuchstiere | 8 |
| 2.2. Gewinnung von Schleim und Kot | 9 |
| 2.3. Closed-Loop-Stripping-Apparatur (CLSA) | 9 |
| 2.4. Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS) | 13 |
| 2.5. Verhaltensuntersuchungen | 15 |
| 2.5.1. Zylindrisches Olfaktometer | 15 |
| 2.5.2. Y-Olfaktometer | 17 |
| 2.5.3. Versuchsort | 20 |
| 2.5.4. Videoüberwachung | 20 |
| 2.5.5. Anwendung der Testsubstanzen in den Olfaktometern | 20 |
| 2.6. Elektrophysiologie | 21 |
| 2.6.1. Nervenpräparation | 21 |
| 2.6.2. Versuchsaufbau | 24 |
| 2.6.3. Reizgabe | 24 |
| 2.6.4. Auswertung der Ableitungen | 25 |
| 2.7. Licht- und Elektronenmikroskopie | 30 |
| 2.8. Chemikalien | 31 |
| 2.9. Statistische Auswertung | 33 |
| 3. Ergebnisse | 35 |
| 3.1. Analytische Untersuchungen | 35 |
| 3.1.1. Proben aus der Closed-Loop-Stripping-Apparatur | 35 |
| 3.1.1.1. Gaschromatographie-Massenspektroskopie | 35 |
| 3.1.1.2. Konzentrationsabschätzung von Einzelkomponenten | 38 |
| 3.1.2. Analyse von nativem Kot und Schleim | 40 |
| 3.2. Verhaltensuntersuchungen | 41 |
| 3.2.1. Zylindrisches Olfaktometer | 42 |

| | |
|---|------------|
| 3.2.2. Y-Olfaktometer | 44 |
| 3.2.2.1. Reaktionen auf Futter, Artgenossen, Kot und Schleim | 45 |
| 3.2.2.2. Reaktionen auf Proben aus der Closed-Loop-Stripping-Apparatur | 50 |
| 3.2.2.3. Schwefel- und Terpenverbindungen der Proben aus der Closed-Loop-Stripping-Apparatur | 54 |
| 3.2.2.4. Reaktionen auf Schwefelverbindungen | 57 |
| 3.3. Elektrophysiologie | 59 |
| 3.3.1. Änderung der Frequenz und Dauer der Antwort | 61 |
| 3.3.1.1. Reaktionen des olfaktorischen Nervs | 61 |
| 3.3.1.2. Reaktionen der Nerven des Mundfühlers und Mundlappens | 71 |
| 3.3.2. Art der Antwort | 74 |
| 3.3.2.1. Reaktionen des olfaktorischen Nervs | 78 |
| 3.3.2.2. Reaktionen der Nerven des Mundfühlers und Mundlappens | 81 |
| 3.4. Struktur des Integuments | 84 |
| 4. Diskussion | 92 |
| 4.1. Flüchtige Inhaltsstoffe von Schleim und Kot | 92 |
| 4.1.1. Schwefelhaltige Verbindungen | 92 |
| 4.1.2. Weitere Verbindungen | 100 |
| 4.2. Verhaltensuntersuchungen | 104 |
| 4.2.1. Y-Olfaktometer | 104 |
| 4.2.1.1. Reaktionen auf Futter, Artgenossen, Kot und Schleim | 104 |
| 4.2.1.2. Reaktionen auf Proben aus der Closed-Loop-Stripping-Apparatur | 109 |
| 4.2.1.3. Reaktionen auf Schwefelverbindungen | 112 |
| 4.2.2. Zylindrisches Olfaktometer | 113 |
| 4.3. Elektrophysiologie | 115 |
| 4.3.1. Reaktionen des olfaktorischen Nervs | 115 |
| 4.3.2. Reaktionen der Nerven des Mundfühlers und Mundlappens | 121 |
| 4.4. Struktur des Integuments | 124 |
| 5. Zusammenfassung | 128 |
| 6. Literaturverzeichnis | 130 |
| 7. Anhang | 143 |

1. Einleitung

Nacktschnecken, vor allem Vertreter der Arionidae, Milacidae und Limacidae, sind in Mittel- und Nordeuropa bedeutende landwirtschaftliche Schädlinge (Godan, 1983). Sie haben ein weites Nahrungsspektrum, so daß dementsprechend auch der von ihnen verursachte Fraßschaden in der Landwirtschaft vielfältig ist. Gefährdet sind besonders Wintergetreide, Kartoffeln, Kohl, Salat, Zierpflanzen, Raps, Tabak, Wurzelgemüse und Erdbeeren (Godan, 1973, 1983; South, 1992). Gefressen werden nahezu alle Pflanzenteile; darüber hinaus werden Früchte durch Schleim und Kot verunreinigt. Zudem können pathogene Pilze (Gregg, 1957; Turchetti & Chelazzi, 1984) übertragen werden. Laborversuche machen auch die Übertragung von pflanzenpathogenen Bakterien (Dawkins et al., 1986) sowie Viren (Heinze, 1958; Cook et al., 1989) wahrscheinlich.

Zur Bekämpfung von Nacktschnecken im Ackerbau werden meist chemische Mittel eingesetzt, vor allem Köderpellets mit Methiocarb oder Metaldehyd. Carbamate, wie Methiocarb, hemmen die Cholinesterase (Wilkinson, 1976; Young & Wilkins, 1989) und schädigen das Gewebe (Tribskorn, 1989; Tribskorn & Künast, 1990). Die Wirkung des Metaldehyds beruht überwiegend auf Wasserentzug des Gewebes (Cragg & Vincent, 1952, South, 1992). Die Zellorganellen der Schleimzellen des Verdauungstrakts und des Integuments verändern sich und der nervöse, Serotonin-gesteuerte Schleimausstoß wird stärker (Tribskorn et al., 1996; Tribskorn et al., 1998). Außerdem fressen die Tiere nicht mehr (Bailey & Wedgwood, 1991; McCrohan et al., 1995; Mills et al., 1990). Neuerdings werden Molluskizide mit Eisen-III-Phosphat (Arndt et al., 1998) oder Eisen-Chelat-Komplexen zur Bekämpfung von Schnecken im Garten eingesetzt. Ihre Wirkungsweise ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Eine weitere Bekämpfungsmöglichkeit ist der Einsatz des schneckenpathogenen Nematoden *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Glen et al., 1996).

Wirkstoffhaltige Köder sollten so attraktiv sein, daß die Schnecken zu fressen beginnen, und schmackhaft genug sein, damit eine genügende Menge Wirkstoff aufgenommen wird. Neben der Akzeptanz und Palabilität ist die anlockende Wirkung durch Geruchsstoffe von Bedeutung. Im Idealfall sollten flüchtige Substanzen eingesetzt werden, die die Tiere selektiv aus der Ferne anlocken. Die Fähigkeit der Schnecken, sich olfaktorisch zu orientieren, wird in der Literatur unterschiedlich bewertet. Kittel (1956) nimmt an, daß *Arion ater* (Arionidae) Stinkmorcheln (*Phallus impudicus*) noch aus 120 cm Entfernung wahrnimmt. Bailey (1989) geht weniger von einem zielgerichteten, sondern zufälligen Auffinden des Futters aus. Nach Bailey

und Wedgwood (1991) werden *Deroceras reticulatum* (Limacidae) und *Arion distinctus* (Arionidae) von Getreidemehl-Pellets aus 3,1 cm angelockt.

Alle oben genannten Stylommatophoren weisen zwei Paar Fühler auf. Die posterioren Augenfühler besitzen apikal ein Auge, die anterioren Mundfühler sind kürzer und ohne Augen. Die Fühler bestehen aus einem hohlen Muskelschlauch, der bei den Limaciden durch Inversion eingezogen wird. Der Hohlraum des posterioren Fühlers enthält das olfaktorische Nervenbündel, das vom Procerebrum des Cerebralganglions zur Spitze des Fühlers verläuft, und den schmaleren Augennerv, der vom Postcerebrum zum apikal gelegenen Auge zieht (Bullock & Horridge, 1965). Der olfaktorische Nerv endet im olfaktorischen Ganglion (Runham & Hunter, 1970), das sich fingerartig aufteilt. Diese Ausläufer verzweigen sich weiter bis zu einzelnen Axonen mit sensorischen Endigungen. Sie verteilen sich zwischen den Epidermiszellen, so daß der Eindruck eines ‚epithelialen Polsters‘ etwas unterhalb des Auges entsteht (Wright, 1974).

Die posterioren Augenfühler der Stylommatophoren werden vorwiegend für die Fähigkeit zur Fern-Chemorezeption, also zur Anemotaxis und Orientierung anhand eines Geruchsgradienten, verantwortlich gemacht und die anterioren Mundfühler hauptsächlich für die Kontakt-Chemorezeption (Kittel, 1956; Chase & Croll, 1981). Diese Annahme beruht auf Versuchen, in denen den Schnecken die anterioren und / oder posterioren Fühler amputiert wurden und ihre Orientierung zur Geruchsquelle getestet wurde (Schultz, 1938: *Helix pomatia*; Kittel, 1956: *Arion*-, *Limax*-Arten; Chase & Croll, 1981: *Achatina fulica*). Anemotaxis erfordert nur einen intakten posterioren Fühler, die Orientierung anhand eines Geruchsgradienten den simultanen bilateralen Vergleich durch beide Fühler (Chase & Croll, 1981).

Chemorezeptoren liegen bei Stylommatophoren nicht nur auf den Fühlern, sondern auch auf den Lippen, zu denen auch die Mundlappen gezählt werden (Bullock & Horridge, 1965; Salanki & Bay, 1975; Stephenson, 1979; Chang & Gelperin, 1980; Culligan & Gelperin, 1983). *Deroceras reticulatum* besitzt um den Mund zahlreiche Lippen sowie ein Paar Mundlappen (Walker, 1969). South (1992) sieht die Mundlappen als drittes Fühlerpaar an, die, wie die anterioren Mundfühler, ebenfalls der Kontakt-Chemorezeption dienen sollen.

In die Ferne können sich Schnecken in einer Luftströmung (Anemotaxis von Landlungenschnecken) oder Wasserströmung (Rheotaxis von Süßwasser- und Meeresschnecken) und bei Windstille an einem Geruchsgradienten (Tropotaxis und Klinotaxis) orientieren. Unter

Tropotaxis versteht man Ausgleichsbewegungen zur Herstellung eines Erregungsgleichgewichts in den bilateral symmetrisch angeordneten Sinnesorganen, also den Fühlern und Mundlappen. Bei der Orientierung durch Klinotaxis wird der Abstand zwischen den Vergleichspunkten der Sinnesorgane durch Kopf- und Körperdrehungen zusätzlich vergrößert. Als Basis für Klinotaxis werden die sogenannten Kopfschwünge („Head-Waving“) angesehen, die bei Süßwasserschnecken (Townsend, 1973, 1974), Meeresschnecken (Jahan-Parwar, 1972; Preston & Lee, 1973; Audesirk, 1975) und terrestrischen Schnecken (Chase & Croll, 1981) dokumentiert sind.

Um flüchtige Substanzen auf eine verhaltensbeeinflussende Wirkung zu testen, sind für Gastropoden verschiedene Testsysteme entwickelt worden, die alle nach einem ähnlichen Prinzip aufgebaut sind. Testsysteme mit Luftströmen prüfen die Fähigkeit zur Anemotaxis, diejenigen ohne Luftströme die Orientierung an einem Geruchsgradienten (s.o.). Häufig werden Y- oder T-förmige Olfaktometer oder Olfaktometer mit zwei parallel angeordneten Wahlkammern, durch die Luftströme geleitet werden, verwendet (Chase et al., 1978; Chase & Boulanger, 1978; Croll & Chase, 1980; Pickett & Stephenson, 1980; Chelazzi et al., 1988; Garraway, 1992). Stephenson (1978) benutzte ein Y-Olfaktometer ohne Luftstrom und legte die Wahlkammern vollständig bis zur Gabelung mit Chromatographie-Papier aus. Die flüssigen Proben wurden direkt auf das Papier gegeben, so daß Kontakt-Chemorezeption beim Hineinkriechen in die Testkammern möglich war. Chase (1982) entwickelte ein sogenanntes Tentakel-Olfaktometer. Dieses annähernd Y-förmige Röhrensystem wurde direkt über die posterioren Fühler von *Achatina fulica* (Achatinacea) gestülpt und die Testsubstanzen per Luftstrom transportiert. Ausgewertet wurden die Kopfdrehungen zu einer Seite.

Schnecken folgen häufig den Schleimspuren von Artgenossen, seltener von Artfremden, und finden ihren Ruheplatz wieder. Die Orientierung entlang einer Schleimspur wurde bei Arten der Gattung *Limax* (Cook, 1977, 1985, 1992, 1994; Chelazzi et al., 1988), *Deroceras reticulatum* (Wareing, 1986), *Achatina fulica* (Chase et al., 1978), *Biomphalaria glabrata* (Bousfield et al., 1981) und *Littoraria irrorata* (Robbins & Hamilton, 1996) nachgewiesen. Das Wiederfinden des Ruheplatzes ist für Limacidae (Gelperin, 1974; Cook, 1979a, b, 1981), Arionidae und *Cepaea nemoralis* (Rollo & Wellington, 1981) gut dokumentiert.

Daß Schnecken einer Schleimspur folgen, ist offenbar auf die anlockende Wirkung des Schleims aus der Nähe zurückzuführen (Chase & Croll, 1981). Cook (1985) konnte zeigen, daß *Limax pseudoflavus* auch ohne anteriore Mundfühler einer Schleimspur folgen können,

wobei die Genauigkeit des Folgens geringfügig abnahm. Beim Aufsuchen des Ruheplatzes handelt es sich um eine Fernorientierung; die Orientierung anhand einer Schleimspur spielt dabei nur eine untergeordnete Rolle (Gelperin, 1974). So kehrten *Limax pseudoflavus*, die in ein sauberes Versuchsfeld mit einem zuvor von ihnen genutzten ‚Schutzhäuschen‘ gesetzt wurden, zu diesem Versteck zurück (Cook, 1979a). Auch Rollo & Wellington (1981) bestätigten, daß verschiedene Nacktschnecken-Arten, wie *Deroceras reticulatum*, *Agriolimax columbianus* und *Arion ater* Verstecke bevorzugen, die von Artgenossen bewohnt werden. Die Autoren gehen von verhaltensbeeinflussenden Stoffen (Pheromonen, s.u.) im Kot oder Schleim aus, da Verstecke mit Karotten und Kot von Tieren, die Karotten gefressen hatten, gegenüber solchen, die nur mit Karotten bestückt waren, bevorzugt wurden. Auch Cook (1979a) hält bei *Limax pseudoflavus* eine fernanlockende Wirkung von Kot für möglich. Chase et al. (1978) konnten zeigen, daß adulte *Achatina fulica* und drei Wochen alte, isoliert gehaltene Jungtiere den Geruch von Artgenossen im Olfaktometer bevorzugten. Chase und Boulanger (1978) setzten Extrakte aus der Fußdrüse und Speicheldrüse von *Achatina fulica* ein und zeigten eine anlockende Wirkung des Fußdrüsenextrakts. *Limacus flavus* bevorzugte im Olfaktometer Bereiche, in denen sich Artgenossen befanden oder in denen sich Artgenossen kurz vorher aufgehalten hatten (Chelazzi et al., 1988).

Für die anlockende Wirkung von Schleim und Kot werden häufig Pheromone (s.o.) verantwortlich gemacht. Pheromone sind chemische Signalstoffe mit einer verhaltensbeeinflussenden Wirkung, die der Kommunikation innerhalb einer Art dienen; Allelochemikalien hingegen dienen der Kommunikation zwischen verschiedenen Arten (Nordlund, 1981; Oldham & Boland, 1996). So werden bei Land- und Meeres-Schnecken Spuren- (Chase & Boulanger, 1978: *Achatina fulica*; Ushadevi & Krishnamoorthy, 1980: *Mariella dussumieri*), Aggregations- (Dundee et al., 1975: Veronicellidae; Chase et al., 1980: *A. fulica*; Cook, 1981: Limacidae), Alarm- (Atema & Stenzler, 1977: *Nassarius obsoletus*) und Sexualpheromone (Takeda & Tsuruoka, 1979: *Eukadra peliomphala*; Blumberg et al., 1998: *Aplysia fasciata*) vermutet. Alarmsubstanzen sollen bei terrestrischen Schnecken (Arionidae, Limacidae, Helicidae, Bradybaenidae) auch, in abgeschwächter Form, interspezifisch wirken (Niemelä et al., 1988; Pakarinen, 1992), so daß sie nach obiger Definition zu den Allelochemikalien zu zählen sind. Cook (1979 a) geht davon aus, daß *Limax pseudoflavus* den Ruheplatz mittels zweier Pheromone wiederfinden kann. Ein flüchtiges Pheromon soll bei der Distanz-Chemorezeption und ein nicht-flüchtiges beim Spurenfolgen eine Rolle spielen; beide Substanzen sind aber bisher nicht identifiziert worden.

Nach dem bisher Gesagten scheinen die Schleims-substanzen, die Schnecken ausscheiden, eine wesentliche Rolle bei der Orientierung zu spielen. Allerdings gibt es nur wenige Untersuchungen, in denen sich Angaben zu flüchtigen Inhaltsstoffen von Schleim finden. Bei der Meeresschnecke *Navanax inermis* wurden Methylketone (Navenone) als Pheromone im Schleim identifiziert (Sleeper & Fenical, 1977). Wilson (1968) gibt folgende Zusammensetzung des Schleims der Gehäuseschnecke *Lymnaea truncatula* an: 1 % Salze u.a. dialysierbare Komponenten, 0,5-1 % freie Proteine, 0,5-1 % Kohlenhydrat-reiche Glykoproteine, mindestens 95 % Wasser. Der Autor fand zudem größere Mengen Ammoniak und β -Carotene im Schleim. Daraus folgerte er, daß die Körperoberfläche zur Abgabe von pflanzlichen Abfallprodukten genutzt wird. Auch Bousfield et al. (1981) gehen davon aus, daß keine artspezifischen Substanzen, sondern Metabolite im Schleim der Süßwasserschnecke *Biomphalaria glabrata* beim Spurensuchen eine Rolle spielen. Sie konnten zeigen, daß die Spuren von nicht gefütterten Tieren weniger attraktiv waren als diejenigen von gefütterten. Einseitige Fütterung, beispielsweise nur mit Salat oder nur mit *Apium nodiflorum*, hatten keinen Einfluß auf die Attraktivität. Im Schleim von *Helix aspersa* sollen ebenfalls Metabolite vorhanden sein (Campion, 1961).

Neben den genannten Funktionen bietet der Schleim auch Schutz vor Austrocknung, wirkt als osmotische Barriere und dient der Verteidigung, der Kommunikation und der Exkretion (vgl. Cook & Shirbhate, 1983; Deyrup-Olsen et al., 1983; Deyrup-Olsen, 1996). Manche Schnecken, so auch die Genetzte Ackerschnecke *Deroceras reticulatum*, verfügen über zwei verschiedene Schleimarten, die sich durch Farbe und Viskosität unterscheiden. Der Fußschleim dieser Schnecke ist durchsichtig, der vom übrigen Körperepithel abgegebene Schleim wird während der Reizung der Tiere weißlich und zäh. Diese Merkmale werfen die Frage nach einer unterschiedlichen Funktion auf. So könnte der Körperschleim der Abwehr potentieller Feinde oder der Warnung über flüchtige Signalstoffe dienen, während der Fußschleim nur im Dienst der Fortbewegung stehen könnte.

Schnecken besitzen verschiedene Drüsenzellen im Epithelium. So wurden beispielsweise acht verschiedene Typen von Schleimzellen im Integument von *Helix aspersa* (Campion, 1961), 13 Schleimzellen bei *Limax pseudoflavus* (Cook & Shirbhate, 1983), drei Schleimzellen bei *Arion rufus* (Wondrak, 1969; Chétail & Binot, 1967, geben vier in der Fußsohle an) und drei Schleimzellen im Mantel und der seitlichen Furche zwischen Mantel und Fuß bei *Arion rufus* (Binot und Chétail, 1968) beschrieben. Im Integument von *D. reticulatum* wurden lediglich

drei Typen von Schleimzellen nachgewiesen, ohne daß diese in Beziehung zur Art des Schleims gesetzt worden sind (Triebskorn et al., 1998).

Elektrophysiologische Untersuchungen zur Geruchswahrnehmung bei Schnecken befaßten sich zunächst vorwiegend mit den Sinnesepithelien der Lippen, des Buccalorgans und der posterioren Fühler. Chase (1981) benutzte Saugelektroden, um Ableitungen an den fingerartigen Ausläufern des olfaktorischen Ganglions bei *Achatina fulica* vorzunehmen. Andere Autoren leiteten extrazellulär an den Lippen-Nerven verschiedener terrestrischer Schnecken ab (Gelperin & Chang, 1976: *Limax maximus*; Pevzner et al., 1980: *Helix pomatia*). Die Testsubstanzen wurden in Lösung direkt auf die Lippen gegeben. Kemenes et al. (1986) untersuchten den Einfluß von Sucrose und Maltose auf die Sinnesepithelien der Lippen, der Fühler und des Buccalorgans bei der Süßwasserschnecke *Lymnaea stagnalis* und konnten teilweise starke elektrophysiologische Aktivitäten erzielen. Entweder wurden die Lösungen in einem Flüssigkeitsstrom zu den sensorischen Oberflächen geführt oder mit einer feinen Bürste aufgetragen. Bei der zweiten Methode spielten somit auch taktile Reize eine Rolle. Die neuronale Kontrolle der Bewegungen von Radula, Oesophagus, Speicheldrüse und Lippen von Schnecken wurde untersucht, indem intrazellulär am Buccalganglion abgeleitet wurde (Benjamin, 1983; Elliott & Benjamin, 1985; McCrohan & Kyriakides, 1992).

Egan & Gelperin (1981) untersuchten bei *Limax maximus* den Zusammenhang zwischen den olfaktorischen Nerven des posterioren Fühlers und der Riesenzelle („giant cell“) im Metacerebrum des Cerebralganglions, die u.a. das Fressen neuronal kontrolliert. Zudem führten sie extrazelluläre Ableitungen am olfaktorischen Nerv durch, indem sie eine Schleife dieses Nerven in eine Saugelektrode zogen. In einem Luftstrom wurden natürliche Geruchsstoffe (von Karottenblättern und Pilzen) und Amylacetat über das olfaktorische Sinnesepithel des posterioren Fühlers geleitet. Dabei konnten Aktionspotentiale mit Amplituden bis zu etwa 30 μV gemessen werden; die Antworten waren allerdings kurz, ein bestimmtes Muster oder Regelmäßigkeit der Antworten war nicht zu erkennen. In weiterführenden Untersuchungen wurde die Signalwirkung von Nervenimpulsen der Sinnesepithelien der posterioren (Delaney et al., 1994; Gervais et al., 1996) und anterioren (Kimura et al., 1998) Fühlerpaare auf den Pro-cerebral-Lappen von *Limax maximus* untersucht.

Gelperin (1974) prüfte die olfaktorische Funktion des Ganglions im posterioren Fühler von *Limax maximus*. Dazu leitete er an der Rezeptoroberfläche des posterioren Fühlers mit einer Elektrode, die mit einer Agar-Ringerlösung gefüllt war, und am abgeschnittenen olfaktori-

schen Nerv mit einer Saugelektrode ab. Beide Signalmessungen wurden gegen eine in einer Ringerlösung befindlichen indifferente Elektrode gemessen. Zudem wies er nach, daß nach Durchtrennung des olfaktorischen Nervs die Fähigkeit zum Wiederfinden des Ruheplatzes verloren geht.

Garraway (1992) führte elektrophysiologische Untersuchungen am olfaktorischen Nerv bei *Deroceras reticulatum* durch und benutzte dazu ebenfalls eine Saugelektrode. Der olfaktorische Nerv wurde an der Eintrittsstelle ins Cerebralganglion abgeschnitten und dieses Ende in eine Saugelektrode gesaugt.

Die vorliegende Arbeit greift die bisherigen Hinweise auf, daß Schnecken, Schleim und Kot eine fernanlockende Wirkung auf Artgenossen besitzen. Als Untersuchungstiere dienten die Genetzte Ackerschnecke, *Deroceras reticulatum* Müller, sowie die Mittelmeer-Ackerschnecke, *Deroceras caruanae* Pollonera (Stylommatophora, Limacidae).

D. reticulatum ist in Mittel- und Nordeuropa ein weit verbreiteter Schädling in der Landwirtschaft (Godan, 1983), *D. caruanae* ist aus dem westlichen Mittelmeer weltweit verschleppt und gewinnt als Schädling in Deutschland seit Beginn der 80er Jahre zunehmend an Bedeutung. Um diese Ackerschnecken möglichst selektiv bekämpfen zu können, ist das Wissen um verhaltensbeeinflussende Substanzen von besonderem Interesse. Für die Verhaltensuntersuchungen wurde zunächst ein zylindrisches Olfaktometer mit sechs Wahlkammern eingesetzt. Basierend auf diesen Erfahrungen wurde im Lauf der Arbeit ein Y-Olfaktometer entwickelt und für die gesamten Untersuchungen verwendet.

Der Unterschied des Fuß- und Körperschleims bei *D. reticulatum* wirft die Frage auf, ob die verschiedenen Sekrete eine unterschiedliche Wirkung auf das Verhalten aufweisen. Die morphologischen Untersuchungen sollten klären, welche Schleimzellen die unterschiedlichen Sekrete bilden und ob diese auf bestimmte Körperregionen beschränkt sind.

Biochemische Analysen sollten zeigen, ob über den Körper- und Fußschleim möglicherweise aus der Nahrung stammende, attrahierende Substanzen ausgeschieden werden. Elektrophysiologische Ableitungen an den Nervenbündeln der posterioren und anterioren Fühler sowie der Mundlappen sollten prüfen, welche Sinnesepithelien an der Wahrnehmung der flüchtigen Substanzen beteiligt sind.

2. Material und Methoden

2.1. Herkunft und Haltung der Versuchstiere

Die Versuchstiere, adulte *Deroceras reticulatum* und *Deroceras caruanae* (0,3-1,0 g), stammten aus dem Freiland (Abb. 1, 2).



Abb. 1: Genetzte Ackerschnecke (*Deroceras reticulatum*)



Abb. 2: Mittelmeer-Ackerschnecke (*Deroceras caruanae*)

Sie wurden in einer computergesteuerten Klimakammer (Temperatur 14-15 °C, rel. Luftfeuchte 80-90 %, Beleuchtungsdauer 12 h) in Makrolonkästen (Breite, Länge, Höhe: 20 cm x 25 cm x 14 cm) mit perforierten Deckeln auf feuchtem Filterpapier gehalten. Die Tiere wurden entweder *ad libitum* mit Wirsing-Kohl (*Brassica oleracea* var. *sabauda*) gefüttert oder, bei entsprechender Fragestellung, mindestens sieben Tage vor Versuchsbeginn mit einem

bestimmten Futter versorgt. Einzige Ausnahme waren Tiere aus einem Versuch mit zylindrischen Olfaktometern, denen vor Versuchsbeginn Kohl und im Versuch als Probe Salat geboten wurde (vgl. 3.2.1.). Hungertiere erhielten eine definierte Zeit vor Versuchsbeginn kein Futter (vgl. 2.3., Versuchsreihe 1; 3.2.1.).

2.2. Gewinnung von Schleim und Kot

Die Versuchstiere sezernieren Schleim über den Fuß und die übrige Körperoberfläche.

„Fußschleim“ wurde von Tieren gesammelt, die ungestört herumkriechen konnten. Dazu wurden die Tiere entweder für bestimmte Aufenthaltszeiten in Testgefäße gegeben, oder der Schleim wurde von einer Glasplatte, auf der die Tiere herumkriechen konnten, mit einem Spatel abgenommen. Im ersten Fall wurden die Testgefäße, nachdem die Tiere und gegebenenfalls der Kot entfernt worden waren, mit dem anhaftenden Schleim direkt als Probe verwendet (vgl. Versuche mit der Closed-Loop-Stripping-Apparatur, 2.3., und Olfaktometer-Versuche, 2.5.5.).

„Körperschleim“ wurde gewonnen, indem die Tiere durch eine Begasung mit CO₂ gereizt wurden.

Kotproben wurden mittels eines Spatels vom Filterpapier und Futter aus den Haltungskästen der Tiere genommen.

2.3. Closed-Loop-Stripping-Apparatur (CLSA)

Flüchtige Substanzen aus verschiedenen Proben von *D. reticulatum* wurden mittels einer Closed-Loop-Stripping-Apparatur (Fa. Brechbühler AG, CLSA 2) gesammelt und angereichert. In einem geschlossenen Kreislauf wurden die flüchtigen Substanzen durch einen von einer Membranpumpe erzeugten Luftstrom über die Probe in einem Probengefäß (2 l- Planschliffreaktionsgefäß) zu den Filtermaterialien - zunächst Aktivkohle, dann Super Q (aus Divinyl- und Ethylvinylbenzenen, Fa. Alltech) - geführt und dort adsorbiert. Beim ersten Versuch (Vorversuch), der zum Optimieren der Versuchsparameter diente, wurde nur Aktivkohle eingesetzt.

Im Vorversuch wurden Schnecken sowie Körperschleim und in drei sich anschließenden Versuchsreihen bis zu drei verschiedene Proben (Fußschleim-Kot-Gemisch, Körperschleim, Kot) eingesetzt. Die Tiere bekamen 7-12 Tage vor Versuchsbeginn ein definiertes Futter (Tab. 1).

Tab. 1: Übersicht über die Versuchsreihen, die eingesetzten Proben (die an die CLSA angeschlossen wurden), das Futter (das die Tiere vor Versuchsbeginn erhalten haben) sowie die nach Spülen der Filter gewonnenen Proben.

| Versuch | Probe (im Gefäß eingesetzt) | Futter | CLSA-Probe (vgl. Tab. 3) |
|-----------------|-----------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| Vorversuch | Schnecken | Kohl, Karotten, Kartoffeln | - |
| | Körperschleim | Kohl, Karotten, Kartoffeln | - |
| Versuchsreihe 1 | Fußschleim-Kot-Gemisch | Kohl | A-D |
| | Fußschleim-Kot-Gemisch | Kohl, danach 3tägige Hungerphase | E-H |
| Versuchsreihe 2 | Körperschleim | Kohl | A-D |
| | Kot | Kohl | E-H |
| | Fußschleim-Kot-Gemisch | Kohl | I-M |
| Versuchsreihe 3 | Körperschleim | Kopfsalat | A-D |
| | Kot | Kopfsalat | E-H |
| | Fußschleim-Kot-Gemisch | Kopfsalat | I-M |

Für die Probe ‚Schnecken‘ blieben 60 Tiere während des Anschlusses an die Closed-Loop-Stripping-Apparatur 16 h im Probengefäß, dessen Wände mit 7 ml Aqua bidest befeuchtet wurden (Tab. 2a).

Zur Gewinnung der flüchtigen Substanzen des Fußschleim-Kot-Gemisches (Tab. 2a) war eine Vorbereitung der Gefäße notwendig (Tab. 2b). Die Tiere wurden vor Versuchsbeginn 48 h in dem Probengefäß (s.o.) auf Glasperlen (< 3 mm Ø, Roth, Art. 5660 und 5659.1 gemischt), die mit Aqua bidest befeuchtet wurden, in einer Klimakammer (vgl. 2.1.) gehalten. Anschließend wurden die Schnecken entfernt und diese Gefäße jeweils an die Closed-Loop-Stripping-Apparatur angeschlossen. Da die Tiere bevorzugt an den glatten Glaswänden saßen, wurden sie tagsüber in Abständen von etwas 3 h auf die Glasperlen zurückgesetzt, um die Abgabe von Fußschleim zu erhöhen.

Von Körperschleim wurden 2-3 g und von Kot 1,5-2,5 g in das Testgefäß eingesetzt. Um diese Mengen Körperschleim zu gewinnen, wurden etwa 130 Schnecken von anhaftendem Kot befreit, jeweils drei Tiere in einem 20 ml-Glasgefäß 30 s mit CO₂ begast und nach etwa 1 min entfernt. Im Vorversuch wurden etwa 0,5 g Körperschleim von 40 Tieren eingesetzt (vgl. Tab. 1).

Tab. 2a: Proben des Vorversuchs und der Versuchsreihen, deren flüchtige Substanzen in der CLSA angereichert wurden (weiteres s. Text).

| Probe | Beschreibung |
|------------------------|---|
| Schnecken | Die Tiere verblieben während des CLSA-Laufes im Probengefäß. |
| Fußschleim-Kot-Gemisch | Die Tiere wurden im Probengefäß auf Glasperlen gehalten, dann entfernt und das Gefäß mit dem an Wänden und Glasperlen anhaftenden Fußschleim und Kot an die CLSA angeschlossen. |
| Körperschleim | Der durch CO ₂ -Begasung gewonnene Körperschleim wurde in das Probengefäß überführt und dieses an die CLSA angeschlossen. |
| Kot | Kot wurde in das Probengefäß überführt und dieses an die CLSA angeschlossen. |

Tab. 2b: Vorbereitung der Gefäße, die an die CLSA angeschlossen wurden, zur Gewinnung des Fußschleim-Kot-Gemisches (vgl. Tab. 2a, weiteres s. Text.).

| Probe | Versuchsreihe | Anzahl Tiere [n] | Glasperlen [g] | Aqua bidest [ml] | Dauer des Aufenthalts ¹ [h] |
|------------------------|---------------|------------------|----------------|------------------|--|
| Fußschleim-Kot-Gemisch | 1 | 250 | 660 | 70 | 48 |
| | 2 | 135 | 300 | 45 | 48 |
| | 3 | 135 | 300 | 45 | 48 |

¹: Aufenthalt der Tiere im Probengefäß (s. Text)

Von allen Versuchen wurden zunächst Kontroll-Läufe ohne Probe durchgeführt, d.h. das Probengefäß wurde leer oder - für den Vergleich mit der Probe Fußschleim-Kot-Gemisch - mit Glasperlen (s.o.) an die Apparatur angeschlossen (Tab. 3). Auf eine detaillierte Auswertung der Kontrolle wurde verzichtet, da hier eine Vielzahl von Verbindungen (wie Kohlenwasserstoffe, z.T. sauerstoffhaltige Verbindungen) auftraten, deren Ursprung nicht klar war. Es werden daher als Inhaltsstoffe der Proben nur die Verbindungen angeführt, die - im Vergleich zur Kontrolle - ausschließlich oder in bedeutend größeren Mengen auftraten.

Die flüchtigen Substanzen wurden 16 h (Vorversuch) oder 48 h (Versuchsreihen 1-3) im System aufgefangen; die Temperatur des Glasrohres, das die Filtermaterialien enthielt, betrug 46 °C. Der Aktivkohlefilter wurde mit Hexan (oder Pentan, vgl. Tab. 3) und dann mit Dichlormethan, das Super Q mit Methanol und anschließend Dichlormethan (jeweils ca. 1 ml) gespült. Durch den Einsatz des leichter flüchtigen Lösungsmittels Pentan (Siedepunkt bei 35-36 °C, während Hexan einen Siedepunkt von 69 °C hat) konnten auch leicht flüchtige Substanzen gaschromatographisch erfaßt werden. Für die Kontrollen K1 und K2 wurden die Eluate der Kontroll-Läufe ohne Proben (s.o.) verwendet, die Proben A-M wurden nach den Durchläufen mit den verschiedenen Substanzen gewonnen (Tab. 3). Im Vorversuch wurde der Aktivkohlefilter nur mit Dichlormethan gespült.

Von allen CLSA-Proben wurden 2 µl mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie analysiert (s. 2.4.). Der Rest der Proben aus den Versuchsreihen 1-3 wurde bis zum Einsatz in verhaltensbiologischen und elektrophysiologischen Tests bei -25 °C aufbewahrt; die Proben aus dem Vorversuch wurden nicht mehr weiter verwendet.

Tab. 3: CLSA-Proben der Versuchsreihen 1-3 unter Angabe des Filtermaterials (A=Aktivkohle, Q=Super Q) und des verwendeten Lösungsmittels (Di=Dichlormethan; Di : Hexan z.B. bedeutet, daß der mit Hexan gespülte Filter zusätzlich mit Dichlormethan gereinigt wurde).

| Proben- bezeichnung | Versuchsreihe 1 | | Versuchsreihe 2 | | Versuchsreihe 3 | |
|------------------------|-------------------------------------|---------------|------------------------|---------------|------------------------|---------------|
| | Probe | | | | | |
| | Filtermaterial | | Lösungsmittel | | | |
| | Kontrolle | | Kontrolle | | Kontrolle | |
| K1 | A | Hexan | A | Hexan | A | Hexan |
| K2 | Q | Methanol | Q | Methanol | Q | Methanol |
| | Fußschleim-Kot-Gemisch ¹ | | Körperschleim | | Körperschleim | |
| A | A | Hexan | A | Hexan | A | Pentan |
| B | A | Di : Hexan | A | Di : Hexan | A | Di : Pentan |
| C | Q | Methanol | Q | Methanol | Q | Methanol |
| D | Q | Di : Methanol | Q | Di : Methanol | Q | Di : Methanol |
| | Fußschleim-Kot-Gemisch ² | | Kot | | Kot | |
| E | A | Hexan | A | Hexan | A | Pentan |
| F | A | Di : Hexan | A | Di : Hexan | A | Di : Pentan |
| G | Q | Methanol | Q | Methanol | Q | Methanol |
| H | Q | Di : Methanol | Q | Di : Methanol | Q | Di : Methanol |
| | - | | Fußschleim-Kot-Gemisch | | Fußschleim-Kot-Gemisch | |
| I | - | - | A | Hexan | A | Pentan |
| K | - | - | A | Di : Hexan | A | Di : Pentan |
| L | - | - | Q | Methanol | Q | Methanol |
| M | - | - | Q | Di : Methanol | Q | Di : Methanol |

¹: Fußschleim und Kot von mit Kohl gefütterten Tieren

²: Fußschleim und Kot von mit Kohl gefütterten Tieren, die 3 Tage vor Versuchsbeginn vom Futter abgesetzt wurden

Als Kontrolle zu Hexan- und Methanol-Proben in verhaltensbiologischen (vgl. 3.2.2.2.) und elektrophysiologischen Untersuchungen (vgl. 3.3.1.1.) wurden die den Versuchsreihen entsprechenden Proben K1 und K2 eingesetzt. Als Kontrolle zu den Dichlormethan-Proben (vgl. 3.2.2.2.; 3.3.1.2.) wurden Gemische aus Dichlormethan und dem zuvor beim Spülen des Filters eingesetzten Lösungsmittel (Hexan, Methanol oder Pentan) im Verhältnis 2:1 verwendet (sämtliche Chemikalien s. Tab. 10).

2.4. Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS)

Die analytischen Untersuchungen erfolgten durch eine Kopplung von Gaschromatographie (Hewlett-Packard 6890/5973) und Massenspektroskopie und wurden im Labor von Herrn Dr. Olaf Fleck, Zentrale Forschung der Bayer AG, Leverkusen, durchgeführt. Untersucht wurden alle Proben aus der Closed-Loop-Stripping-Apparatur (vgl. Tab. 3) sowie nativer Kot, Körper- und Fußschleim von *D. reticulatum*.

Um für diese Analyse Kot, Körper- und Fußschleim zu gewinnen, wurden die Tiere mindestens 26 Tage vor Versuchsbeginn mit Kohl oder Kopfsalat gefüttert. Da für die Untersuchungen des Schleims und Kots aufgrund der Methode der Faser-Benetzung (s.u.) nur geringfügige Mengen (wenige mg) benötigt wurden, konnte hier Fußschleim ohne Kot eingesetzt werden. Dazu wurde der Schleim von einer Glasplatte, auf der die Tiere gekrochen waren, abgenommen (vgl. 2.2.; s. dort auch Gewinnung von Körperschleim und Kot).

Die Analysen mit Proben aus dem Vorversuch wurden auf einem Gerät mit einem Split-Injektor durchgeführt (Tab. 4). Aufbauend auf diesen Ergebnissen (wenige Verbindungen in geringen Konzentrationen) wurden die Parameter (Dimensionen der Kapillarsäule, Temperaturprogramm und Injektionssystem) angepaßt. Die nachfolgenden Untersuchungen der CLSA-Proben der Versuchsreihen 1-3 erfolgte durch Direktinjektion, d.h. die Proben wurden direkt über einen On-Column-Injektor in die Kapillare eingebracht und erst dann verdampft (Tab. 5). Durch dieses Injektionsverfahren wurde gewährleistet, daß die maximal mögliche Menge pro Substanz detektiert wurde. Aufgrund der hohen Viskosität der Kot- und Schleimproben war eine Direktinjektion dort nicht möglich. Auf eine Verdünnung dieses Probenmaterials durch ein Lösemittel wurde aber verzichtet, um einen möglichen Informationsverlust zu vermeiden. Daher wurde eine thermische Desorption einer SPME-Faser (Solid Phase Microextraction; mit PDMS = Polydimethylsiloxan als stationärer Phase) bevorzugt (Tab. 6). Die Faser wurde durch Eintauchen in die Proben benetzt.

Tab. 4: Gaschromatographie der CLSA-Proben aus dem Vorversuch.

| | |
|--------------------|--|
| GC-MS | Hewlett-Packard 6890/5973 |
| Kapillarsäule | SE-30 (Polydimethylsiloxan), 60 m, 0,32 mm Innendurchmesser, 0,25 µm Filmdicke |
| Temperaturprogramm | 70 °C – 200 °C mit 5 °C/min, 200 °C – 300 °C mit 10 °C/min |
| Trägergas | Helium, 26 cm/s, 5,5 psi Kopfdruk (1ml/min) |
| Injektor | Splitinjektor |
| Detektor | Massenselektiver Detektor (Scanbereich 12-600 amu, Electron impact), 250 °C |
| Injektionsmenge | 2 µl |

Tab. 5: Gaschromatographie der CLSA-Proben aus den Versuchsreihen 1-3.

| | |
|--------------------|--|
| GC-MS | Hewlett-Packard 6890/5973 |
| Kapillarsäule | DB-1 (Polydimethylsiloxan), 60 m, 0,32 mm Innendurchmesser, 1 µm Filmdicke |
| Temperaturprogramm | 40 °C (1 min isotherm) - 300 °C (10 min isotherm) mit 5 °C/min |
| Trägergas | Helium, 26 cm/s, 5,5 psi Kopfdruk (1ml/min) |
| Injektor | Cool on - Column |
| Detektor | Massenselektiver Detektor (Scanbereich: 10-500 amu, Electron impact), 250 °C |
| Injektionsmenge | 1 µl |

Tab. 6: Gaschromatographie von Kot, Fuß- und Körperschleim mittels der SPME-Faser-Methode.

| | |
|--------------------|--|
| GC-MS | Hewlett-Packard 6890/5973 |
| Kapillare | DB-1 (Polydimethylsiloxan), 60 m, 0,32 mm Innendurchmesser, 1 µm Filmdicke |
| Temperaturprogramm | 45 °C (2 min isotherm) - 320 °C (10 min isotherm) mit 8 °C/min |
| Injektor | Split-splitless (250 °C), splitless 50 s |
| Detektor | Massenselektiver Detektor (Scanbereich: 10-500 amu, Electron impact), 250 °C |
| Injektion | Benetzte SPME-Faser, 30 µm PDMS |

Die gemessenen Massenspektren wurden mit den Massenspektren einer Datenbank (WILEY; NIST 98) verglichen. Dieser Vergleich lieferte entsprechende Strukturvorschläge.

Die Strukturzuordnungen ausgewählter Substanzen in einigen CLSA-Proben (vgl. 3.1.1.2., Tab. 15) wurden überprüft, indem authentische Vergleichssubstanz unter den gleichen Meßbedingungen gaschromatographisch untersucht und die Retentionszeiten bestätigt wurden. Diese Substanzen wurden zusätzlich quantifiziert, indem die ‚Peakflächen‘ verschiedener Konzentrationen der Vergleichssubstanzen mit denen der in der Probe gemessenen verglichen wurden.

Die Chromatogramme wurden mittels spezieller Software (GC und GCMS ViewTM, Version 1.2, Chem SW) graphisch bearbeitet.

2.5. Verhaltensuntersuchungen

Alle Angaben zur Uhrzeit beziehen sich auf die mitteleuropäische Sommerzeit (MESZ).

Wurde den Tieren eine Futterpflanze als Probe angeboten, wurden sie mindestens sieben Tage vor Versuchsbeginn damit gefüttert.

In den Verhaltensuntersuchungen wird zwischen der Gesamtzahl n und der Zahl ‚aktiver‘ Tiere n_a unterschieden. Mit der Gesamtzahl n ist die Anzahl aller eingesetzter Tiere gemeint. Die Anzahl n_a meint bei den Versuchen im zylindrischen Olfaktometern die Zahl der in die Röhren gekrochenen Tiere. Die Anzahl n_a in den Versuchen mit Y-Olfaktometern gibt den Anteil der Tiere an, die sich nach dem Bewertungsschlüssel für ein Röhren entschieden haben, und somit die Anzahl der in die Auswertung eingegangenen Versuche an (vgl. 2.5.1. und 2.5.2.).

Die Aktivitätszeiten der Tiere wurden zunächst in videoüberwachten Vorversuchen bestimmt. In einer runden Arena (\varnothing 100 cm) mit einem umgedrehten schwarzen Plastikuntersetzer (\varnothing 15 cm) in der Mitte, unter den sich die Schnecken zurückziehen konnten, wurden *D. reticulatum* ($n_{\text{gesamt}}=34$ in 2 Wiederholungen) um 17:00 Uhr unter den Plastikuntersetzer gebracht und über 24 h alle 20 min die Anzahl der kriechenden Schnecken erfaßt. Bis 19:40 Uhr waren nur vereinzelt Tiere aktiv, dann stieg die Aktivität kontinuierlich bis 0:00 Uhr an. Um 0:00 Uhr, 3:40 Uhr und 5:20 Uhr waren mindestens 50 % der Tiere in Bewegung. Zwischen 10:40 Uhr und 17:00 Uhr waren alle Schnecken inaktiv. Daher wurde für die Olfaktometerversuche eine Testdauer von mindestens 24 h (s.u.) gewählt. Da die Tiere tagsüber ruhen und erst wieder gegen 18:00 Uhr aktiv werden, wurde der Beginn eines 24 stündigen Testzyklus auf 17:00 Uhr festgelegt.

2.5.1. Zylindrisches Olfaktometer

Zylindrische Olfaktometer, entwickelt von Prof. Dr. Berking (Universität Köln), bestehen aus einem Plastikzylinder mit sechs symmetrisch angeordneten Öffnungen, die durch eine zur Außenseite zu öffnenden, perforierten Klappe verschlossen werden (Abb. 3).



Abb. 3: Zylindrische Olfaktometer mit zwei Testkammern. Die übrigen vier Törchen der Öffnungen wurden verschlossen.

Als Proben- und Kontrollkammern wurden Greiner-Zentrifugenröhrchen (PPN-Röhrchen, KO, 50 ml) auf diese Öffnungen gesteckt. Der Deckel enthält ringförmig angeordnete Luftlöcher und im Zentrum ein Belüftungsrohr. Ins Innere des Olfaktometers wurden sechs, mit 30 ml Aqua bidest benetzte Filterpapiere (\varnothing 100 mm) gegeben. Versuche wurden mit zwei oder sechs Testkammern durchgeführt. Beim Einsatz von allen Kammern diente jedes zweite Röhrchen als Probenkammer, die anderen drei Röhrchen als Kontrolle. Beim Einsatz von zwei Kammern wurden zwei gegenüber liegende verwendet, die restlichen vier Törchen der Öffnungen wurden mit Klebeband verschlossen. Die Röhrchen wurden im zugespitzten Drittel mit Filterpapier (\varnothing 40 mm) ausgelegt und mit 100 μ l Aqua bidest befeuchtet. Die Positionen von Proben- und Kontroll-Röhrchen wurden nach jeder Versuchsreihe vertauscht. Jeweils 12 Tiere wurden zwischen 15:00 und 17:00 Uhr in je ein Olfaktometer auf den Boden des Zylinders gesetzt. Die Anzahl der in die Röhrchen gekrochenen Schnecken wurde über einen Zeitraum von drei Tagen, beginnend am Tag nach dem Einsetzen, täglich zwischen 8 Uhr und 10 Uhr protokolliert. Bei den Kontroll-Versuchen mit sechs leeren Röhrchen wurde dieser Zeitraum auf sieben Tage verlängert, da in den ersten zwei Tagen keine Röhrchen aufgesucht wurden. Die Greiner-Röhrchen wurden nur einmal verwendet.

2.5.2. Y-Olfaktometer

Auf zwei Öffnungen eines dreischenkelligen Glasrohres (Winkel 120° , Schenkellänge 4,5 cm, Schenkel-Innen-Ø 2,3 cm) wurden Greiner-Zentrifugen-Röhrchen aufgesteckt, die als Wahlkammern dienen (Abb. 4). Auf die dritte Öffnung wurden zwei aufeinander gesteckte Greiner-Röhrchen (im folgenden Basis genannt) gesetzt, deren Spitzen abgeschnitten wurden. Das äußere dieser Röhrchen wurde mit Gaze verschlossen und mit Pappe und Aluminiumpapier abgedunkelt. In diesen verdunkelten Bereich wurden die Schnecken zu Beginn des Versuchs eingesetzt.

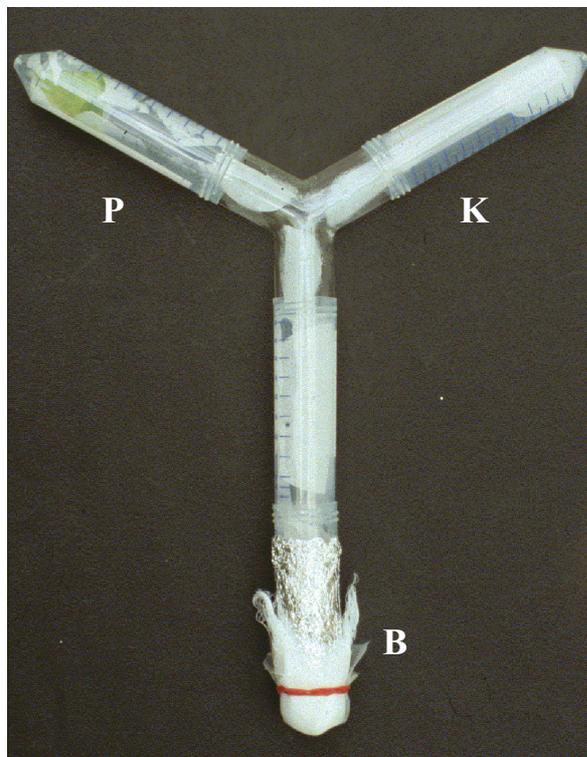


Abb. 4: Y-Olfaktometer mit einem verdunkelten und mit Aluminiumpapier umwickelten Basis-Röhrchen (B) und einem Proben- (P) sowie Kontroll-Röhrchen (K).

Die dem Boden zugewandten Bereiche der Basis-Röhrchen und der Glasverbindung waren innen vollständig mit Filterpapier (für die Basis: Ø 80 mm, halbiert; für die Glasverbindung in jeden Schenkel Ø 40 mm, halbiert), die der Wahl-Röhrchen im zugespitzten Drittel mit Filterpapier (Ø 40 mm) ausgelegt. Die Papiere wurden mit Aqua bidest befeuchtet (je 1 ml in die Basis-Röhrchen und die Glasverbindung, je 500 µl in die Wahl-Röhrchen).

Die Anordnung der 16 Olfaktometer pro Versuch wurde in allen Versuchen beibehalten. Die Proben wurden alternierend links oder rechts angeordnet, d.h. im Olfaktometer 1, 3, 5 usw. befanden sich die Proben im linken und in den Olfaktometern 2, 4, 6 usw. im rechten Wahl-Röhrchen. Zwischen 15:00 Uhr und 17:00 Uhr wurde jeweils ein Tier in ein Olfaktometer gegeben; die Versuchsdauer betrug 24 oder 48 h (s.u.).

Entscheidend für die Auswertung war, welches der beiden Wahl-Röhrchen zuerst aufgesucht wurde. Die Schnecken zeigten relativ komplexe Verhaltensweisen, die jedoch zwei Grundmuster aufwiesen: Entweder krochen sie vollständig durch ein Röhrchen oder wendeten vor dem hinteren Drittel des Röhrchens. Daher erfolgte die Auswertung nach einem Bewertungsschlüssel, der für jedes Wahl-Röhrchen getrennt angewandt wurde (Tab. 7).

Tab. 7: Klassifizierung des Verhaltens der Schnecken im Y-Olfaktometer innerhalb von 24 h (Versuchsbeginn: 17 Uhr) und Bewertungsskala, jeweils für ein Wahl-Röhrchen angewandt (z.T. Vergleich des Verhaltens im zweiten Röhrchen eines Olfaktometers notwendig).

| Skala | Verhalten |
|------------------|---|
| 1 + | Schnecke durchkriecht zuerst dieses Röhrchen vollständig |
| 2 + | Schnecke sucht das zweite Röhrchen zuerst auf und durchkriecht danach dieses Röhrchen vollständig (vorher Läufe mit Wenden in diesem Röhrchen möglich, d.h. die Kategorie 2w(w)+ entspricht dieser Kategorie) |
| 1 w | Schnecke kriecht zuerst in dieses Röhrchen, wendet vor dem hinteren Drittel, kriecht hinaus und sucht es im Beobachtungszeitraum nicht mehr auf |
| 2 w | Schnecke kriecht nach Aufsuchen des zweiten Röhrchens in dieses Röhrchen, wendet vor dem hinteren Drittel, kriecht hinaus und sucht es im Beobachtungszeitraum nicht mehr auf |
| 1w ¹⁺ | Schnecke kriecht zuerst in dieses Röhrchen, wendet vor dem hinteren Drittel, kriecht hinaus und durchkriecht es dann vollständig, ohne zwischenzeitlich das zweite Röhrchen aufzusuchen |
| 1w w+ | Schnecke kriecht zuerst in dieses Röhrchen, wendet vor dem hinteren Drittel, kriecht hinaus, wiederholt diesen Vorgang mindestens einmal und durchkriecht dieses Röhrchen dann vollständig |
| 1w + | Schnecke kriecht zuerst in dieses Röhrchen, wendet vor dem hinteren Drittel, kriecht hinaus und durchkriecht es später, nachdem es das zweite Röhrchen aufgesucht hat, vollständig |
| - | Röhrchen wird nicht aufgesucht |

Da beide Röhrchen getrennt beurteilt werden, resultieren daraus für jeden Olfaktometer-Versuch 16 ‚Zweier-Kombinationen‘ (vgl. Tab. 8). Die Kombination (1+ / 2w) bedeutet beispielsweise, daß das linke Wahl-Röhrchen zuerst aufgesucht und dabei vollständig durchkrochen wurde, das rechte Röhrchen hingegen später aufgesucht und dabei nur unvollständig durchkrochen wurde. ‚Wende vor dem hinteren Drittel des Röhrchens‘ gibt an, daß die

Schnecke dieses Röhrchen nach der Wende verlassen hat. Dabei kann das Tier zurück in die Basis oder in das zweite Wahl-Röhrchen kriechen.

Die Kombinationen wurden danach bewertet, ob sich die Schnecke für ein bestimmtes Röhrchen entschieden oder kein Röhrchen gewählt hatte („unentschieden“) (Tab. 8). Wenn sich nach 24 h das Tier nicht entschieden hat oder inaktiv war, wurden die nächsten 24 h ausgewertet. Als Entscheidung für ein Wahl-Röhrchen gelten die Fälle 1 + und 1w¹⁺ in Kombination mit allen anderen möglichen Fällen für das zweite Röhrchen. Der Fall 2 + wird nur in Kombination mit 1w als Entscheidung gewertet, d.h. wenn das zweite Röhrchen im Beobachtungszeitraum von 24 h nicht komplett durchkrochen wurde. Unter der Bezeichnung „unentschieden“ sind alle Versuche zusammengefaßt, bei denen die Tiere inaktiv waren oder sich für kein Röhrchen entschieden hatten (Tab. 8). Die Entscheidung für ein Röhrchen wird mit einer anlockenden Wirkung der Probe gleichgesetzt.

Für jede Probe wurden mindestens 20 Läufe ausgewertet, in denen sich die Schnecken für ein Röhrchen entschieden hatten. Das gilt nicht für die Kontroll-Läufe ohne Proben, in denen die Anzahl der Entscheidungen geringer war. Die Greiner-Röhrchen wurden nach Versuchsende verworfen, die mit heißem Wasser und Ethanol gereinigten Glasverbindungsstücke wieder verwendet.

Tab. 8: Kombinationen der Verhaltens-Kategorien für beide Wahl-Röhrchen im Y-Olfaktometer-Test, die zur Beurteilung ‚entschieden‘ oder ‚unentschieden‘ führen.

| Entschieden | |
|----------------------|-------------------|
| Röhrchen 1 | Röhrchen 2 |
| 1+ | 2+ |
| | 2w |
| | - |
| 1w ¹⁺ | 2+ |
| | 2w |
| | - |
| 2+ | 1w |
| Unentschieden | |
| 1w | 2w |
| | - |
| 1w+ | 2+ |
| | 2w |
| | - |
| 1ww+ | 2+ |
| | 2w |
| | - |
| - | - |

2.5.3. Versuchsort

Die Olfaktometer-Versuche wurden in einem Kaltgewächshaus mit Tagestemperaturen (6-18 Uhr) von 15 - 30 °C und Nachttemperaturen von 13 - 21 °C sowie einer relativen Luftfeuchtigkeit tagsüber von 50 - 95 % und nachts von 65 - 95 % (permanente Messung mit einem Thermohygrographen, Fa. Lambrecht KG Göttingen, Typ 252) durchgeführt. Während der Hauptaktivitätszeiten der Schnecken in der Nacht fiel die Temperatur für mindestens 4 h unter 20 °C. Ein solcher Temperaturabfall löst die Aktivität von *D. reticulatum* aus (Dainton, 1989). Für die Videoüberwachung wurde der Raum von 18 Uhr bis 6 Uhr mit einer 40 W-Birne indirekt beleuchtet.

2.5.4. Videoüberwachung

Die Videoaufzeichnung aller 16 Y-Olfaktometer-Versuche erfolgte mit einer Digital-Farbkamera, Fa. Panasonic, WV-CP 410, Objektiv WV-LA4R5C3AE (Weitwinkel) sowie einem Langzeit-Videorekorder, Fa. Panasonic, Model AG-6730/6040 E, im 120 h-Modus (d.h. eine Aufnahmezeit von 120 h wurde auf 3 h gekürzt). Die Videobänder (Super VHS, BASF oder Panasonic) wurden über einen Videorekorder Fa. Panasonic, FS2000, abgespielt und an einem Fernsehgerät, Fa. Sony, Trinitron, ausgewertet.

2.5.5. Anwendung der Testsubstanzen in den Olfaktometern

Der Abstand zur Probe bezeichnet bei den zylindrischen Olfaktometern die Entfernung des Törchens zur Probe im Röhrchen. Die Kontroll-Röhrchen enthielten mit 100 µl Aqua bidest befeuchtetes Filterpapier (vgl. 2.5.1.). Bei Y-Olfaktometern gibt der Abstandes hier die Distanz der Gabelung des Glasrohres zur Probe an. Die Kontroll-Röhrchen enthielten entweder nur mit 500 µl Aqua bidest befeuchtetes Filterpapier (vgl. 2.5.2.) oder - wenn im zweiten Wahl-Röhrchen eine flüssige, Lösungsmittel enthaltende Probe verwendet wurde - das entsprechende Lösungsmittel im selben Volumen.

500 mg schwere Proben von Futterpflanzen wurden in das hintere Drittel der Röhrchen der zylindrischen und der Y-Olfaktometer gelegt. Von flüssigen Proben (vgl. 2.3., Tab. 3; 2.8.), die nur im Y-Olfaktometer eingesetzt wurden, wurden 2-10 µl mit einer Kolbenhubpipette auf

Filterpapier im hinteren Drittel pipettiert. Der Abstand zu diesen Proben im hinteren Drittel betrug bei zylindrischen Olfaktometern 5 cm und bei Y-Olfaktometern 10 cm.

In Versuchen mit Schnecken im getrennten Aufsatz bei Y-Olfaktometern bestand das Proben-Röhrchen aus einem etwa auf die Hälfte verkürzten Greiner-Röhrchen, auf das ein ganzes Röhrchen aufgesteckt wurde. In dem ganzen Röhrchen befanden sich 3-10 Tiere mit oder ohne ein Stück Wirsing-Kohl (500 mg). Beide Röhrchen wurden durch Gaze getrennt; der Abstand der Gabelung zum Aufsatz betrug ca. 10 cm.

Für den Einsatz von Fußschleim und Kot (vgl. 2.2.) in beiden Olfaktometern wurden 3-10 Tiere mit oder ohne ein Kohl-Stück (500 mg) etwa 5 h in einem Greiner-Röhrchen gehalten, anschließend die Tiere und der Kohl entfernt und das Röhrchen als Probe eingesetzt. Im Y-Olfaktometer betrug der Abstand von der Gabelung bis zur Probe 5 cm, im zylindrischen Olfaktometer wurde die Probe nur durch das Törchen getrennt. Zur Verlängerung des Abstandes zur Probe in Y-Olfaktometern wurden zunächst die Tiere und das Futter im hinteren Teil des Röhrchens plaziert. In den vorderen Bereich des Röhrchens wurde Watte dichtgepackt bis etwa zum hinteren Drittel geschoben und nach 5 h Tiere, Futter und Watte entfernt. So blieb der vordere Bereich des Wahl-Röhrchen frei von Kot und Schleim; der Abstand zur Probe betrug hier mindestens 10 cm.

Bei Wahlversuchen Fußschleim gegen Kot im Y-Olfaktometer wurden die Schnecken sowie das Futter zunächst entfernt und der Kot aus dem Schleim-Röhrchen in das zweite Wahl-Röhrchen überführt. Die so behandelten Röhrchen wurden gleichzeitig im Versuch eingesetzt. Für den Einsatz von Körperschleim im Y-Olfaktometer wurden 3-10 Tiere in den Röhrchen für etwa 30 s mit CO₂ begast und nach etwa 5 min entfernt.

2.6. Elektrophysiologie

2.6.1. Nervenpräparation

Die Tiere wurden in eine Ringerlösung (Dodds, 1997, modifiziert nach Garraway et al., 1992) gegeben und durch eingeleitetes CO₂ betäubt. Die Lösung wies folgende Zusammensetzung auf: 70 mM NaCl, 2,5 mM KCl, 1,5 mM CaCl₂ (Hexahydrat), 10 mM NaHCO₃, 0,8 mM KH₂PO₄, 50 mM Glucose, pH 7,53.

Die betäubten Tiere wurden in einer mit Sylgard (184 Silikon Elastomer, Fa. Dow Corning) ausgegossenen und mit Ringerlösung (s.o.) gefüllten Petrischale (Ø 9 cm) festgesteckt und dorsal durch einen Längsschnitt, ausgehend von der Mundöffnung bis zum Mantelschild, im vorderen Körperdrittel geöffnet. Je nach Fragestellung wurden der Augenfühler, Mundfühler und / oder der Mundlappen unter Zuhilfenahme eines Stereomikroskops (Fa. Zeiss, Stemi SV 8) herauspräpariert. Da bei *Deroceras*-Arten die Fühler bei Störung durch Inversion eingestülpt werden und die Fühlerspitzen mit den Sinnesepithelien dann vom Muskelgewebe umgeben sind, mußten bei Präparationen der Augen- und Mundfühler zunächst die Sinnesepithelien durch Einschneiden des umgebenden Muskelschlauches (Retraktormuskel) freigelegt werden. Anschließend wurde eine der folgenden vier Präparationsarten durchgeführt (Abb. 5).

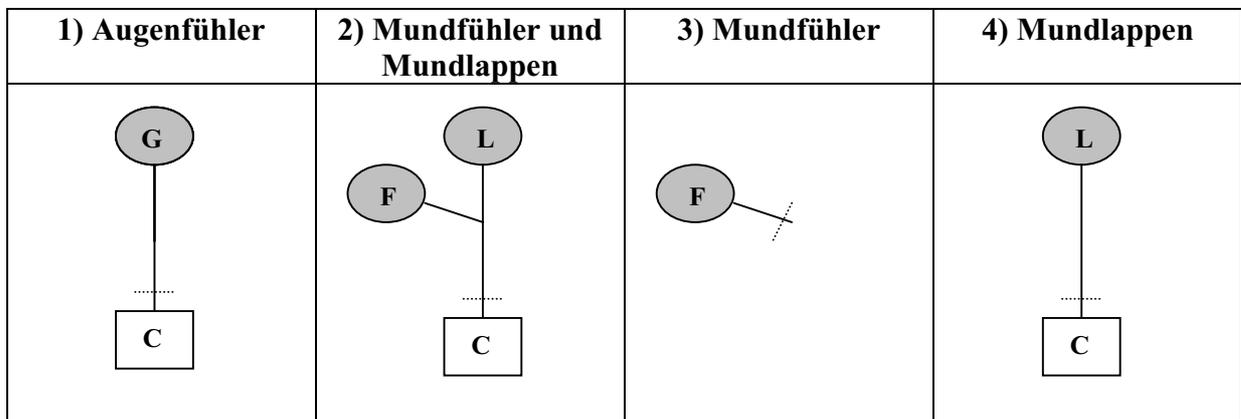


Abb. 5: Schematisierte Darstellung der vier Nervenpräparationen. Ellipsen symbolisieren die Sinnesepithelien, Vierecke das Cerebralganglion (C), durchgezogene Linien die Nervenbündel und gestrichelte Linien die Schnittstellen bei den Präparationen. Die abgeschnittenen Nervenenden werden in eine Saugelktrode gesaugt. G: olfaktorische Ganglion, L: Mundlappen, F: Mundfühler.

Der olfaktorische Nerv zieht vom Cerebralganglion zum olfaktorischen Ganglion des Augenfühlers (Abb. 6a; vgl. Garraway et al., 1992). Ein weiteres vom Cerebralganglion ausgehendes Nervenbündel zieht zum Mundlappen und weist etwa nach zwei Drittel der Länge eine Abzweigung zum Mundfühler auf (Abb. 6b).

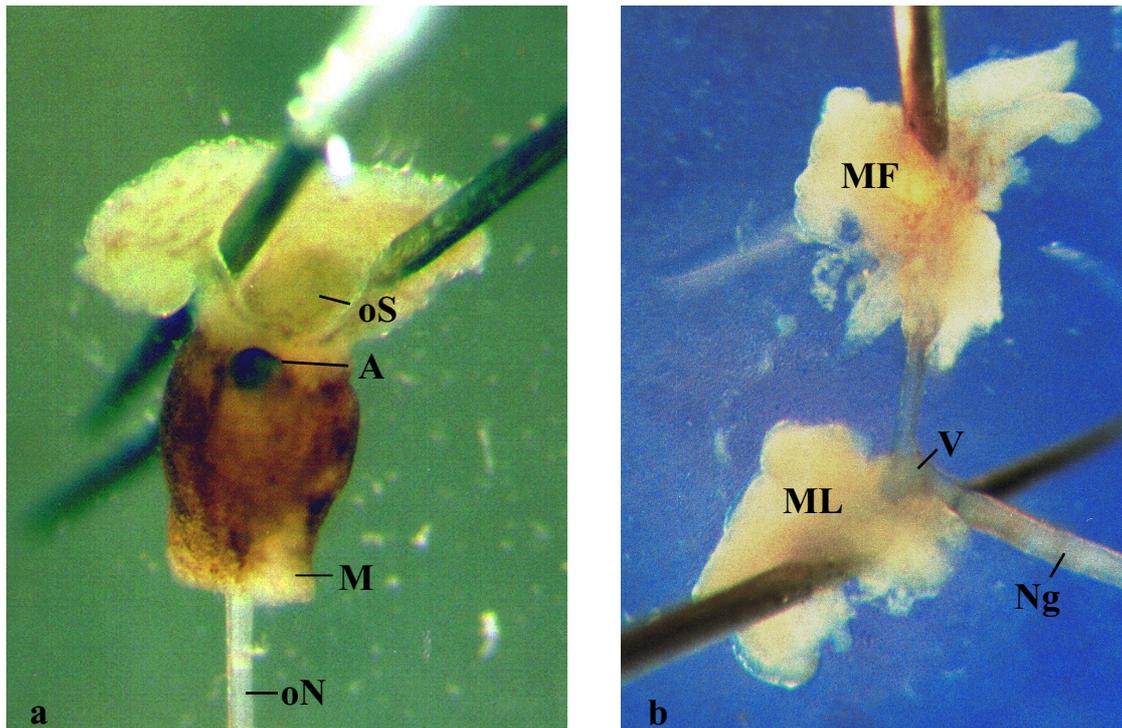


Abb. 6a) Präparation des Augenfühlers. Der Muskelschlauch (M) ist so eingeschnitten, daß das olfaktorische Sinnesepithel (oS) freiliegt. Das olfaktorische Nervenbündel (oN) ist teilweise vom Muskelschlauch bedeckt. A = Auge.

Abb. 6b) Präparation des Mundfühlers (MF) und Mundlappens (ML). Man beachte den gemeinsamen Nerv (Ng), der zum Mundlappen zieht und eine Verzweigung (V) zum Mundfühler aufweist.

Aufgrund dieser anatomischen Verhältnisse habe ich drei verschiedene Präparationen (2-4) durchgeführt und davon Aktionspotentiale abgeleitet. Bisher sind diesbezügliche Ergebnisse nur vom olfaktorischen Nerv erzielt worden (vgl. Garraway et al., 1992).

- 1) Augenfühler: Das Sinnesepithel wurde vom umliegenden Muskelgewebe befreit (s.o) und das olfaktorische Nervenbündel an der Eintrittsstelle ins Cerebralganglion abgeschnitten.
- 2) Mundfühler- und Mundlappen: Der vom Muskelgewebe befreite Mundfühler (s.o.) und der Mundlappen wurden herausgeschnitten und der gemeinsame Nerv an der Eintrittsstelle ins Cerebralganglion abgeschnitten.
- 3) Mundfühler: Das Nervenbündel des Mundfühlers wurde an der Verzweigungsstelle abgeschnitten, so daß nur dieses abgeschnittene Ende in die Saugelektrode eingesaugt wurde (vgl. 2.6.2.).
- 4) Mundlappen: Nur der Mundlappen wurde präpariert, der in den Mundlappen-Nerv einmündende Verbindungsnerv zum Mundfühler abgetrennt und der gemeinsame Nerv an der Eintrittsstelle ins Cerebralganglion abgeschnitten.

Die in eine weitere Sylgard-Schale (\varnothing 3 cm) überführten Nervenpräparationen (s.o.) wurden so auf der Schräge der Ausbuchtung festgesteckt, daß die Sinneszellen nicht, das ableitende Nervenbündel jedoch von der Ringerlösung bedeckt war. Die Nervenpräparationen wurden mit einem Agfa Farbfilm, HDC Plus 200, dokumentiert.

2.6.2. Versuchsaufbau

Die Saugelektrode (Fa. WPI, PDM2MM) mit Silberdraht und Glaskapillare (s.u.) wurde mittels eines Mikromanipulators (Fa. Narishige, Modell MN-251) und eines Binokulars, Fa. Zeiss, Stemi SV 8, an das abgeschnittene Ende des Nervenbündels (vgl. 2.6.1., Präparationen 1-4) herangeführt. Das Nervenende wurde mit Hilfe einer 10 ml-Einweg-Spritze in die Saug-elektrode über seine gesamte Länge eingesaugt.

Die Glaskapillaren (Fa. Science Products, GB 100-8P) der Saugelektrode wurden an einem Mikroelektroden-Puller (Fa. Narishige, PN-3) gezogen. Als indifferente Elektrode diente ein Silberdraht, der in die Ausbuchtung der Sylgard-Schale hineinragte. Die Silberdrähte der Elektroden wurden regelmäßig zur Erneuerung der Silberchlorid-Schicht mit einer 0,1 mol/l HCl-Lösung elektrolytisch chloriert.

Die elektrische Aktivität der Präparationen wurde durch eine Verstärkereinheit (Fa. Syntech, INR-01) 1000-fach im Wechselstrom-Modus verstärkt. Die Einheit bestand aus einem Vorverstärker (Syntech-Probe) mit einem Eingangswiderstand von 10^{15} Ohm und einem Hauptverstärker mit niedrigem Eingangswiderstand. Der Vorverstärker verstärkte die Signale 10-fach; die endgültige Verstärkung wurde am Hauptverstärker eingestellt. Die Signale wurden auf dem Bildschirm eines Oszilloskops (Fa. Hameg, Typ HM 305, Abtastrate 30 MHz) verfolgt, mit einem Thermal-Schreiber (Graphtec, WR 7700) aufgezeichnet und für die spätere Computer-Auswertung auf einem Audio-Rekorder (Sony, TC-D5 M) aufgenommen. Zur Kennzeichnung der Reizstoffgabe bei den Aufzeichnungen wurde ein Steuerungspuls mitgezeichnet, der durch das Betätigen des Fußschalters des Pulsgebers (s.u.) ausgelöst wurde.

2.6.3. Reizgabe

In unmittelbarer Nähe der Nervenpräparation mündete ein Glasrohr (Innen- \varnothing 0,7 cm, Länge 15 cm). Das der Präparation zugewandte Ende des Glasrohres wies eine Eintrittsöffnung auf; der Abstand von diesem Ende des Glasrohres bis zur Öffnung betrug 6 cm. Durch das Rohr wurde ein durch einen Pulsgeber (Syntech Stimulus Controller CS-05) erzeugter kontinuierli-

cher, mit Aktivkohle gereinigter und mit Aqua bidest befeuchteter Luftstrom geleitet. In die Eintrittsöffnung (s.o.) wurde mittels einer fest installierten Pasteurpipette ein zusätzlicher Luftstrom geführt, der ebenfalls über den Pulsgeber gereinigt wurde.

Zur Reizgabe wurde eine zweite, mit dem Pulsgeber verbundene Pasteurpipette oder eine Glasspritze (50 ml) in die Eintrittsöffnung gehalten und per Fußschalter der Luftstrom der ersten Pipette für 3-10 s unterbrochen und über die Probe geleitet. Von flüssigen Testsubstanzen wurden 15 s vor der Reizgabe 2 μ l an die Wand der Probenpipette appliziert und der Luftstrom 3 s darüber geleitet. Dienten Tiere als Probe, wurden 2-30 Schnecken mindestens 10 min vor der Reizgabe in die Glasspritze eingesetzt und der Luftstrom dann 10 s hindurchgeleitet. Um die Tiere zur vermehrten Abgabe von Körperschleim zu reizen, wurden fünf Schnecken in der Glasspritze auf Filterpapier gesetzt, mit 100 μ l Hexan beträufelt und 120 s bis zur Reizgabe gewartet. Für den Einsatz von toten Tieren als Probe wurden fünf Schnecken, die bereits mehrere Stunden tot waren, in der Glasspritze eingesetzt.

Die Geschwindigkeit der Luftströme wurde durch Flußmeter (Fa. Krohne) auf 60 ml/min eingestellt. In unregelmäßigen Abständen wurde zwischen den Duftstoff-Gaben das Präparat mit Ringer-Lösung bedeckt und diese anschließend wieder abgesaugt.

2.6.4. Auswertung der Ableitungen

Die digitale Umwandlung der auf Audio-Kassetten (Fa. Fuji, Z II) aufgenommenen Signale (s. 2.6.2.) erfolgte durch eine PCI-Bus-Interface-Karte (mit Micro 1401 Interface, Fa. Cambridge Electronic Design), die Auswertung mittels eines speziellen Computer-Programmes (Spike 2 for Windows, Fa. Cambridge Electronic Design).

Für jede am olfaktorischen Nerv des Augenfühlers getestete Substanz wurden drei bis sieben Ableitungen ausgewertet; bei den Mundlappen- und Mundfühler-Präparaten konnten mindestens zwei Ableitungen pro Testsubstanz gewertet werden.

Eine Ableitung wurde in drei verschiedene Zeiträume unterteilt:

- 1) Prästimulus: 60 s-Zeitraum vor dem Stimulus
- 2) Poststimulus a: 10 s-Zeitraum nach dem Stimulus
- 3) Poststimulus b: variabler Zeitraum, beginnend 10 s nach dem Stimulus bis zum Ende der Antwort.

In Abb. 7 ist eine typische Aufzeichnung dargestellt.

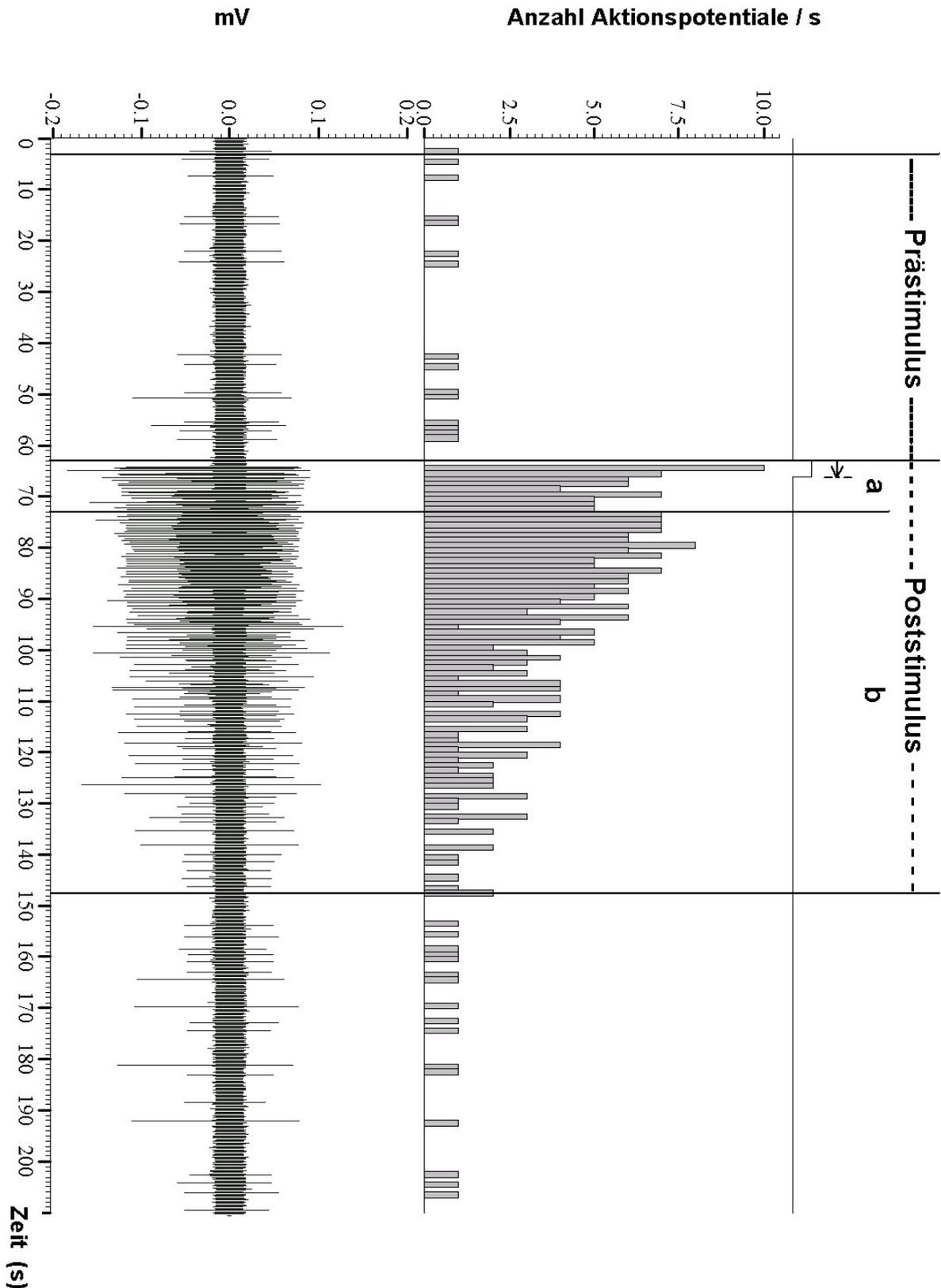


Abb. 7: Einteilung der aufgezeichneten Signale eines olfaktorischen Nervs nach einem 3 s dauernden Stimulus (\rightarrow) mit der Probe K der Versuchsreihe 2 (Fußschleim-Kot-Gemisch) in die drei Phasen Prästimulus, Poststimulus a und b. Die senkrechten Balken des Frequenz-Histogramms geben die Anzahl der Spikes pro s an, die vier senkrechten Linien markieren den Anfang des Zeitraumes des Prästimulus, den Beginn des Stimulus, das Ende des Poststimulus a und das Ende des Poststimulus b.

Bei einer kurzen Antwort ≤ 10 s entfällt der Poststimulus b. Dieser wurde variabel gewählt, da die Dauer der Antwort, auch bei gleicher Testsubstanz, stark variierte. Zur Ermittlung der Dauer wurde für jede Aufzeichnung ein Frequenz-Histogramm erstellt (Abb. 7). Der Zeitpunkt der ersten drei Linien des Frequenz-Histogramms war vorgegeben. Die vierte Linie, die das Ende der Antwort anzeigt, wurde per Hand am Bildschirm anhand des Frequenz-Histogramms plaziert. Sie wurde so gesetzt, daß die Frequenzen vor der Antwort (also der Prästimulusphase) und nach der Antwort auf einem vergleichbaren Niveau liegen.

Tab. 9: Bildung der relativen Frequenz zur Bestimmung der Frequenzänderungen der Nervenpräparationen nach einem Stimulus mit Testsubstanzen und Lösungsmittel. Fr = absolute Frequenz, rF = relative Frequenz, Test = Testsubstanz, Prä = Prästimulus, Post a = Poststimulus a, Post b = Poststimulus b.

| Poststimulus a | Poststimulus b |
|--|--|
| Reine Testsubstanz | |
| 1.) Relative Frequenz a der Testsubstanz | 1.) Relative Frequenz b der Testsubstanz |
| $\boxed{\text{rF a (Test)}} = \frac{\text{Fr (Post a)}}{\text{Fr (Prä)}}$ | $\boxed{\text{rF b (Test)}} = \frac{\text{Fr (Post b)}}{\text{Fr (Prä)}}$ |
| In Lösungsmittel gelöste Testsubstanz | |
| 2.) Relative Frequenz a des Lösungsmittels | 2.) Relative Frequenz b des Lösungsmittels |
| $\boxed{\text{rF a (Lsm)}} = \frac{\text{Fr (Post a)}}{\text{Fr (Prä)}}$ | $\boxed{\text{rF b (Lsm)}} = \frac{\text{Fr (Post b)}}{\text{Fr (Prä)}}$ |
| 3.) Relative Frequenz 1 | 3.) Relative Frequenz 2 |
| $\boxed{\text{rF 1}} = \frac{\boxed{\text{rF a (Test)}}}{\boxed{\text{rF a (Lsm)}}}$ | $\boxed{\text{rF 2}} = \frac{\boxed{\text{rF b (Test)}}}{\boxed{\text{rF b (Lsm)}}}$ |

Für einen Vergleich der verschiedenen Ableitungen wurden zwei Kriterien herangezogen, die Veränderung der Frequenz nach dem Stimulus und die Dauer der Antwort.

Die spontanen Frequenzen der Nervenpräparate, also die der Prästimulusphase, und somit auch die Frequenzen nach einem Stimulus variierten teilweise. Um in den Abbildungen die

Veränderung der Frequenz anschaulich darstellen zu können (ohne zusätzliche Darstellung der spontanen Frequenzen), wird die Veränderung der Frequenz als relative Frequenz angegeben (Abb. 29a-38a). Die relative Frequenz ergibt sich durch Division der absoluten Frequenz nach dem Stimulus durch die absolute Frequenz vor dem Stimulus (vgl. Tab. 9, vgl. auch Dodds, 1997). Das gilt auch für die Antworten auf Lösungsmittel und in Lösungsmittel gelösten Substanzen (Tab. 9, 2. und 3.).

Bei der Reizgabe mit einer reinen, nicht in Lösungsmittel gelösten Testsubstanz (z.B. Dimethyldisulfid) wurden die relativen Frequenzen rF a (Test) für den Poststimulus a und rF b (Test) für den Poststimulus b errechnet. Dazu wurden die absoluten Frequenzen des Poststimulus a und b jeweils durch die absoluten Frequenzen des Prästimulus dividiert (Tab. 9, 1.). Diese beiden relativen Frequenzen wurden zur Auswertung herangezogen (s. 3.3.1., Vergleich der relativen Frequenzen).

Bei einer in Lösungsmittel gelösten Substanz wurden ebenfalls die relativen Frequenzen rF a (Test) und rF b (Test) und zusätzlich die relativen Frequenzen a (Lsm) und b (Lsm) berechnet (Tab. 9, 2.). Diese auf das Lösungsmittel bezogenen relativen Frequenzen ergeben sich aus der Division der absoluten Frequenzen der Poststimulusphasen a und b des Lösungsmittel durch die absoluten Frequenzen der Prästimulusphasen des Lösungsmittels (Tab. 9, 2.). Die relative Frequenz rF 1 für den Poststimulus a wird berechnet, indem man die relative Frequenz rF a der Testsubstanz durch die relative Frequenz rF a des Lösungsmittels dividiert (Tab. 9, 3.). Entsprechendes gilt für die Bildung der relativen Frequenz rF 2 für den Poststimulus b (Tab. 9, 3.). Die relativen Frequenzen rF 1 und rF 2 wurden bei einer in Lösungsmittel gelösten Testsubstanz zur Auswertung herangezogen (s. 3.3.1.).

Die Bildung der relativen Frequenz rF 1 für eine in Lösungsmittel gelöste Testsubstanz soll folgendes Beispiel verdeutlichen:

Die absolute Frequenz beträgt 1,2 Spikes/s während der Prästimulusphase und 7,2 Spikes/s in der Poststimulusphase a nach Applikation der Testsubstanz. Daraus ergibt sich für die relative Frequenz rF a der Wert 6. Die Antwort auf das dazugehörige Lösungsmittel (s.u.) beträgt während der Prästimulusphase 1,0 Spikes/s und während der Poststimulusphase a 1,5 Spikes/s. Daraus ergibt sich 1,5 für die relative Frequenz rF a des Lösungsmittels. Dies bedeutet, daß die Testsubstanz eine Erhöhung der Frequenz der Poststimulusphase a gegenüber der Prästimulusphase um den Faktor 4 bewirkt hat, denn es ergibt sich die für die relative Frequenz rF 1 nach der Rechnung „6 Spikes/s dividiert durch 1,5 Spikes/s“ der Wert 4.

Danach lassen sich die errechneten relativen Frequenzen drei Bereichen zuordnen, die Antwort darüber geben, ob und inwieweit die Testsubstanz eine Veränderung der Frequenz bewirkt.

1. Relative Frequenz = 1 bedeutet keine Veränderung der Frequenz nach Reizgabe.
2. Relative Frequenz < 1 bedeutet eine Abnahme der Frequenz nach Reizgabe.
3. Relative Frequenz > 1 bedeutet eine Zunahme der Frequenz nach Reizgabe.

Kontroll-Versuche mit Luftströmen, die über leere Pasteur-Pipetten und Glasspritzen geleitet wurden, ergaben keine Änderungen der absoluten Frequenz, so daß hier eine Berechnung der relativen Frequenz wie bei den Lösungsmitteln entfallen konnte. Wurden Schnecken und Hexan in einer Glasspritze eingesetzt, wurde die relative Frequenz des Lösungsmittels ermittelt, indem die Luft durch die mit einem Filterpapier und 100 µl Hexan versehene Glasspritze geleitet wurde (vgl. 2.6.3., Einsatz von Schnecken als Probe).

Als Antwort auf ein Lösungsmittel wurden die Aufzeichnungen vor der Testsubstanz gewertet. Nach einem Stimulus mit einem Lösungsmittel wurden maximal drei Testsubstanzen geprüft. In diesem Zeitraum wurden die Präparationen nicht mit Ringerlösung gespült, da nach einer solchen Spülung häufig eine Veränderung der Spikefrequenz beobachtet werden konnte. Um ein mögliches Nachlassen der Erregbarkeit der Rezeptoren der Präparationen zu überprüfen, wurde in unregelmäßigen Abständen eine 0,1 %ige Fenchon-Lösung, in Hexan gelöst, als Stimulus gegeben. Aus der Literatur ist bekannt, daß diese Lösung eine Erhöhung der Frequenz des olfaktorischen Nerven bewirkt (vgl. Dodds, 1997). Zwischen dem Ende einer Antwort nach einer Reizgabe und der Applikation einer neuen Testsubstanz wurde mindestens 10 min gewartet.

Bei der Auswertung der relativen Frequenzen und der Dauer der Antwort wurden die Medianwerte und Einzelwerte von 2-7 Aufzeichnungen graphisch dargestellt. Für die Statistik wurden aufgrund extremer Einzelwerte die Medianwerte ausgewertet (vgl. 2.9.) Der Median ist beim Verdacht auf Ausreißer und beim Vorliegen weniger Meßwerte gegenüber dem Mittelwert zu bevorzugen (Sachs, 1999).

Zur Beschreibung der Art der Ableitungen (vgl. 3.3.2.) wurde die Darstellung des Frequenz-Histogramms in Kombination mit den einzelnen Spikes gegenüber der ungefilterten Aufzeichnung bevorzugt. Auf diese Weise werden auch geringfügige Zu- oder Abnahmen der Spikefrequenz deutlich.

2.7. Licht- und Elektronenmikroskopie

Für die lichtmikroskopischen Untersuchungen wurden mit CO₂ betäubte *D. reticulatum* (vgl. 2.7.1.) 12 h in

- a) 2,5 % Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Cacodylat-Puffer, pH 7,4 oder
- b) 2 % Glutaraldehyd in 0,01 mol/l Cacodylat-Puffer, pH 7,4 (vgl. Triebkorn et al., 1998) fixiert, anschließend in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und in Paraplast eingebettet. Von den in Paraplast eingebetteten Tieren wurden 7 µm dicke Schnitte an einem Schlittenmikrotom (Fa. Jung) angefertigt. Die Schnitte wurden mit PAS-AB (Perjodsäure/Schiffssches Reagenz – Alcianblau) gefärbt (vgl. Romeis, 1948; Pearse, 1968). Zudem wurden 1 µm dicke Schnitte von Material, das für die Elektronenmikroskopie eingebettet worden war (s.u.), an einem Ultramikrotom (Fa. Reichert) angefertigt und mit wässriger Toluidinblau (1 %) - Borax (1 %) - Lösung gefärbt.

Die Untersuchung der Paraplast- und Semidünnschnitte erfolgte an Lichtmikroskopen der Fa. Olympus SZH oder Olympus BH-2. Zur Bilddokumentation wurden Fujichrome 200, Sensia II, Farbfilme verwendet.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden etwa 5 x 5 mm große Hautstücke aus Dorsalepithel, Mantel und Fußsole von mit CO₂ betäubten *D. reticulatum* (vgl. 2.7.1.) entnommen und folgendermaßen behandelt:

- a) 2 h Fixierung in einer Lösung von 2,5 % Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Cacodylat-Puffer, pH 7,4; 30-60 min Nachfixierung in 2 % OsO₄ im gleichen Puffer.
- b) 2 h Fixierung in einer Lösung von 2 % Glutaraldehyd in 0,01 mol/l Cacodylat-Puffer, pH 7,4; 2 h Nachfixierung in 1 % Osmium-Ferrocyanid im gleichen Puffer (Karnovsky, 1971); Waschen in 0,01 mol/l Cacodylat und 0,05 mol/l Trismaleat-Puffer, pH 5,2; 12 h Kontrastierung in 1 % Uranylacetat in 0,05 mol/l Trismaleat-Puffer (vgl. Triebkorn et al., 1998). Nach Entwässerung über eine aufsteigende Alkoholreihe wurden die Objekte in Spurr's Medium eingebettet (Spurr, 1969) und mit Glasmessern an einem Ultramikrotom (s.o.) etwa 500 nm dick geschnitten.

Die Ultradünnschnitte wurden auf befilmten oder unbefilmten Kupfergrids aufgefangen. Die wie unter a fixierten Ultradünnschnitte wurden 20 min in Uranylacetat (5 % v/v in Ethanol) und 2 min in Bleicitrat (0,2 % g/v in 10 % v/v 1N NaOH) (Venable & Coggeshall, 1965) und die wie unter b fixierten Schnitte 2 min in der Bleicitrat-Lösung kontrastiert. Die Untersu-

chungen erfolgten an einem Elektronenmikroskop EM-9 der Fa. Zeiss. Für die Bilddokumentation wurden Agfa-Filme (Scientia, EM Film) verwendet.

2.8. Chemikalien

Die für die elektrophysiologischen und verhaltensbiologischen Untersuchungen eingesetzten Chemikalien sind in den Tabellen 10 a und b zusammengefaßt.

Für Verhaltensuntersuchungen wurde folgende Lösung mit den aufgelisteten Chemikalien angesetzt:

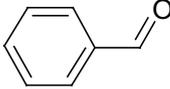
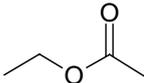
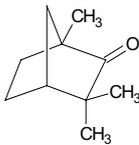
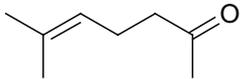
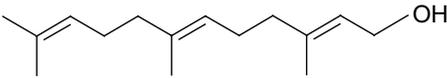
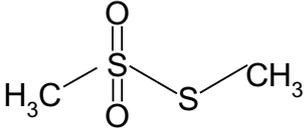
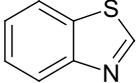
0,1 % v/v Dimethyldisulfid, 0,0025 % v/v Dimethyltrisulfid, 0,0025 % v/v Dipropyldisulfid, 0,0025 % v/v Methylpropyldisulfid in Hexan.

Sämtliche in der Arbeit angeführten Konzentrationsstufen geben das Verhältnis Volumen zu Volumen an.

Tab. 10: a) Übersicht über die verwendeten Lösungsmittel unter Angabe der Bezugsquelle und der chemischen Reinheit.

| Substanz | Quelle | Chem. Reinheit |
|-------------------|---------------|-----------------------|
| Dichlormethan | Merck | ≥ 99,5 % |
| n-Hexan | Merck | > 95 % |
| Methanol | Merck | ≥ 99,8 % |
| n-Pentan (Uvasol) | Merck | ≥ 99,5 % |

Tab. 10: b) Übersicht über die verwendeten Chemikalien unter Angabe der Bezugsquelle, der chemischen Reinheit und der Struktur. Die mit ⁽¹⁾ markierten Substanzen wurden zusätzlich oder ausschließlich in Hexan verdünnt eingesetzt.

| Substanz | Quelle | Chem. Reinheit | Chem. Struktur |
|--|----------------|----------------|---|
| Benzaldehyd ¹ | Aldrich | ≥ 99 % |  |
| Essigsäureethylester ¹ | Aldrich | > 99,5 % |  |
| (+)-Fenchon ¹ | Aldrich | > 99,5 % |  |
| Terpene | | | |
| 6-Methyl-5-hepten-2-on ¹ | Aldrich (USA) | 99 % |  |
| trans-Farnesol | Aldrich | 96 % |  |
| Schwefelverbindungen | | | |
| Dimethylsulfoxid | Riedel-de Haën | 99,5 % | $\text{H}_3\text{C}-\text{SO}-\text{CH}_3$ |
| Methanthiol ¹ | Aldrich | ≥ 99,5 % | $\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{H}$ |
| Dimethyldisulfid ¹ | Acros | ≥ 97 % | $\text{H}_3\text{C}-\text{S}_2-\text{CH}_3$ |
| Dimethyltrisulfid ¹ | Aldrich | 98 % | $\text{H}_3\text{C}-\text{S}_3-\text{CH}_3$ |
| Methylpropyldisulfid ¹ | Aldrich | 92 % | $\text{H}_3\text{C}-\text{S}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ |
| Dipropyldisulfid ¹ | Aldrich | 98 % | $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{S}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CH}_3$ |
| Methylthiosulfat (= Methylmethanthiosulfonat) | Sigma | ≥ 98 % |  |
| Benzothiazol | Aldrich | 96 % |  |

2.9. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung zu den Versuchen mit zylindrischen und Y-Olfaktometern erfolgte nach der kumulativen Binomialverteilung (Harvard University, 1955). Zur Durchführung eines Binomialtests, der das Eintreten eines Ereignisses A beobachtet, sind folgende Parameter notwendig: n = Anzahl der Beobachtungen, k = Anzahl der Beobachtungen, bei denen A eingetreten ist, α = Irrtumswahrscheinlichkeit, p_0 = Grenzwahrscheinlichkeit (Grenzwert für Wahrscheinlichkeit p). Für die Olfaktometer-Versuche wurden die Anzahl aktiver Tiere n_a (vgl. 2.5.) und die Anzahl der Entscheidungen für ein Proben-Röhrchen (als Ereignis A) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$ und einer Grenzwahrscheinlichkeit von $p_0 \geq 0,5$ gewertet.

Zur Auswertung der elektrophysiologischen Antworten wurden zwei Tests angewandt, die empfindlich gegenüber Medianunterschieden sind (Sachs, 1999; vgl. 2.6.4. Medianwerte bei kleinen Stichprobenumfängen und extremen Einzelwerten): der U-Test nach Mann und Whitney für zwei Stichproben und der H-Test nach Kruskal und Wallis für drei oder mehr Stichproben.

Bei den elektrophysiologischen Antworten auf reine Testsubstanzen wurde geprüft, ob die absoluten Frequenzen der verschiedenen Zeiträume signifikant größer oder kleiner sind (einseitige Fragestellung mit $\alpha = 0,05$ für Stichprobenumfänge ≥ 3 ; kritische Werte von U s. Sachs, 1999). Dies bedeutet, daß die absoluten Frequenzen der Prästimulusphase mit denen der Poststimulusphase a oder mit denen der Poststimulusphase b verglichen wurden. Ein signifikantes Ergebnis bedeutet, daß die reine Testsubstanz eine signifikante Erhöhung oder Erniedrigung der absoluten Frequenz bewirkt hat.

Bei den Antworten auf in Lösungsmittel gelösten Testsubstanzen wurden zusätzlich die Antworten auf das entsprechende Lösungsmittel berücksichtigt (vgl. 2.6.4., Tab. 9, 2. und 3.). Daher wurden hier die relativen Frequenzen des Lösungsmittels mit den relativen Frequenzen der Testsubstanz anhand des U-Testes (Bedingungen s.o.), jeweils für den Poststimulus a und b, auf signifikante Unterschiede geprüft. Ein signifikantes Ergebnis bedeutet, daß die in Lösungsmittel gelöste Testsubstanz gegenüber dem Lösungsmittel eine signifikante Erhöhung oder Erniedrigung der relativen Frequenz bewirkt hat.

Zusätzlich wurde geprüft, ob sich die relativen Frequenzen einer Testsubstanz und die Dauer der Antworten signifikant von denen der anderen Testsubstanzen in einer Abbildung unterscheiden (bei Stichprobenumfängen ≥ 3 ; vgl. 3.3.1.1., Abb. 29; 3.3.1.1., Abb. 31-35 und 3.3.1.2., Abb. 37). Bei reinen Testsubstanzen wurden jeweils die relativen Frequenzen a oder b verglichen, bei in Lösungsmittel gelösten Substanzen jeweils die relativen Frequenzen 1 oder 2. Da in Abb. 30 die relativen Frequenzen a und b (Stimulus mit fünf Tieren, die mit Hexan gereizt wurden) sowie 1 und 2 (fünf tote Tiere) dargestellt sind, wurde hier auf einen statistischen Vergleich verzichtet. Mit dem U-Test nach Mann und Whitney (Bedingungen s.o.) wurden die Antworten zweier Substanzen auf signifikante Unterschiede geprüft; bei drei oder mehr Testsubstanzen wurde der H-Test nach Kruskal und Wallis, ebenfalls mit $\alpha=0,05$, angewandt. Die Berechnung nach Kruskal und Wallis erfolgte mit dem Programm Statgraphics 3.0 Plus. Ergaben sich nach Kruskal und Wallis signifikante Unterschiede, wurden die Signifikanzen untereinander mit einem paarweisen Vergleich nach Mann und Whitney (Bedingungen s.o.) ermittelt.

3. Ergebnisse

3.1. Analytische Untersuchungen

3.1.1. Proben der Closed-Loop-Stripping-Apparatur

3.1.1.1. Gaschromatographie-Massenspektroskopie

Für den Vorversuch wurden *D. reticulatum* 7-12 Tage vor Versuchsbeginn mit Kohl, Karotten und Kartoffeln gefüttert und während des CLSA-Laufs im Gefäß belassen (Probe ‚Schnecken‘, vgl. 2.3., Tab. 2 a). Zudem wurde Körperschleim als Probe untersucht.

Von den sechs bei der Probe ‚Schnecken‘ gefundenen schwefelhaltigen Verbindungen Benzothiazol, Dimethyltrisulfid, Methylmethanthiosulfonat, 4-Methylthiobutansäurenitril, 3-Methylthiopropylisothiocyanat und Tetradecylthiophen konnten die drei letztgenannten auch im Körperschleim nachgewiesen werden. Im Körperschleim wurden zusätzlich eine Aldehydverbindung (Benzaldehyd) und Terpene (Epijuvabion, Farnesol, Geranylaceton, Sulcaton = 6-Methyl-5-hepten-2-on) gefunden (Tab. 11).

Tab. 11: Mittels GC-MS-Analytik detektierte Substanzen der CLSA-Proben aus dem Vorversuch.

| Vorversuch | Schnecken | Körperschleim |
|---------------------------------|-----------|---------------|
| Benzaldehyd | | x |
| Benzothiazol | x | |
| Dimethyltrisulfid | x | |
| Epijuvabion | | x |
| Farnesol | | x |
| Geranylaceton | | x |
| Methylmethanthiosulfonat | x | |
| 4-Methylthiobutansäurenitril | x | x |
| 3-Methylthiopropylisothiocyanat | x | x |
| Sulcaton | | x |
| Tetradecylthiophen | x | x |

Die flüchtigen Substanzen der Versuchsreihen 1-3 sind für jede Probe einzeln in den Tab. I-III (Anhang) aufgelistet. In den Übersichtstabellen 12-14 werden die Inhaltsstoffe von jeweils vier verschiedenen Proben einer Substanz (z.B. Fußschleim-Kot-Gemisch: Proben A-D; vgl.

2.3., Tab. 3) zusammengefaßt aufgelistet. Beispielhaft sind die Chromatogramme von den Analysen der Proben A und E aus der Versuchsreihe 2 im Anhang (Abb. I-II) dargestellt. Einige Substanzen stammen sehr wahrscheinlich aus den verwendeten Filtermaterialien, Lösungsmitteln oder der im Gaschromatographen eingesetzten Kapillare. Der Vollständigkeit halber werden sie in den Tabellen im Anhang unter dem Begriff ‚Verunreinigung‘ geführt. Auf ihren möglichen Ursprung wird in der Diskussion (vgl. 4.1.2.) eingegangen.

Für die Versuchsreihe 1 wurden *D. reticulatum* 7-12 Tage vor Versuchsbeginn mit Kohl gefüttert (Kohl) oder drei Tage vom Kohl abgesetzt (Hungerphase).

In den Proben A-D (Kohl) wurden sieben verschiedene Verbindungen gefunden, darunter fünf schwefelhaltige (Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid, Methylpropyldisulfid, Thiocyan säuremethylester). Die unbekannte Verbindung (m/z: 45, 61, 91) ist vermutlich ebenfalls schwefelhaltig aufgrund des diagnostischen Ions m/z=61. Zudem wurde in diesen Proben Benzaldehyd gefunden.

In den Proben E-H (Hungerphase) konnten bis auf die unbekannte Verbindung alle Verbindungen, die auch aus den Proben A-D bekannt waren, nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden Thioiso-Buttersäuremethylester sowie 2- und 3-Hexanol nachgewiesen. In der Hexan-Kontrolle K1 wurde Dipropyldisulfid, in der Methanol-Kontrolle K2 keine flüchtigen Substanzen nachgewiesen (Tab. 12).

Tab. 12: Mittels GC-MS-Analytik detektierte Substanzen der CLSA-Proben aus Versuchsreihe 1 (in alphabetischer Reihenfolge), jeweils vier Proben zusammengefaßt.

| Versuchsreihe 1 (Kohl) | Kontrollen | | Fußschleim, Kot (Kohl) | Fußschleim, Kot (Hungerphase) |
|---------------------------------|------------|----|---------------------------|----------------------------------|
| | K1 | K2 | A-D | E-H |
| Benzaldehyd | | | x | x |
| Dimethyldisulfid | | | x | x |
| Dimethyltrisulfid | | | x | x |
| Dipropyldisulfid | x | | x | x |
| 2- und 3-Hexanol | | | | x |
| Methylpropyldisulfid | | | x | x |
| Thiocyan säuremethylester | | | x | x |
| Thio-Iso-Buttersäuremethylester | | | | x |
| Unbekannte (m/z: 45, 61, 91) | | | x | |

Für die Versuchsreihe 2 wurden *D. reticulatum* ebenfalls 7-12 Tage mit Kohl gefüttert.

Im Körperschleim (A-D), Kot (E-H) und dem Fußschleim-Kot-Gemisch (I-L) konnten als schwefelhaltige Verbindung nur Dimethyldisulfid und die aus Versuchsreihe 1 bekannte Verbindung (m/z: 45, 61, 91) nachgewiesen werden. Die Proben I-L (Fußschleim, Kot) enthielten

wie die vergleichbaren Proben A-D aus Versuchsreihe 1 auch Benzaldehyd und Buttersäuremethylester. Darüber hinaus enthielten sie die Aldehyde Decanal und Nonanal sowie Propionsäuremethylester. Butter- und Propionsäuremethylester wurden auch im Körperschleim und Kot nachgewiesen. Im Körperschleim kam zudem Ethanol vor (Tab. 13).

Tab. 13: Mittels GC-MS-Analytik detektierte Substanzen der CLSA-Proben der Versuchsreihe 2, jeweils vier Proben zusammengefaßt.

| Versuchsreihe 2 (Kohl) | Kontrollen | | Körperschleim | Kot | Fußschleim, Kot |
|------------------------------|------------|----|---------------|-----|--------------------|
| | K1 | K2 | A-D | E-H | I-L |
| Benzaldehyd | | | | | x |
| Buttersäuremethylester | | | x | x | x |
| Decanal | | | | | x |
| Dimethyldisulfid | | | x | x | x |
| Ethanol | | | x | | |
| Nonanal | | | | | x |
| Propionsäuremethylester | | | x | x | x |
| Unbekannte (m/z: 45, 61, 91) | | | x | x | x |

Für Versuchsreihe 3 wurden *D. reticulatum* 7-12 Tage mit Kopfsalat gefüttert.

Im Kot wurden vier, nämlich Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid sowie Methylpropyldisulfid, in Fußschleim-Kot-Proben hingegen nur eine, Dimethyldisulfid, und im Körperschleim keine der in Versuchsreihe 1 nachgewiesenen Schwefelverbindungen entdeckt. Im Kot traten zwei weitere Schwefel-Verbindungen, Dimethylsulfoxid und Dimethylsulfon, auf. Dimethylsulfoxid wurde auch im Körperschleim und im Fußschleim-Kot-Gemisch gefunden. Benzaldehyd trat in allen drei Proben sowie der Kontrolle K2 und Buttersäuremethylester in der Kot-Probe auf. Darüberhinaus wurden in dieser Versuchsreihe Terpen-Verbindungen, wie Limonen, α - und β -Pinen, Sulcaton (= 6-Methyl-5-hepten-2-on) sowie ein nicht näher zu identifizierendes, nur im Kot vorkommendes Monoterpen (m/z: 126) detektiert. Im Körperschleim und im Kot traten die vier erstgenannten Verbindungen auf, während im Kot-Fußschleim-Gefäß nur α -Pinen nachgewiesen wurden. In den Kot-Proben wurde zudem Isobuttersäuremethylester sowie Hexa- und Tetradecanol, im Körperschleim Essigsäure, Essigsäureethylester sowie Milchsäureester gefunden (Tab. 14).

Tab. 14: Mittels GC-MS-Analytik detektierte Substanzen der CLSA-Proben aus Versuchsreihe 3 (in alphabetischer Reihenfolge), jeweils vier Proben zusammengefaßt.

| Versuchsreihe 3 (Salat) | Kontrollen | | Körperschleim | Kot | Fußschleim, Kot |
|---------------------------|------------|----|---------------|-----|-----------------|
| | K1 | K2 | A-D | E-H | I-M |
| Benzaldehyd | | x | x | x | x |
| Isobuttersäuremethylester | | | | x | |
| Buttersäuremethylester | | | | x | |
| Dimethyldisulfid | | | | x | x |
| Dimethylsulfon | | | | x | |
| Dimethylsulfoxid | | | x | x | x |
| Dimethyltrisulfid | | | | x | |
| Dipropyldisulfid | | | | x | |
| Essigsäure | | | x | | |
| Essigsäureethylester | | | x | | x |
| Hexadecanol | | | | x | |
| Limonen | | | x | x | |
| Methylpropyldisulfid | | | | x | |
| Milchsäureester | | | x | | |
| Monoterpen (m/z: 126) | | | | x | |
| α -Pinen | | | x | x | x |
| β -Pinen | | | x | x | |
| Sulcaton | | | x | x | |
| Tetradecanol | | | | x | |

3.1.1.2. Konzentrationsabschätzung von Einzelkomponenten

Die abgeschätzten Konzentrationen der Verbindungen Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid, Methylpropyldisulfid, Dimethylsulfoxid, Pinen (α und β) und Limonen aus den Proben A, B, E, F der Versuchsreihe 1, den Proben A und E der Versuchsreihe 2 sowie den Proben B und F sind in Tab. 15 aufgeführt. Die vier erstgenannten Verbindungen wurden ausgewählt, da die Probe A der Versuchsreihe 1, die nur diese Verbindungen enthielt (vgl. Tab. I, Anhang), signifikante Ergebnisse in Olfaktometer-Versuchen erzielte (vgl. 3.2.2.2., Abb. 19). In der Probe B aus Versuchsreihe 3 wurden hauptsächlich Terpene (α - und β -Pinen sowie Limonen) und Dimethylsulfoxid gefunden (vgl. Tab. III, Anhang), die auch in anderen Proben dieser Reihe auftraten. Auch mit dieser Probe wurden signifikante Ergebnisse im Olfaktometer erzielt (vgl. 3.2.2.2., Abb. 21).

Tab. 15: Geschätzte Konzentration einzelner Verbindungen in jeweils 2 µl verschiedener CLSA-Proben aus den Versuchsreihen 1-3 (Angaben in ppm).

| Abschätzung der Konzentration [ppm] | Reihe 1 (Kohl) | | | | Reihe 2 (Kohl) | | Reihe 3 (Salat) | | | |
|-------------------------------------|------------------------|------|-------------------------------|-----|----------------|------|-----------------|------|-----|-------|
| | Kot, Fußschleim (Kohl) | | Kot, Fußschleim (Hungerphase) | | Körperschleim | Kot | Körperschleim | | Kot | |
| | A | B | E | F | A | E | A | B | E | F |
| Dimethyldisulfid | 1600 | 1000 | 280 | 180 | 170 | 1300 | - | - | 11 | 6 |
| Dimethyltrisulfid | 33 | 29 | 1 | 7 | - | - | - | - | - | 9 |
| Dipropyldisulfid | 23 | 33 | 42 | - | - | - | - | - | 53 | 20 |
| Methylpropyldisulfid | 15 | 30 | 5 | - | - | - | - | - | - | 3 |
| Dimethylsulfoxid | - | - | - | - | - | - | - | 9100 | - | 86000 |
| Pinen ($\alpha + \beta$)* | - | - | - | - | - | - | 25 | 5 | 50 | 13 |
| Limonen | - | - | - | - | - | - | 7 | 3 | 13 | 5 |

*: Addition beider Verbindungen, β : α lagen im Verhältnis ca. 4:1 vor

Im Kot-Fußschleim-Gemisch der mit Kohl gefütterten *D. reticulatum* der Versuchsreihe 1 (Proben A und B) wurden größere Mengen der Schwefelverbindungen gefunden als im Gemisch der Tiere, die 3 Tage gehungert hatten (Proben E und F). Durch Addition der Konzentrationsangaben der Schwefelverbindungen der Proben A und B sowie der Proben E und F ergeben sich folgende Verhältnisse: Dimethyldisulfid liegt in A und B mit 2600 ppm ca. 5,5fach, Dimethyltrisulfid mit 62 ppm ca. 8fach, Dipropyldisulfid mit 56 ppm ca. 1,5fach und Methylpropyldisulfid mit 45 ppm 9fach höher konzentriert vor als in den Proben E und F. In den Proben E und F wurden insgesamt 460 ppm Dimethyldisulfid, 8 ppm Dimethyltrisulfid, 42 ppm Dipropyldisulfid und 5 ppm Methylpropyldisulfid nachgewiesen.

In der Kot-Probe E der Versuchsreihe 2 (Kohl als Futter) liegt mit 1300 ppm eine etwa 7,5fach größere Menge an Dimethyldisulfid vor als in der Körperschleim-Probe A dieser Reihe mit 170 ppm. In den Körperschleim-Proben A und B sowie der Kot-Probe E der Versuchsreihe 3 (Kopfsalat als Futter) konnte keine der vier Schwefelverbindungen (Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid) nachgewiesen werden. Dagegen wurden in den Kot-Proben E und F dieser Versuchsreihe insgesamt 17 ppm Dimethyldisulfid, 9 ppm Dimethyltrisulfid, 73 ppm Dipropyldisulfid und 3 ppm Methylpropyldisulfid nachgewiesen werden. Die Verbindungen Limonen und Pinen kamen in den Kot-Proben E und F etwa doppelt so konzentriert vor wie in den entsprechenden Schleim-Proben A und B. Das in Versuchsreihe 3 auftretende Dimethylsulfoxid lag mit 9100 ppm (Probe B) und 86000 ppm (Probe F) in der höchsten Konzentration der verglichenen Substanzen vor.

3.1.2. Analyse von nativem Kot und Schleim

D. reticulatum wurden mindestens 26 Tage vor Versuchsbeginn mit Kohl oder Kopfsalat gefüttert. Im Gegensatz zur CLSA-Methode, für die große Mengen an Substanz benötigt wurde, konnte hier Kot und Fußschleim getrennt untersucht werden.

Die gaschromatographisch identifizierbaren Substanzen von Körperschleim, Fußschleim und Kot von *D. reticulatum* sind in Tab. 16 aufgelistet. In Tab. IV (Anhang) finden sich noch weitere Substanzen, bei denen es sich vermutlich um Verunreinigungen handelt (s.o.).

Tab. 16: Mittels GC-MS-Analytik nachgewiesene Substanzen im Körper- und Fußschleim sowie im Kot von *D. reticulatum*.

| | Mit Kohl gefütterte <i>D. reticulatum</i> | | | Mit Salat gefütterte <i>D. reticulatum</i> | | |
|----------------------------|---|-------------|-----|--|-------------|-----|
| | Körper-schleim | Fuß-schleim | Kot | Körper-schleim | Fuß-schleim | Kot |
| Ameisensäure | | | | | x | |
| Benzamin | x | | | | | |
| γ -Butyrolacton | x | | | | | |
| Cholesterol | x | x | x | x | | x |
| Dihydrofuranon | x | | | | x | |
| Dimethyldisulfid | | x | x | | | |
| Dimethyltrisulfid | | x | x | | | |
| Docosanol | | | | | | x |
| Docosansäuremethylester | | | | | | x |
| Dodecan | x | | | | | x |
| Essigsäure | x | | x | x | x | |
| Hexacosanol | | | | | | x |
| Hexacosansäuremethylester | | | | | | x |
| Hydroxybenzoesäure | x | | | | | |
| Methylindol | | | x | | | |
| Isocycansäure * | x | | | x | | |
| Neophytadien | | | x | | | x |
| Nonacosanol (Nonacosen) | | | x | | | x |
| Nonanal + Undecan | | | | | | x |
| Octacosanol (Octacosen) | | | | | | x |
| Phenol + Unbekannte** | x | | | x | | |
| Phytol | | | x | | | |
| Pyrrol-Derivat | x | | | | | |
| Sesquiterpen(alkohol) | | | | | | x |
| Sesquiterpen | | x | | x | | |
| Steroide | | | x | | | x |
| Squalen | | x | x | | | |
| Tetracosanol | | | | | | x |
| Tetracosansäuremethylester | | | | | | x |
| Unbekannte (m/z: 61, 115) | | x | | | | |

*: wenig Ionen

** : (m/z: 55, 84, 112)

Die in den CLSA-Proben gefundenen, schwefelhaltigen Substanzen Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid (vgl. 3.1.1.1.) konnten auch hier im Fußschleim und Kot der Tiere, die mit Kohl gefüttert worden waren, nachgewiesen werden, im Körperschleim hingegen nicht. In sämtlichen Proben der mit Kopfsalat gefütterten Tiere waren diese Substanzen nicht nachzuweisen. Essigsäure wurde wie in den CLSA-Proben im Körperschleim und Kot der mit Kohl gefütterten Tiere sowie im Körper- und Fußschleim der mit Salat gefütterten Tiere gefunden. In beiden Versuchsgruppen war im Körperschleim zudem Phenol mit einer unbekanntem Verbindung (MS-Daten: $m/z = 55, 84, 112$) und wahrscheinlich Isocyanensäure (Zuordnung aufgrund weniger Ionen) nachgewiesen worden. Squalen fand sich im Fußschleim und Kot der mit Kohl gefütterten Tiere und Cholesterol in allen Proben außer der Fußschleim-Probe der Tiere mit Kopfsalat als Futter. Neophytadien und nicht näher zu bestimmende Steroide wurden in beiden Kot-Proben detektiert. Verschiedene langkettige Alkohole und z.T. entsprechende Carbonsäuremethylester (z.B. Hexacosanol und Hexacosansäuremethylester) fanden sich nur in Kot-Proben der mit Salat gefütterten *D. reticulatum*. Einzige Ausnahme war Nonacosanol, das auch im Kot von mit Kohl gefütterten Tieren vorkam. Methylindol sowie Phytol war nur in Kot-Proben der mit Kohl gefütterten Tiere nachweisbar. Dihydroxyfuranon wurde im Körperschleim der mit Kohl gefütterten Tiere und im Fußschleim der mit Salat gefütterten Tiere, ein nicht näher zu bestimmendes Sesquiterpen im Körperschleim (Salat gefüttert) und Fußschleim (Kohl gefüttert) gefunden. Eine unbekanntem Verbindung ($m/z = 61, 115$; vermutlich schwefelhaltig aufgrund des diagnostischen Ions $m/z=61$) wurde nur im Fußschleim (Kohl gefüttert) nachgewiesen (Tab. 16). Weitere nur in einer Probe auftretende Verbindungen sind der Tab. 16 zu entnehmen.

3.2. Verhaltensuntersuchungen

Die Einzelergebnisse der Olfaktometer-Versuche sind in den Tab. Va, b (zylindrische Olfaktometer) und VI-VIII (Y-Olfaktometer) im Anhang aufgeführt. Die Angaben zur Signifikanz beziehen sich auf die kumulative Binomialverteilung (mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha_B=0,05$). Die Angabe n_a gibt die Anzahl aller aktiver Tiere an (vgl. 2.5.).

3.2.1. Zylindrisches Olfaktometer

In Kontroll-Versuchen mit sechs Wahl-Röhrchen (ohne Probe) wurden die Anteile der Tiere, die in die Röhrchen mit gerader und ungerader Nummer gelaufenen sind, zusammengefaßt (Abb. 8). Danach verteilten sich *D. reticulatum* in gleichen Anteilen (je 50,0 %) auf die Röhrchen. Im einzelnen ergaben sich für die Röhrchen 1, 3 und 5 die Anteile 25,0 %, 18,75 % und 6,25 % und für die Röhrchen 2, 4 und 6 die Anteile 6,25 %, 12,5 % und 31,25 %. Von 48 eingesetzten *D. reticulatum* waren 33,3 % ($n_a=16$) aktiv, d.h. entschieden sich für ein Röhrchen. In Kontroll-Versuchen mit *D. caruanae* ergaben sich die Anteile 62,5 % und 37,5 %. Dabei entfielen auf die Röhrchen 1, 3 und 5 die Anteile 25,0 %, 18,75 % und 18,75 % und auf die Röhrchen 2, 4 und 6 die Anteile 0 %, 12,5 % und 25,0 %. Von 48 eingesetzten *D. caruanae* waren ebenfalls 33,3 % ($n_a=16$) aktiv.

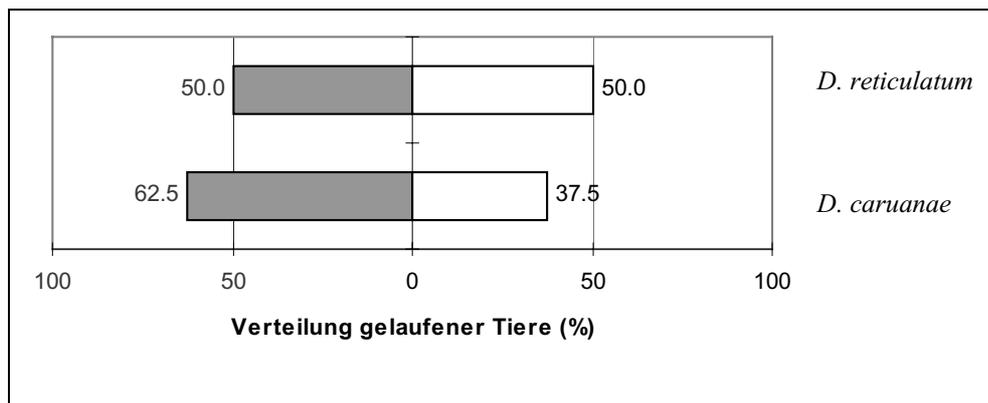


Abb. 8: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* und *D. caruanae* auf die Kontroll-Röhrchen 1, 3, 5 (grau) und 2, 4, 6 (weiß), jeweils ohne Probe, im zylindrischen Olfaktometer.

In Versuchen mit einem 500 mg-Stück Salat als Probe in einem Olfaktometer mit sechs Testkammern (drei Proben- und drei Kontrollröhrchen) konnte keine Bevorzugung der Probenröhrchen festgestellt werden. *D. reticulatum*, die ständig Nahrung oder zwei Tage gehungert hatten, verteilten sich in etwa gleichen Anteilen auf Proben- und Kontrollröhrchen, wobei der Anteil der Tiere, die gehungert hatten, in Probenröhrchen etwas höher lag als derjenige der Tiere, die nicht gehungert hatten (57,1 % gegenüber 45,5 %) (Abb. 9). Von 144 Tieren (gehungert) und 84 (nicht gehungert) waren 34,0 % ($n_a=49$) und 52,4 % ($n_a=44$) aktiv. Auch bei den Versuchen mit nicht gehungerten *D. caruanae* in Olfaktometern mit sechs Testkammern ergab sich in den Proben- und Kontrollröhrchen (54,2 % und 45,8 %) eine ähnliche Verteilung. Von den 72 eingesetzten *D. caruanae* waren 66,7 % ($n_a=48$) aktiv.

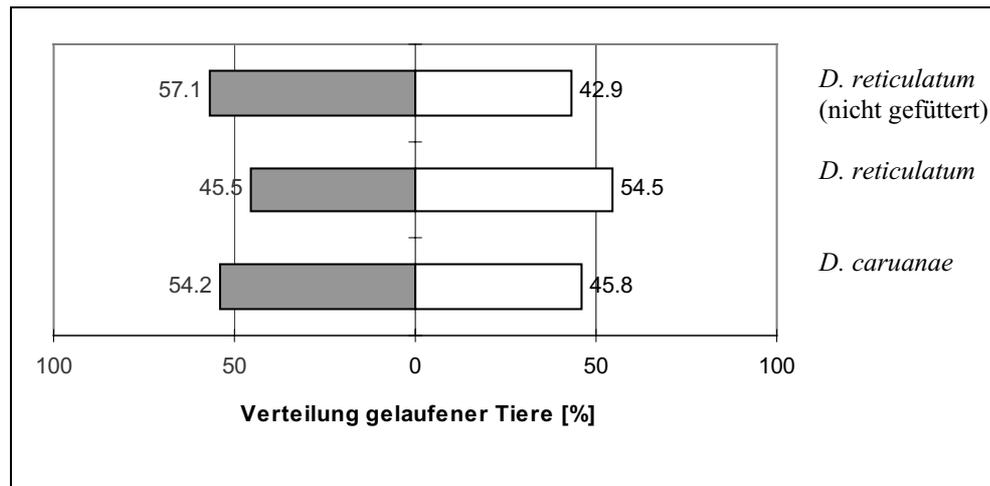


Abb. 9: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* und *D. caruanae* auf die Proben-Röhrchen (grau) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im zylindrischen Olfaktometer mit sechs Wahl-Röhrchen. Als Probe diente ein 500 mg-Stück Salat. n_a s. Text.

In Versuchen mit einem 500 mg-Stück Kohl als Probe in Olfaktometern mit zwei Testkammern (ein Proben- und ein Kontroll-Röhrchen) lief ein signifikanter Anteil der aktiven *D. caruanae* (72,2 %, $\alpha_B=0,05$) in die Proben-Röhrchen (Abb. 10). Von 84 gesamt eingesetzten Tieren waren 21,4 % ($n_a=18$) aktiv.

Wurden Fußschleim und Kot von drei *D. caruanae* zusammen mit einem 500 mg-Stück Kohl als Probe in Olfaktometern mit zwei Testkammern eingesetzt, lief ein signifikanter Anteil der aktiven *D. caruanae* (69,2, %, $\alpha_B=0,05$) in die Probenröhrchen (Abb. 10). Bei diesem Versuch waren von 96 eingesetzten Tieren 27,1 % ($n_a=26$) aktiv.

Beim Einsatz von Fußschleim und Kot von drei *D. caruanae*, die jeweils vorher mit einem 500 mg-Stück Kohl im Röhrchen gehalten worden waren, und einem danach dazugegebenen, frischen 500 mg-Stück Kohl liefen 77,8 % der aktiven *D. caruanae* in die Probenröhrchen (Abb. 10). Von 72 eingesetzten Tieren waren nur 12,5 % ($n_a=9$) aktiv. Aufgrund dieser geringen Anzahl waren die Unterschiede nicht signifikant.

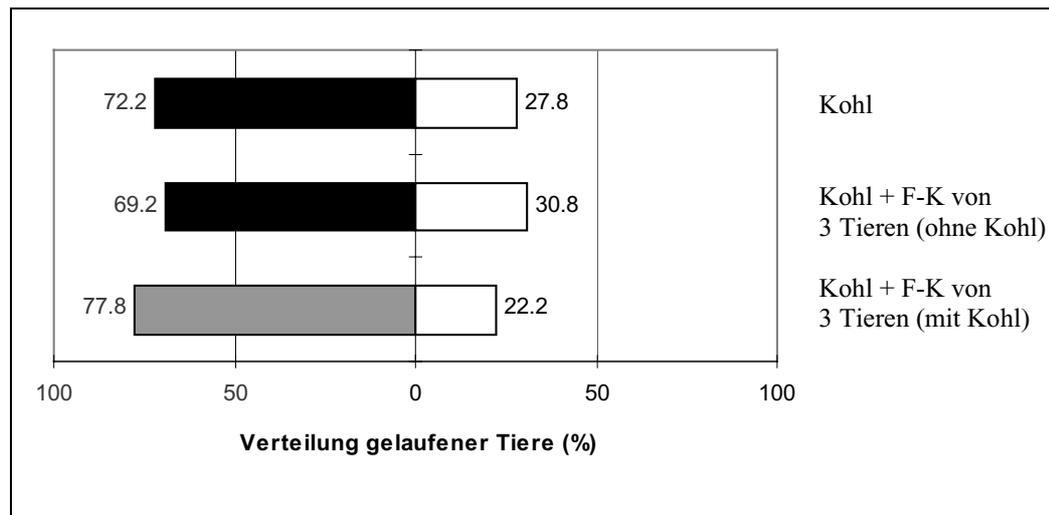


Abb. 10: Prozentuale Verteilung von *D. caruanae* auf die Proben-Röhrchen (grau und schwarz) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im zylindrischen Olfaktometer mit zwei Wahl-Röhrchen. Als Probe diente ein 500 mg-Stück Kohl oder Röhrchen mit Fußschleim und Kot (F-K) von Artgenossen sowie einem 500 mg-Stück Kohl. Schwarz = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

3.2.2. Y- Olfaktometer

In Kontroll-Versuchen (in beiden Wahl-Röhrchen keine Probe) konnte keine Bevorzugung eines der Röhrchen festgestellt werden. Sowohl *D. reticulatum* als auch *D. caruanae* verteilten sich in etwa gleichen Anteilen (46,2 % : 53,8 % sowie 57,1 % : 42,9 %) auf beide Röhrchen (Abb. 11). Ein relativ hoher Prozentsatz von Tieren hat sich in diesen Versuchen für kein Röhrchen entschieden, so daß die Anzahl gewerteter Läufe $n_a < 20$ lag (*D. reticulatum*: 45,8 % unentschieden, $n_a=13$, *D. caruanae*: 50,0 %, $n_a=14$).

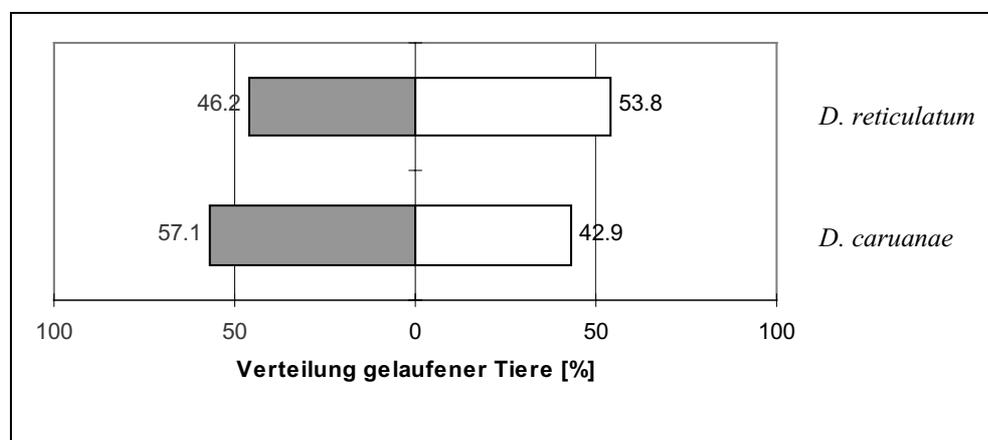


Abb. 11: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* und *D. caruanae* auf zwei Kontroll-Röhrchen (grau und weiß), jeweils ohne Probe, im Y-Olfaktometer. n_a s. Text.

In den nachfolgend aufgeführten Versuchen mit Y-Olfaktometern wurden insgesamt 2111 Tiere eingesetzt, davon waren lediglich 405 (= 19,2 %) inaktiv. In den einzelnen Versuchen waren 0 bis 37,5 % der Tiere inaktiv (vgl. Tab. VI-VIII, Anhang).

3.2.2.1. Reaktionen auf Futter, Artgenossen, Kot und Schleim

Die prozentuale Verteilung der Schnecken in Proben-Röhrchen mit einem 500 mg-Stück Wirsing-Kohl war signifikant höher als die in den Kontroll-Röhrchen (Abb. 12). Röhrchen mit Kohl wurden von 75,0 % der aktiven *D. reticulatum* ($\alpha_B=0,05$, $n_a=20$) und 82,6 % der *D. caruanae* ($\alpha_B=0,05$, $n_a=23$) zuerst aufgesucht (Abstand 10 cm).

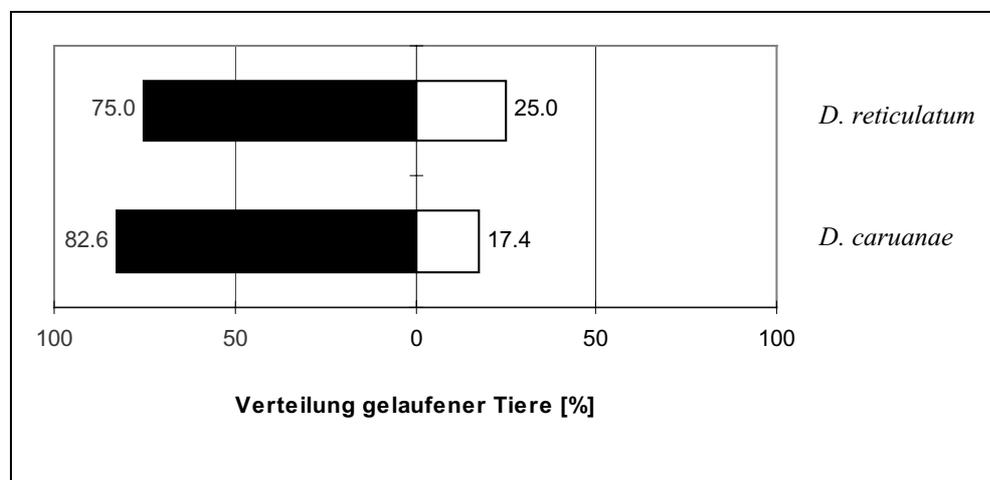


Abb. 12: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* und *D. caruanae* auf ein Proben-Röhrchen (schwarz) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im Y-Olfaktometer. Als Probe diente ein 500 mg-Stück Kohl. Schwarz = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

Wurden Artgenossen in einem Aufsatz in einem Abstand von 10 cm als Probe eingesetzt, war die Verteilung ebenfalls signifikant unterschiedlich (Abb. 13). Proben, bestehend aus drei *D. reticulatum* im Aufsatz, wurden von 92,9 % ($\alpha_B=0,05$, $n=28$) und Proben aus drei *D. reticulatum* und einem 500 mg-Stück Wirsing-Kohl wurden von 83,3 % der Versuchstiere, *D. reticulatum*, ($\alpha_B=0,05$, $n_a=24$) zuerst aufgesucht.

Wurden entsprechende Proben in einem Abstand von etwa 15 cm geboten, konnte nur in Kombination mit Kohl eine Bevorzugung gegenüber den Kontrollen festgestellt werden (*D. reticulatum*, signifikanter Anteil von 72,7 %, $\alpha_B=0,05$, $n_a=22$), bei der gleichen Probe ohne Kohl hingegen nicht (*D. reticulatum*, signifikanter Anteil von 72,7 % in der Kontrolle,

$\alpha_B=0,05$, $n_a=22$). Bei Versuchen mit 10 *D. caruanae* als Probe suchte ein signifikant großer Anteil von 81,8 % (*D. caruanae*, $\alpha_B=0,05$, $n_a=22$) zuerst die Leerkontrollen auf.

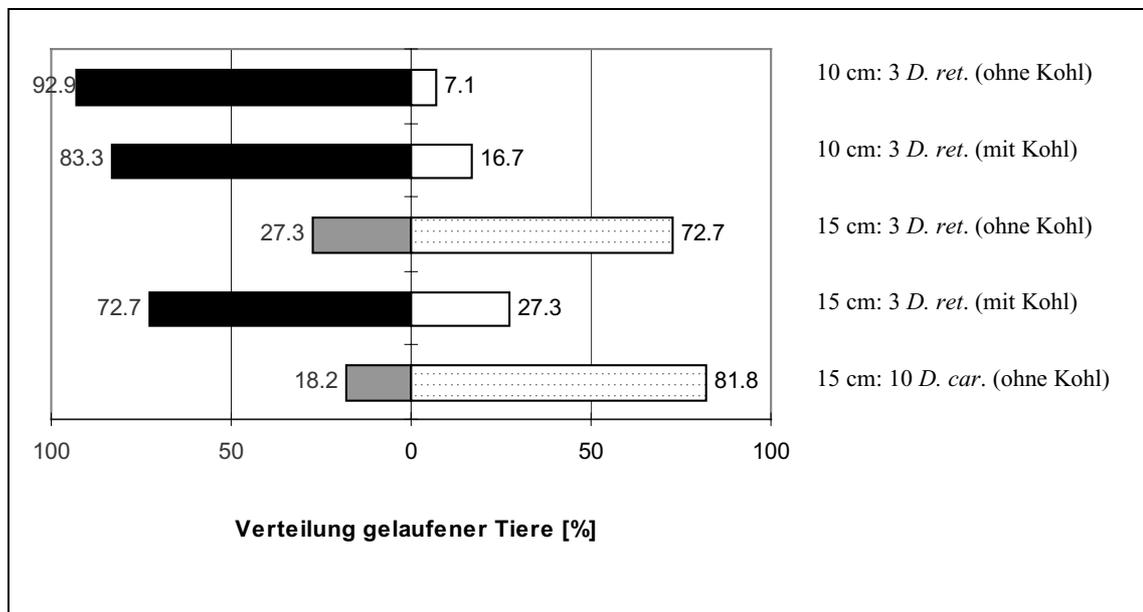


Abb. 13: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* (*D. ret.*) und *D. caruanae* (*D. car.*) auf ein Proben-Röhrchen (grau und schwarz) und Kontroll-Röhrchen (weiß und gepunktet) im Y-Olfaktometer. Als Probe diente ein Aufsatz mit Artgenossen. Schwarz und gepunktet = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

Für die Proben-Röhrchen mit Fußschleim und Kot wurden Tiere mit oder ohne ein Stück Kohl (500 mg) für etwa 5 h in einem Greiner-Röhrchen gehalten, anschließend die Tiere und der Kohl entfernt und das Röhrchen als Probe eingesetzt (vgl. 2.5.5.3.). In diesem Zeitraum gab eine *D. reticulatum* durchschnittlich $8,1 \pm 3,2$ mg Fußschleim ($n=16$) und $4,7 \pm 1,8$ mg Kot ($n=16$) ab.

Wurden Fußschleim und Kot von drei *D. reticulatum* als Probe in einem Abstand von 5 cm eingesetzt, waren die Unterschiede in der Verteilung signifikant (Abb. 14). Diese Proben suchten 87,5 % der Versuchstiere, *D. reticulatum*, ($\alpha_B=0,05$, $n_a=24$) zuerst auf. Ebenfalls signifikante Unterschiede in der Verteilung ergaben sich durch Röhrchen mit Fußschleim und Kot von drei und 10 *D. reticulatum* (je 5 cm Abstand), die jeweils vorher mit einem 500 mg-Stück Kohl im Röhrchen gehalten worden waren: 91,7 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=24$) und 76,9 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=26$) der Versuchstiere, *D. reticulatum*, suchten das Proben-Röhrchen zuerst auf. Röhrchen mit Fußschleim und Kot von 10 *D. reticulatum*, die zuvor mit Kohl eingesetzt worden waren, wurden in 10 cm Abstand von einem signifikant großen Anteil von 83,3 % der Versuchstiere, *D. reticulatum*, aufgesucht ($\alpha_B=0,05$, $n_a=24$).

Bei einem Abstand von 15 cm lief der überwiegende Teil der Versuchstiere, *D. reticulatum*, (62,5 %, $n_a=24$) zuerst in die Leer-Kontrollen (Abb. 14).

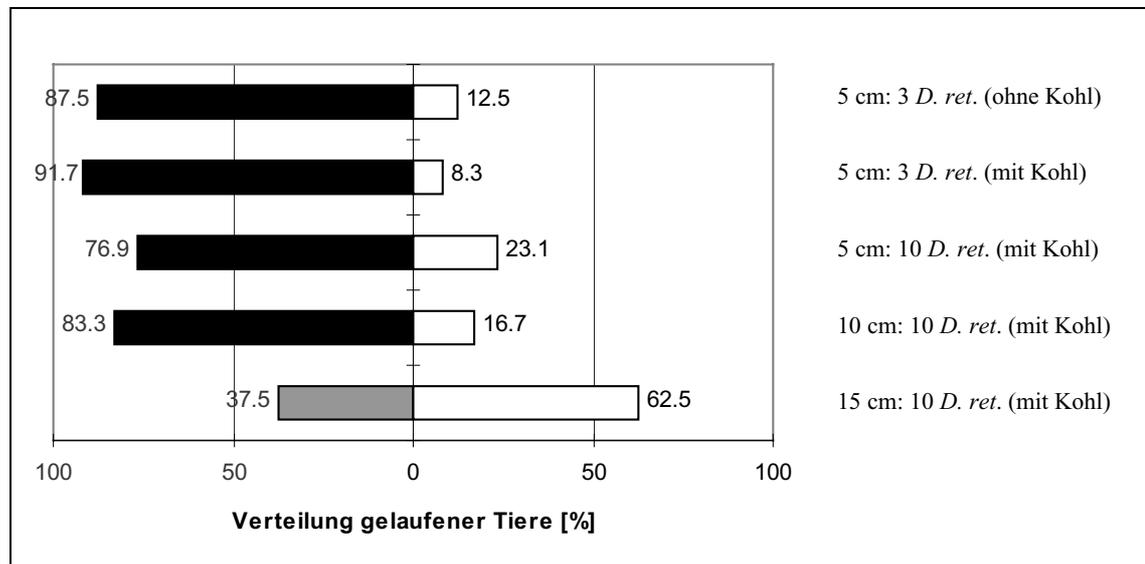


Abb. 14: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* (*D. ret.*) auf ein Proben-Röhrchen (grau und schwarz) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im Y-Olfaktometer. Als Probe dienten Röhrchen mit Fußschleim und Kot von Artgenossen. Schwarz = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

Röhrchen mit einem Fußschleim-Kot-Gemisch von drei *D. caruanae* wurden von einem signifikant großen Anteil von 76,2 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=21$) der Versuchstiere aufgesucht (Abb. 15; Abstand 5 cm). Fußschleim und Kot von drei und 10 *D. caruanae*, die vorher mit Kohl im Röhrchen gehalten worden waren, wählten 70,0 % ($n=20$) und ein signifikanter Anteil von 80,0 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=20$) der Versuchstiere zuerst (Abstand 5 cm). Bei einem Abstand von 10 cm lief ein signifikanter Anteil von 92,3 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=26$) der Versuchstiere, *D. caruanae*, zuerst in die Probenröhrchen mit Fußschleim und Kot von 10 Artgenossen, die zuvor mit Kohl im Röhrchen eingesetzt worden waren. Bei einem Abstand von 15 cm liefen nur noch 57,1 % ($n_a=21$) zuerst zu dieser Probe.

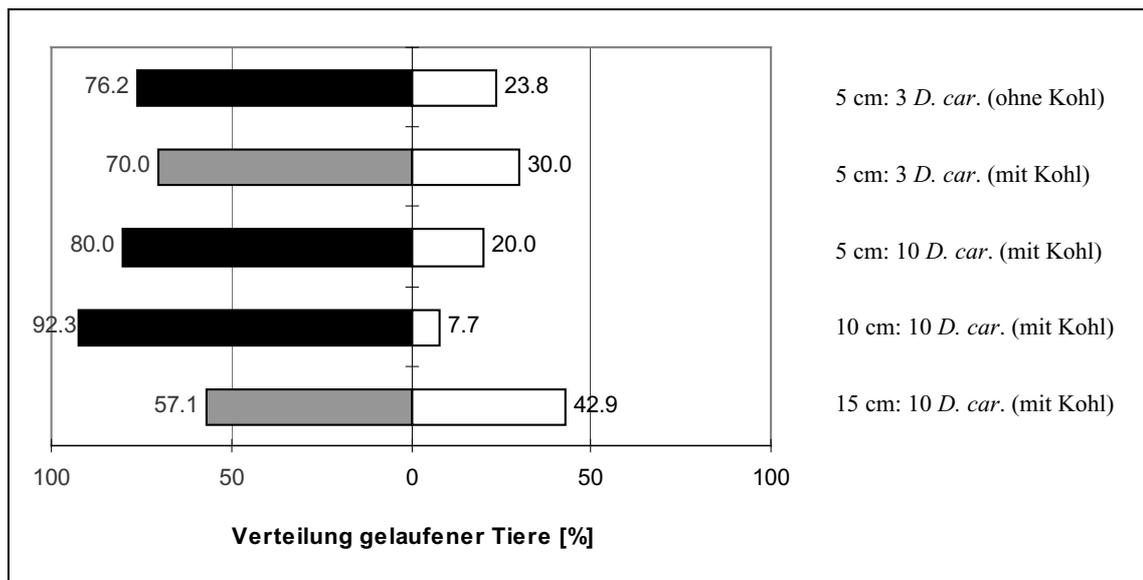


Abb. 15: Prozentuale Verteilung von *D. caruanae* (*D. car.*) auf ein Proben-Röhrchen (grau und schwarz) und Kontroll-Röhrchen (K, weiß) im Y-Olfaktometer. Als Probe dienten Röhrchen mit Fußschleim und Kot von Artgenossen. Schwarz = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

Körperschleim wurden gewonnen, indem die Tiere in den Röhrchen für etwa 30 s mit CO_2 begast und dann nach etwa 5 min entfernt wurden (vgl. 2.5.5.3.). Eine *D. reticulatum* gab dabei durchschnittlich $108,8 \pm 15,2$ mg Körperschleim ($n=16$) ab.

Röhrchen mit Körperschleim von drei, fünf und 10 *D. reticulatum* wurden nicht bevorzugt. Die prozentualen Anteile von *D. reticulatum*, die diese Röhrchen aufsuchten, betragen 46,3 % ($n_a=41$), 58,3 % ($n_a=24$) und 45,5 % ($n_a=22$) (Abb. 16).

Ein entsprechender Versuch mit *D. caruanae* verlief etwas anders. Hier nahm der Anteil der Tiere, die die Proben-Röhrchen zuerst aufsuchten, mit zunehmender Menge Körperschleim von drei, fünf und 10 Artgenossen zu (60,6 %, $n_a=33$; 66,7 %, $n_a=24$ und 87,5 %, $n_a=28$) (Abb. 16). Bei Körperschleim von 10 *D. caruanae* war das Aufsuchen signifikant ($\alpha_B=0,05$).

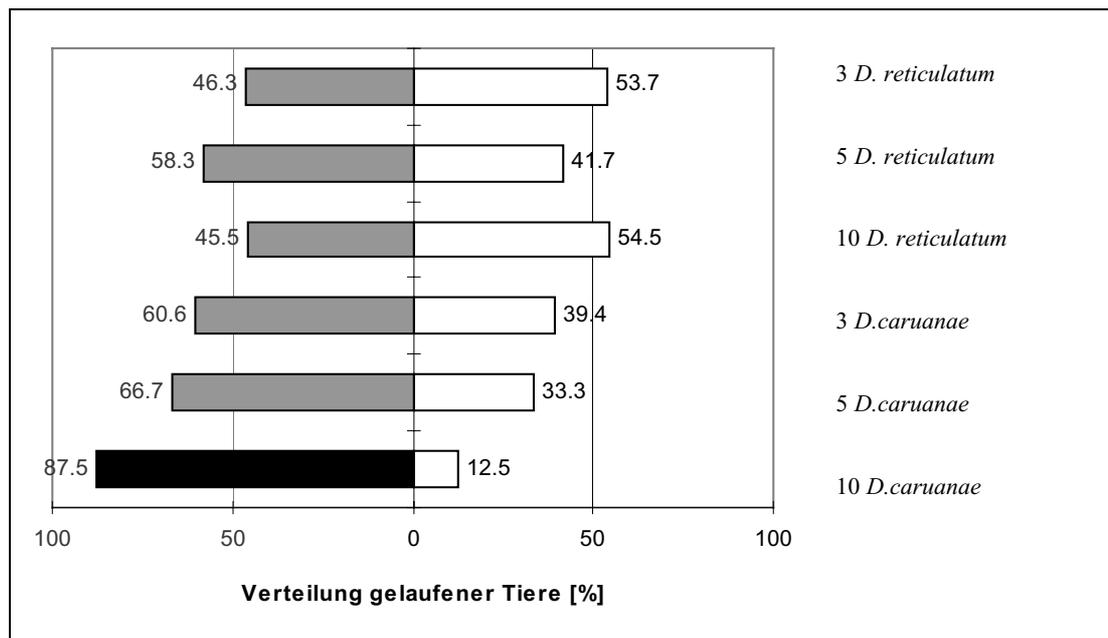


Abb. 16: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* und *D. caruanae* auf ein Proben-Röhrchen (grau und schwarz) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im Y-Olfaktometer. Als Probe dienten Röhrchen mit Körperschleim von Artgenossen. Schwarz = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

Fußschleim von fünf *D. reticulatum* wurde von 65,0 % ($n_a=20$) der Versuchstiere, *D. reticulatum*, nicht bevorzugt (Abb. 17). Bei gleichzeitigem Einsatz von Fußschleim (Röhrchen 1) und Kot (Röhrchen 2), jeweils von fünf *D. reticulatum*, entschied sich ein signifikanter Anteil von 73,9 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=23$) der Versuchstiere, *D. reticulatum*, zuerst die Kot-Röhrchen aufzusuchen.

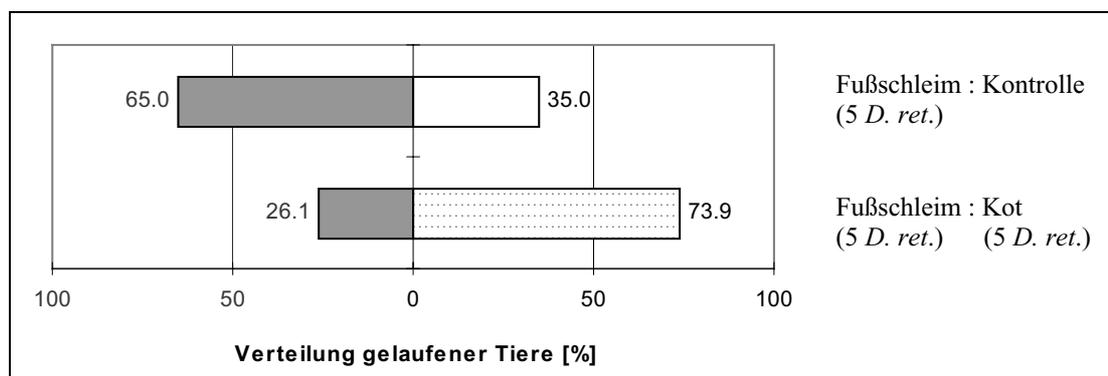


Abb. 17: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* (*D. ret.*) auf ein Proben-Röhrchen (grau) mit Fußschleim von Artgenossen und Kontroll-Röhrchen (weiß) sowie auf ein Fußschleim-Röhrchen (Probe 1, grau) und ein Kot-Röhrchen (Probe 2, gepunktet) im Y-Olfaktometer. Gepunktet = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

Im Unterschied zu den vorangegangenen Versuchen wurden die nachfolgenden Versuche mit Tieren durchgeführt, die nicht mit Kohl, sondern mindestens sieben Tage vor ihrem Einsatz mit Kopfsalat gefüttert wurden (vgl. 2.5.).

Die prozentualen Verteilungsraten der Proben-Röhrchen mit einem 500 mg-Stück Kopfsalat waren signifikant größer als die der Kontroll-Röhrchen (Abb. 18). Diese Röhrchen wurden von 83,3 % der aktiven *D. reticulatum* ($\alpha_B=0,05$, $n_a=23$) zuerst aufgesucht (Abstand 10 cm).

Wurden Fußschleim und Kot von drei *D. reticulatum* in einem Abstand von 5 cm eingesetzt, lief ein größerer Anteil von 65,0 % der aktiven *D. reticulatum* ($n_a=20$) in die Kontroll-Röhrchen (Abb. 18). Proben-Röhrchen mit Fußschleim und Kot von drei *D. reticulatum* (Abstand 5 cm), die vorher mit einem 500 mg-Stück Salat im Röhrchen gehalten worden waren, suchten 62,5 % der aktiven *D. reticulatum* ($n_a=23$) zuerst auf (Abb. 18).

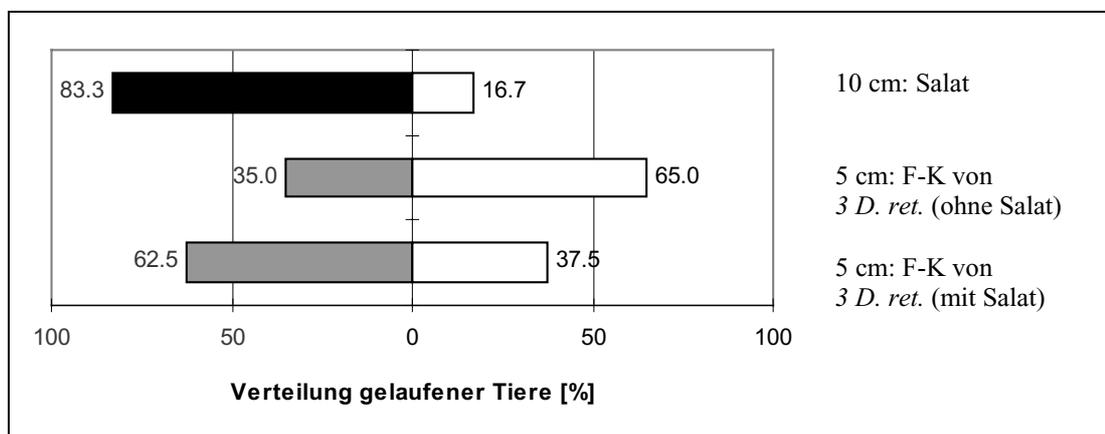


Abb. 18: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* (*D. ret.*) auf ein Proben-Röhrchen (grau und schwarz) und Kontroll-Röhrchen (K, weiß) im Y-Olfaktometer. Als Probe dienten Kopfsalat oder Röhrchen mit Fußschleim und Kot (F-K) von Artgenossen. Schwarz = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

3.2.2.2. Reaktionen auf Proben aus der Closed-Loop-Stripping-Apparatur

Die mittels der CLSA gewonnenen Proben aus den drei Versuchsreihen wurden jeweils gegen die entsprechenden Lösungsmittel-Kontrollen getestet (vgl. Tab. VII, Anhang). Von einer Proben-Substanz wurden je vier Proben gewonnen (z.B. A-D). Die beiden erstgenannten sind die Eluate des Aktivkohlefilters und die letztgenannten die des Super Q-Filters (vgl. 2.3., Tab. 3).

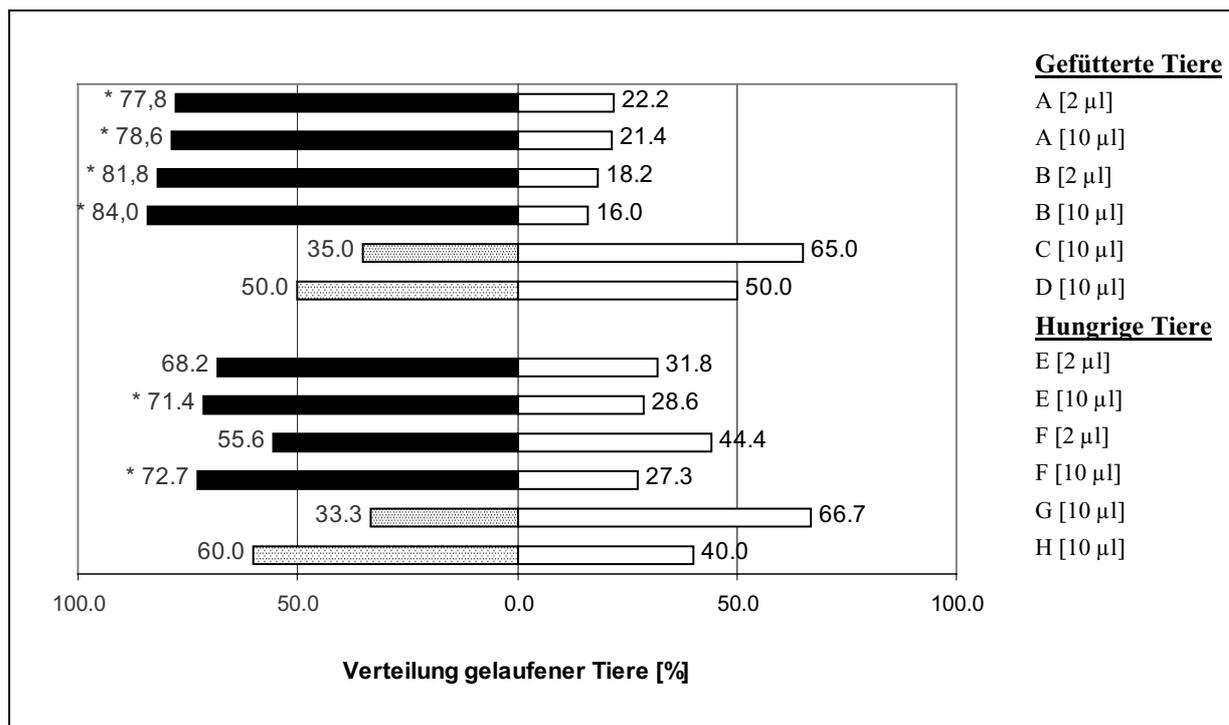


Abb. 19: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* auf ein Proben-Röhrchen (hellgrau und schwarz) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im Y-Olfaktometer. Eingesetzt wurden CLSA-Proben der Versuchsreihe 1 gegen die entsprechenden Lösungsmittel. Schwarz = Probe mit Dimethyldisulfid u.a. Schwefelverbindungen, hellgrau = Probe ohne eine der vier Schwefelverbindungen (vgl. Text). * = signifikanter Anteil mit $\alpha_B=0,05$.

Zur Gewinnung der Proben A-D der Versuchsreihe 1 wurden die flüchtigen Substanzen von Fußschleim und Kot von *D. reticulatum* gesammelt, die zuvor mit Kohl gefüttert worden waren (vgl. 2.3., Tab. 2, 3). Die Proben A und B (je 2 µl und 10 µl) wurden von signifikant großen Prozentsätzen der Versuchstiere zuerst aufgesucht (Abb. 19). Bei einem Volumen von je 2 µl suchten 77,8 % die Probe A ($\alpha_B=0,05$, $n_a=27$) und 81,8 % die Probe B ($\alpha_B=0,05$, $n_a=22$) zuerst auf. Bei einem Volumen von 10 µl liefen 78,6 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=28$) zuerst zu Probe A und 84,0 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=25$) zuerst zu Probe B. In beiden Proben wurden die vier Schwefelverbindungen, Dimethyldisulfid, Dimthyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid, nachgewiesen (vgl. 3.1.1.1. und Anhang, Tab. I).

Beim Einsatz von 10 µl der Probe C liefen 65,0 % ($n_a=21$) der Versuchstiere, *D. reticulatum*, zuerst in die Kontroll-Röhrchen, bei 10 µl der Probe D suchten jeweils 50,0 % ($n_a=20$) der Tiere, *D. reticulatum*, zuerst die Proben- und Kontroll-Röhrchen auf. Die Proben C und D enthielten keine der oben genannten Schwefelverbindungen.

Zur Gewinnung der Proben E-H (Versuchsreihe 1) wurden *D. reticulatum*, die zuvor mit Kohl gefüttert worden waren, drei Tage ohne Nahrung gehalten (vgl. 2.3., Tab. 1, 3). Der überwiegende Anteil der Versuchstiere, *D. reticulatum*, lief zu den Proben E (Probenvolumen 2 µl:

68,2 %, n_a 22; Probenvolumen 10 μ l: signifikanter Anteil von 71,4 %, $\alpha_B=0,05$, $n_a=21$) und F (Probenvolumen 2 μ l: 55,6 %, $n_a=27$; Probenvolumen 10 μ l: signifikanter Anteil von 72,7 %, $\alpha_B=0,05$, $n_a=22$). Beide Proben enthielten mindestens zwei der vier oben genannten Schwefelverbindungen (vgl. Anhang, Tab. I). Bei je 10 μ l der Proben G und H, die keine der vier Schwefelverbindungen enthielten, waren die Ergebnisse mit Anteilen von 33,3 % ($n=24$) und 60,0 % ($n_a=20$) nicht signifikant.

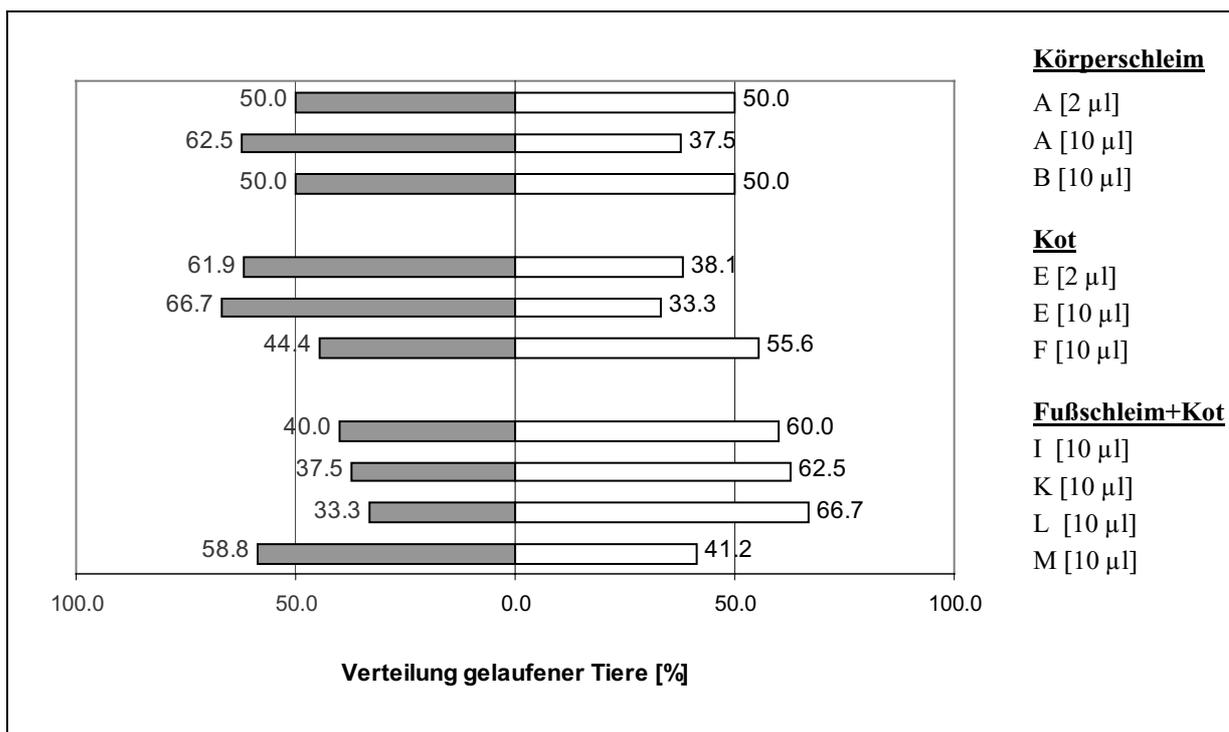


Abb. 20: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* auf ein Proben-Röhrchen (dunkelgrau) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im Y-Olfaktometer. Eingesetzt wurden CLSA-Proben der Versuchsreihe 2 gegen die entsprechenden Lösungsmittel. Dunkelgrau = Probe mit Dimethyl-disulfid.

In Versuchsreihe 2 wurden CLSA-Proben aus Körperschleim, Kot sowie einem Fußschleim-Kot-Gemisch von *D. reticulatum* gewonnen, die mit Kohl gefüttert worden waren (vgl. 2.3., Tab. 1, 3). Mit diesen Proben wurden keine signifikanten Ergebnisse erzielt (Abb. 20). In den Proben A, B, E, F sowie I-M wurde nur Dimethyl-disulfid nachgewiesen (vgl. Anhang, Tab. II). Die Proben A und E mit einem Probenvolumen von 10 μ l suchten 62,5 % ($n_a=24$) und 66,7 % ($n_a=24$) der Tiere zuerst auf. Die prozentuale Verteilung der Versuchstiere bei je 2 μ l der Proben A ($n_a=20$) und E ($n_a=21$) sowie je 10 μ l der Proben B ($n_a=22$), F ($n_a=27$), I ($n_a=20$) sowie K-M (je $n_a=24$) lag zwischen 33,3 % und 61,9 %.

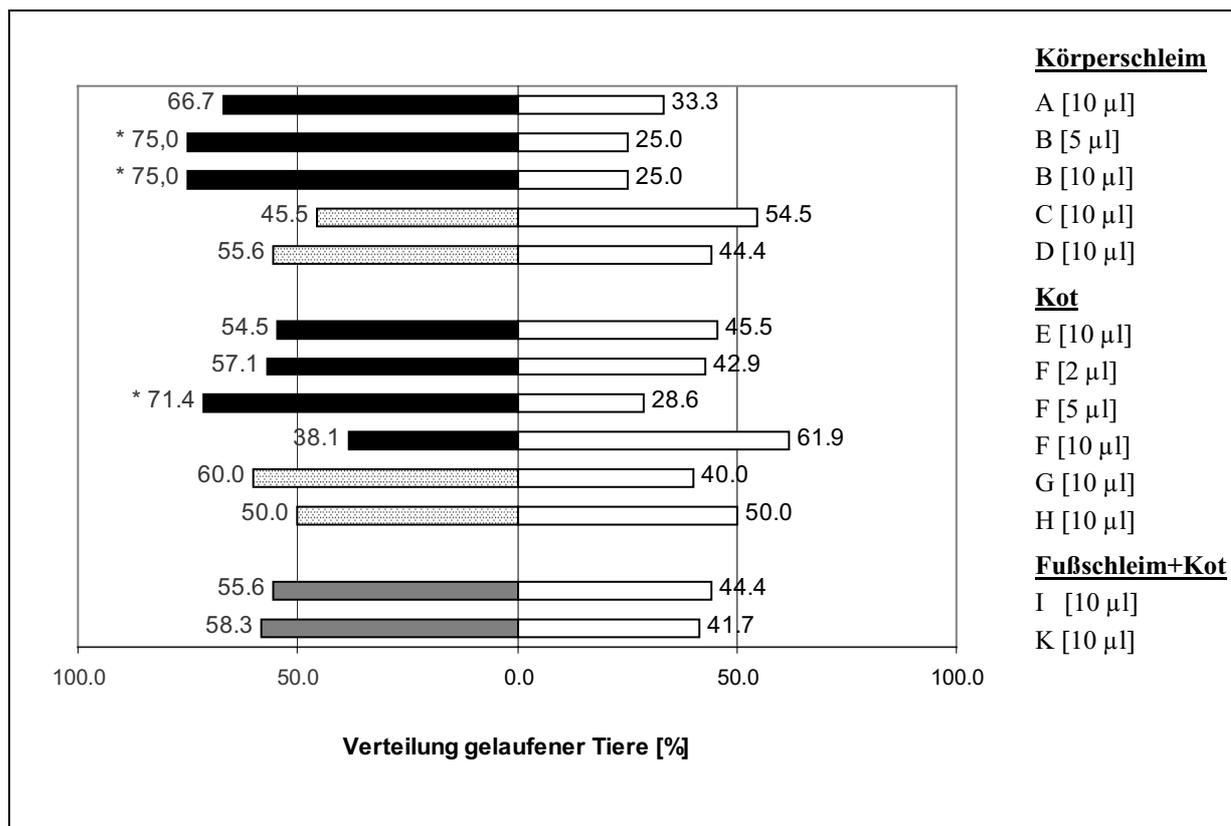


Abb. 21: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* auf ein Proben-Röhrchen (schwarz, dunkelgrau und hellgrau) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im Y-Olfaktometer. Eingesetzt wurden CLSA-Proben der Versuchsreihe 3 gegen die entsprechenden Lösungsmittel. Schwarz = Probe mit mehreren Terpenverbindungen und evtl. mehreren Schwefelverbindungen, dunkelgrau = Probe mit Dimethyldisulfid und evtl. einer Terpenverbindung, hellgrau = Probe ohne Terpen- und eine der vier Schwefelverbindungen, vgl. Text. * = signifikanter Anteil mit $\alpha_B=0,05$.

In Versuchsreihe 3 wurden CLSA-Proben aus Körperschleim, Kot sowie einem Fußschleim-Kot-Gemisch von *D. reticulatum* gewonnen, die mit Kopfsalat gefüttert worden waren (vgl. 2.3., Tab. 1, 3). Mit diesen Proben wurden teilweise signifikante Verteilungsraten erzielt (Abb. 21). Proben B (Volumen 5 µl, $\alpha_B=0,05$, $n_a=20$, und Volumen 10 µl, $\alpha_B=0,05$, $n_a=24$) und F (Volumen 5 µl, $\alpha_B=0,05$, $n_a=21$) wurden signifikant häufiger zuerst aufgesucht (71,4 % bis 75,0 %). Diese Proben enthielten mehrere Terpenverbindungen und eventuell Schwefelverbindungen (vgl. 3.1.1.1., Tab. 14 und Anhang, Tab. III). Je 10 µl der ebenfalls diese Verbindungen enthaltenden Proben A und E wurden nur von 66,7 % ($n_a=27$) und 54,5 % ($n_a=22$), also nicht signifikant, aufgesucht. Wurden 2 µl und 10 µl der Probe F eingesetzt, liefen 57,1 % ($n_a=21$) und 38,1 % ($n_a=21$) der Versuchstiere, *D. reticulatum*, zuerst zur Probe. Die Proben C, D, G und H (je 10 µl), die weder Terpen- noch Schwefelverbindungen enthielten, wurden von 45,5 % ($n_a=22$), 55,6 % ($n_a=27$), 60,0 % ($n_a=20$) und 50,0 % ($n_a=20$), also nicht signifikant, gewählt. Je 10 µl der Proben I und K, die beide Dimethyldisulfid und eventuell

eine Terpenverbindung enthielten, suchten 55,6 % ($n_a=27$) und 58,3 % ($n_a=24$) der Versuchstiere, *D. reticulatum*, auf.

3.2.2.3. Schwefel- und Terpenverbindungen der Proben aus der Closed-Loop-Stripping-Apparatur

Die oben geschilderten Ergebnisse zeigen, daß einige der CLSA-Proben, mit denen signifikante Ergebnisse im Olfaktometer erzielt wurden, überwiegend Schwefel- und / oder Terpenverbindungen enthielten. Die Auswahlkriterien der CLSA-Proben und der darin enthaltenen Verbindungen, deren Konzentrationen abgeschätzt wurden, sind genauer unter 3.1.1.2. beschrieben worden. Die Konzentration der vier Schwefelverbindungen Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid sowie Methylpropyldisulfid der Probe A aus der Versuchsreihe 1 wurde mit den Konzentrationen der gleichen Substanzen in denjenigen Proben verglichen, die ebenfalls im Y-Olfaktometer-Test bevorzugt zuerst aufgesucht wurden. Dabei wurde der mögliche Einfluß weiterer Verbindungen, die neben den genannten vier Verbindungen auftraten, vernachlässigt.

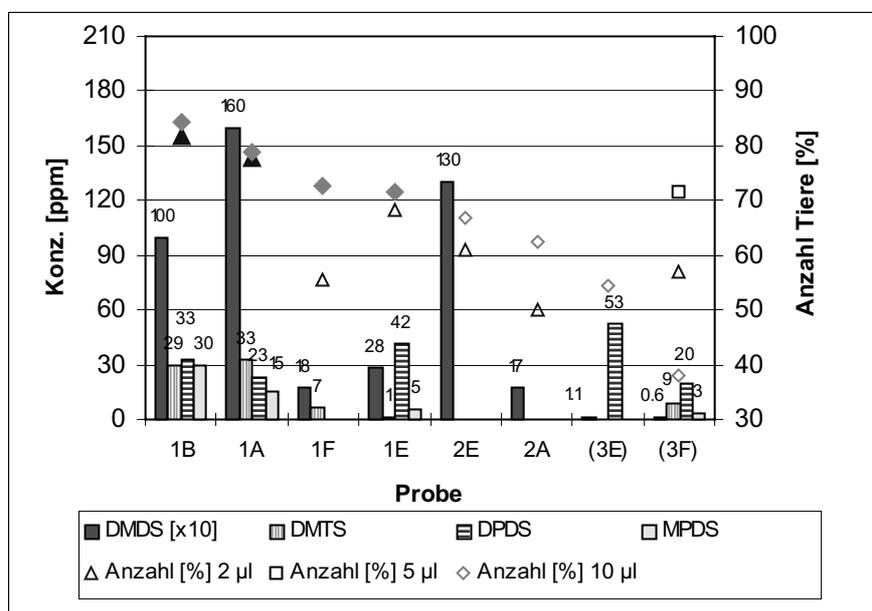


Abb. 22: Abgeschätzte Konzentrationen (in ppm, absolute Werte über den Säulen) von Dimethyldisulfid (DMDS; 10fach verringert dargestellt), Dimethyltrisulfid (DMTS), Dipropyldisulfid (DPDS) und Methylpropyldisulfid (MPDS) und Verteilung (%) von *D. reticulatum* in den entsprechenden Proben-Röhrchen im Y-Olfaktometer. Einsatz der CLSA-Proben A, B, E und F der Versuchsreihe 1, A und E der Versuchsreihe 2 sowie F der Versuchsreihe 3 (2 µl, 5 µl oder 10 µl) gegen die entsprechenden Lösungsmittel. Ausgefüllte Symbole: signifikante Ergebnisse ($\alpha_B=0,05$).

In Abb. 22 sind die Proben dargestellt, die mindestens eine der vier Schwefelverbindungen enthalten, sowie der Prozentsatz von Schnecken, der diese Proben gewählt hat. Die Anordnung der Proben in der Graphik richtet sich nach dem abnehmenden prozentualen Anteil der Tiere in den Proben-Röhrchen bei einem Probenvolumen von 10 μl .

Die Proben A und B der Versuchsreihe 1, die von > 75 % der Schnecken signifikant aufgesucht wurden (vgl. Abb. 19), enthielten alle vier Schwefelverbindungen. Dimethyldisulfid war mit 1000 ppm und 1600 ppm mindestens 30fach bis 50fach höher konzentriert als die anderen Verbindungen (vgl. 3.1.1.2., Tab. 15). In der Probe E der Versuchsreihe 1 - hier suchten ca. 70 % der Schnecken die Probe auf, konnten ebenfalls alle vier Verbindungen nachgewiesen werden. Die Konzentrationen von Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid lagen jedoch deutlich unter denen der Proben A und B der Versuchsreihe 1. Eine lineare Abhängigkeit zwischen der Konzentration des in allen Proben vorkommenden Dimethyldisulfids und dem Anteil der Tiere, die diese Proben gewählt hatten, konnte nicht festgestellt werden (Abb. 23a). Auch bei den anderen drei Schwefelverbindungen war dies nicht der Fall (Abb. 23b). Im Bereich von 25-35 ppm wurden die größten Tierzahlen, die die Proben zuerst aufsuchten, ermittelt.

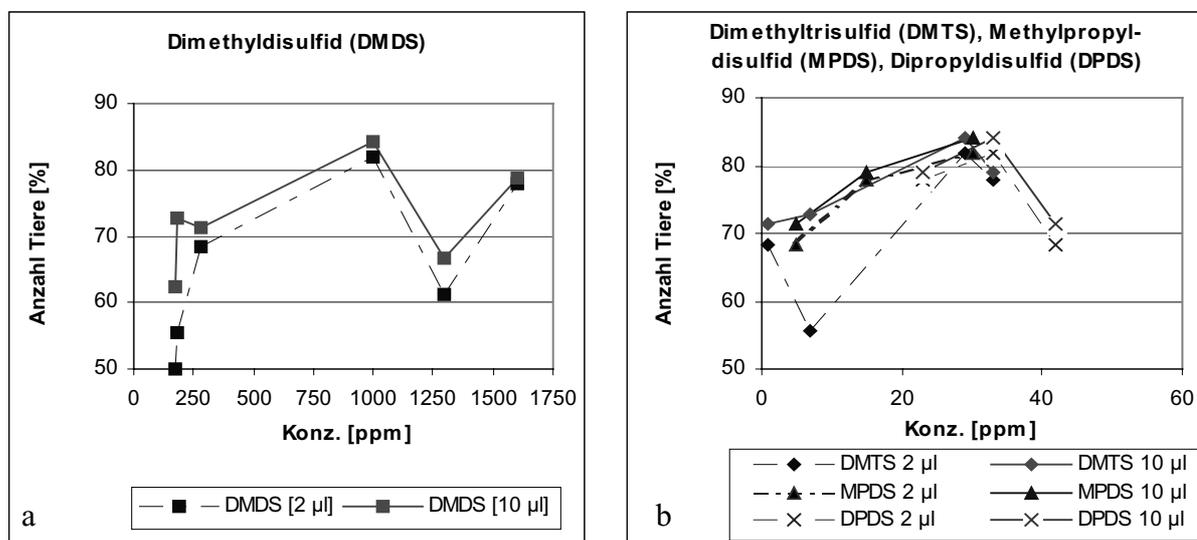


Abb. 23 a) Abgeschätzte Konzentrationen (in ppm) von Dimethyldisulfid (DMDS) der Proben A, B, E und F der Versuchsreihe 1 sowie der Proben A und E der Versuchsreihe 2 in Abhängigkeit von der Verteilung von *D. reticulatum* in den Proben-Röhrchen im Y-Olfaktometer. Einsatz der Proben (2 μl oder 10 μl) gegen die entsprechenden Lösungsmittel.

Abb. 23 b) Abgeschätzte Konzentrationen (in ppm) von Dimethyltrisulfid (DMDS), Methylpropyldisulfid (MPDS) und Dipropyldisulfid (DPDS) der Proben A, B, E und F der Versuchsreihe 1 in Abhängigkeit von der Verteilung von *D. reticulatum* in den Proben-Röhrchen im Y-Olfaktometer. Einsatz der Proben (2 μl oder 10 μl) gegen die entsprechenden Lösungsmittel.

Die Konzentration von Dimethyldisulfid lag bei der Probe E aus Versuchsreihe 2, in der die anderen drei Verbindungen nicht gefunden wurden, mit 1300 ppm etwa im Bereich der Konzentration in den Proben A und B der Versuchsreihe 1 (vgl. 3.1.1.2., Tab. 15; Abb. 22). Der Anteil der Tiere, die diese Probe wählten, lag mit maximal 66,7 % deutlich unter dem der anderen beiden Proben (vgl. Abb. 20).

In den Proben E und F aus Versuchsreihe 3 wurden mit Ausnahme von Dipropyldisulfid (53 ppm) in Probe E nur geringe Mengen der vier Schwefelverbindungen gefunden (vgl. 3.1.1.2., Tab. 15). Besonders Dimethyldisulfid lag mit 6 ppm mindestens in etwa 30fach geringerer Konzentration als in den anderen Proben der Versuchsreihe 1 und 2 vor. In beiden Proben wurden zusätzlich Terpenverbindungen und in der Probe F in großer Menge Dimethylsulfoxid nachgewiesen (vgl. Abb. 24).

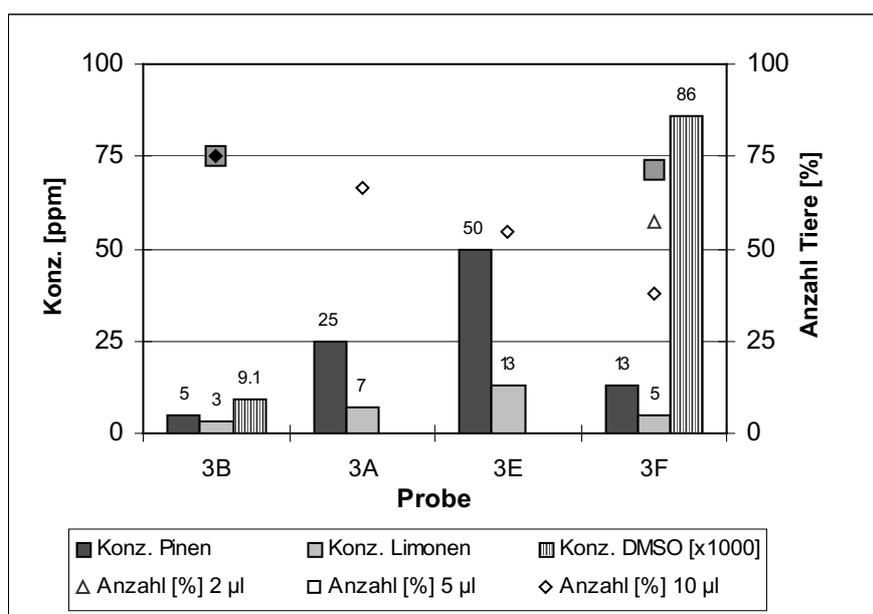


Abb. 24: Abgeschätzte Konzentrationen (in ppm, absolute Werte über den Säulen) von Pinen, Limonen und Dimethylsulfoxid (DMSO; 1000fach verringert dargestellt) und Verteilung (%) von *D. reticulatum* in den entsprechenden Proben-Röhrchen im Y-Olfaktometer. Einsatz der CLSA-Proben A, B, E und F der Versuchsreihe 3 (2 µl, 5 µl oder 10 µl) gegen die entsprechenden Lösungsmittel. Ausgefüllte Symbole: signifikante Ergebnisse ($\alpha_B=0,05$).

Abb. 24 zeigt den Zusammenhang der Konzentration von Pinen und Limonen sowie von Dimethylsulfoxid in den Proben aus Versuchsreihe 3 mit dem prozentualen Anteil der Tiere, die diese Proben zuerst aufgesucht haben. Die Proben in der Graphik sind nach dem abnehmenden prozentualen Anteil der Tiere in den Proben-Röhrchen bei einem Probenvolumen von

10 μl angeordnet. Die in den Proben E und F zusätzlich auftretenden Schwefelverbindungen sind in Abb. 22 aufgeführt. Sulcaton (= 6-Methyl-5-hepten-2-on) lag in allen Proben etwa in Konzentrationen ≤ 1 ppm vor (vgl.3.1.1.2.). Auffallend bei den Proben B, A und E ist, daß mit ansteigender Konzentration von Pinen sowie Limonen die Anzahl der Tiere, die diese Proben aufgesucht haben, sinkt. Die Probe F mit einem relativ niedrigen Pinen- und Limonen-Gehalt und einem sehr hohen Dimethylsulfoxid-Gehalt weicht allerdings von dieser Tendenz ab. Ein Volumen von 5 μl dieser Probe wurde von einer größeren Zahl Tiere aufgesucht, als 2 μl derselben Probe. Deutlich weniger Tiere suchten 10 μl auf.

3.2.2.4. Reaktionen auf Schwefelverbindungen

Bei Versuchen in Y-Olfaktometern war die prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* in den Proben-Röhrchen mit Dimethyldisulfid-Lösungen in den Konzentrationsstufen 0,25 ppm, 1 ppm, 2,5 ppm und 5 ppm nicht signifikant größer als in den Kontroll-Röhrchen (Abb. 25). Die ersten drei Konzentrationsstufen suchten 45,0 % ($n_a=20$), 60,0 % ($n_a=30$) und 54,5 % ($n_a=22$) der Tiere zuerst auf. Bei einer Konzentration von 5 ppm lief ein signifikant großer Anteil von 73,9 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=23$) zuerst in die Kontroll-Röhrchen.

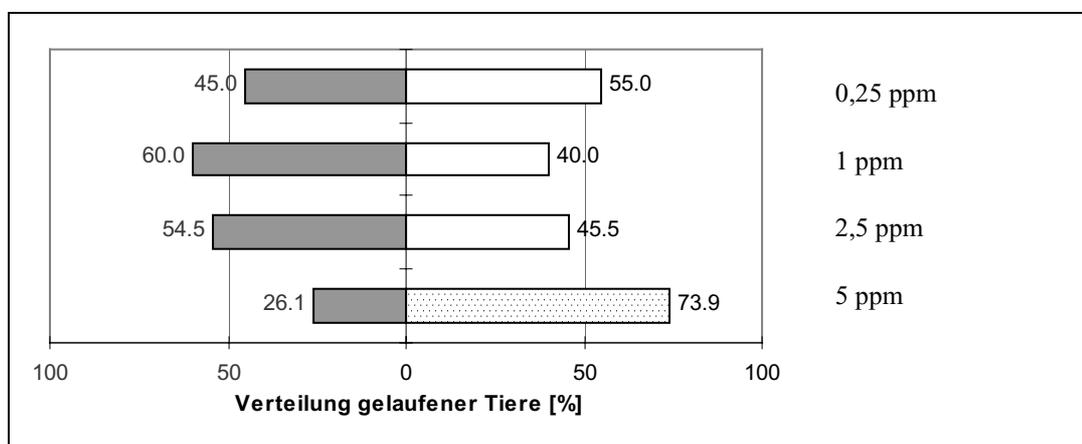


Abb. 25: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* auf ein Proben-Röhrchen (grau) und Kontroll-Röhrchen (weiß und gepunktet) im Y-Olfaktometer. Eingesetzt wurden Dimethyldisulfid (DMDS)-Lösungen in den Konzentrationen 0,25 ppm, 1 ppm, 2,5 ppm und 5 ppm gegen das Lösungsmittel Hexan. Gepunktet = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

Bei den entsprechenden Versuchen mit *D. caruanae* nahm mit zunehmender Konzentration von 0,25 ppm, 1 ppm bis 2,5 ppm der Anteil der Tiere, die diese Röhrchen zuerst aufsuchten, mit 58,3 % ($n_a=24$), 66,7 % ($n_a=24$) und 70,8 % ($n_a=24$) zu (Abb. 26). Bei 2,5 ppm war das

Aufsuchen signifikant ($\alpha_B=0,05$). Bei einer höheren Konzentration von 5 ppm hingegen bevorzugten 66,7 % ($n_a=21$) die Kontroll-Röhrchen (Abb. 26).

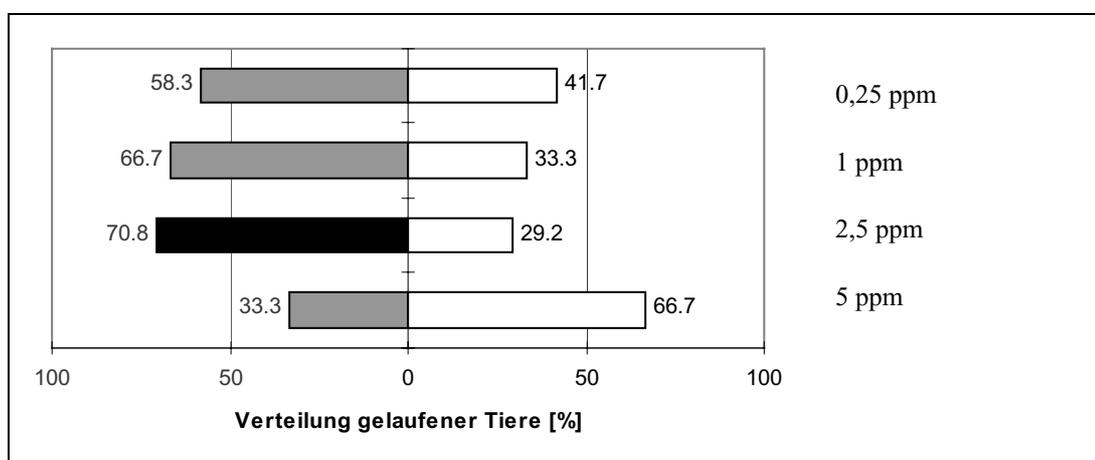


Abb. 26: Prozentuale Verteilung von *D. caruanae* auf ein Proben-Röhrchen (grau und schwarz) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im Y-Olfaktometer. Eingesetzt wurden Dimethyldisulfid (DMDS)-Lösungen in den Konzentrationen 0,25 ppm, 1 ppm, 2,5 ppm und 5 ppm gegen das Lösungsmittel Hexan. Schwarz = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

Eine Lösung mit den vier Schwefelverbindungen Dimethyldisulfid (1000 ppm) sowie Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid (je 25 ppm; vgl. 2.8.) suchten 68,0 % ($n_a=25$) der Versuchstiere, *D. reticulatum*, auf. Bei den entsprechenden Versuchen mit *D. caruanae* lief ein signifikanter Anteil von 81,0 % ($\alpha_B=0,05$, $n_a=21$) in die Proben-Röhrchen (Abb. 27).

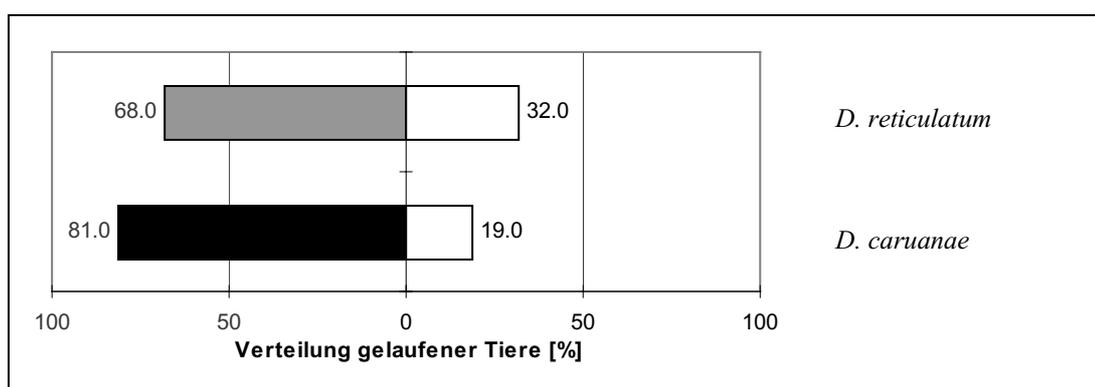


Abb. 27: Prozentuale Verteilung von *D. reticulatum* und *D. caruanae* auf ein Proben-Röhrchen (grau und schwarz) und Kontroll-Röhrchen (weiß) im Y-Olfaktometer. Eingesetzt wurde eine Lösung mit 1000 ppm Dimethyldisulfid sowie je 25 ppm Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid gegen das Lösungsmittel Hexan. Schwarz = signifikanter Anteil ($\alpha_B=0,05$), n_a s. Text.

3.3. Elektrophysiologie

Die abgeleiteten Aktionspotentiale (=Spikes) traten mit verschiedenen Amplituden auf, so daß diese in Größenklassen eingeteilt wurden. Da die Amplituden bei den einzelnen Präparationen schwankten, wurden die jeweiligen Grenzwerte der Größenklassen in mV angegeben. Die Schwankungen lassen sich auf die unterschiedliche Abdichtung des Nervenbündels gegenüber dem Außenmedium, der Ringerlösung, zurückführen.

Bei den Präparationen des olfaktorischen Nervs konnten fünf Größenklassen unterschieden werden, die vermutlich fünf Typen von Rezeptorneuronen zuzuordnen sind: a) 0,03-0,06 mV, b) 0,08-0,09 mV, c) 0,12-0,14 mV, d) 0,18-0,21 mV e) 0,26-0,31 mV (Abb. 28 a-c). Bei 64,3 % der Präparationen des olfaktorischen Nervs waren mindestens drei der Neuronentypen aktiv, bei den restlichen zwei ($n_{\text{gesamt}}=110$; davon $n=24$ in 4.3.1. aufgeführt).

Bei den Präparationen der Nerven des Mundfühlers, des Mundlappens oder des gemeinsamen Nerves konnten vier Klassen unterschieden werden: a) 0,03-0,04 mV, b) 0,06-0,08 mV, c) 0,10-0,11 mV, d) 0,14-0,17 mV. Bei 85,7 % der Präparationen waren mindestens drei Rezeptorneuronen aktiv, bei den restlichen zwei ($n_{\text{gesamt}}=21$).

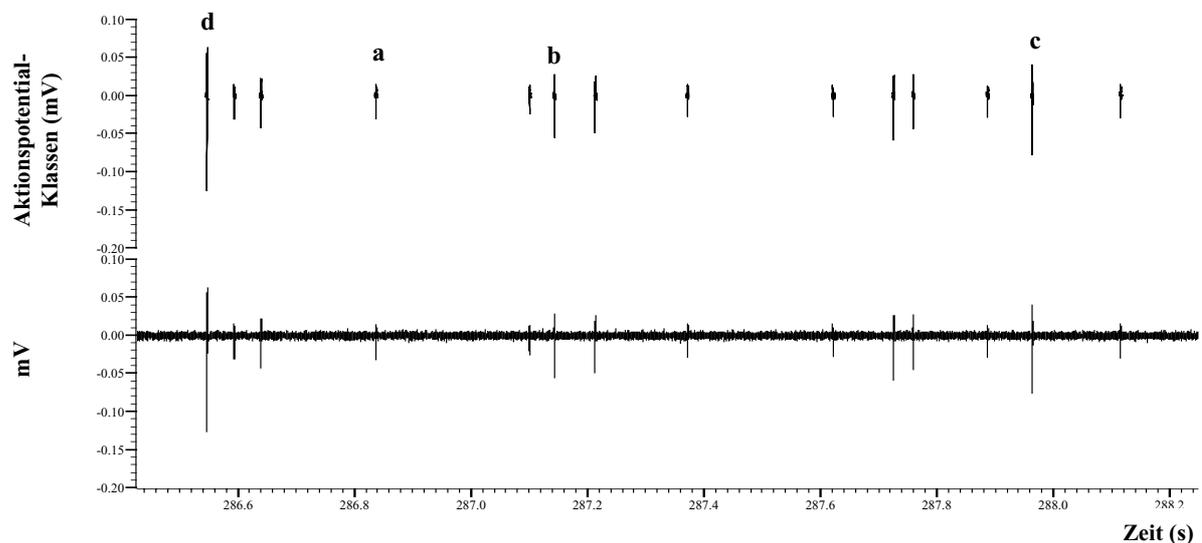


Abb. 28a: Aufzeichnung der Aktionspotentiale des olfaktorischen Nervs (unten) mit Darstellung der Spikeklassen a, b, c und d (oben) nach einem Stimulus mit unverdünntem Ethylacetat.

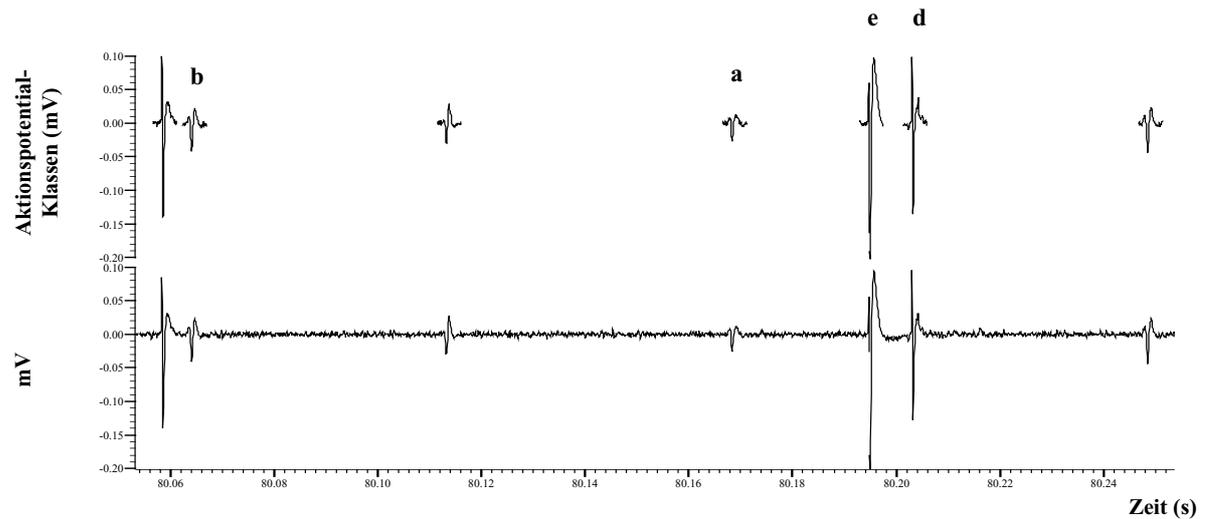


Abb. 28b: Aufzeichnung der Aktionspotentiale des olfaktorischen Nervs (unten) mit Darstellung der Spikeklassen a, b, d und e (oben) nach einem Stimulus mit unverdünntem Ethylacetat.

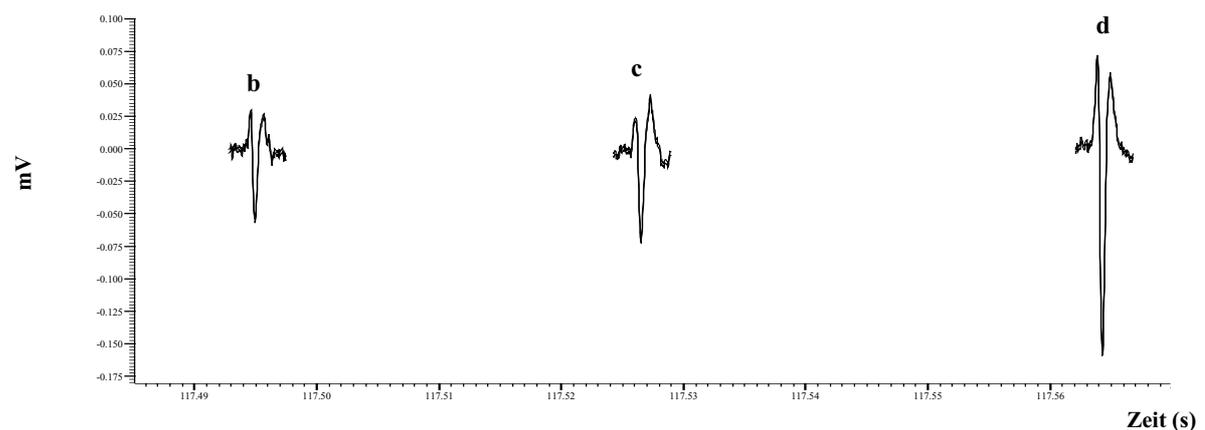


Abb. 28c: Typische Form der Spikeklassen b, c und d des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit der Probe A der Versuchsreihe 1 (Fußschleim-Kot-Gemisch).

Die spontane Spikefrequenz, also die der Prästimulusphase, betrug beim olfaktorischen Nerv durchschnittlich $0,86 \pm 0,80$ Spikes/s (0,02-3,35 Spikes/s; n=110, s.o.) und beim gemeinsamen Nerv des Mundfühlers und Mundlappens $0,42 \pm 0,35$ Spikes/s (0,03-1,03 Spikes/s; n=12). Deutlich höhere Frequenzen wurden beim Nerv des Mundfühlers ($4,40 \pm 1,26$ Spikes/s; 3,11-5,62 Spikes/s; n=3) sowie des Mundlappens ($7,19 \pm 2,69$ Spikes/s; 4,08-10,35 Spikes/s; n=9) gemessen.

3.3.1. Änderung der Frequenz und Dauer der Antwort

Die Medianwerte der relativen Frequenz und der Dauer der Antwort werden angegeben (vgl. 2.6.4.).

3.3.1.1. Reaktionen des olfaktorischen Nervs

Bei Reizgabe mit Luftströmen, die 10 s über Artgenossen geleitet wurden, konnte teilweise eine leichte Verringerung der relativen Frequenz in den ersten 10 s nach dem Stimulus (Poststimulus a) festgestellt werden (Abb. 29a). Die Medianwerte der relativen Frequenz nahmen mit steigender Tierzahl, von 10 Tieren ($n=3$) bis 20 Tieren ($n=3$), von 1,07 bis 0,68 in der Poststimulusphase a ab. Die Medianwerte bei einem Stimulus mit 30 Tieren ($n=3$) waren mit 0,69 vergleichbar mit denen bei einem Stimulus mit 20 Tieren. Nach einem Stimulus mit 10 Tieren waren die relativen Frequenzen der Poststimulusphasen a und b vergleichbar. Mit 20 Tieren und 30 Tieren war eine Verringerung der relativen Frequenz (0,88 und 0,82) in der Poststimulusphase b feststellbar.

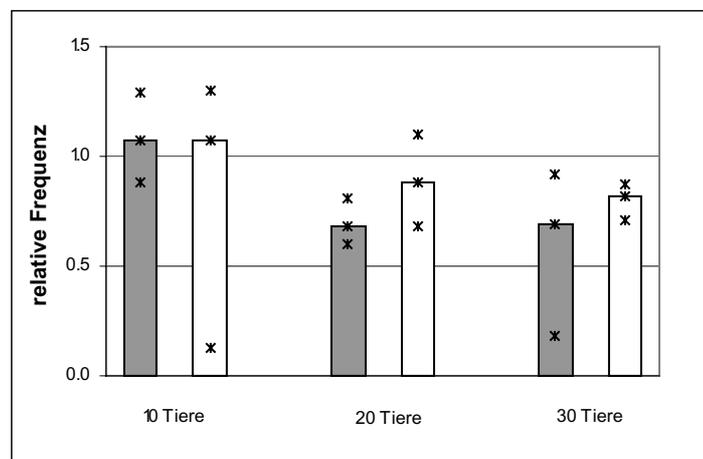


Abb. 29a: Relative Frequenz des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit unterschiedlich vielen Artgenossen in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). Balken = Medianwert, Kreuze = Einzelwerte. Keine signifikanten Unterschiede nach Kruskal und Wallis mit $\alpha=0,05$.

Die Medianwerte der Dauer der Antwort nahmen mit steigender Tierzahl von etwa 50 s bis 20 s kontinuierlich ab (Abb. 29b). Bei den Stimuli mit 10 Tieren und 20 Tieren zeigte jeweils eine Präparation eine deutliche längere Antwort (> 90 s Dauer).

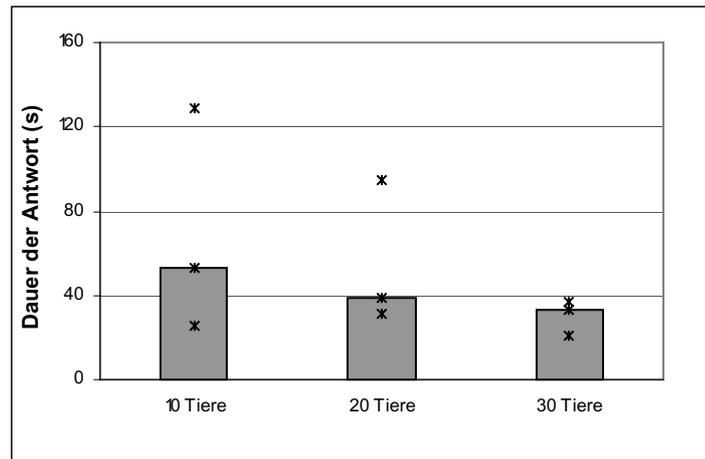


Abb. 29b: Dauer der Antwort des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit unterschiedlich vielen Artgenossen. Keine signifikanten Unterschiede nach Kruskal und Wallis mit $\alpha=0,05$. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Wurde der Luftstrom über fünf, durch Hexan zur vermehrten Schleimabgabe gereizte Tiere geleitet ($n=4$), betrug die relative Frequenz in der Poststimulusphase a 1,47 und in der Poststimulusphase b 1,96 (Abb. 30a). Die relativen Frequenzen nach dem Lösungsmittel und nach dem Stimulus unterscheiden sich in den Poststimulusphasen a und b nach Mann und Whitney mit $\alpha_{MW}=0,05$ signifikant voneinander (Tab. X, Anhang). Nach einem Stimulus mit Luftströmen, die über fünf tote Tiere geleitet wurden ($n=4$), betrug die relative Frequenz in der Poststimulusphase a 1,18 und in der Poststimulusphase b 1,17 (Abb. 30a).

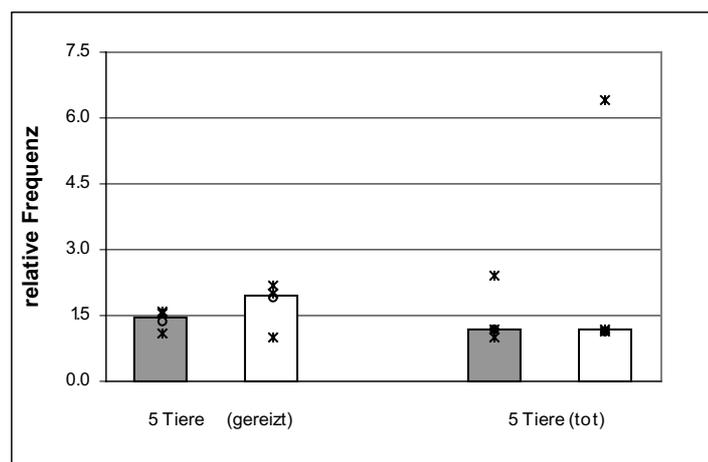


Abb. 30a: Relative Frequenz des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit Artgenossen, die mit Hexan beträufelt wurden, und toten Artgenossen in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Die Dauer der Antworten auf den Stimulus mit Tieren und Hexan variierte von 10 s bis 190 s; die Antworten auf tote Tiere dauerten 30 s bis 70 s (Abb. 30b).

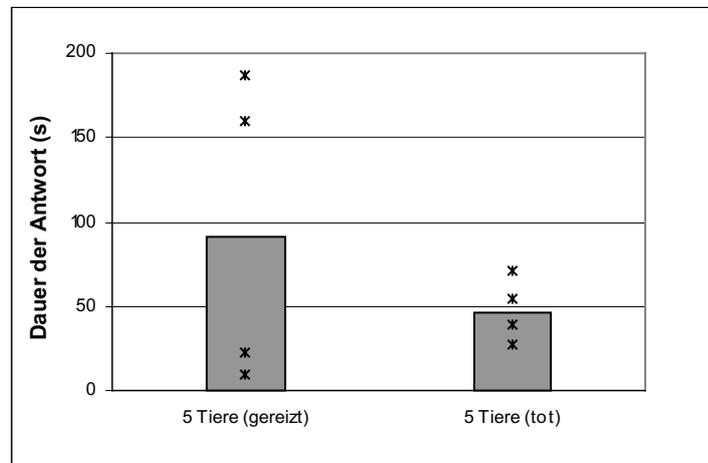


Abb. 30b: Dauer der Antwort des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit Artgenossen, die mit Hexan beträufelt wurden, und toten Artgenossen. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Die relativen Frequenzen und die Dauer der Antwort nach einem Stimulus mit den Proben A (n=7) und E (n=4) aus der Versuchsreihe 1, in der ein Fußschleim-Kot-Gemisch von mit Kohl gefütterten Tieren in der CLSA untersucht wurden (vgl. 2.3., Tab. 1, 3), sind sich ähnlich. In den Poststimulusphasen a und b betrug die relative Frequenz 1,0 bis 1,7 (Abb. 31a).

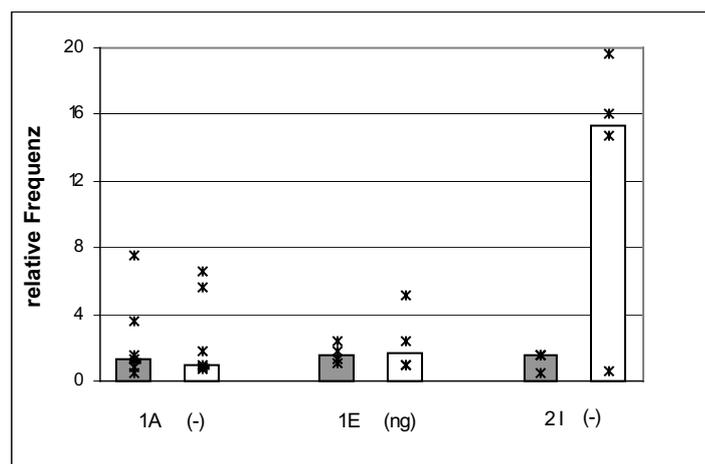


Abb. 31a: Relative Frequenz des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit den Proben A und E aus der Versuchsreihe 1 und Probe I aus der Versuchsreihe 2 (Fußschleim-Kot-Gemisch) in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). (-): gefütterte Tiere, (ng): nicht gefütterte Tiere. Keine signifikanten Unterschiede nach Kruskal und Wallis mit $\alpha=0,05$. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Insgesamt lagen bei der Probe 1 A (gewonnen von gefütterten Tieren) einzelne Werte der relativen Frequenz höher als bei der Probe 1 E (nicht gefütterte Tiere). Die Antworten auf beide Proben dauerten 12,77 s und 23,49 s (Abb. 31b).

Nach Probe I (n=4) aus der Versuchsreihe 2 (vgl. 2.3., Tab. 1, 3, Fußschleim-Kot-Gemisch) ist ein starker Anstieg der relativen Frequenz in der Poststimulusphase b auf 15,35 festzustellen (allerdings mit einer großen Schwankungsbreite der Faktoren von 0,57 bis 19,70; Abb. 31a). Die relativen Frequenzen nach dem Lösungsmittel und nach der Probe I unterscheiden sich in der Poststimulusphase b nach Mann und Whitney mit $\alpha_{\text{MW}}=0,05$ signifikant voneinander (Tab. X, Anhang).

Die Dauer der Antwort schwankte von 24,90 s bis 630,26 s (Abb. 31b). Die Dauer der Antwort nach der Probe A der Versuchsreihe 1 unterschied sich signifikant von der Dauer nach der Probe I der Versuchsreihe 2 (nach Kruskal und Wallis und anschließendem Mann-Whitney-Test mit $\alpha=0,05$; vgl. Abb. 31b).

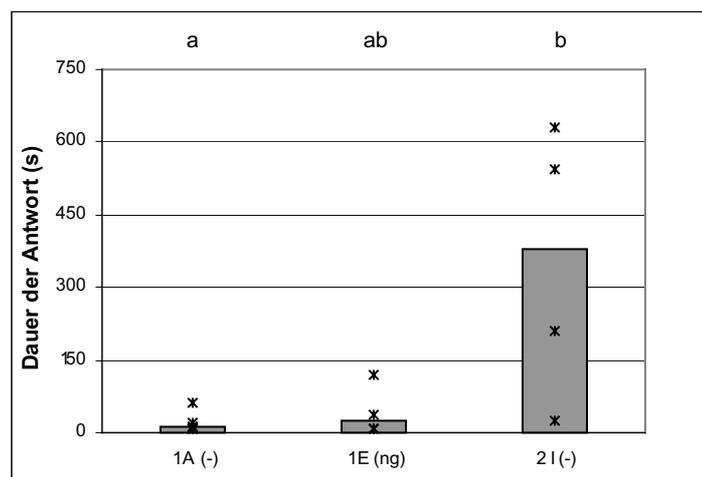


Abb. 31b: Dauer der Antwort des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit den Proben A und E der Versuchsreihe 1 und Probe I aus der Versuchsreihe 2 (Fußschleim-Kot-Gemisch). a, b: signifikante Unterschiede (nach Kruskal und Wallis mit $\alpha=0,05$, vgl. Text). Weitere Erklärungen s. Abb. 29a und 31a.

In den Abb. 32 a und b werden die Antworten auf die Probe A aus der Versuchsreihe 2 (mit Kohl gefütterte Tiere) und die Probe B aus der Versuchsreihe 3 (mit Salat gefütterte Tiere), bei denen Körperschleim in der CLSA untersucht wurde (vgl. 2.3., Tab. 1, 3), verglichen. Die Medianwerte der relativen Frequenzen der beiden Proben 2 A (n=7) und 3 B (n=3) liegen in einem vergleichbaren Bereich von 1,5 bis 2,4. Die Einzelwerte der Messungen, besonders die der Poststimulusphase a, schwankten bei der Probe 2 A von 0,09 bis 4,08. Die relativen

Frequenzen nach dem Lösungsmittel und nach der Probe 3 B unterscheiden sich in der Poststimulusphase b nach Mann und Whitney mit $\alpha_{MW}=0,05$ signifikant voneinander (Tab. X, Anhang).

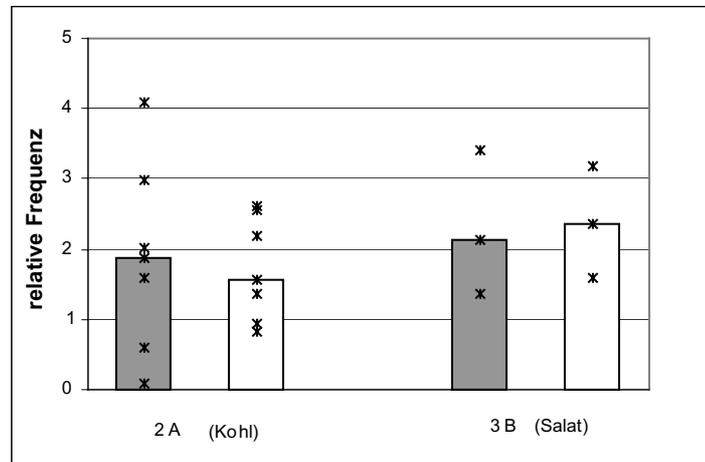


Abb. 32a: Relative Frequenz des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit der Probe A aus der Versuchsreihe 2 und Probe B aus der Versuchsreihe 3 (Körperschleim) in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). Keine signifikanten Unterschiede nach Mann und Whitney mit $\alpha=0,05$. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Die Antworten auf beide Proben dauerten etwa 40 s bis 45 s (Abb. 32 b). Auch hier schwankten die Einzelwerte stärker, besonders bei der Probe 2 A (34,02 s bis 103,56 s).

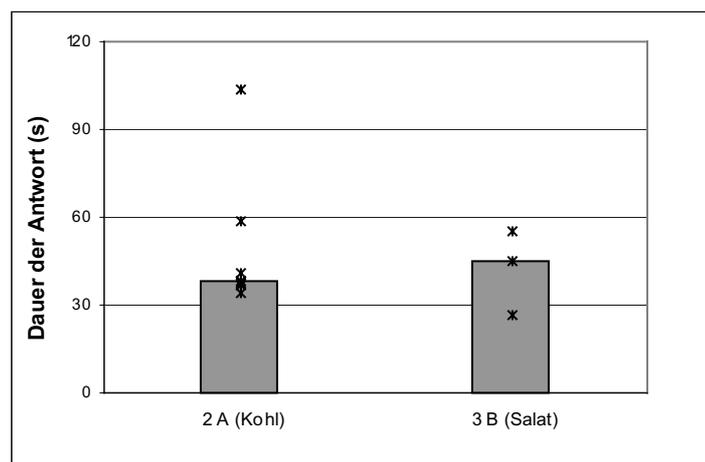


Abb. 32b: Dauer der Antwort des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit der Probe A aus der Versuchsreihe 2 und Probe B aus der Versuchsreihe 3 (Körperschleim). Keine signifikanten Unterschiede nach Mann und Whitney mit $\alpha=0,05$. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

In den Abb. 33 a und b werden die Antworten auf die Probe E aus der Versuchsreihe 2 (mit Kohl gefütterte Tiere) und die Probe F aus der Versuchsreihe 3 (mit Salat gefütterte Tiere), bei denen jeweils Kot in der CLSA untersucht wurde (vgl. 2.3., Tab. 1, 3), verglichen. Die Medianwerte der relativen Frequenzen der Probe 2 E (n=6) und 3 F (n=3) liegen in einem Bereich von 1,9 bis 2,7 (Abb. 33 a).

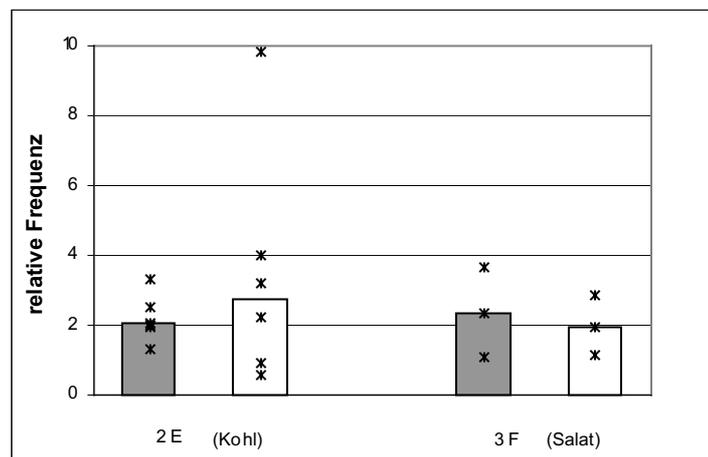


Abb. 33a: Relative Frequenz des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit der Probe E aus der Versuchsreihe 2 und Probe F aus der Versuchsreihe 3 (Kot) in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). Keine signifikanten Unterschiede nach Mann und Whitney mit $\alpha=0,05$. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Die relativen Frequenzen nach dem Lösungsmittel und nach der Probe 2 E unterscheiden sich in den Poststimulusphasen a und b signifikant voneinander, nach der Probe 3 F unterscheiden sie sich nur in der Poststimulusphase b signifikant voneinander (jeweils nach Mann und Whitney mit $\alpha_{MW}=0,05$; Tab. X, Anhang). Bei der Probe 2 E fällt die starke Schwankung der relativen Frequenzen in der Poststimulusphase b auf (0,59 bis 9,84). Die Antworten auf die Probe 2 E dauerten bis zu 500 s, die auf Probe 3 F nur bis zu 70 s (Abb. 33 b).

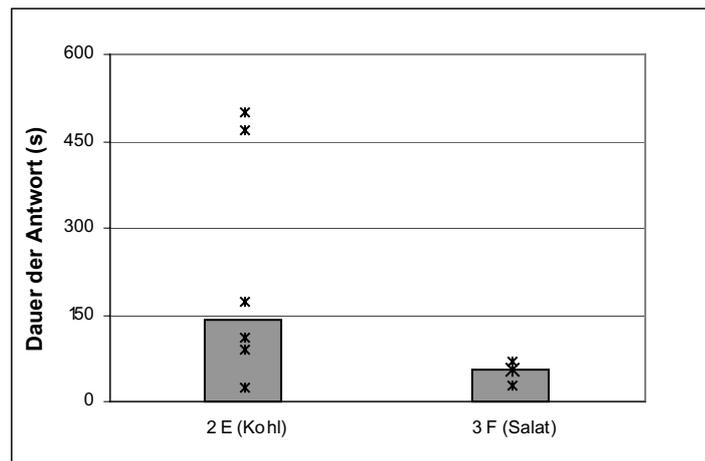


Abb. 33b: Dauer der Antwort des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit der Probe E aus der Versuchsreihe 2 und Probe F aus der Versuchsreihe 3 (Kot). Keine signifikanten Unterschiede nach Mann und Whitney mit $\alpha=0,05$. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Dimethyldisulfid wurde in drei verschiedenen Konzentrationsstufen (2,5 ppm, 25 ppm und 250 ppm), Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid sowie Methylpropyldisulfid jeweils in der Konzentration 250 ppm als Stimulus gegeben (Abb. 34a). Die relative Frequenz betrug in der Poststimulusphase a nach 25 ppm Dimethyldisulfid ($n=3$) und 250 ppm Dimethyldisulfid ($n=3$) 9,72 und 8,03, während sie nach 2,5 ppm Dimethyldisulfid ($n=4$) mit 3,23 deutlich niedriger war (Abb. 34a). In der Poststimulusphase b wurde die höchste relative Frequenz nach 25 ppm Dimethyldisulfid ermittelt (4,51). Die relativen Frequenzen nach dem Lösungsmittel und nach 25 ppm unterscheiden sich in der Poststimulusphase a sowie nach 250 ppm in den Poststimulusphasen a und b signifikant voneinander (jeweils nach Mann und Whitney mit $\alpha_{MW}=0,05$; Tab. X, Anhang). Das gilt auch nach verdünntem Dipropyldisulfid in der Poststimulusphase a und nach verdünntem Methylpropyldisulfid in den Poststimulusphasen a und b (jeweils nach Mann und Whitney mit $\alpha_{MW}=0,05$; Tab. X, Anhang).

Insgesamt reagierten die olfaktorischen Nerven mit einer geringeren relativen Frequenz auf Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid (jeweils 250 ppm) als auf 25 ppm und 250 ppm Dimethyldisulfid. Die relativen Frequenzen lagen bei Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid in der Poststimulusphase a zwischen 1,29 und 5,05 und in der Poststimulusphase b zwischen 1,0 und 3,0.

Ein Vergleich der relativen Frequenzen (jeweils für die gleichen Zeiträume) ergab, daß sich die Antworten auf 25 ppm und 250 ppm Dimethyldisulfid in der Poststimulusphase a signifikant von den Antworten auf alle anderen Substanzen unterscheiden (nach Kruskal und Wallis und anschließendem Mann-Whitney-Test mit $\alpha=0,05$). Das gilt auch für die relativen Frequenzen nach 250 ppm Dimethyltrisulfid, die sich - mit Ausnahme der Antwort nach 2,5 ppm Dimethyldisulfid - von denen der anderen Substanzen signifikant unterscheiden (Bedingungen s.o.; vgl. Abb. 34a).

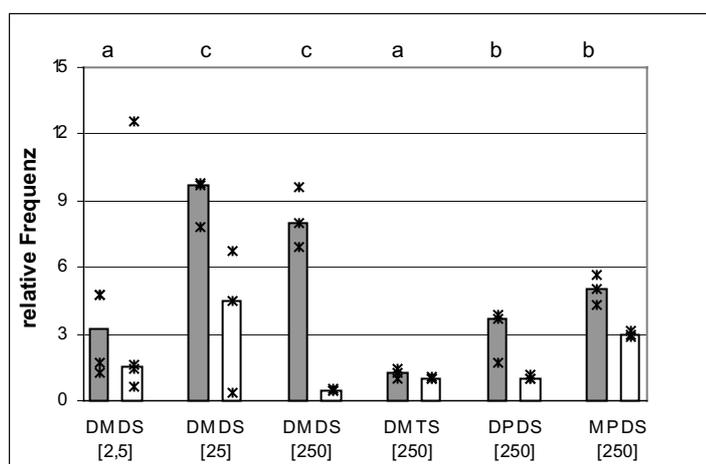


Abb. 34a: Relative Frequenz des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit Dimethyldisulfid (DMDS; 2,5 ppm, 25 ppm und 250 ppm) sowie mit je 250 ppm Dimethyltrisulfid (DMTS), Dipropylsulfid (DPDS) und Methylpropylsulfid (MPDS) in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). a, b, c: signifikante Unterschiede der relativen Frequenzen in der Poststimulusphase a (nach Kruskal und Wallis mit $\alpha=0,05$, vgl. Text). Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Die Medianwerte der Dauer der Antworten liegen außer bei dem verdünnten Methylpropylsulfid in einem Bereich von 10 s bis 25 s (Abb. 34b). Eine Präparation reagierte auf einen Stimulus mit 2,5 ppm Dimethyldisulfid auffallend lang (751,16 s). Auf verdünntes Methylpropylsulfid reagierten die Nerven etwa 110 s.

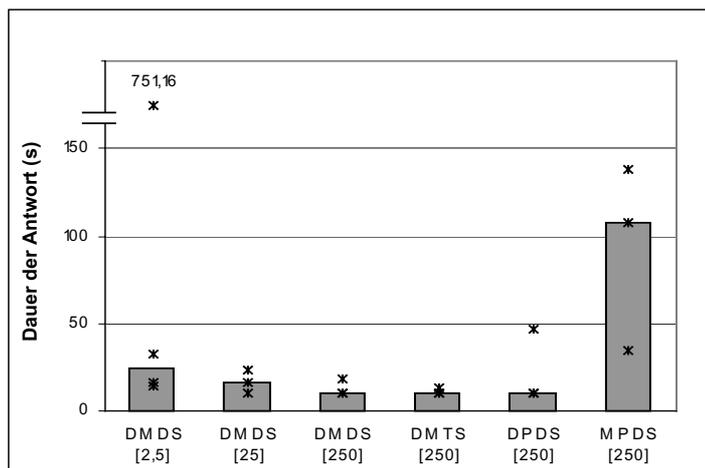


Abb. 34b: Dauer der Antwort des olfaktorischen Nerven nach einem Stimulus mit Dimethyldisulfid (DMDS; 2,5 ppm, 25 ppm und 250 ppm) sowie mit je 250 ppm Dimethyltrisulfid (DMTS), Dipropylidisulfid (DPDS) und Methylpropylidisulfid (MPDS). Keine signifikanten Unterschiede nach Kruskal und Wallis mit $\alpha=0,05$. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Die schwefelhaltigen Verbindungen Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dimethylsulfoxid, Benzothiazol und Methylthiosulfat wurden unverdünnt als Reiz gegeben. Bei Reizgabe von Dimethyltrisulfid, Benzothiazol und Methylthiosulfat (jeweils $n=3$) lagen die relativen Frequenzen in der Poststimulusphase a im Bereich von 1,04 bis 3,90 und in der Poststimulusphase b im Bereich von 1,05 und 2,14 (Abb. 35a). Nach Dimethylsulfoxid ($n=4$) war die relative Frequenz in beiden Phasen gleich (1,0). Nach Dimethyldisulfid betrug sie in der Poststimulusphase a 10,40 und in der Poststimulusphase b 3,1.

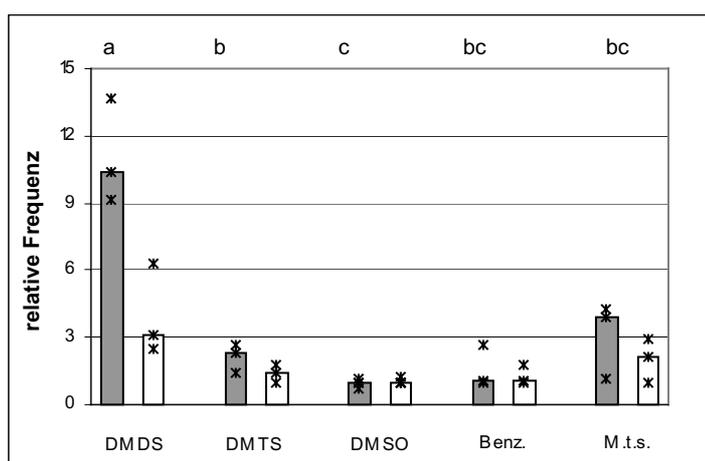


Abb. 35a: Relative Frequenz des olfaktorischen Nerven nach einem Stimulus mit unverdünntem Dimethyldisulfid (DMDS), Dimethyltrisulfid (DMTS), Dimethylsulfoxid (DMSO), Benzothiazol (Benz.) und Methylthiosulfat (M.t.s.) in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). a, b, c: signifikante Unterschiede der relativen Frequenzen in der Poststimulusphase a (nach Kruskal und Wallis mit $\alpha=0,05$, vgl. Text). Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Die absoluten Frequenzen in der Prästimulusphase und in den Poststimulusphasen a und b nach einem Stimulus mit Dimethyldisulfid unterscheiden sich jeweils signifikant voneinander (nach Mann und Whitney mit $\alpha_{\text{MW}}=0,05$; Tab. IX, Anhang). Ein Vergleich der relativen Frequenzen nach einem Stimulus mit diesen fünf Substanzen (jeweils für die gleichen Zeiträume) zeigt, daß sich die Antworten auf Dimethyldisulfid in der Poststimulusphase a signifikant von den Antworten auf alle anderen Substanzen unterscheiden (nach Kruskal und Wallis und anschließendem Mann-Whitney-Test mit $\alpha=0,05$). Außerdem unterscheiden sich die relativen Frequenzen der Poststimulusphase a nach Dimethyltrisulfid und Dimethylsulfoxid signifikant voneinander (nach Kruskal und Wallis und anschließendem Mann-Whitney-Test mit $\alpha=0,05$; vgl. Abb. 35a).

Die Antworten auf Dimethyltrisulfid, Dimethylsulfoxid, Benzothiazol und Methylthiosulfat dauerten etwa 10 s bis 24 s (Abb. 35b). Dimethyldisulfid bewirkte eine deutlich längere Antwort (ca. 150 s).

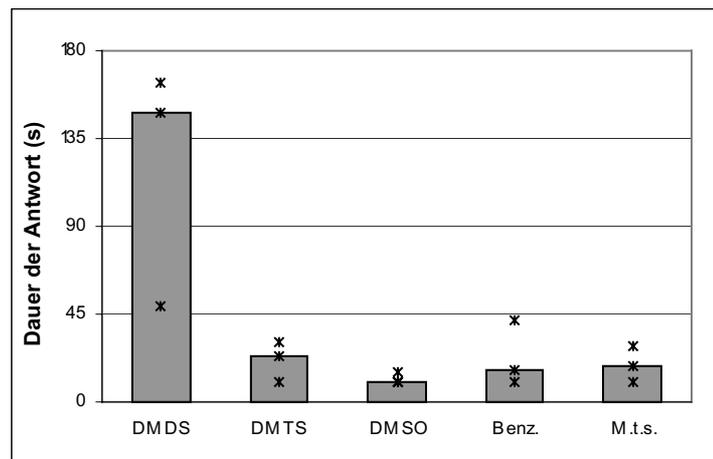


Abb. 35b: Dauer der Antwort des olfaktorischen Nervs nach einem Stimulus mit unverdünntem Dimethyldisulfid (DMDS), Dimethyltrisulfid (DMTS), Dimethylsulfoxid (DMSO), Benzothiazol (Benz.) und Methylthiosulfat (M.t.s.). Keine signifikanten Unterschiede nach Kruskal und Wallis mit $\alpha=0,05$. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

3.3.1.2. Reaktionen der Nerven des Mundfühlers und Mundlappens

Die Nerven des Mundfühlers (n=3) und die Nerven des Mundlappens (n=2) reagierten auf 250 ppm Dimethyldisulfid mit einer vergleichbaren relativen Frequenz (Abb. 36a). In der Poststimulusphase a lagen die Werte im Bereich von 1,0 bis 1,6 und in der Poststimulusphase b im Bereich von 0,95 bis 1,05. Die Unterschiede zwischen den relativen Frequenzen nach dem Lösungsmittel und nach dem Stimulus bei den Nerven des Mundfühlers waren in der Poststimulusphase a signifikant (nach Mann und Whitney mit $\alpha_{MW}=0,05$; Tab. X, Anhang).

Nach unverdünntem Dimethyldisulfid betrug die relative Frequenz der Nervenpräparation des Mundlappens (n=2) in der Poststimulusphase a 1,91 und in der Poststimulusphase b 1,21. Die Antworten dauerten unterschiedlich lange (Abb. 36b). Der Nerv des Mundfühlers reagierte 23,90 s und der Nerv des Mundlappens 305,53 s lang auf den Reiz mit 250 ppm. Die unverdünnte Lösung bewirkte beim Nerv des Mundlappens eine kürzere Dauer der Antwort (208,88 s).

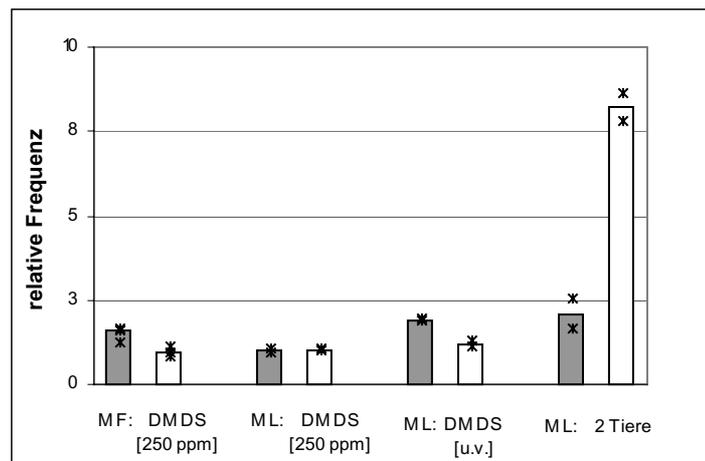


Abb. 36a: Relative Frequenz der Nerven des Mundfühlers (MF) und Mundlappens (ML) nach einem Stimulus mit verdünntem (250 ppm) und unverdünntem (u.v.) Dimethyldisulfid (DMDS) und Artgenossen in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Wurden zwei Tiere als Probe verwendet, reagierte der Nerv des Mundlappens (n=2) relativ kurz (11,95 s), die relative Frequenz war aber in der Poststimulusphase b sehr hoch (Abb. 36 a, b). Die relative Frequenz betrug in der Poststimulusphase a 2,10 und in der Poststimulusphase b 8,22.

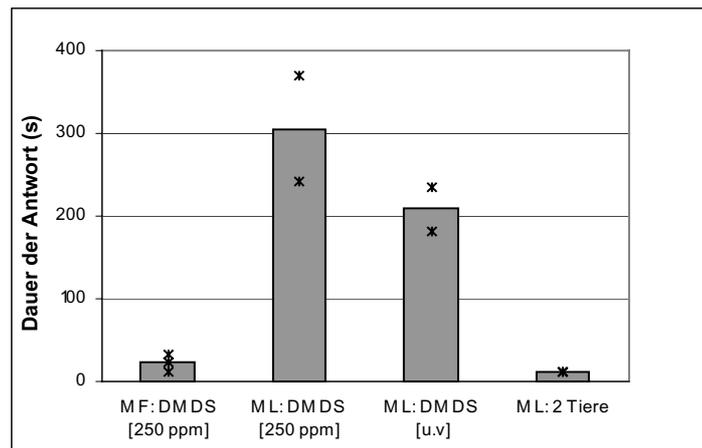


Abb. 36b: Dauer der Antwort der Nerven des Mundfühlers (MF) und Mundlappens (ML) nach einem Stimulus mit verdünntem (250 ppm) und unverdünntem (u.v.) Dimethylsulfid (DMDS) und Artgenossen. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Die Präparationen des gemeinsamen Nervenbündels von Mundfühler und Mundlappen reagierten auf die Proben B und F aus der Versuchsreihe 1, in der ein Fußschleim-Kot-Gemisch von mit Kohl gefütterten Tieren in der CLSA untersucht wurde (vgl. 2.3., Tab. 1, 3), mit einer hohen relativen Frequenz (Abb. 37a). In der Poststimulusphase a betrug die relative Frequenz nach Probe B (n=3) 4,69, nach Probe F (n=3) 6,01 und in der Poststimulusphase b 1,96 (B) und 1,44 (F). Die Unterschiede zwischen den relativen Frequenzen nach dem Lösungsmittel und nach beiden Proben waren in der Poststimulusphase a signifikant (nach Mann und Whitney mit $\alpha_{MW}=0,05$; Tab. X, Anhang).

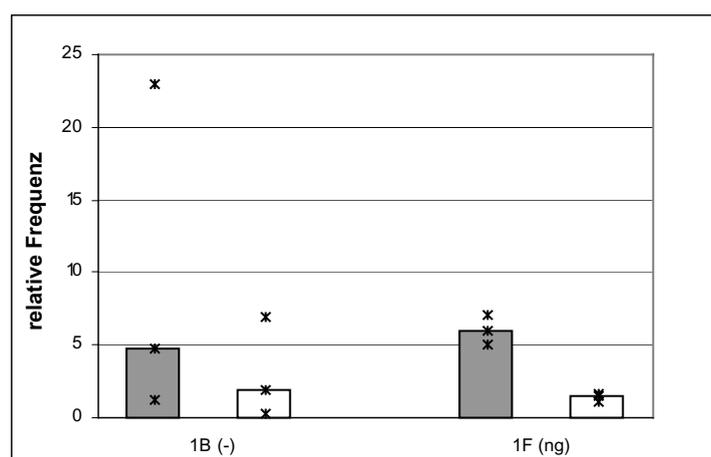


Abb. 37a: Relative Frequenz des gemeinsamen Nervs von Mundfühler und Mundlappen, nach einem Stimulus mit den Proben B und F aus der Versuchsreihe 1 (Fußschleim-Kot-Gemisch) in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). (-): gefütterte Tiere, (ng): nicht gefütterte Tiere. Keine signifikanten Unterschiede nach Mann und Whitney mit $\alpha=0,05$. Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

Die Präparationen reagierten nach der Probe F mit 31,29 s etwa doppelt so lange wie nach der Probe B mit 14,89 s (signifikanter Unterschied nach Mann und Whitney mit $\alpha=0,05$; vgl. Abb. 37b).

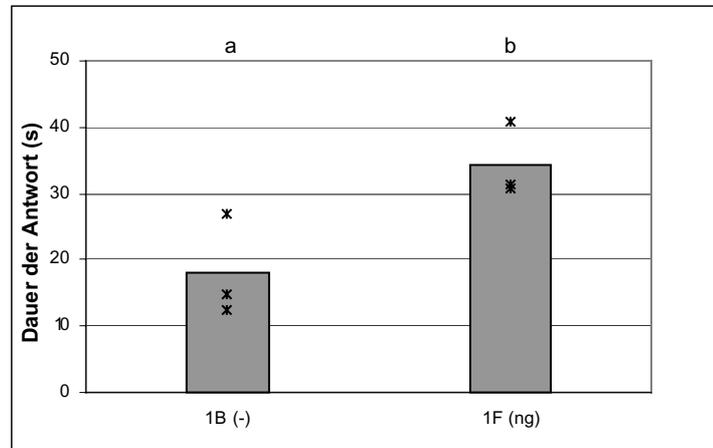


Abb. 37b: Dauer der Antwort des gemeinsamen Nervs von Mundfühler und Mundlappen nach einem Stimulus mit den Proben B und F aus der Versuchsreihe 1 (Fußschleim-Kot-Gemisch). a, b: signifikante Unterschiede (nach Mann und Whitney mit $\alpha=0,05$, vgl. Text). Weitere Erklärungen s. Abb. 29a und 37a.

Die Präparationen des gemeinsamen Nervenbündels von Mundfühler und Mundlappen reagierten auf die Probe B und Probe F aus der Versuchsreihe 3, in der Körperschleim (B) und Kot (F) von mit Salat gefütterten Tieren in der CLSA untersucht wurde (vgl. 2.3., Tab. 1, 3), mit einer hohen relativen Frequenz (Abb. 38a; jeweils $n=2$). In der Poststimulusphase a betrug die relative Frequenz 2,26 (B) und 3,93 (F) und in der Poststimulusphase b 6,14 (B) und 30,65 (F). Die Antworten dauerten 28,26 s und 19,39 s (Abb. 38b). Nach unverdünntem Dimethyldisulfid ($n=2$) war die relative Frequenz in der Poststimulusphase a extrem hoch (61,38); sie fiel in der Poststimulusphase b auf 9,17 ab (Abb. 38a). Die beiden Messungen unterschieden sich jedoch stark, in der Poststimulusphase a wurden relative Frequenzen von 11,76 und 111,00 bestimmt. Die Dauer der Antworten betrug 10,0 s und 75,59 s (Abb. 38b).

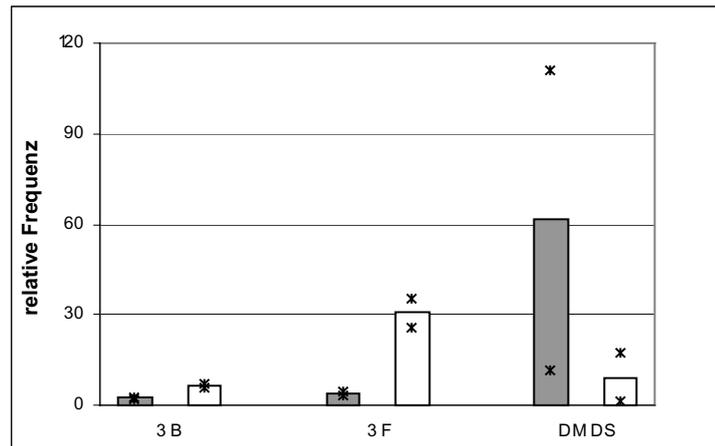


Abb. 38a: Relative Frequenz des gemeinsamen Nervs von Mundfühler und Mundlappen nach einem Stimulus mit den Proben B (Körperschleim) und F (Kot) aus der Versuchsreihe 3 und unverdünntem Dimethyldisulfid (DMDS) in den Phasen Poststimulus a (grauer Balken) und b (weißer Balken). Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

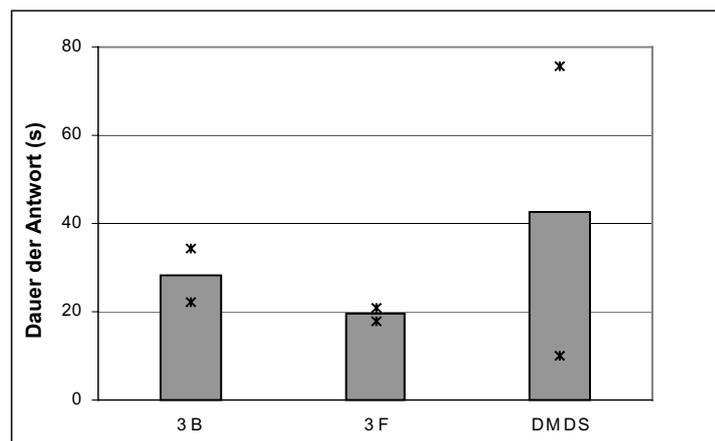


Abb. 38b: Dauer der Antwort des gemeinsamen Nervs von Mundfühler und Mundlappen nach einem Stimulus mit den Proben B (Körperschleim) und F (Kot) aus der Versuchsreihe 3 und unverdünntem Dimethyldisulfid (DMDS). Weitere Erklärungen s. Abb. 29a.

3.3.2. Art der Antwort

Die Präparationen reagierten entweder mit einer Zu- oder Abnahme der absoluten Frequenz oder zeigten mit einer unveränderten Frequenz offenbar keine Reaktion auf die Testsubstanz. Bei einer Zunahme, die häufig sehr schnell in der Poststimulusphase a erfolgt (Ausnahme Typ c; s.u.) und sich bis zum Beginn der Poststimulusphase b erstrecken kann, läßt sich die Antwort in der Poststimulusphase b (das Abfallen der erhöhten Frequenz zurück auf das Niveau der Prästimulusphase) vier verschiedenen Grundtypen (A-D) zuordnen:

Typ A: Die absolute Frequenz nimmt nach einem Maximum kontinuierlich ab (Abb. 39).

Typ B: Nach einer Erhöhung fällt die absolute Frequenz ab, nimmt zu und dann wieder ab. Während der gesamten Antwort bleibt das Frequenzniveau über dem der Prästimulusphase (Abb. 40).

Typ C: Erst am Ende der Antwort ist ein deutliches Maximum zu sehen (= verzögerte Antwort) (Abb. 41). Die absolute Frequenz im Zeitraum zwischen Stimulus und Maximum kann über der der Prästimulusphase liegen oder unverändert sein. Häufig erscheinen nach dem Maximum zunächst keine Aktionspotentiale mehr. Im Unterschied zu Typ D tritt keine zweite Erhöhung auf.

Typ D: Nach einem ersten Frequenzanstieg in der Poststimulusphase a oder b folgt ein Zeitraum, in der die Frequenz etwa dem Niveau der Prästimulusphase entsprechen kann (Abb. 42) oder gar keine Aktionspotentiale vorliegen (Abb. 43). Das Ende dieser Antworten wird für die Auswertung direkt hinter den ersten Frequenzanstieg gesetzt. Häufig tritt nach diesem Zeitraum ein weiterer, meist geringerer Frequenzanstieg auf.

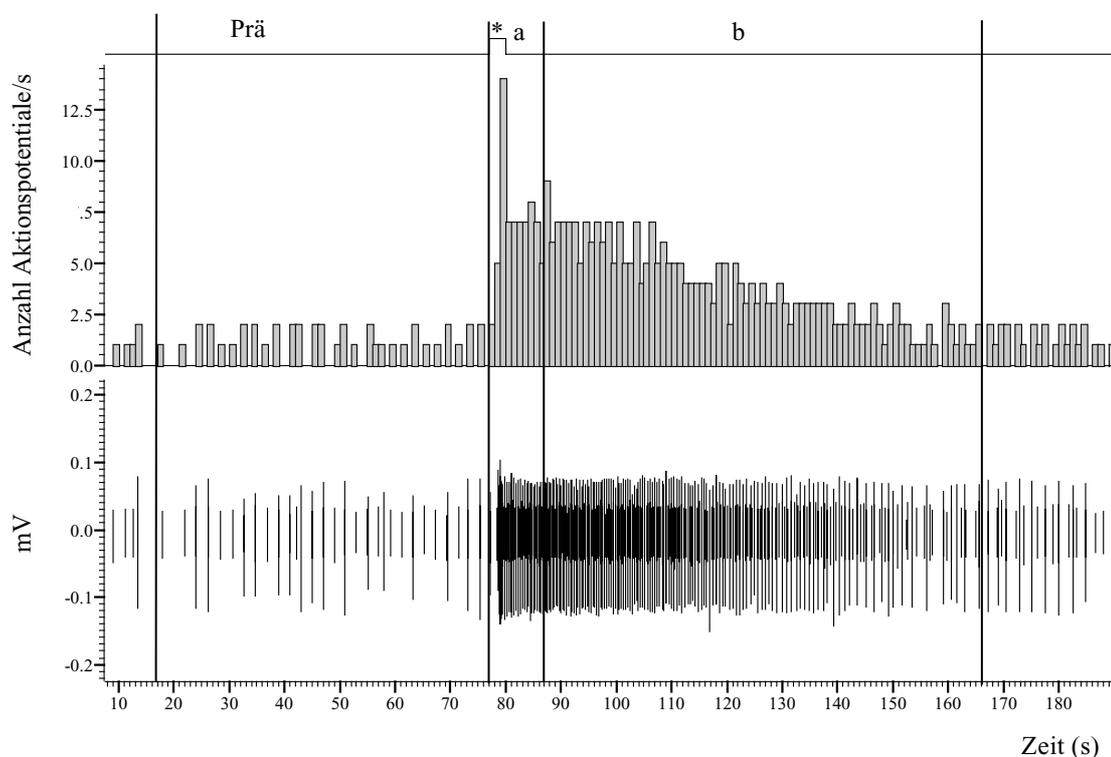


Abb. 39: Antwort des Typs A: Einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben) nach einem Stimulus eines olfaktorischen Nervs mit der Probe K der Versuchsreihe 2 (Fußschleim-Kot-Gemisch). Man beachte die kontinuierliche Frequenzabnahme in der Poststimulusphase b. Prä = Prästimulusphase; a = Poststimulusphase a; b = Poststimulusphase b; * = Reizgabe.

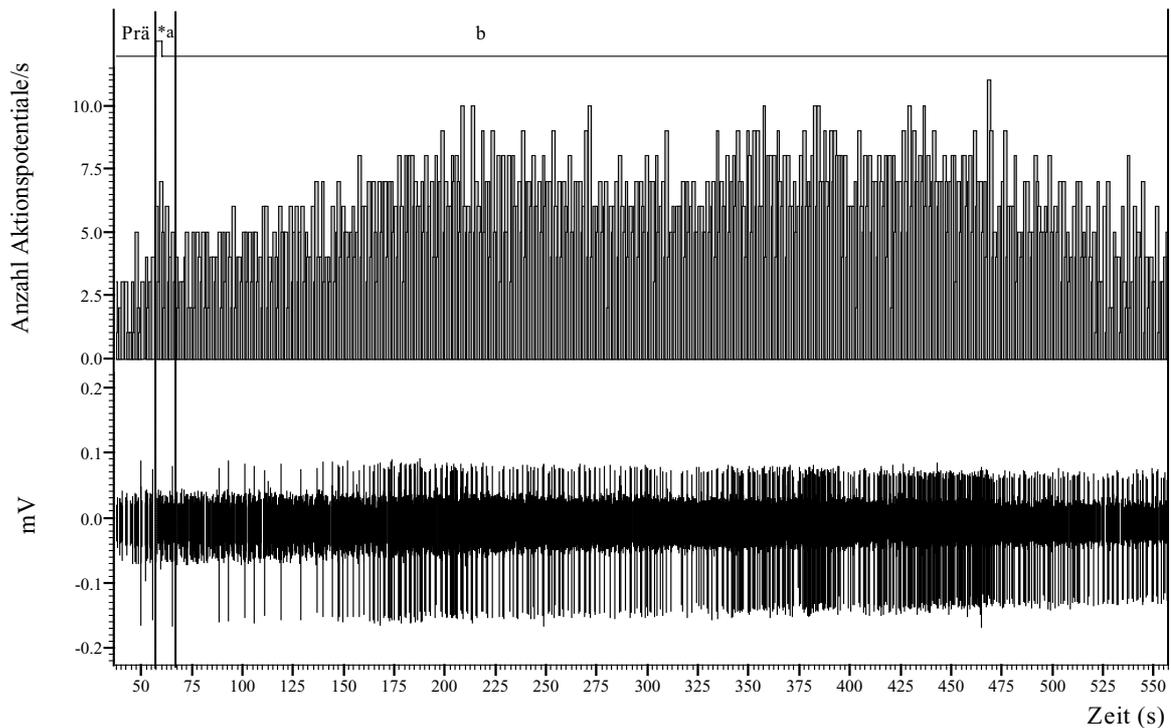


Abb. 40: Antwort des Typs B: Einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben) nach einem Stimulus eines olfaktorischen Nervs mit der Probe E der Versuchsreihe 2 (Kot). Man beachte, daß nach der Erhöhung in der Poststimulusphase a die Frequenz abnimmt und in der Poststimulusphase b erneut zu- und dann wieder abnimmt. * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

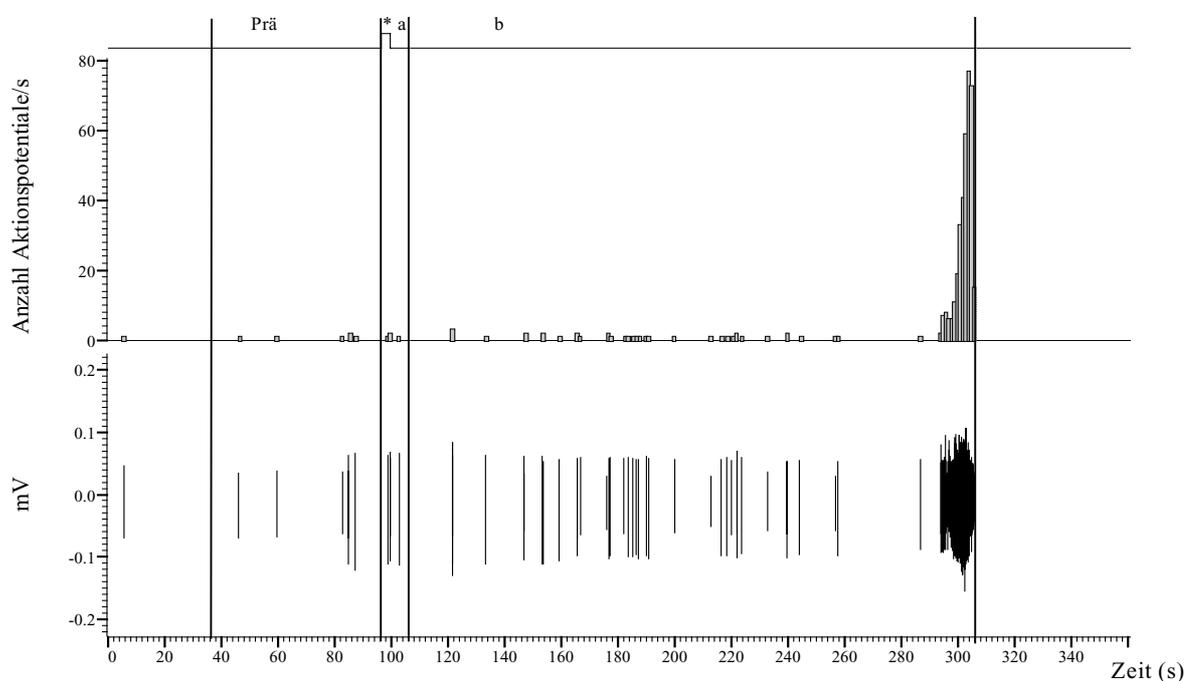


Abb. 41: Antwort des Typs C: Einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben) nach einem Stimulus eines olfaktorischen Nervs mit der Probe M der Versuchsreihe 2 (Fußschleim-Kot-Gemisch). Man beachte das Maximum am Ende der Poststimulusphase b, die gegenüber der Prästimulusphase kaum geänderte Frequenz zwischen Stimulus und Maximum und die fehlende Aktivität nach dem Maximum. * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

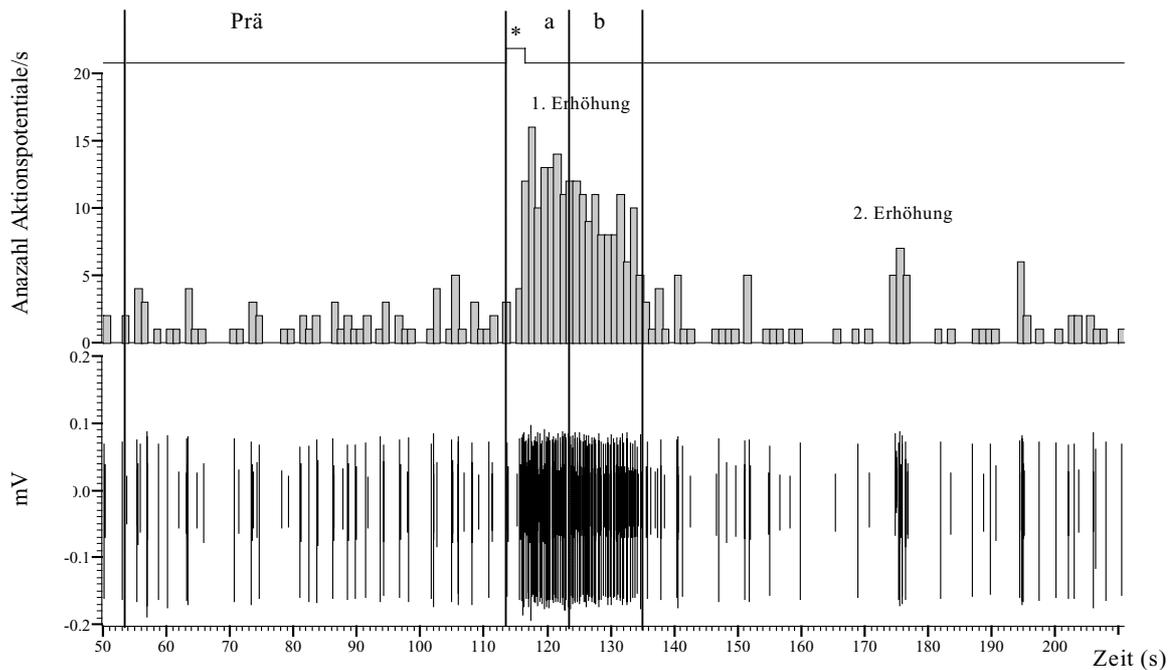


Abb. 42: Antwort des Typs D: Einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben) nach einem Stimulus eines olfaktorischen Nerven mit der Probe A der Versuchsreihe 1 (Fußschleim-Kot-Gemisch). Man beachte die erste Frequenzerhöhung in den Poststimulusphasen a und b und die zweite, geringere Erhöhung bei 175 s. * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

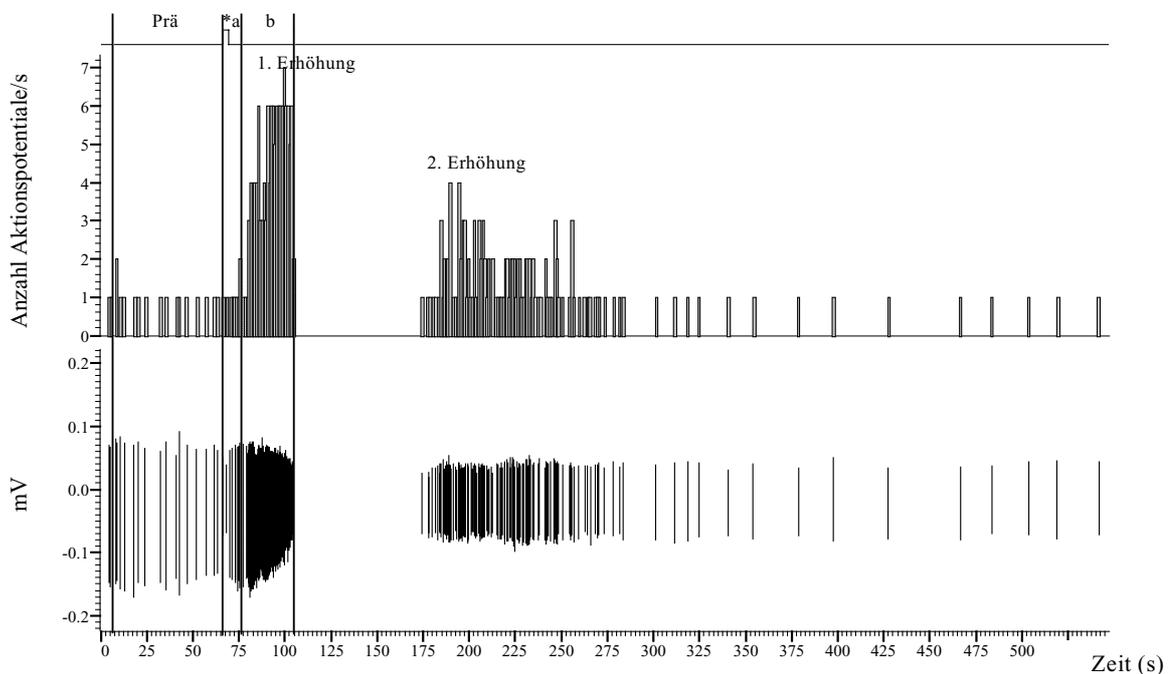


Abb. 43: Antwort des Typs D: Einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben) nach einem Stimulus eines olfaktorischen Nerven mit der Probe A der Versuchsreihe 1 (Fußschleim-Kot-Gemisch). Man beachte die erste Frequenzerhöhung und die Verringerung der Amplitude einer Größenklasse in der Poststimulusphase b, die fehlende Aktivität zwischen den beiden Erhöhungen und die zweite, geringere Erhöhung bei 180-210 s. * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

Bei den Typen A und B kommen im Gegensatz zu den Typen C und D keine deutlichen Pausen ohne meßbare Neuronenaktivität vor. Bei einer sehr starken und schnellen Erhöhung der Frequenz (wie bei C und D) kann in diesem Zeitraum häufig eine Verringerung der Amplitudenhöhe einer Größenklasse von Aktionspotentialen beobachtet werden (wie bei Abb. 43).

3.3.2.1. Reaktionen des olfaktorischen Nervs

Durch einen Stimulus mit Luftströmen, die über Artgenossen geleitet wurden, reagierten alle Präparationen (n=9) mit einer Verringerung der absoluten Frequenz. Diese Abnahme erfolgte entweder sofort nach Reizgabe (Abb. 44) - daraufhin konnte sich die Frequenz wieder leicht erhöhen (vgl. relative Frequenz, 3.3.1.1., Abb. 29a), oder die Abnahme trat leicht verzögert auf (Abb. 45). Für die Aufzeichnung der Abb. 45 wurden 10 Tiere für ca. 12 h in der Proben-spritze gelassen und der Luftstrom 3 s über die Spritze geleitet. Diese Antwort wurde aufgrund der geänderten Parameter nicht zur Auswertung herangezogen (vgl. 3.3.1.1., Abb. 29a).

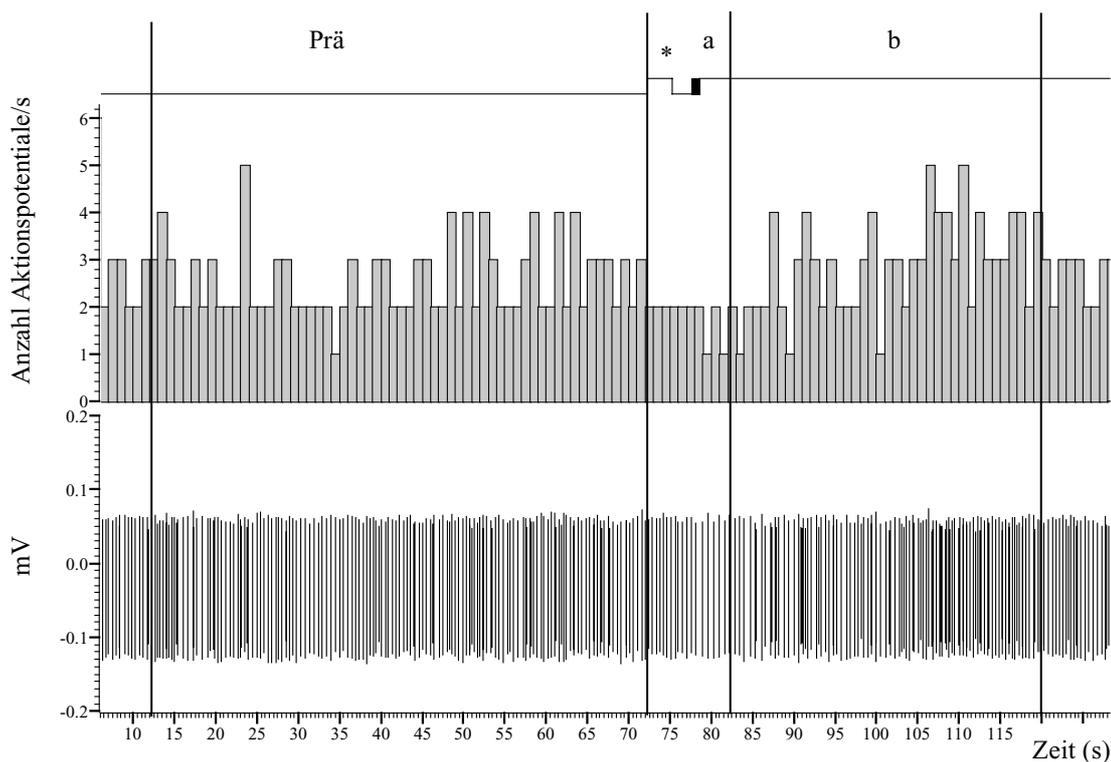


Abb. 44: Antwort mit einer Verringerung der absoluten Frequenz in der Poststimulusphase a und einer leichten Erhöhung der Frequenz in der Poststimulusphase b; einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben) nach einem Stimulus mit Artgenossen (20 Tiere, Reizdauer 6 s). * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

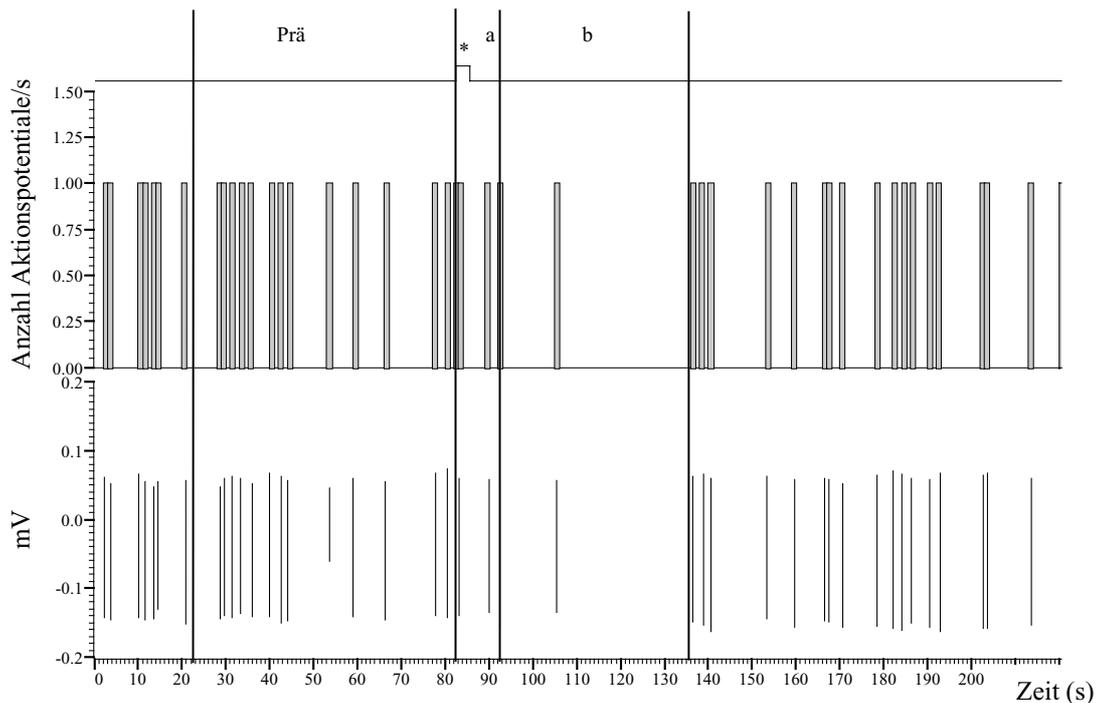


Abb. 45: Antwort mit einer Verringerung der absoluten Frequenz in der Poststimulusphase b; einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben) nach einem Stimulus mit Artgenossen (10 Tiere, Reizdauer 3 s). * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

Wurde der Luftstrom über fünf, mit Hexan beträufelte Tiere ($n=4$) oder über fünf tote Tiere geleitet ($n=4$), ergaben sich Antworten des Typs A (vgl. Abb. 39, Tab. 17).

Die Proben A und E aus der Versuchsreihe 1 und Probe I aus der Versuchsreihe 2, in denen Fußschleim und Kot von mit Kohl gefütterten Tieren als Gemisch in der CLSA untersucht wurden (vgl. 2.3., Tab. 1, 3), führten zu acht Antworten des Typs A (vgl. Abb. 39), vier Antworten des Typs C (vgl. Abb. 41) und drei Antworten des Typs D (vgl. Abb. 42, Tab. 17).

Nach einem Stimulus mit der Probe A aus der Versuchsreihe 2 und der Probe B aus der Versuchsreihe 3, in denen Körperschleim von mit Kohl (Reihe 2) und Salat (Reihe 3) gefütterten Tieren in der CLSA untersucht wurde (vgl. 2.3., Tab. 1, 3), reagierten sechs Präparationen mit Antworten des Typs A (vgl. Abb. 39) und vier mit Antworten des Typs D (vgl. Abb. 43, Tab. 17).

Die Probe E aus der Versuchsreihe 2 und Probe F der Versuchsreihe 3, in denen Kot von mit Kohl (Reihe 2) und Salat (Reihe 3) gefütterten Tieren in der CLSA untersucht wurden (vgl. 2.3., Tab. 1, 3), führte zu sechs Antworten des Typs A (vgl. Abb. 39) und zu drei des Typs B (vgl. Abb. 40, Tab. 17).

Verdünntes Dimethyldisulfid (2,5 ppm, 25 ppm, 250 ppm) bewirkte sechs Antworten des Typs A (vgl. Abb. 39) und vier des Typs D (vgl. Abb. 42, 43, Tab. 17).

Bei den verdünnten Schwefelverbindungen Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid (vgl. 3.3.1.1., Abb. 34a) reagierten alle Präparationen (n=9) mit Antworten des Typs A (vgl. Abb. 39, Tab. 17).

Unverdünntes Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Benzothiazol und Methylthiosulfonat rief bei allen Präparationen (n=12) Antworten des Typs A hervor (vgl. Abb. 39, Tab.17).

Die Antworten nach Dimethylsulfoxid (n=4) lassen sich keinem der oben genannten Typen zuordnen, da sich hier die absolute Frequenz nach dem Reiz kaum änderte (Abb. 46; vgl. relative Frequenz, 3.3.1.1., Abb. 35a).

Tab. 17: Antwort des olfaktorischen Nervs auf verschiedene Testsubstanzen.

| Substanz | Typ A | Typ B | Typ C | Typ D |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| 10 Tiere | - | - | - | - |
| 20 Tiere | - | - | - | - |
| 30 Tiere | - | - | - | - |
| Tiere (gereizt) | 4 | - | - | - |
| Tiere (tot) | 4 | - | - | - |
| Fußschleim-Kot-Gemisch 1 A | 4 | - | - | 3 |
| Fußschleim-Kot-Gemisch 1 E | 3 | - | 1 | - |
| Fußschleim-Kot-Gemisch 2 I | 1 | - | 3 | - |
| Körperschleim 2 A | 5 | - | - | 2 |
| Körperschleim 3 B | 1 | - | - | 2 |
| Kot 2 E | 3 | 3 | - | - |
| Kot 3 F | 3 | - | - | - |
| 2,5 ppm DMDS | 2 | - | - | 2 |
| 25 ppm DMDS | 1 | - | - | 2 |
| 250 ppm DMDS | 3 | - | - | - |
| 250 ppm DMTS | 3 | - | - | - |
| 250 ppm DPDS | 3 | - | - | - |
| 250 ppm MPDS | 3 | - | - | - |
| 100 % DMDS | 3 | - | - | - |
| 100 % DMTS | 3 | - | - | - |
| 100 % DMSO | - | - | - | - |
| 100 % Benzothiazol | 3 | - | - | - |
| 100 % Methylthiosulfat | 3 | - | - | - |

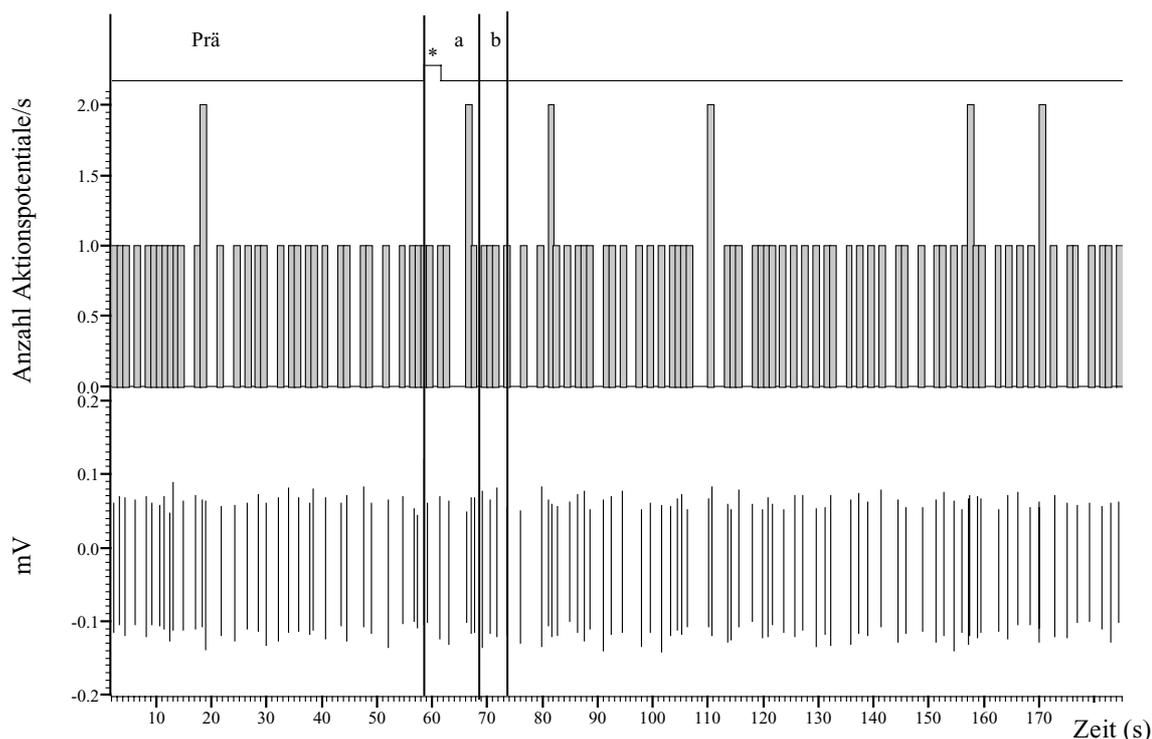


Abb. 46: Weitgehend unveränderte absolute Frequenz nach einem Stimulus mit unverdünntem Dimethylsulfoxid gegenüber der Frequenz der Prästimulusphase; einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben). * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

3.3.2.2. Reaktionen der Nerven des Mundfühlers und Mundlappen

Verdünntes Dimethyldisulfid (250 ppm) bewirkte bei den Präparationen des Nervs des Mundfühlers (n=3) Antworten des Types A (Abb. 47, Tab. 18; vgl. Abb. 39).

Tab. 18: Antworten der Nerven vom Mundfühler, Mundlappen und des gemeinsamen Nervs von Mundfühler und Mundlappen auf verschiedene Testsubstanzen.

| Substanz | Typ A | Typ B | Typ C | Typ D |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Mundfühler | | | | |
| 250 ppm DMDS | 3 | - | - | - |
| Mundlappen | | | | |
| 250 ppm DMDS | 2 | - | - | - |
| 100 % DMDS | - | - | - | 2 |
| 2 Tiere | 2 | - | - | - |
| Mundfühler + Mundlappen | | | | |
| Fußschleim-Kot-Gemisch 1 B | 2 | - | - | 1 |
| Fußschleim-Kot-Gemisch 1 F | 2 | - | - | 1 |
| Körperschleim 3 B | 1 | - | - | 1 |
| Kot 3 F | 2 | - | - | - |
| 100 % DMDS | 2 | - | - | - |

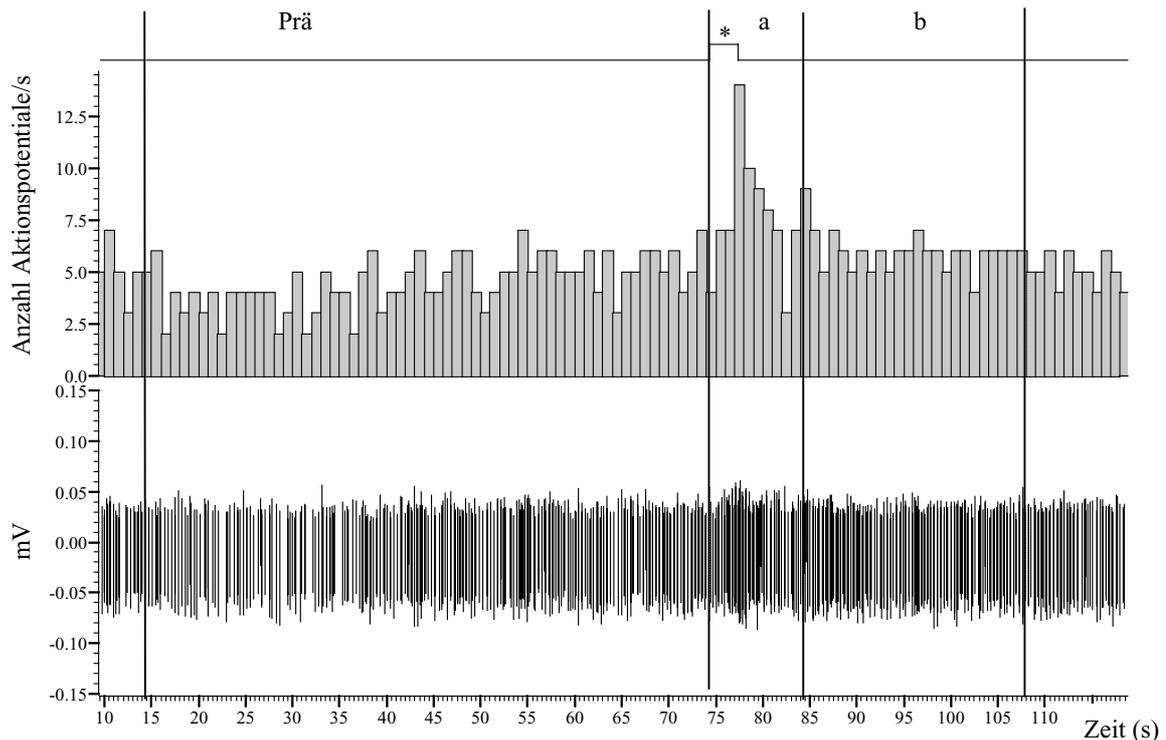


Abb. 47: Antwort des Typs A des Mundfühlersnervs nach einem Stimulus mit verdünntem Dimethyldisulfid (250 ppm); einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben). Man beachte die hohe spontane Frequenz der Prästimulusphase. * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

Verdünntes Dimethyldisulfid ($n=2$) führte bei den Präparationen des Mundlappen-Nervs zu Antworten des Typs A. Unverdünntes Dimethyldisulfid führte bei den Präparationen des Mundlappen-Nervs ($n=2$) zu Antworten des Types D (vgl. Abb. 42, 43, Tab. 18).

Luftströme, die über zwei Tiere geleitet wurden ($n=2$), erzeugten Antworten des Types A (vgl. Abb. 39, Tab. 18).

Die Proben B und F aus der Versuchsreihe 1 (Fußschleim-Kot-Gemisch) riefen bei den Präparationen des gemeinsamen Nervs von Mundfühler und Mundlappen ($n=6$) vier Antworten des Typs A (vgl. Abb. 39) und zwei Antworten des Types D (vgl. Abb. 42, 43, Tab. 18) hervor.

Die Probe B aus der Versuchsreihe 3 (Körperschleim; vgl. 2.3., Tab. 1, 3) führte bei Präparationen des gemeinsamen Nervs ($n=2$) zu je einer Antwort des Types A (vgl. Abb. 39) und D (Abb. 48, Tab. 18; vgl. Abb. 42, 43).

Präparationen des gemeinsamen Nervs reagierten auf die Probe F aus der Versuchsreihe 3 (Kot, $n=2$; vgl. 2.3., Tab. 1, 3) sowie auf unverdünntes Dimethyldisulfid ($n=2$) mit Antworten des Types A (Abb. 49, Tab. 18; vgl. Abb. 39).

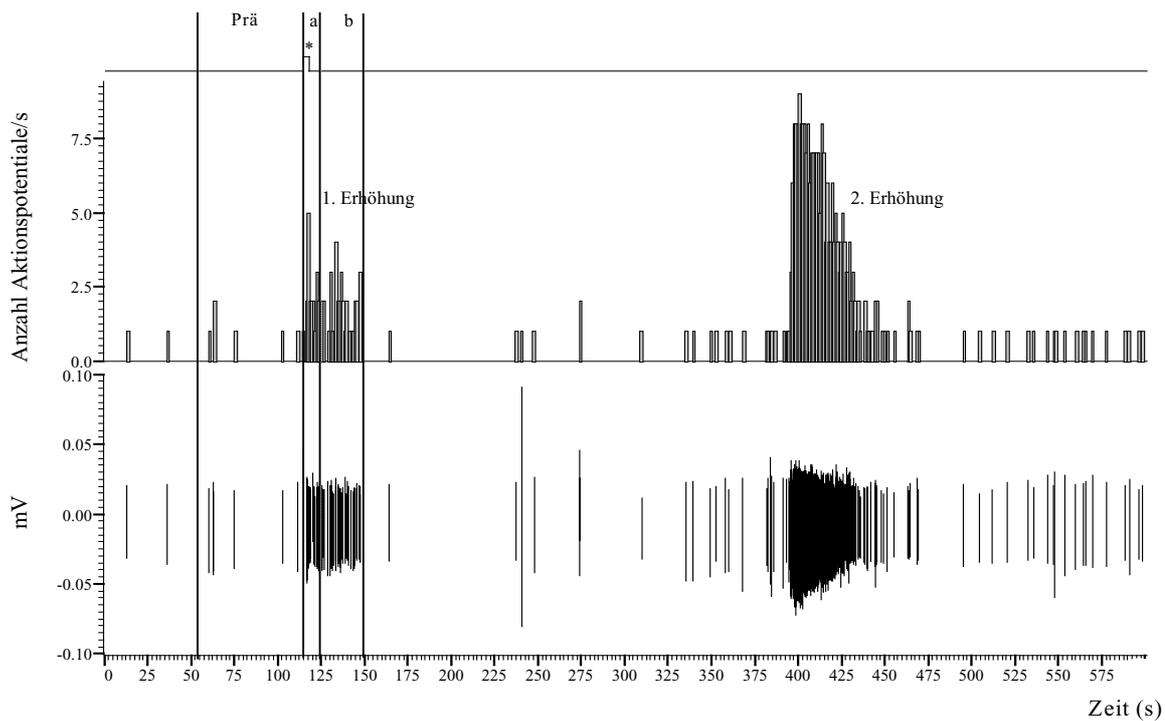


Abb. 48: Antwort des Typs D des gemeinsamen Nervs von Mundlappen und Mundfühler nach einem Stimulus mit der Probe B aus der Versuchsreihe 3 (Körperschleim); einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben). Man beachte die Pause ohne Neuronenaktivität zwischen 160 s und 230 s, die zweite Frequenzerhöhung bei 390 s und die Verringerung der Amplitude einer Größenklasse von Aktionspotentialen. * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

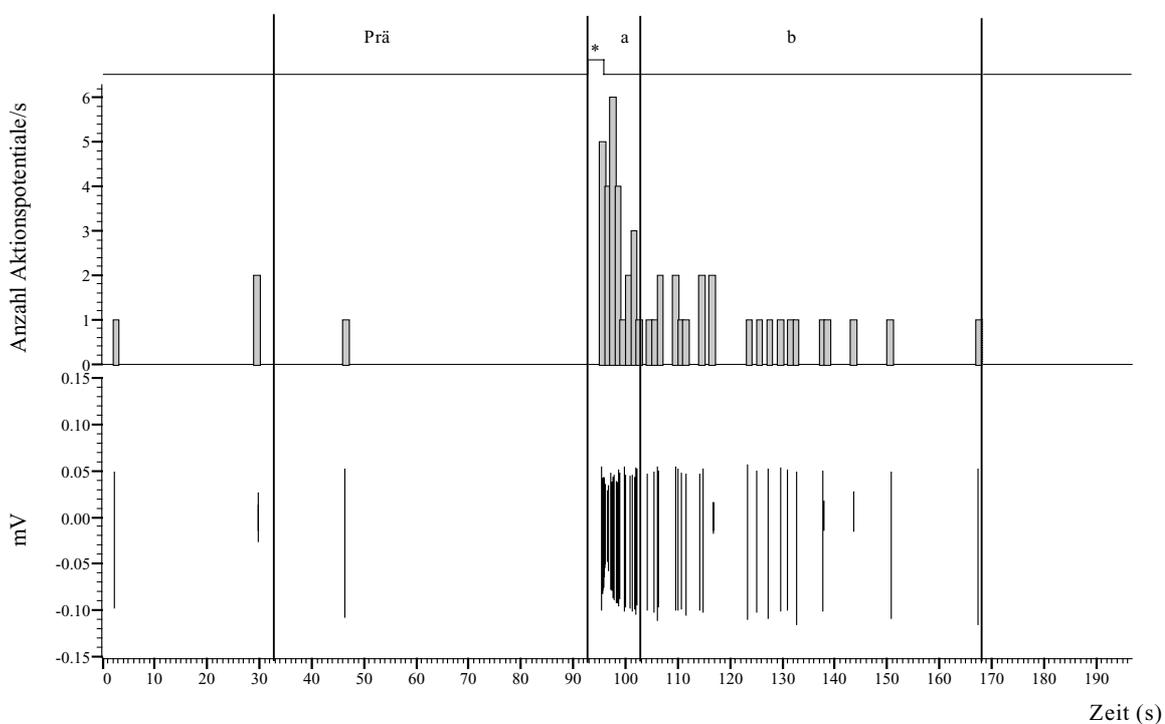


Abb. 49: Antwort des Typs A des gemeinsamen Nervs von Mundlappen und Mundfühler nach einem Stimulus mit unverdünntem Dimethyldisulfid; einzelne Aktionspotentiale (unten) und Frequenz-Histogramm (oben). Man beachte die Verringerung der Amplitude einer Größenklasse von Aktionspotentialen während der Poststimulusphase a. * = Reizgabe, weitere Erklärungen s. Abb. 39.

3.4. Struktur des Integuments

Die Epidermis von *Deroceras reticulatum* besteht aus einem einschichtigen Epithel, dessen Drüsenzellen weit in das subepitheliale Bindegewebe reichen (Tafel 1, 2). Die apikale Plasmamembran der Epidermiszellen besitzt zahlreiche Mikrovilli (Tafel 3 A, B; 4 A; 5 B; 6 B), die durch ein Netz aus Mikrofilamenten gestützt werden. Im medianen Bereich der Fußsohle und an den Fußrändern tragen die Epidermiszellen Mikrovilli und Cilien (Tafel 2 D; 5 B). Die Anordnung der Mikrotubuli in den Cilien folgt dem (9x2+2)-Muster; die Cilien entspringen aus einem Basalkörperchen (Tafel 5 B). Die lateralen Grenzen der Epithelzellen sind stark miteinander verzahnt, die Interzellularräume teilweise erweitert (Tafel 3 A, B; 4 A). Die Epithelzellen sind untereinander und mit den Drüsenzellen sehr wahrscheinlich durch septierte Desmosomen verbunden; apikolateral finden sich nicht näher identifizierte ‚junctional complexes‘ (Tafel 3 B; 6 B). Bisweilen sind Einsenkungen der apikalen Plasmamembran und Vesikel unterhalb der Plasmamembran zu sehen, die an Endozytosevorgänge denken lassen (Tafel 3 B). Im Cytoplasma der Epidermiszellen finden sich zahlreiche Mitochondrien mit Cristae (Tafel 3 B; 6 B). Vor allem um den zerklüfteten Kern liegen Zisternen des rauhen Endoplasmatischen Retikulums und große Dictyosomen (Tafel 3 B). Die Epidermis liegt auf einer dünnen Basallamina; darunter schließt sich das Bindegewebe an, durch das sich glatte Muskelfasern ziehen (Tafel 1, 2).

Im Epithel können drei Typen von Schleimzellen (I-III) unterschieden werden. Im Dorsal- und Mantelepithel kommen alle drei Typen vor, im Fußepithel konnten nur Drüsenzellen des Typs I und II nachgewiesen werden.

Im Mantel- und Dorsalepithel sind Drüsenzellen mit großen Schleimvakuolen (Typ I) am häufigsten (Tafel 1; 2 A, B); ihr Inhalt ist elektronenlicht und feingranulär (Tafel 3; 4). Sie reichen bis etwa 120 µm weit in das subepitheliale Bindegewebe und verjüngen sich von basal nach apikal (Tafel 1; 2 A, B). Die Schleimvakuolen verschmelzen teilweise miteinander (Tafel 3; 4) und drängen den heterochromatinreichen Nukleus und das Cytoplasma an die Peripherie der Zelle (Tafel 4 B, C). Im Cytoplasma liegen über dem Kern Dictyosomen, deren Membranstapel teilweise stark erweitert sind (Tafel 4 B, C). An der konkav geformten trans-Seite der Dictyosomen finden sich große Vesikel, deren Inhalt ähnlich elektronendicht ist wie derjenige der Schleimvakuolen (Tafel 4 B, C). Das rauhe Endoplasmatische Retikulum ist in diesen Zellen nur mäßig entwickelt (Tafel 4 B, C).

Nach PAS-Alcianblau-Färbung werden die Drüsenzellen, besonders im apikalen Bereich, blau gefärbt. Der aufgeweitete basale Abschnitt ist heller gefärbt (Tafel 1 A; 2 A).

Der häufigste Drüsentyp in der Fußsohle (Typ II) besitzt elektronendichte Sekretvakuolen, die nicht miteinander verschmelzen und einen Durchmesser von 0,5-1,2 μm aufweisen, sowie zumeist größere, elektronenlichere Sekretvakuolen mit einem Durchmesser bis zu 1,5 μm (Tafel 5). Diese Zellen sind etwa 40-50 μm lang, reichen also nicht so weit in das Bindegewebe wie die Schleimzellen des Typs I. Im apikalen Bereich der Zellen finden sich hauptsächlich elektronendichte Vesikel (Tafel 5 A, B), im basalen Bereich elektronendichte und elektronenlichere Vesikel (Tafel 5 A, C). Die apikale Plasmamembran ist eingebuchtet und mit Mikrovilli versehen (Tafel 5 B). Charakteristisch ist das weitlumige, mit mäßig elektronendichtem Material gefüllte rauhe Endoplasmatische Retikulum, das große Teile des Cytoplasmas ausfüllt (Tafel 5 A, C). Der heterochromatinreiche Nukleus liegt basal bis mittelständig (Tafel 5 A, C). Die kaum aufgeweiteten Dictyosomen sind teilweise stark gekrümmt und enthalten Material mittlerer bis stärkerer Elektronendichte (Tafel 5 C, D). In ihrer unmittelbaren Nähe liegen kleine stark elektronendichte Vesikel (Tafel 5 D).

Nach PAS-Alcianblau-Färbung werden diese Drüsenzellen rot gefärbt (Tafel 1 A; 2 A; 3 A).

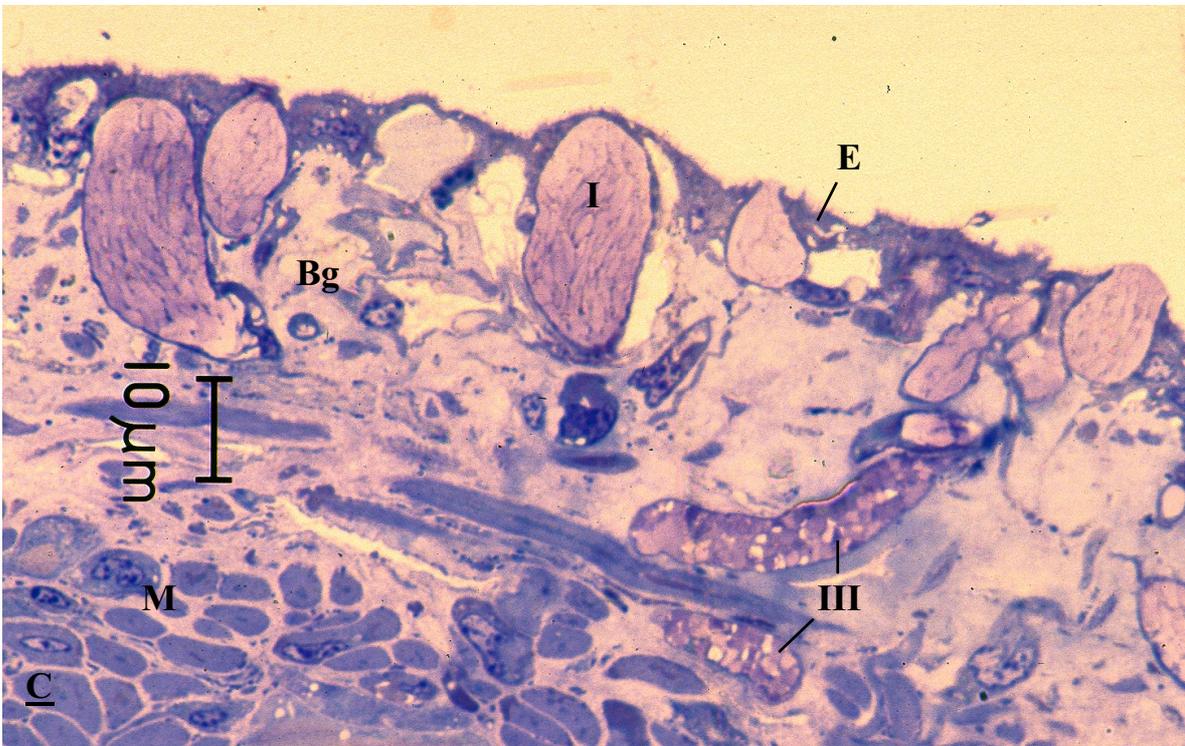
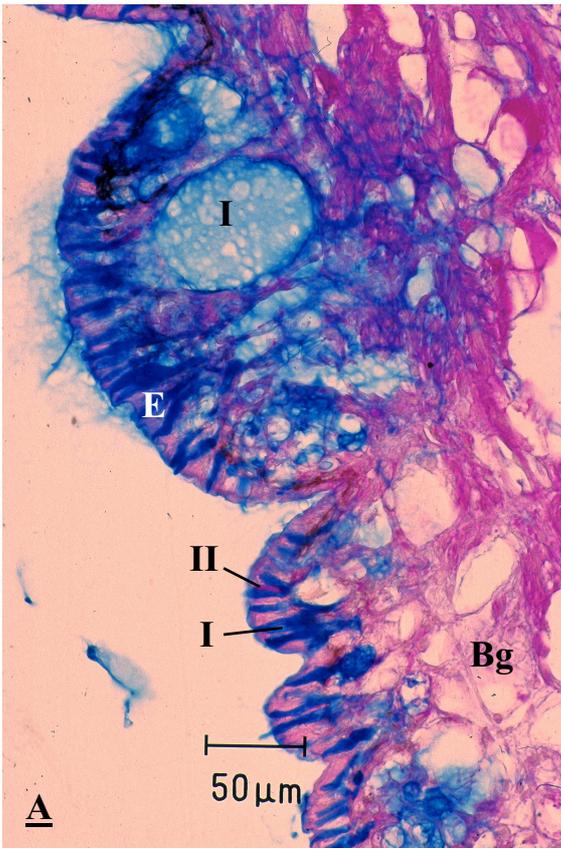
Der dritte Schleimdrüsentyp (Typ III) kommt seltener als die beiden anderen Typen vor (Tafel 1C; 6). Diese Zellen sind wie der Drüsentyp II etwa 40-50 μm lang. Die Sekretvakuolen sind unterschiedlich elektronendicht; ihr Inhalt ist homogen. Die Zisternen des rauhen Endoplasmatischen Retikulums sind vorwiegend auf die Peripherie der Zelle beschränkt und kaum aufgeweitet (Tafel 6 A). Dictyosomen scheinen relativ selten zu sein.

Nach PAS-Alcianblau-Färbung ist dieser Zelltyp im lichtmikroskopischen Bild nicht eindeutig von den anderen Drüsenzellen zu unterscheiden.

Tafel 1

Struktur des Dorsalepithels von *Deroceras reticulatum*

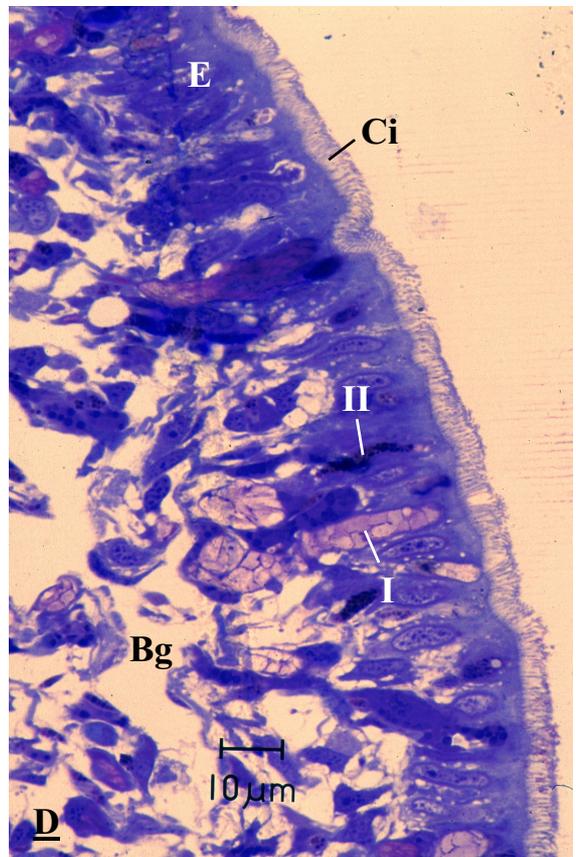
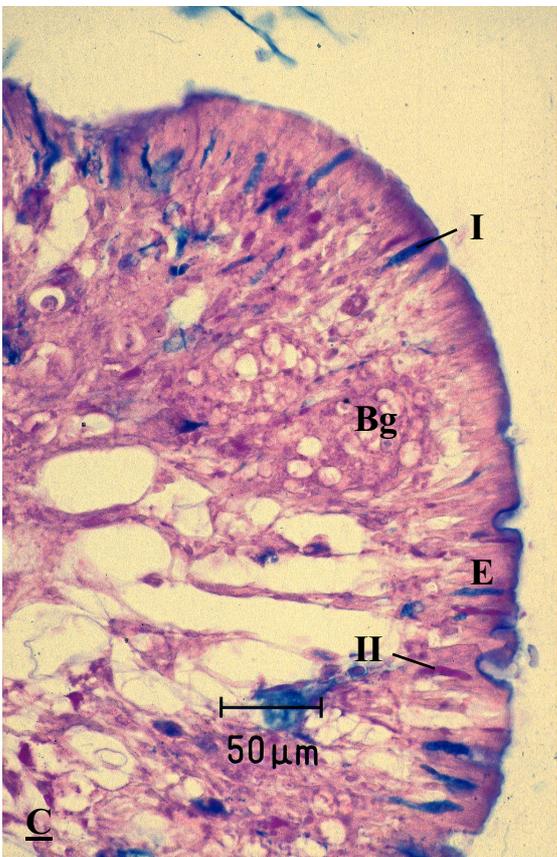
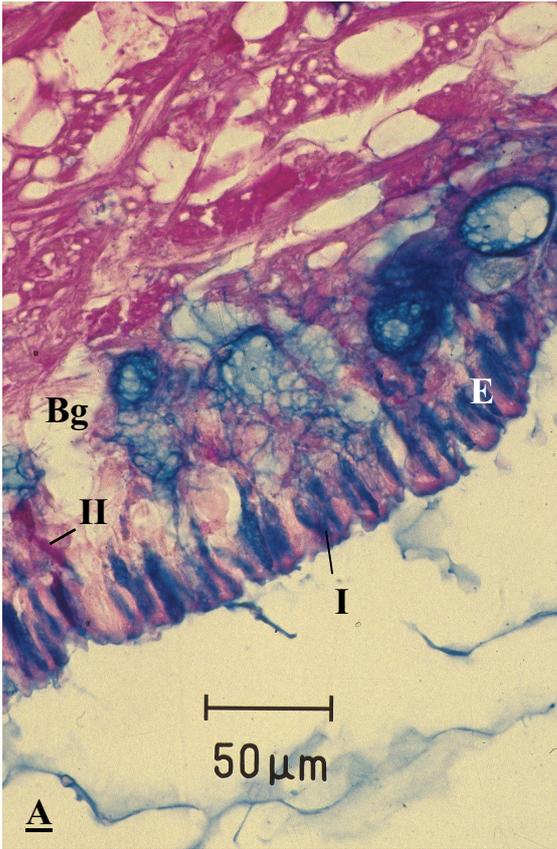
- A** Dorsalepithel (E).
LM, Paraplastschnitt, gefärbt mit PAS-AB (Perjodsäure/Schiffssches Reagenz–Alcianblau).
Die zwischen den Epidermiszellen liegenden und in das Bindegewebe (Bg) reichenden Drüsenzellen des Typs I verjüngen sich von basal nach apikal und sind blau gefärbt. Vereinzelt kommen Drüsenzellen des Typs II vor (rot gefärbt).
- B** Dorsalepithel (E).
LM, Semidünnschnitt, gefärbt mit Toluidinblau-Borax.
Zwischen zahlreichen Drüsenzellen des Typs I liegt eine Schleimdrüse des Typs II. Subepitheliales Bindegewebe (Bg).
- C** Dorsalepithel (E).
LM, Semidünnschnitt, gefärbt mit Toluidinblau-Borax.
Drüsenzellen des Typs I und III. Man beachte die glatte Muskulatur (M). Subepitheliales Bindegewebe (Bg).



Tafel 2

Struktur des Mantel- und Fußepithels von *Deroceras reticulatum*

- A** Mantelepithel (E).
LM, Paraplastschnitt, gefärbt mit PAS-AB.
Drüsenzellen des Typs I (blau gefärbt) und II (rot gefärbt). Beide reichen tief in das subepitheliale Bindegewebe (Bg).
- B** Mantelepithel (E).
LM, Semidünnschnitt, gefärbt mit Toluidinblau-Borax.
Weit in das Bindegewebe (Bg) reichende Drüsenzellen des Typs I.
- C** Fußepithel (E).
LM, Paraplastschnitt, gefärbt mit PAS-AB.
Drüsenzellen des Typs I sind blau, die des Typs II rot gefärbt. Vorwiegend die apikalen Bereiche der Zellen sind angeschnitten. Im Vergleich zum Dorsal- und Mantelepithel sind deutlich weniger Drüsen des Typs I vorhanden. Subepitheliales Bindegewebe (Bg).
- D** Fußepithel (E).
LM, Semidünnschnitt, gefärbt mit Toluidinblau-Borax.
Drüsenzellen des Typs I und II. Dieser Bereich des Fußepithels ist mit Cilien (Ci) besetzt. Subepitheliales Bindegewebe (Bg).



Tafel 3

Ultrastruktur der Drüsenzellen des Typs I von *Deroceras reticulatum*

A Einschichtiges Mantelepithel (E).

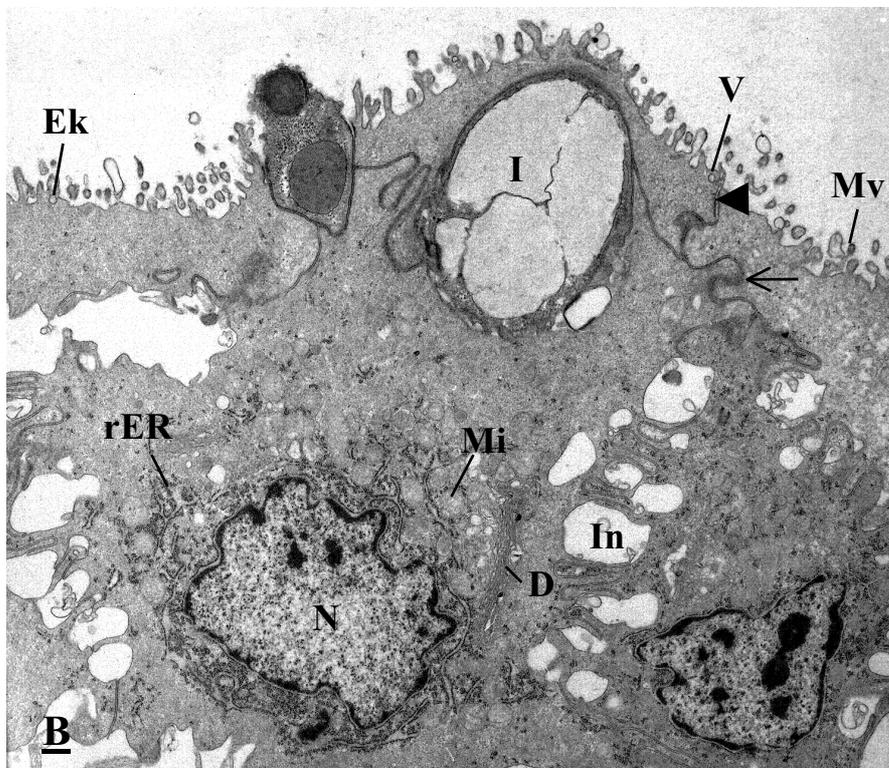
TEM. 4200 x.

Epithel mit Mikrovilli (Mv), subepitheliales Bindegewebe (Bg) und Drüsenzellen des Typs I, die zwischen den Epidermiszellen liegen und ins Bindegewebe reichen. Die Drüsenzellen sind im basalen Bereich angeschnitten. Die Schleimvakuolen (Va) sind teilweise miteinander verschmolzen (→). Nukleus einer Epidermiszelle (N).

B Drüsenzellen im Mantelepithel.

TEM. 9000 x.

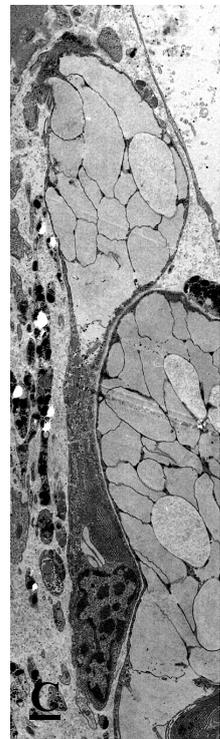
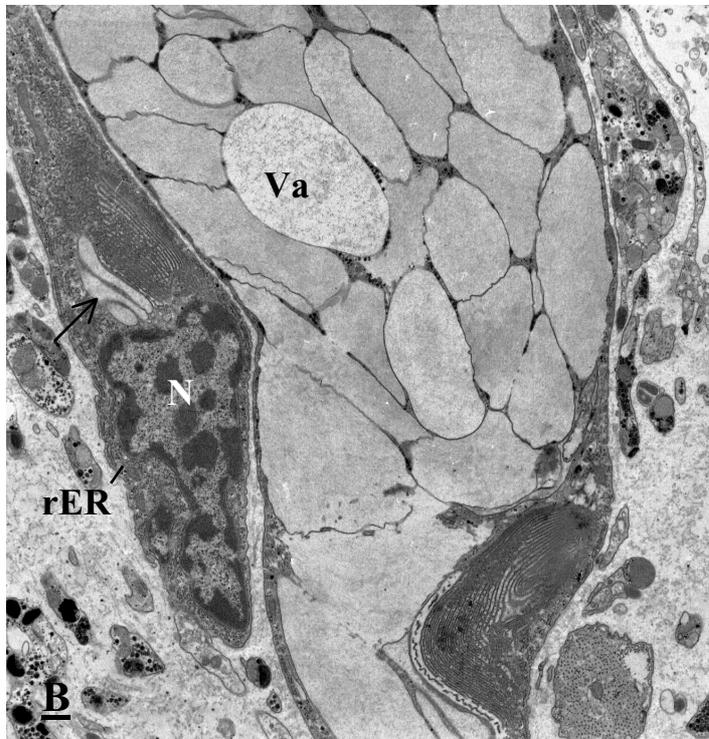
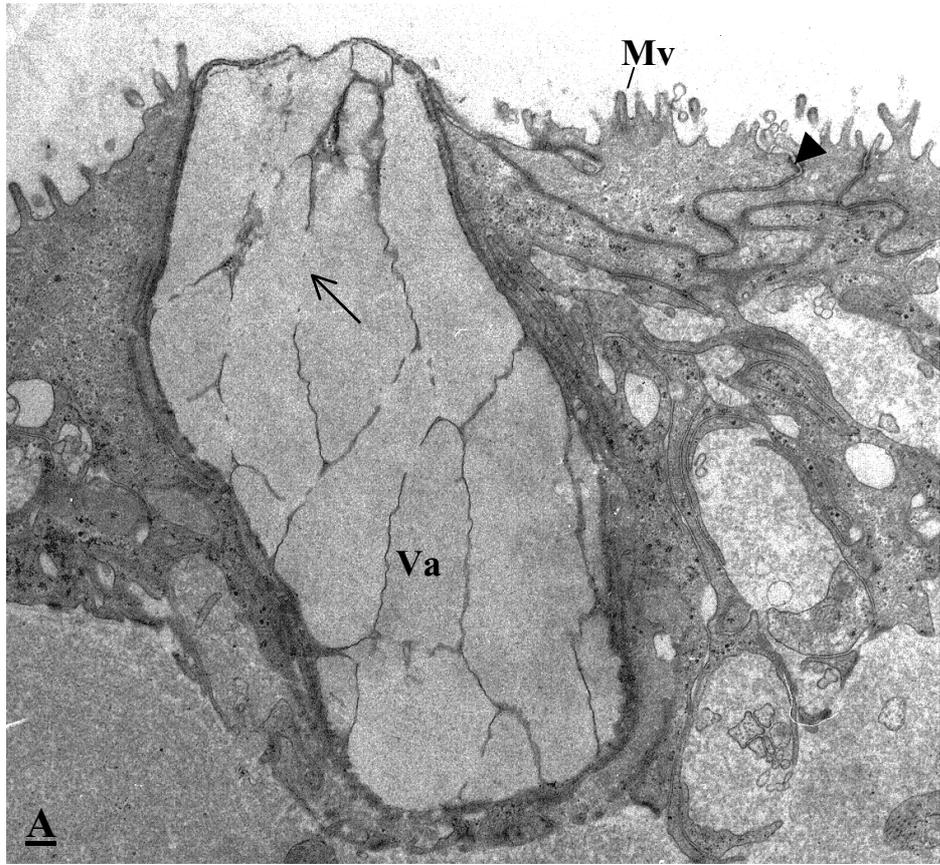
Die lateralen Grenzen der Epithelzellen sind stark gewunden, die Interzellularräume (In) teilweise erweitert. Apikolateral sind zwischen benachbarten Epithelzellen ‚junctional complexes‘ (▶) und weiter basal vermutlich septierte Desmosomen (→) ausgebildet. Man beachte die Einsenkungen (Ek) der apikalen Plasmamembran und Vesikel (V) unterhalb der Plasmamembran. In der Nähe des von Zisternen des rauhen Endoplasmatischen Retikulums (rER) umgebenen Kerns (N) befinden sich zahlreiche Mitochondrien (Mi) und große Dictyosomen (D). Links: Drüsenzelle vermutlich des Typs III, rechts: Drüsenzelle des Typs I. Mikrovilli (Mv).



Tafel 4

Ultrastruktur der Drüsenzellen des Typs I von *Deroceras reticulatum*

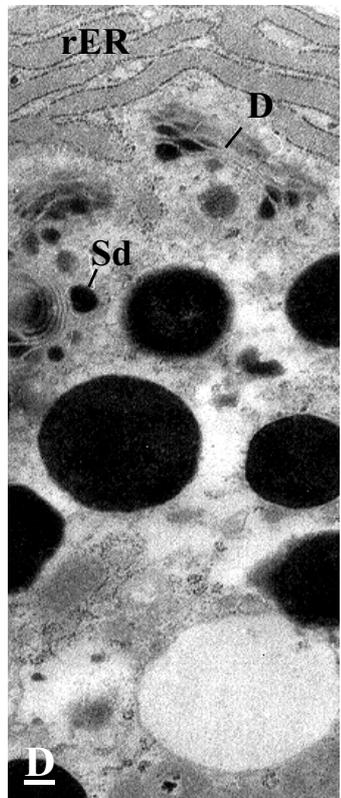
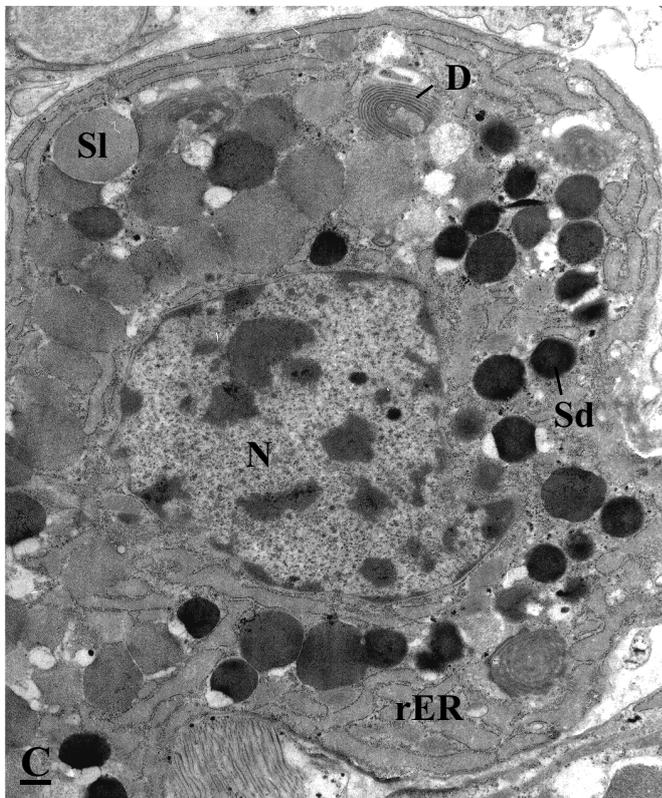
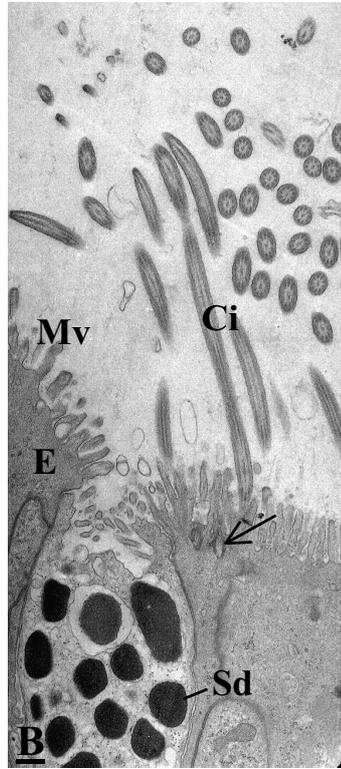
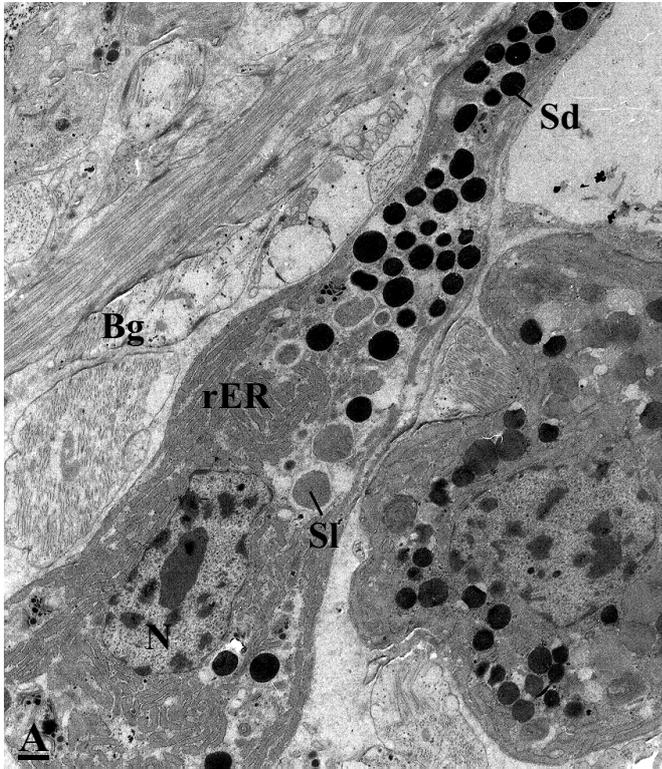
- A** Drüsenzelle des Typs I aus dem Mantelepithel.
TEM. 11920 x.
Die Drüsenzelle ist im apikalen schmalen Bereich angeschnitten. Die Schleimvakuolen (Va) sind teilweise miteinander verschmolzen (→). ‚Junctional complexes‘ (▶), Mikrovilli (Mv).
- B** Drüsenzellen des Typs I aus dem Dorsalepithel.
TEM. 7720 x.
Die linke Drüsenzelle ist im basalen Bereich mit Zellkern (N), die rechte im apikalen Bereich mit Sekretvakuolen (Va) angeschnitten. Die großen Vakuolen verdrängen das Cytoplasma mit dem Zellkern an die Peripherie der Zelle. Über dem Kern liegen Dictyosomen mit teilweise stark aufgeweiteten Membranstapeln (→), deren Inhalt ähnlich elektronendicht ist wie derjenige der Schleimvakuolen. Das rauhe Endoplasmatische Retikulum (rER) ist nur mäßig entwickelt.
- C** Drüsenzellen des Typs I aus dem Dorsalepithel.
TEM. 3150 x.
Apikale Sekretvakuolen und basal gelegener Kern (vgl. Abb. B, linke Zelle).



Tafel 5

Ultrastruktur der Drüsenzellen des Typs II von *Deroceras reticulatum*

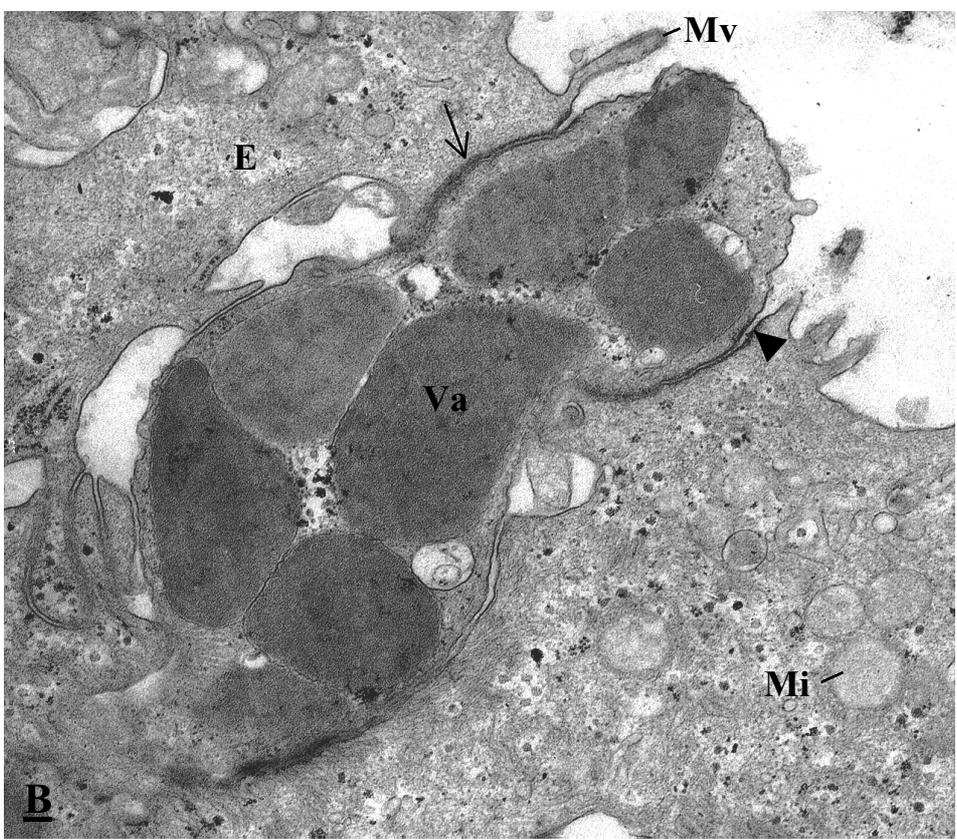
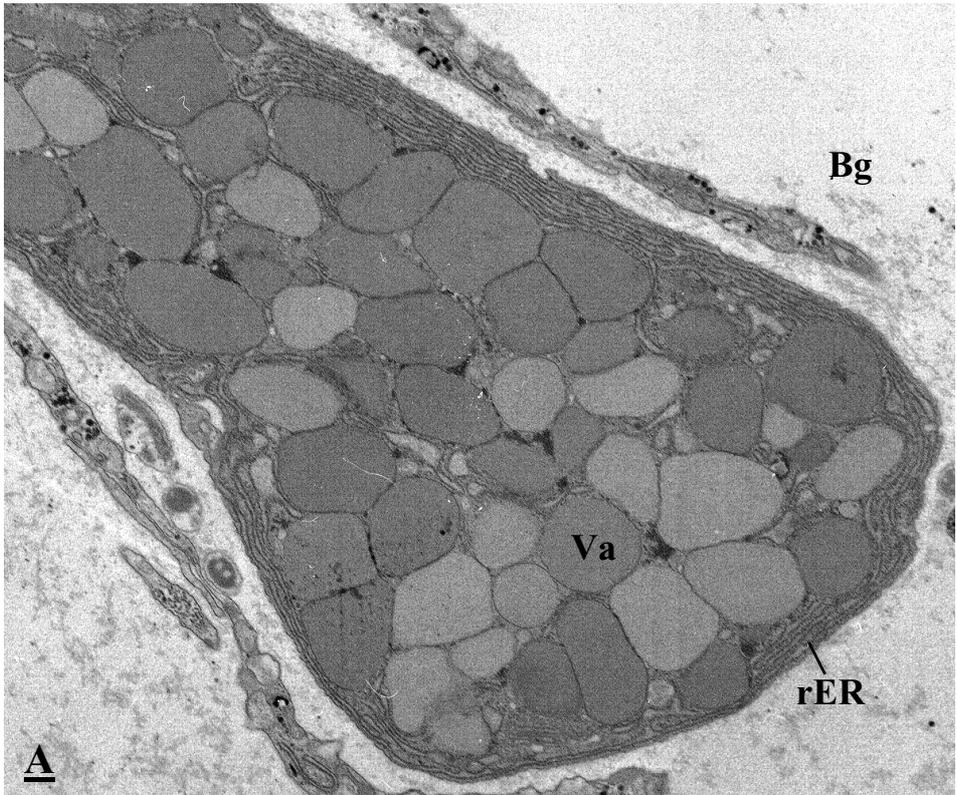
- A** Drüsenzellen des Typs II aus dem Fußepithel.
TEM. 4440 x.
Man beachte elektronendichte (Sd) und elektronenlichte Sekretgrana (Sl). Große Teile des Cytoplasmas sind mit weitleumigem rauhen Endoplasmatischen Retikulum (rER) gefüllt. Der heterochromatinreiche Nukleus (N) liegt basal bis mittelständig. Die Drüsenzellen reichen ins subepitheliale Bindegewebe (Bg).
- B** Drüsenzellen des Typs II aus dem Fußepithel.
TEM. 8870 x.
Die Epidermiszellen (E) tragen Mikrovilli (Mv) und Cilien (Ci). Die Cilien entspringen aus einem Basalkörperchen (→). Der apikale Bereich der Drüsenzelle des Typs II enthält elektronendichte Sekretgrana (Sd), die apikale Plasmamembran ist eingebuchtet und mit Mikrovilli versehen.
- C** Drüsenzelle des Typs II aus dem Fußepithel.
TEM. 9450 x.
Man beachte den heterochromatinreichen Nukleus (N), zahlreiche elektronendichte (Sd) und elektronenlichte Sekretgrana (Sl), weileumiges rauhes Endoplasmatisches Retikulum (rER) und Dictyosomen (D).
- D** Detail einer Drüsenzelle des Typs II aus dem Fußepithel.
TEM. 20830 x.
Kaum aufgeweitete Dictyosomen (D), deren Inhalt relativ elektronendicht ist. In ihrer unmittelbaren Nähe liegen elektronendichte Sekretgrana (Sd). Rauhes Endoplasmatisches Retikulum (rER).



Tafel 6

Ultrastruktur der Drüsenzellen des Typs III von *Deroceras reticulatum*

- A** Drüsenzelle des Typs III aus dem Dorsalepithel, basaler Bereich im subepithelialen Bindegewebe (Bg).
TEM. 11580 x.
Die Sekretvakuolen dieses Drüsentyps sind unterschiedlich elektronendicht. Der Inhalt der Vakuolen (Va) ist homogen. Die Zisternen des rauhen Endoplasmatischen Retikulums (rER) sind vorwiegend auf die Peripherie der Zelle beschränkt und kaum aufgeweitet.
- B** Drüsenzelle des Typs III aus dem Dorsalepithel, apikaler Bereich in der Epidermis (E).
TEM. 10100 x.
Die Drüsenzelle ist im apikolateralen Bereich mit benachbarten Epithelzellen durch ‚junctional complexes‘ (▶) und weiter basal durch vermutlich septierte Desmosomen (→) verbunden (vgl. Tafel 3 B). Die Epidermiszellen tragen Mikrovilli (Mv). Mitochondrien (Mi), Schleimvakuolen (Va).



4. Diskussion

4.1. Flüchtige Inhaltsstoffe von Schleim und Kot

Die CLSA-Methode ist besonders geeignet, die von den Proben an die Umgebung abgegebenen, leichtflüchtigen Substanzen zu erfassen. Die SPME-Methode wurde ergänzend eingesetzt, um auch schwerer flüchtige Verbindungen zu detektieren (Römpp, 1999). Dabei wird das native Material direkt der hohen Temperatur des Gaschromatographen ausgesetzt. Bei der SPME-Methode konnte Fußschleim und Kot getrennt untersucht werden, da nur geringe Mengen zur Benetzung der Faser nötig waren.

Die in die CLSA eingesetzten Filtermaterialien, Aktivkohle und Super Q, sollten gewährleisten, daß Substanzen unterschiedlicher Polaritäten adsorbiert werden. Aktivkohle deckt ein breites Polaritätsspektrum ab; mit den vernetzten porösen Polymeren des Super Q (aus Divinyl- und Ethylvinylbenzenen) werden vorwiegend schwach polare Substanzen erfaßt. Durch das Waschen mit Lösungen unterschiedlicher Polaritäten (Hexan, Dichlormethan, Methanol und Pentan) sollte gewährleistet werden, daß ein weites Spektrum von Substanzen in Lösung gebracht wird (vgl. Römpp, 1999). Die meisten Substanzen, besonders Schwefel- und Terpenverbindungen, wurden im Aktivkohlefilter zurückgehalten und waren anschließend in den Super-Q-Eluaten nicht mehr nachzuweisen. Jeweils vier Eluate (zwei Aktivkohle-, zwei Super Q-Eluate) enthalten die Gesamtheit der flüchtigen Verbindungen einer Probe (z.B. Fußschleim-Kot-Gemisch). Der getrennte Einsatz der Eluate in den verhaltensbiologischen und elektrophysiologischen Untersuchungen sollte die Zuordnung der Reaktionen zu wenigen oder möglicherweise sogar einzelnen Verbindungen aus einem Substanzgemisch ermöglichen.

4.1.1. Schwefelhaltige Verbindungen

Kohl wurde zur Fütterung verwendet, da er als attraktive Futterpflanze für Schnecken gilt; so wurde in Deutschland für den Zeitraum 1962-1971 der größte Ernteschaden durch Schneckenfraß beim Kohlanbau angegeben (Godan, 1973).

Im Verlauf der Analysen stellte sich heraus, daß das von den Tieren aufgenommene Futter nicht nur (wie zu erwarten war) die Zusammensetzung der flüchtigen Komponenten des Kots, sondern auch die des Fuß- und Körperschleims beeinflusst. Aus den verhaltensbiologischen

Untersuchungen wurde der besondere Einfluß von schwefelhaltigen Verbindungen aus dem Futter auf die anlockende Wirkung einer Probe deutlich.

Im Fußschleim und Kot von *D. reticulatum*, die mit Kohl gefüttert worden waren, fielen vor allem Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid auf. Davon konnte zumindest immer Dimethyldisulfid in den CLSA-Eluaten (des Aktivkohlefilters) von Kot, einem Fußschleim-Kot-Gemisch sowie im nativen Fußschleim und Kot nachgewiesen werden.

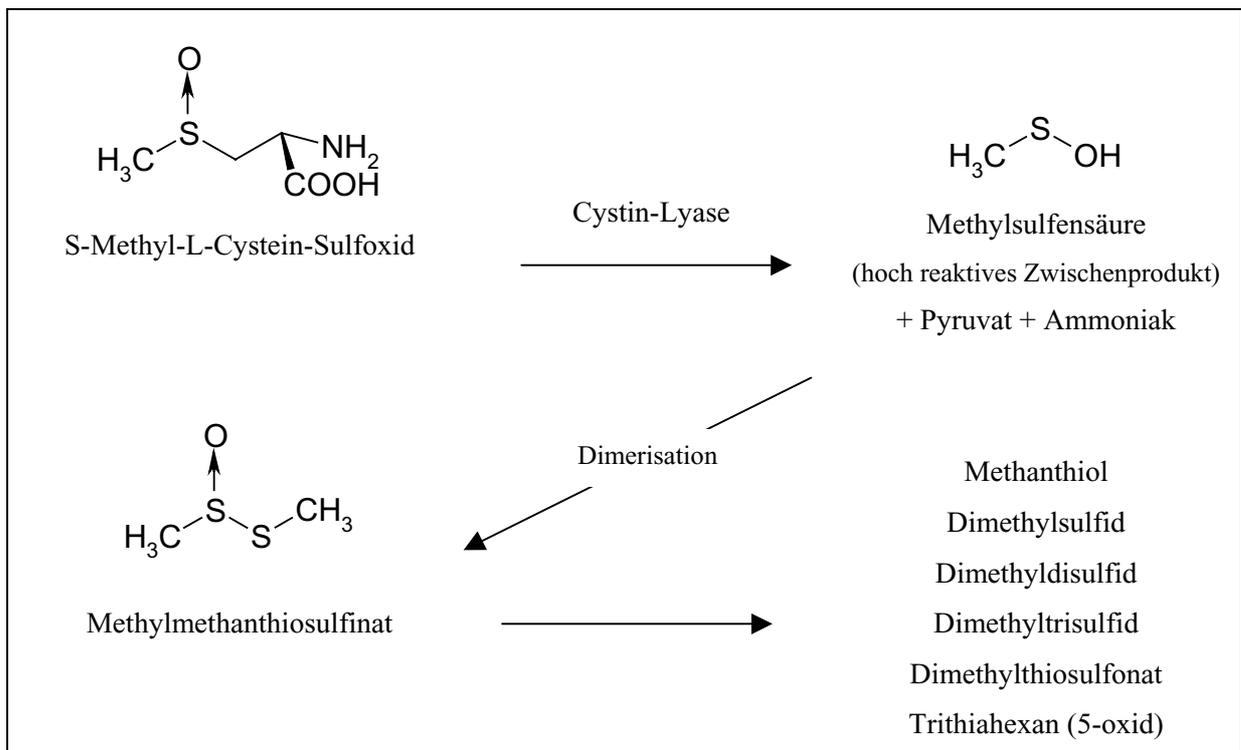


Abb. 50: Enzymatische Umformung von S-Methyl-L-Cystein-Sulfoxid (nach Marks et al., 1992).

Diese vier und weitere schwefelhaltige Verbindungen haben verschiedene Autoren als Aromastoffe (flüchtige Substanzen) bei *Brassica*-Arten, wie z.B. Wirsing-Kohl, Blumenkohl und Broccoli, nachgewiesen (s.u., Tab. 19). Bei Kohllarten (Cruciferae) wird zwischen flüchtigen Substanzen unterschieden, die die frische, intakte Pflanze produziert und die bei Beschädigung (gleich welcher Art) sowie beim Erhitzen (Garen) entstehen (Herrmann, 1977). Die flüchtigen Aromastoffe entstehen aus Vorstufen, z.B. der Aminosäure S-Methyl-L-Cystein-Sulfoxid, die in der intakten Pflanze vorliegen. Diese Aminosäure wurde 1956 in *Brassica*-Arten gefunden (Synge & Wood, 1956; Morris & Thompson, 1956); sie hat einen Anteil von

1-2 % am Trockengewicht (Mae et al., 1971; Whittle et al., 1976; Maw, 1982). Der enzymatische Abbauweg dieser Aminosäure ist in Abbildung 50 dargestellt (nach Marks et al., 1992).

Als Aromavorstufen bekannt sind auch Glucosinolate (Thioglycoside, Senfölglycoside), die ebenfalls charakteristisch für *Brassica*-Arten sind. Sie werden aus Aminosäuren gebildet und liegen in unverletzten Kohlpflanzen in der Vakuole der Pflanzenzelle vor (Fröhlich et al., 1998). Sie werden - bei Verletzung des Gewebes - auf enzymatischem Weg durch Hydrolyse mittels Thioglucosidasen (Myrosinasen) in Glucose, Sulfat und Isothiocyanate, Thiocyanate oder Nitrile aufgespalten (Herrmann, 1977; Fischer, 1992). Isothiocyanate sind in intakten Pflanzen nicht zu finden (Ettlinger & Kjaer, 1968). Sie können zu flüchtigen schwefelhaltigen Verbindungen wie Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid abgebaut werden (Schreier, 1984) und stellen so, neben S-Methyl-L-Cystein-Sulfoxid (vgl. Abb. 50), eine weitere Vorstufe von Schwefelverbindungen dar. Glen et al. (1990) geben an, daß Glucosinolate zu toxischen, bitter schmeckenden schwefelhaltigen Substanzen abgebaut werden, die *Brassica*-Arten vor polyphagen Pflanzenfressern schützen können (z.B. vor Aphiden, vgl. van Emden, 1972).

In intakten Blumenkohl- und Rettichpflanzen konnte nur eine Verbindung, vermutlich Hexenylacetat, nachgewiesen werden (vgl. Herrmann, 1977). Von zerkleinerten Blumenkohlblättern wurden bei 30 °C u.a. Dimethylsulfid und Allylisothiocyanat abgegeben (Ettlinger & Kjaer, 1968). Herrmann (1977) geht davon aus, daß erst beim Erhitzen des Gewebes schwefelhaltige Verbindungen in größeren Mengen auftreten.

Viele Autoren haben sich mit dem Entstehen der zumeist unerwünschten, weil geruchsintensiven, schwefelhaltigen Substanzen von Kohl-Arten beschäftigt. Dabei wurden die flüchtigen Inhaltsstoffe von zerkleinerten (Itoh et al., 1985; Fischer, 1992; Chin & Lindsay, 1993; Siegl et al., 1995; Hansen et al., 1997: Broccoli zusätzlich gekocht; Dan et al. 1997a; Forney & Jordan, 1998: Broccoli auch mit heißem Wasser behandelt), gekochten (MacLeod & MacLeod, 1968; Maruyama, 1970; Buttery et al., 1976) oder unter anaeroben Bedingungen gelagerten (Forney et al., 1991; Hansen et al., 1992; Dan et al., 1997b; Dan et al., 1998; Derbali et al., 1998) Arten untersucht.

Tab. 19: Übersicht über die durch Gaschromatographie-Massenspektroskopie nachgewiesenen flüchtigen Substanzen Methanthiol (M.th.), Dimethylsulfid (DMS), Dimethyldisulfid (DMDS), Dimethyltrisulfid (DMTS), Dipropyldisulfid (DPDS), Methylpropyldisulfid (MPDS) in verschiedenen Gemüsearten nach unterschiedlicher Vorbehandlung. Mit Ausnahme der Broccoli-Sämlinge wurden alle Gemüsearten zerkleinert untersucht.

| M.-th. | DM-S | DM-DS | DM-TS | DP-DS | MP-DS | Nachgewiesen in | Vorbehandlung | (Anreicherungs-) Methode | Autor |
|--------|------|-------|-------|-------|--|--|---------------------|--|-------------------------|
| | x | x | x | x | | Weißkohl | Erwärmung auf 60 °C | Vakuum-Wasserdampfdestillierung | Bailey et al., 1961 |
| | x | | | | dehydriert | | | | |
| | x | x | | | dehydriert, enzymbehandelt (Myrosinase) | | | | |
| x | x | x | | | x | Weiß-, Rosen-, Blumenkohl | gegart | Kühlfalle | MacLeod & MacLeod, 1968 |
| | | x | x | | | Weißkohl, Broccoli, Blumenkohl | gegart | Vakuum-Wasserdampfdestillierung (Hexan-Extrahierung) | Buttery et al., 1976 |
| | | x | x | | | Kohlrabi | - | dynamische Kopfraumtechnik | Fischer, 1992 |
| x | | x | x | | | Kohl-Arten | - | Kopfraumtechnik | Chin & Lindsay, 1993 |
| x | | x | | | | Broccoli | anaerob | Kopfraumtechnik | Dan et al., 1997b; 1998 |
| x | x | x | | | | Broccoli-Sämlinge | anaerob | Kopfraumtechnik | Derbali et al., 1998 |
| | x | x | x | | | Chinesischer Marktstammkohl und Grünkohl | tiefgefroren | statische Kopfraumtechnik | Fröhlich et al., 1998 |
| | | x | x | | simultane Wasserdampfdestillation und Extraktion (SDE) | | | | |

Tab. 19 gibt einige Beispiele aus diesen Untersuchungen, in denen in unterschiedlichen Kohlgemüsen (meist nach Zerkleinerung) schwefelhaltige Verbindungen mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie detektiert wurden. Bei fast allen Untersuchungen trat Dimethyldisulfid und zumeist auch Dimethyltrisulfid auf. Dimethyltrisulfid wird - unter Berücksichtigung des Geruchsschwellenwertes beim Menschen (0,01 µg/kg) - als eine der wichtigsten Aromakomponenten gekochten Kohls angegeben (Maruyama, 1970).

Chin & Lindsay (1993) untersuchten, welche schwefelhaltigen Verbindungen sich nach Zerstörung von Kohl-Gewebe innerhalb von 10-100 min bilden. Nur in den ersten 40 min wurden Methanthiol und Dimethylsulfid detektiert. Die Dimethyldisulfid- und Dimethyltrisulfid-Produktion war anfänglich gering und stieg bis zum Versuchsende linear an. Die Autoren nehmen an, daß die Disulfide erst in einem langsamen sekundären Schritt aus Methylsulfensäure entstehen (vgl. Abb. 50) und dann mit elementarem Schwefel Trisulfide bilden. Zu ähn-

lichen Ergebnissen gelangten Forney et al. (1991), die Broccoli unter anaeroben Bedingungen untersuchten. Auch dort war Methanthiol eine der ersten nachzuweisenden Komponenten. Chin & Lindsay (1993) folgern, daß Methanthiol dem Aroma von frischen Kohl entspricht.

Obwohl in den Versuchsreihen 1 und 2 der vorliegenden Arbeit die Tiere ausschließlich mit Kohl gefüttert worden waren, waren die Ergebnisse bezüglich der Schwefelverbindungen in Fußschleim-Kot-Proben unterschiedlich. Während in den Aktivkohlefilter-Eluaten (Proben A, B, E) aus der Versuchsreihe 1 alle vier Verbindungen auftraten, wurde in den Eluaten der Versuchsreihe 2 (Proben I, K) nur Dimethyldisulfid nachgewiesen. Dies ist vermutlich auf die geringere Anzahl der Tiere zurückzuführen, die zur Gewinnung des Fußschleim-Kot-Gemisches in Versuchsreihe 2 eingesetzt wurden. Da Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid in Versuchsreihe 1 in viel niedrigeren Konzentrationen als Dimethyldisulfid auftraten (vgl. Tab. 15), könnte ihre Menge in Versuchsreihe 2 unter der Nachweisgrenze des verwendeten Detektors gelegen haben. Auch bei den Kot-Proben E und F der Versuchsreihe 2 konnte nur Dimethyldisulfid nachgewiesen werden. Hier hätte man aufgrund der Ergebnisse der Versuchsreihe 1 eher das Auftreten aller vier Schwefelverbindungen erwartet. Die Konzentrationsabschätzung zeigt jedoch, daß in der Kot-Probe E der Versuchsreihe 2 mit 1300 ppm weniger Dimethyldisulfid vorlag als in der Fußschleim-Kot-Probe A der Versuchsreihe 1 (1600 ppm; beide Proben sind Hexan-Eluate des Aktivkohlefilters). Dies spricht dafür, daß bei der Kot-Probe die anderen drei Substanzen aufgrund geringer Konzentration nicht detektiert werden konnten (vorausgesetzt, daß die anderen drei Verbindungen in einem ähnlichen Konzentrationsverhältnis vorlagen wie in der Probe A der Versuchsreihe 1). Ein weiterer Grund für das Fehlen von Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid in manchen Proben könnte an den verfütterten Kohlpflanzen liegen. So wurde beispielsweise darauf hingewiesen, daß der Gehalt flüchtiger Substanzen in Weißkohlsorten beträchtlichen individuellen Schwankungen unterliegt (MacLeod & MacLeod, 1968).

Auch im nativen Fußschleim und Kot von Tieren, die mit Kohl gefüttert worden waren, wurden nur Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid detektiert.

Das Auftreten von Dipropyldisulfid in der Kontrolle K1 der Versuchsreihe 1 ist nicht zu erklären. In Versuchsreihe 3, in der diese Substanz in den Kot-Proben E und F gefunden wurde, war sie in der Kontrolle nicht vorhanden.

CLSA-Proben aus Körperschleimen von Tieren, die mit Kohl gefüttert worden waren (Versuchsreihe 2), enthielten nur Dimethyldisulfid; im nativen Körperschleim dieser Tiere trat keine der vier oben genannten Verbindungen auf.

Die Gewinnung von reinem Körper- und Fußschleim ist schwierig, da beide Schleimarten nicht sauber voneinander getrennt werden können und beide oft auch mit Kot kontaminiert sind. Bei der Gewinnung von Körperschleim durch Begasen mit CO₂ wird unvermeidlich auch Fußschleim von den Tieren abgegeben. In die CLSA mußten größere Mengen Körperschleim (2-3 g) eingesetzt werden, die durch das Begasen von etwa 130 Tieren gewonnen wurden. Obwohl nach dem Begasen von jeweils drei Tieren geprüft wurde, ob der Schleim durch Kot verunreinigt wurde, kann eine Kontamination durch Fußschleim und Kot nicht ganz ausgeschlossen werden. Hingegen wurde der Körperschleim, der anschließend in der SPME-Methode angewandt wurde, durch das Begasen einzelner Tiere und durch das Abnehmen von der Körperoberfläche mit einem Spatel gewonnen. Eine Kontamination ist somit weniger wahrscheinlich.

Im Körperschleim von Tieren des Vorversuchs, die nicht nur mit Kohl, sondern auch mit Karotten und Kartoffeln gefüttert wurden, wurde von den vier Verbindungen nur Dimethyltrisulfid nachgewiesen. Auch hier wurde der Körperschleim von 40 Tieren eingesetzt, so daß das Risiko einer Kontamination groß war. Allerdings wird dadurch nicht erklärt, wieso hier kein Dimethyldisulfid gefunden wurde, das in den anderen Proben jeweils mengenmäßig den größten Anteil ausmachte. Möglicherweise spielen hier - wie bereits oben erwähnt - Unterschiede im verfütterten Kohl eine Rolle. Außerdem muß berücksichtigt werden, daß neben Kohl auch noch Kartoffeln und Karotten verfüttert wurden und nicht gewährleistet war, ob alle Gemüsearten gefressen wurden. Hinweise zu schwefelhaltigen Verbindungen in Karotten geben die Untersuchungen von Heatherbell et al. (1971a, b, c). Sie stellten eine Neubildung von Dimethylsulfid u.a. Schwefelverbindungen bei der Dosenkonservierung von Karotten fest.

Außer den bereits genannten Sulfiden traten weitere schwefelhaltige Verbindungen auf, so in den Fußschleim-Kot-Proben B und F der Versuchsreihe 1 die Esterverbindung Thiocyan säuremethylester und in den Proben E und F Thio-Iso-Buttersäuremethylester (s. 4.1.2.).

Die Struktur der Verbindung ($m/z=45, 61, 91$), die in den Proben C und D (Fußschleim-Kot-Gemisch) der Versuchsreihe 1 und in den Proben D (Körperschleim), H (Kot) und M (Fußschleim-Kot-Gemisch) der Versuchsreihe 2 vorlag, ist unbekannt; lediglich das diagnostische Ion $m/z=61$ gibt Hinweis auf das Vorkommen von Schwefel.

Der Ursprung von Dimethylsulfon und -sulfoxid in der Versuchsreihe 3 ist unklar. Dimethylsulfoxid konnte in allen Proben (Fußschleim-Kot-Gemisch, Kot, Körperschleim), Dimethylsulfon nur im Kot nachgewiesen werden. Es könnte sich um Oxidationsprodukte von Dimethylsulfid oder -disulfid handeln (Römpp, 1999). Das erklärt aber nicht die relativ großen Mengen an Dimethylsulfoxid, die in der Körperschleim-Probe B (9100 ppm) und Kot-Probe F (86000 ppm) gefunden wurden.

Neben Dimethyltrisulfid konnten bei der Probe ‚Schnecken‘ des Vorversuchs (d.h. die Tiere wurden während des CLSA-Laufes im Probengefäß belassen) fünf weitere schwefelhaltige Substanzen gefunden werden: Benzothiazol, Methylmethanthiosulfonat, 4-Methylthiobutansäurenitril, 3-Methylthiopropylisothiocyanat und Tetradeacylthiophen. Die drei letztgenannten wurden auch im Körperschleim der Schnecken aus dem Vorversuch nachgewiesen. Benzothiazol wurde im Broccoli (Buttery et al., 1976), 3-Methylthiopropylisothiocyanat und entsprechendes Nitril (Cyanid) im Blumenkohl und Weißkohl (Buttery et al., 1976), frischen Kohllarten (Bailey et al., 1961) und Kohlrabi (Fischer, 1992) detektiert. Isothiocyanate, die sogenannten Senföle (=Senfölglycoside), entstehen aus Glucosinolaten. Beim enzymatischen Abbau der Glucosinolate können neben Isothiocyanaten auch Nitrile auftreten (s.o.). Möglicherweise handelt es sich beim 4-Methylthiobutansäurenitril um ein Abbauprodukt eines Glucosinolats. So wurde 4-Methylthiobutylisothiocyanat als flüchtige Substanz von zerschnittenem Kohlrabi (Fischer, 1992) und im gekochten Weißkohl, Broccoli und Blumenkohl (Buttery et al., 1976) nachgewiesen.

Methylmethanthiosulfonat könnte ein weiteres Abbauprodukt der im *Brassica*-Gewebe vorkommenden Aminosäure S-Methyl-L-Cystein-Sulfoxid oder durch Oxidation von Methylmethanthiosulfinat (vgl. Abb. 50) entstanden sein.

Substituierte Thiophene (vgl. Tetradeacylthiophen) sind in zahlreichen natürlichen Aromen, insbesondere von gekochten Lebensmitteln, aufgefunden worden (Römpp, 1999).

Eine dreitägige Hungerphase von Tieren, die vorher mit Kohl gefüttert worden waren, bewirkt eine Abnahme der Schwefelverbindungen im Fußschleim-Kot-Gemisch. In Versuchsreihe 1 wurden die Proben A-D von gefütterten und die Proben E-H von nicht gefütterten Tieren gewonnen. Während in beiden Aktivkohlefilter-Eluatn der gefütterten Tiere alle vier Verbindungen auftraten, konnten in den entsprechenden Proben der nicht gefütterten Tiere lediglich in der Probe E alle vier und in Probe F nur Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid nachgewiesen werden. Die Konzentrationsabschätzungen ergaben deutlich geringere Mengen der vier Verbindungen in den Proben E und F gegenüber den Proben A und B (vgl. Tab. 15).

Dieses Ergebnis spricht dafür, daß die gefundenen Verbindungen nicht von den Tieren selbst synthetisiert werden, sondern mit der Nahrung aufgenommen werden.

Die Untersuchungen des Schleims und Kots von Tieren, die mit Salat gefüttert worden waren, sollte zeigen, ob sich nach einer vermutlich schwefelarmen bis -freien Diät Sulfide, die nach einer Fütterung mit Kohl vorhanden sind, nachweisen lassen. Nach Crosby (1963) ist die einzige Schwefelverbindung, die aus Salat isoliert werden konnte, das Salz eines Methionin-Derivats. Kovatschewa & Popova (1977) konnten S-Methylmethionin nur in Spuren im Kopfsalat nachweisen. Ein Nachweis von weiteren schwefelhaltigen Verbindungen ist mir nicht bekannt. Als flüchtige Substanzen werden verschiedene Pyrazine (Murray & Whitfield, 1975) sowie Acetaldehyd und Ethanol (Peiser et al., 1997) angegeben. Weitere Untersuchungen zu den Inhaltsstoffen befaßten sich u.a. mit dem Auftreten von organischen Säuren, Lipiden, Sterolen und Carotinoiden (vgl. Herrmann, 1978).

Die Untersuchungen der CLSA-Proben und des nativen Materials der mit Salat gefütterten Tiere zeigten voneinander abweichende Ergebnisse. In den Aktivkohle-Eluaten vom Kot traten alle vier Verbindungen auf und in denen des Fußschleim-Kot-Gemisches nur Dimethyldisulfid. Im nativen Kot, Fußschleim und Kot trat keine der vier Verbindungen auf. Die Tiere der Versuchsreihe 3 wurden allerdings nur 7-12 Tage, die Tiere, deren Kot und Schleim nativ verwendet wurde, hingegen mindestens 26 Tage mit Salat gefüttert. Vor diesen Versuchen bekamen die Schnecken teilweise Kohl als Futter. Die Ergebnisse deuten somit an, daß sich bei ausreichend langer Fütterung mit Pflanzen ohne diese Schwefelverbindungen diese sich im Fußschleim und Kot nicht mehr nachweisen lassen. Übereinstimmend wurden sowohl in den CLSA-Proben als auch im nativen Körperschleim der mit Salat gefütterten Schnecken die entsprechenden Schwefelverbindungen nicht gefunden.

Aus den Ergebnissen ist also zu entnehmen, daß im Kot von *D. reticulatum*, die mit Kohl gefüttert worden waren, Schwefelverbindungen auftreten, die als Aromastoffe von beschädigtem Kohl-Gewebe bekannt sind. Es ist unwahrscheinlich, daß diese Verbindungen von den Tieren selbst synthetisiert werden. Zusätzlich wurden diese Substanzen auch im Fußschleim nachgewiesen. Dies bestätigt die Annahme von Wilson (1968), daß Mollusken über den Schleim pflanzliche Abbauprodukte abgeben können (s.o.). Die Verbindungen entsprechen nicht dem Geruchsaroma von intaktem Kohl. Möglicherweise werden über diese Geruchsstoffe den Schnecken zwei Informationen gegeben: Vorhandensein einer Futterquelle und / oder von

Artgenossen. Dafür sprechen auch eigene Beobachtungen aus dem Freiland, die zeigen, daß einige Pflanzen in einem Gemüsebeet deutlich stärker befallen sind als andere in unmittelbarer Umgebung. Offenbar werden diese Substanzen nicht über den Körperschleim abgegeben.

4.1.2. Weitere Verbindungen

Neben schwefelhaltigen Verbindungen konnten auch zahlreiche andere Verbindungen nachgewiesen werden.

Im Körperschleim von Schnecken aus dem Vorversuch wurden eine Aldehydverbindung (Benzaldehyd) und Terpene (Epijuvabion, Farnesol, Geranylaceton, Sulcaton = 6-Methyl-5-hepten-2-on) gefunden. Benzaldehyd, das noch in einigen anderen Proben auftrat (vgl. Tab. I-III, Anhang), ist ein Zersetzungsprodukt des Amygdalins (Römpp, 1999), das in den Samen vieler Rosaceen vorkommt (Nuhn, 1990). Es wurde von Buttery et al. (1976) im Weißkohl, Broccoli und Blumenkohl nachgewiesen.

Zu der Gruppe der Terpene gehören viele Verbindungen aus ätherischen Ölen. Terpene sind ein Polymerisationsprodukt des Kohlenwasserstoffs Isopren (C_5H_8) und lassen sich je nach Anzahl ihrer C_5 -Einheiten in Mono-, Sesqui-, Di-, Sester-, Tri-, Tetra- und Polyterpene einteilen. Das Monoterpen Sulcaton (=6-Methyl-5-hepten-2-on) trat auch in der Körperschleim-Probe B sowie der Kot-Probe F der Versuchsreihe 3 auf. Diese leichtflüchtige, für grüne Blätter charakteristische Verbindung („green leaf volatile“) wurde beispielsweise von Linko et al. (1978) in Karotten nachgewiesen. Die Sesquiterpene Farnesol und Epijuvabion kommen in ätherischen Ölen (Farnesol z.B. von Lindenblüten, Juvabion z.B. von Balsamtannen; Römpp, 1999) vor. Hinweise in der Literatur zum Nachweis von Geranylacetat in Naturstoffen sind mir nicht bekannt.

In der Versuchsreihe 1 wurden in der Probe F 2- und 3- Hexanol gefunden. Angaben in der Literatur beziehen sich auf 1-Hexanol, das als Aromastoff im gekochten Blumenkohl auftritt (Buttery et al., 1976). In vielen Proben konnten zudem Ester-Verbindungen nachgewiesen werden (Propionsäuremethyl-, (Iso-)Buttersäuremethyl-, Essigsäureethyl-, Milchsäureester; vgl. Tab. I-III, Anhang). In 4.1.1. wurde bereits auf die schwefelhaltigen Esterverbindungen Thiocyan säuremethylester und Thio-Iso-Buttersäuremethylester hingewiesen (vgl. Tab. I-III, Anhang). Generell ist bekannt, daß Esterverbindungen in der Natur als Aromastoffe von Früchten und Blüten sehr häufig anzutreffen sind (Römpp, 1999). Thiocyan säuremethylester

leitet sich möglicherweise von den bereits genannten Isothiocyanaten ab. Die Aldehydverbindungen Decanal und Nonanal traten in der Probe L (Fußschleim-Kot-Gemisch) der Versuchsreihe 2 auf. Decanal konnte im ätherischen Öl verschiedener Pflanzen (z.B. Iriswurzelöl) nachgewiesen werden (Römpp, 1999). Nonanal trat im gekochten Broccoli und Blumenkohl (Buttery et al., 1976), in Kartoffeln (Petersen et al., 1998) sowie in Karotten (Buttery et al., 1968) auf. Ethanol kam in der Probe A (Körperschleim) der Versuchsreihe 2 vor. Es konnte im gekochten Weißkohl (Buttery et al., 1976), Kopfsalat (Mateos et al., 1993), Broccoli (Dan et al., 1997a, b) und Karotten (Heatherbell et al., 1971a, b, c) nachgewiesen werden.

In Versuchsreihe 3 fallen drei Terpen-Verbindungen, Limonen, α - und β -Pinen, auf, deren Ursprung - da sie in den anderen beiden Versuchsreihen der mit Kohl gefütterten Tieren nicht auftraten - dem hier verwendeten Futter Salat zugeschrieben wird. Diese Verbindungen konnten sowohl im Kot als auch im Körperschleim nachgewiesen werden, in dem Fußschleim-Kot-Gemisch allerdings nur α -Pinen. Charakteristisch für Asteraceen, zu denen auch der Kopfsalat gehört, ist das Vorkommen von Diterpenen (Römpp, 1999). Das Monoterpen Limonen findet sich in zahlreichen ätherischen Ölen; so wurden Limonen in Karotten und α - und β -Pinen in Karotten und Sellerie nachgewiesen (vgl. Übersichtsbericht von Herrmann, 1978).

Mittels der SPME-Methode wurden in den nativen Proben nachfolgende Substanzen detektiert. Langkettige Alkohole und z.T. entsprechende Carbonsäuremethylester (wie Hexacosanol und Hexacosansäuremethylester) fanden sich - mit Ausnahme von Nonacosanol, das auch im Kot von mit Kohl gefütterten Tieren vorkam - im Kot von mit Salat gefütterten Tieren. Dabei handelt es sich vermutlich um Blattwaxse, wie sie z.B. auch bei Spinat nachgewiesen wurden (Zill & Harmon, 1962). Herrmann (1978) vermutet, daß die Lipid-Zusammensetzung in grünen Blättern recht ähnlich sei.

Cholesterol kam - mit Ausnahme des Fußschleims der mit Salat gefütterten Tieren - in allen nativen Proben vor. Nicht näher identifizierte Steroide wurden jeweils in den Kot-Proben der mit Kohl und Salat gefütterten Tiere gefunden. Diese Triterpene wirken häufig als Regulationsstoffe im tierischen und pflanzlichen Organismus. Bei Mollusken sind 30 % der Steroide Cholesterol. Schnecken können Steroide im Körpergewebe aus Acetat synthetisieren und sind von deren Aufnahme durch Pflanzen unabhängig (Godan, 1979). In geringen Mengen kommt Cholesterol, ebenso wie das Triterpen Squalen, auch in pflanzlichen Fetten vor (Römpp, 1999). Squalen, das im Fußschleim und Kot der mit Kohl gefütterten Tiere vorkam, kann

durch Cycloaddition in Methylsterioide übergehen (Nuhn, 1990). So ist bei den Steroiden unklar, ob sie pflanzlicher Herkunft oder körpereigene Substanzen sind.

Methylindol wurde im Kot der mit Kohl gefütterten Tiere gefunden. Es könnte sich von der Aminosäure Tryptophan ableiten (Nuhn, 1990). Zudem ist Indol in Kohlblättern als Ascorbigen an Ascorbinsäure gebunden (Römpp, 1999). Bei Phytol, das im Kot der mit Kohl gefütterten Tiere gefunden wurde, handelt es sich um ein Diterpenalkohol, der esterartig gebunden im Chlorophyll enthalten ist, somit in allen grünen Pflanzen vorkommt und dessen wachsartige Beschaffenheit bedingt (Nuhn, 1990). Die diterpene Verbindung Neophytadien, die im Kot von mit Kohl und Salat gefütterten Tieren auftrat, läßt sich von Phytol ableiten und wurde beispielsweise aus Tabak isoliert (Bhati, 1962). Ein Pyrrol-Derivat wurde im Körperschleim der mit Kohl gefütterten Tiere gefunden. Vom Pyrrol leiten sich viele Naturstoffe ab, wie z.B. die Pyrrol-Aminosäure Prolin oder Indol und dessen Derivate (Römpp, 1999).

Essigsäure fand sich im Körperschleim und Kot der mit Kohl gefütterten Tieren sowie im Fuß- und Körperschleim der mit Salat gefütterten Tiere. Auch in der Körperschleim-Probe D der Versuchsreihe 3 (Salat gefüttert) trat es auf. Im Schleim der Süßwasserschnecke *Biomphalaria glabrata* konnten ebenfalls verschiedene Säuren (Ameisen-, Essig-, Propion- und Buttersäure) nachgewiesen werden; sie sollen für die Attraktivität der Schleimspuren verantwortlich sein (Thomas et al., 1980; Bousfield et al. (1981). Cook (1994) zeigte, daß *Limax pseudoflavus* einer künstlichen Spur aus 5 ppm Propionsäure folgt.

Im Körperschleim der Schnecken, die mit Salat gefüttert worden waren, lassen sich also verschiedene pflanzliche Inhaltsstoffe nachweisen. Limonen und Pinen (α und β) lagen im Kot etwa doppelt so hoch konzentriert wie im Körperschleim vor. Das ist insofern bemerkenswert, als im Körperschleim der mit Kohl gefütterten Tiere höchstens geringe Mengen von Kohl-Inhaltsstoffen nachzuweisen waren, die eher auf Verunreinigung mit Kot (s. 4.1.1.1.) zurückzuführen sind. Auch im Körperschleim von Tieren aus dem Vorversuch, in dem den Tieren Kohl, Karotten und Kartoffeln geboten wurden, konnten keine Sulfid-Verbindungen nachgewiesen werden, aber ebenfalls Terpen-Verbindungen, die aus dem Futter stammen könnten.

Da die verhaltensbiologischen Untersuchungen einen besondere Einfluß von schwefelhaltigen Verbindungen auf die anlockende Wirkung von Fußschleim und Kot gezeigt haben (vgl. 4.1.1.), wurden die gerade erwähnten Substanzen, die teilweise in geringen Konzentrationen vorlagen, nicht für verhaltens- und elektrophysiologische Untersuchungen ausgewählt.

Die in den Tabellen I-III des Anhangs unter der Bezeichnung Verunreinigung aufgeführten Substanzen stammen sehr wahrscheinlich nicht aus den Proben, sondern u.a. aus Kunststoffen, die bei der Probenpräparation benutzt wurden, aus Materialien, die bei der Gaschromatographie eingesetzt wurden, oder aus der Luft („Labor-Umgebung“).

Es kann sich aber auch um Substanzen handeln, die durch Umwandlung entstanden sind, wie die Acetale Acetondimethylacetal, Formaldehyddimethylacetal und Formaldehyddiethylacetal. Möglicherweise lagen in der Probe ursprünglich die entsprechenden Aldehyde (und Ketone) vor, die - als sehr reaktionsfähige Verbindungen - mit Alkoholen zu Acetalen reagierten.

(Acetyl-)Aceton, Chloroform, 1-Hydroxypropan-2-on und iso-Octan sind Lösungsmittel und könnten aus der Laborluft stammen. Allerdings ist Aceton als flüchtige Substanz vieler Gemüsearten identifiziert worden, so bei Kohl (Buttery et al., 1976) und Karotten (Linko et al., 1978). Herrmann (1978) vermutet, daß es sich um ein Oxidationsprodukt der Carotinoide handelt. Das Lösungsmittel Hexan wurde zum Spülen des Aktivkohlefilters der CLSA benutzt. Adipinsäureester und Derivate (Adipinsäurediethylester und cyclischer Adipinsäureester), Phthalate sowie Phosphorsäuretributylester sind charakteristische Polymer-Bestandteile von Kunststoffen (sogenannte Weichmacherpolymere; vgl. Römpp, 1999). Die Amin-Verbindungen (Alkyl-, Di-N-butyl-, Diisopropyl-, Trimethylamin) sind vermutlich Verunreinigungen aus Materialien des Gaschromatographen, wie z.B. das Septum. Die Siloxanverbindungen (Alkyl-, Cyclo-, Methylcyclsiloxan) stammen wahrscheinlich aus der Kapillarsäule, deren stationäre Phase Polydimethylsiloxan war, und Azulen, C3- und C4-Benzole, Trimethylpenten, Trimethyloxiran (als Oxidationsprodukt) aus dem Graphit der Aktivkohle der CLSA.

Der Ursprung von Borsäuretrimethylester, Cyclopentanol, Dimethoxyacetophenon, 2,2-Dimethoxybutan, Diethoxymethan, Diethoxypropan, 2-Ethoxy-2-methylbutan, 4-Methyl-4-hydroxy-2-pentanon, N-Methylmorpholin bleibt unklar.

4.2. Verhaltensuntersuchungen

4.2.1. Y-Olfaktometer

In Y-Olfaktometern orientieren sich die Schnecken anhand eines Geruchsgradienten. Auf den Einsatz eines Luftstroms wurde wegen der Dauer eines Tests verzichtet. Die Tiere reagierten in Probeversuchen mit Inaktivität und Aggregation, da durch den Luftstrom die Verdunstung im Testsystem beschleunigt wurde. Das Zusammenrotten - beispielsweise tagsüber in Verstecken - ist auch bei *Achatina fulica* (Chase et al., 1980) und bei *Limax*-Arten (Cook, 1981) beschrieben. Dadurch soll der Wasserverlust über die Körperoberfläche minimiert werden (Chase et al., 1980).

In etwa 80 % der Versuche in Y-Olfaktometern mit Proben entschieden sich die Schnecken für eines der Röhren. Der von mir erarbeitete Bewertungsschlüssel der Wahlvorgänge berücksichtigt eine Verhaltensweise besonders, die auch bei den Vorversuchen in der Arena auftrat. In der fremden Umgebung orientierten sich die Schnecken zunächst in kürzeren, nur wenige Minuten dauernden Läufen und kehrten immer wieder in das Versteck zurück. In Arena-Versuchen zeigte sich dies in kreisförmigen Läufen um das Versteck, in den Y-Olfaktometern durch wenige Minuten dauernde Läufe in der Basis. Manchmal krochen die Schnecken auch in ein Wahl-Röhren und kehrten vor Ende des Röhrens wieder um. Sie bewegten in der Gabelung des Y-Olfaktometers oft den Kopf und vorderen Körperbereich hin und her, krochen 1-2 cm in ein Röhren und kehrten dann wieder um. Das Aufrichten des Vorderkörpers ist beispielsweise auch für *Achatina fulica* bei der olfaktorischen Orientierung beschrieben worden (Chase & Croll, 1981). Da diese Verhaltensweise keiner zielgerichteten Orientierung zu einer Geruchsquelle zugeordnet werden kann, wurde dies im Bewertungsschlüssel insofern berücksichtigt, als nur das vollständige Durchkriechen der Wahl-Röhren als positive Reaktion gewertet wurde.

Erwartungsgemäß konnte in den Kontroll-Versuchen keine Bevorzugung eines der Röhren bei beiden Schneckenarten, *D. reticulatum* und *D. caruanae*, festgestellt werden.

4.2.1.1. Reaktionen auf Futter, Artgenossen, Kot und Schleim

D. reticulatum und *D. caruanae*, die zuvor mit Kohl gefüttert worden waren, wurden signifikant von Kohl angelockt. Gleiches gilt für den entsprechenden Versuch mit Kopfsalat, bei dem nur *D. reticulatum* (zuvor mit Salat gefüttert) eingesetzt wurden. In einem nicht

weiter verfolgten Versuchsansatz wurde die Attraktivität beider Futterpflanzen gegeneinander getestet und jeweils *D. reticulatum* in die Olfaktometer eingesetzt, die zuvor mit Kohl oder Salat gefüttert worden waren. Von den mit Kohl gefütterten Tieren suchten 62,5 % zuerst die Röhren mit Kohl auf ($n_a=9$, $n_{gesamt}=11$), von den mit Salat gefütterten Tieren waren es hingegen nur 33,3 % ($n_a=8$, $n_{gesamt}=8$). Es scheint so, als ob die Versuchstiere nach Verfüttern einer für sie attraktiven Futterpflanze eine Präferenz dafür entwickeln. Welche Rolle dabei die Dauer der ‚Konditionierung‘ spielt, ob diese Präferenz länger andauert oder eventuell nach zu langer einseitiger Ernährung wieder verloren geht, wäre zu untersuchen. Der Einfluß des kürzlich erhaltenen Futters auf die spätere Futterwahl von Schnecken wird in der Literatur - je nach Dauer der einseitigen Ernährung - unterschiedlich bewertet. Wurden *Helix pomatia* vor einem Wahlversuch nur einmal mit einem bestimmten Futter versorgt, wählten sie danach in einer Arena bis zu 11 Tagen das zuvor erhaltene Futter, falls sie zwischenzeitlich kein anderes Futter erhielten (Teyke, 1995). Jungtiere von *Achatina fulica*, die 12 h lang mit Karotten oder Gurken gefüttert wurden, bevorzugten anschließend im Y-Olfaktometer mit Luftströmen die Gerüche dieses Futters gegenüber einem anderen Futter (Croll & Chase, 1980).

Die meisten terrestrischen Schnecken gelten im Hinblick auf die Nahrung als Generalisten. Die wenn auch nur temporäre Bevorzugung einer Futterpflanze entspricht wahrscheinlich nicht dem Verhalten im Freiland. Nacktschnecken (Limacidae, Arionidae) bevorzugen nach einer längeren einseitigen Fütterung eindeutig anderes Futter (Frain & Newell, 1982; Whelan, 1982; Cook et al., 2000). *D. reticulatum* fraßen nach einer Fütterung mit Kleie, Karotten oder Kartoffeln über 5-30 Tagen bevorzugt anderes Futter (Wareing, 1993). *Arianta arbustorum* (Helicidae) zog ebenfalls eine Nahrung aus zahlreichen Futterpflanzen gegenüber einer einseitigen Diät vor (Speiser & Rowell-Rahier, 1993).

Um die anlockende Wirkung von Artgenossen und Kohl zusammen oder nur von Artgenossen zu testen, wurden als Probe Schnecken zusammen mit oder ohne Kohl in einem Aufsatz eingesetzt. Alle Tiere dieser Versuchsgruppe waren zuvor mit Kohl gefüttert worden. Beim Einsatz von drei *D. reticulatum* mit Kohl wurden über einen Abstand von 10 cm und 15 cm signifikante positive Ergebnisse erzielt; die Lockwirkung war allerdings beim größeren Abstand etwas geringer (Anteile von 72,7 % gegenüber 83,3 %). Andere Ergebnisse ergaben sich bei den Aufsätzen mit drei *D. reticulatum* ohne Kohl. Bei einem Abstand von 10 cm war die Probe signifikant anlockend, bei 15 cm wurde hingegen die Kontrolle signifikant bevorzugt. Daß der einzige Grund für die Bevorzugung der Kontrolle der Abstand ist, scheint unwahrscheinlich. Würden die Tiere über die Distanz von 15 cm die flüchtigen Substanzen

der Artgenossen nicht mehr wahrnehmen, müßten die Schnecken in etwa gleich auf beide Wahl-Röhrchen verteilt sein. Hier könnte Streß aufgrund der engen Haltung ohne Futter eine Rolle spielen. Nach meinen Beobachtungen können bei zu dichtem Besatz *Deroceras*-Arten mit gegenseitigem Beißen und Schwanzschlagen reagieren (vgl. auch entsprechende Hinweise zum Schwanzschlagen in der Trivilliteratur, wie Fechter & Falkner, 1990). Möglicherweise haben endogene (wie Alter, sexuelle Reife und Fitneß der Tiere) sowie exogene Faktoren (wie Temperatur) einen Einfluß auf die Streßanfälligkeit der Tiere.

Auch bei den Versuchen, in denen als Probe ein Aufsatz mit 10 *D. caruanae* ohne Kohl diente (Abstand 15 cm), bevorzugte ein signifikant großer Anteil die Kontroll-Röhrchen.

Diese Versuche zeigen, daß Schnecken, die unter günstigen Bedingungen gehalten werden, anlockend auf ihre Artgenossen wirken. In ähnlichen Testsystemen ist eine anlockende Wirkung von Artgenossen bereits für Gehäuse- und Nacktschnecken nachgewiesen worden. Chase et al. (1978) benutzten ein zweikammeriges Olfaktometer mit Luftströmen, um die anlockende Wirkung des Geruchs von Artgenossen und Artfremden an *Achatina fulica*, *Otala vermiculata*, *Helix aperta* zu testen. Der Luftstrom wurde über jeweils 10 Schnecken geleitet, die Testdauer betrug 20 min. Adulte und drei Wochen alte, isoliert gehaltene *A. fulica* bevorzugten den Geruch von Artgenossen gegenüber dem von *H. aperta*. Beim parallelen Einsatz von Luftströmen, die über *O. vermiculata* geleitet wurden, war keine Bevorzugung der Artgenossen vorhanden. Dieses Verhalten wurde damit begründet, daß das Aufsuchen von zahlreichen Artgenossen, eventuell auch von Artfremden, mit einem günstigen Habitat verknüpft sein kann. Die Versuche mit nicht geschlechtsreifen Tieren zeigten, daß das Auffinden von Sexualpartnern nicht im Vordergrund steht. Chelazzi et al. (1988) prüften die anlockende Wirkung von adulten Artgenossen bei *Limax flavus*. Sie setzten Infrarot-Lichtschranken an jedem Schenkel der Y-Olfaktometer und Luftströme ein. Je ein Tier wurde zu Testbeginn in ein abgedunkeltes Olfaktometer gesetzt und der Test wurde beendet, wenn die Schnecken die Lichtschranke eines Schenkels passiert hatten. Die maximale Testdauer wurde nicht angegeben. *L. flavus* bevorzugte die Schenkel des Olfaktometers, in denen sich vier bis fünf Artgenossen aufhielten gegenüber denen, die nur mit einem Artgenossen besetzt waren. Die Autoren gehen davon aus, daß dieses Verhalten die Gruppenbildung im Freiland fördert. Zudem bevorzugte *L. flavus* Artgenossen gegenüber Artfremden (*Limax maximus*). Verglichen mit einer Schleimspur von Artgenossen waren aber die Gerüche von Artgenossen attraktiver. Für diesen Vergleich wurde eine Schnecke vor Testbeginn durch einen Schenkel des Olfaktometers laufen gelassen. Dieses Olfaktometer wurde eingesetzt, indem durch den sauberen Schenkel ein Luftstrom mit dem Geruch der Artgenossen geleitet wurde. In

Wahlversuchen entschieden sich vier bis fünf Tiere, die in einer Versuchsbox gehalten wurden, beim Angebot von drei bis vier dunklen Schutzröhren meist zusammen für ein Röhren.

Diese sowie meine Untersuchungen zeigen, daß zahlreiche Schnecken dazu neigen, Aggregationen zu bilden. Einer der Gründe ist die Reduktion des Wasserverlustes über die Körperoberfläche (s.o.). Wahrscheinlich spielt auch das Auffinden eines geeigneten Habitats mit attraktiven Futterpflanzen und, trotz der oben geschilderten Befunde an *Achatina fulica*, von Sexualpartnern eine Rolle. In den erwähnten Untersuchungen scheinen bei den untersuchten Tieren keine Streßsymptome aufgetreten zu sein. Dies läßt sich möglicherweise mit der Dauer der Versuche erklären, die bei mir bis zu 48 h, bei Chase et al. (1978) hingegen nicht länger als 20 Minuten dauerten.

Um der Frage nachzugehen, welche Substanzen für die anlockende Wirkung der Artgenossen verantwortlich waren, wurden zunächst Schleim und Kot von Schnecken, die mit Kohl gefüttert worden waren, getestet. Fußschleim und Kot zusammen wirkten über eine Distanz von 5 cm bis 10 cm anlockend auf Artgenossen; fast alle Ergebnisse waren signifikant. Kot ist nach meinen Ergebnissen offenbar attraktiver als Fußschleim. Somit besitzt Kot gegenüber Fußschleim die stärkere Anlockwirkung.

Wurden *D. reticulatum* zuvor mit Salat gefüttert und das Fußschleim-Kot-Gemisch von drei Tieren als Probe eingesetzt, zeigte dieses Gemisch über die geringe Distanz von 5 cm keine anlockende Wirkung auf Tiere, die ebenfalls zuvor mit Salat gefüttert worden waren, obwohl Salat attrahierend wirkte (s.o.). Hier müßten sich allerdings weitere Untersuchungen anschließen, um auszuschließen, ob möglicherweise die Konzentration der eingesetzten Proben der Grund für das negative Ergebnis war.

Während offenbar ein Zusammenhang zwischen dem aufgenommenen Futter und der Attraktivität des Fußschleims und Kots bei *D. reticulatum* besteht, wurde bei der Süßwasserschnecke *Biomphalaria glabrata* ein Einfluß des Futters (z.B. *Apium nodiflorum*, *Rorippa nasturtium-aquaticum*) auf die Attraktivität einer Spur ausgeschlossen. Tiere, die mit einem speziellen Futter versorgt wurden, folgten den Spuren von Tieren, die zuvor dieses Futter, aber auch ein anderes Futter erhalten hatten (Townsend, 1974; Bousfield et al., 1981). Die Versuche sind allerdings nur eingeschränkt mit meinen Experimenten zu vergleichen, da

ich die fernanlockende Wirkung getestet habe und bei den oben zitierten Untersuchungen die Kontakt-Chemorezeption beurteilt wurde.

Chelazzi et al. (1988) untersuchten die Wirkung von Fußschleim und Kot auf *Limax flavus* in Olfaktometern. Die Tiere wurden mit Salat und Futterpellets (keine Angabe der Inhaltsstoffe) gefüttert. Die Autoren setzten Röhrchen ein, die kurz vor Versuchsbeginn von mehreren oder nur von einem Artgenossen besetzt worden waren. Röhrchen, die zuvor von mehreren Tieren genutzt wurden, wirkten attraktiver. Da Wahl-Röhrchen, in denen sich zum Zeitpunkt des Tests ein Artgenosse befand, gegenüber Röhrchen, die vor dem Test ein Tier enthielten, bevorzugt wurden, gehen die Autoren davon aus, daß die attrahierenden Substanzen von Schleim und Kot stark flüchtig sind. Weiterhin folgerten sie aus ihren Untersuchungen, daß verschiedene Arten zwar von derselben Grundkomponente – welche das sein könnte, wird offengelassen –, aber auch von einer artspezifischen Substanz angelockt werden. Hinweise auf die Attraktivität von Fußschleim geben auch die Untersuchungen von Chase & Boulanger (1978). Die Autoren benutzten das bei Chase et al. (1978) beschriebene Olfaktometer (s.o.) und setzten Extrakte aus der Fuß- und Speicheldrüse von *Achatina fulica* ein. Die Schnecken bevorzugten eine wäßrige Lösung sowie etherextrahierte Komponenten der Fußdrüse. Daraus folgerten sie, daß die attrahierende Substanz ein Lipid sei. Die Extrakte der Speicheldrüse wirkten nicht anlockend.

Meine Untersuchungen an *Deroceras reticulatum* geben allerdings keine Hinweise auf Lipide im Fußschleim. Die in den nativen Proben vorhandenen Lipide, bei denen es sich vermutlich um Blattwaxe handelt, wurden nur im Kot von Schnecken gefunden, die mit Salat gefüttert worden waren (vgl. Tab. 16).

Beide *Deroceras*-Arten konnten mit einem Fußschleim-Kot-Gemisch nur bis zu einem Abstand von 10 cm angelockt werden (s.o.). Die Distanzen, über die terrestrische Schnecken Geruchsstoffe wahrnehmen können, hängen im entscheidendem Maß von der Substanz und seinen Eigenschaften (wie dem Dampfdruck) ab. Trotzdem ist auffallend, daß bei Schnecken im Zusammenhang mit gezielter Orientierung zu einem Geruchsstoff meist nur Distanzen bis 10 cm angegeben werden. Bailey & Wedgwood (1991) studierten das Suchverhalten von *D. reticulatum* und *Arion distinctus* beim Einsatz von Mais-, Weizen-, Erbsen- oder Kartoffel-Pellets und ermittelten eine anlockende Wirkung der Pellets über eine Distanz von etwa 2-4 cm. Ähnliche Ergebnisse brachten Tests mit Metaldehyd- und Methiocarb-Pellets, die zur Bekämpfung von *D. reticulatum* eingesetzt werden. Der optimale Abstand lag bei bis zu

10 cm; bei einem größeren Abstand waren die Pellets deutlich weniger wirksam (Hunter & Symonds, 1970). Vokou et al. (1998) untersuchten die Attraktivität von *Origanum*-Arten auf Gehäuseschnecken (Helicidae). Eine zielgerichtete Bewegung zur Pflanze wurde mit einer anlockenden Wirkung gleichgesetzt. Diese Bewegungen fanden überwiegend in einem Radius < 10 cm zur Pflanze statt. Offenbar ist das Vermögen bei terrestrischen Schnecken, über weitere Distanzen Gerüche über einen Geruchsgradienten wahrzunehmen, limitiert.

Der Körperschleim von *D. reticulatum*, der sich optisch durch seine weißliche Farbe von durchsichtigem Fußschleim unterscheidet und besonders bei Reizung der Tiere abgegeben wird, hat offenbar keine attrahierende, aber auch keine repellierende Wirkung. Eine ausreichende Menge Körperschleim von *D. caruanae* wirkte anlockend auf Artgenossen. Möglicherweise liegen hier artspezifische Unterschiede vor.

Wahrscheinlich dient der Körperschleim in erster Linie der Abwehr von Räubern. Arten wie *Arion fasciatus*, *D. reticulatum* und *Succinea* ssp. verteidigen sich mit ihrem zähen Körperschleim gegen Angriffe z.B. von Carabiden (Digweed, 1993; Pakarinen, 1994). Die Attacke der Räuber wird durch Verkleben der Mandibeln oder Stigmen erschwert. *Carabus violaceus* und die auf Schnecken spezialisierte Art *Cychrus caraboides* verhindern offenbar den vermehrten Schleimfluß, indem sie den Schnecken während des Angriffs auf den Kopf oder vorderen Bereich des Mantels schlagen (Pakarinen, 1994). Zudem sind die Stigmen von *Cychrus*-Arten durch die Seitenränder der Flügeldecken geschützt.

4.2.1.2. Reaktionen auf Proben aus der Closed-Loop-Stripping-Apparatur

Es ist anzunehmen, daß die meisten, wenn nicht alle flüchtigen Substanzen der frischen Proben erfaßt wurden. In den CLSA-Proben wurden vorwiegend leichtflüchtige und in den nativen Proben auch schwerflüchtige Verbindungen detektiert. Da sich zeigte, daß namentlich die CLSA-Proben stark anlockend wirkten (bis zu 84 % der Tiere bevorzugten die Proben), also vor allem leichtflüchtige Substanzen attraktiv sind, wurde auf die Prüfung der schwerflüchtigen verzichtet.

Bereits beim Einsatz der Proben aus der Versuchsreihe 1 (gewonnen aus Fußschleim-Kot-Gemischen von Tieren, die mit Kohl gefüttert worden waren) wurde der besondere Einfluß von Schwefelverbindungen Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid deutlich. Alle Proben, die wenigstens Dimethyldisulfid (in einer Konzentration ≥ 180 ppm) und Dimethyltrisulfid zusammen enthielten, waren bei einem

Probenvolumen von 10 μ l signifikant anlockend. Proben mit ≥ 1000 ppm Dimethyldisulfid und jeweils ≥ 15 ppm der anderen drei Verbindungen wurden von mindestens 77 % der Schnecken zuerst gewählt. Hingegen wurden die Proben, die keine dieser vier Verbindungen aufwiesen, nicht bevorzugt. Daher wurden alle weiteren CLSA-Proben auf das Vorhandensein der vier Schwefelverbindungen und ihre Attraktivität geprüft.

Die Proben der Versuchsreihe 2 (gewonnen aus Körperschleim, Kot und Fußschleim-Kot-Gemischen von Tieren, die mit Kohl gefüttert worden waren) wurden nicht signifikant bevorzugt. Dieses Ergebnis widerspricht also zunächst dem aus Versuchsreihe 1.

In den Proben der Versuchsreihe 2 wurden von den vier oben genannten Schwefelverbindungen nur Dimethyldisulfid nachgewiesen. Die meisten Tieren suchten die Kot-Probe E mit dem höchsten Dimethyldisulfid-Gehalt (1300 ppm) auf. Die Proben M, I, L und K enthielten 180 ppm, 160 ppm, 150 ppm und 50 ppm (nicht aufgeführt in Tab. 15). Mit abnehmendem Gehalt nahm auch die Anzahl der positiven Wahlen ab (Probenvolumen von 10 μ l). Die Probe A mit 170 ppm weicht nur geringfügig von dieser Tendenz ab. Auffallend ist beim Vergleich der Proben A und L, daß bei einer geringen Differenz des Dimethyldisulfid-Gehalts von 20 ppm die Anlockwirkung einer Probe deutlich verringert ist. Dies könnte bedeuten, daß eine bestimmte Grenzkonzentration - eventuell von etwa 170 ppm - vorhanden sein muß, um noch anlockend zu wirken.

Vergleicht man hingegen die Konzentration von Dimethyldisulfid ≥ 170 ppm und den Anteil der Tiere, die diese Proben gewählt haben, ist ein möglicher linearer Zusammenhang nicht abzuleiten (vgl. Abb. 23a). Dies gilt auch für Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid (vgl. Abb. 23b). Die meisten positiven Wahlen waren mit Konzentrationen im Bereich von 15-33 ppm zu erzielen. Die anlockende Wirkung der Schwefelverbindungen könnte somit auf einem bestimmten Mischungsverhältnis mehrerer oder aller vier Schwefelverbindungen beruhen. Dafür sprechen auch die Ergebnisse, die sich nach Einsatz der Probe E aus Versuchsreihe 2 ergaben. Obwohl diese Probe mit 1300 ppm Dimethyldisulfid etwa im Bereich der Konzentration der Proben A und B (Versuchsreihe 1) lag, wurde sie weniger häufig gewählt. Dies könnte daran liegen, daß hier im Gegensatz zu den anderen Proben Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid fehlten. Insgesamt wird die nicht anlockende Wirkung der Proben aus der Versuchsreihe 2 auf das Fehlen der drei Schwefelverbindungen Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid und der überwiegend geringen Konzentration von Dimethyldisulfid zurückgeführt.

Proben aus der Versuchsreihe 3, in der Körperschleim, Kot und Fußschleim-Kot-Gemische von Schnecken eingesetzt wurden, die mit Salat gefüttert worden waren, enthielten neben Schwefelverbindungen u.a. auch Terpenverbindungen (Limonen, α - und β -Pinen, 6-Methyl-5-hepten-2-on). Der Einfluß des z.T. in hoher Konzentration auftretenden Dimethylsulfoxids kann nicht beurteilt werden; elektrophysiologisch waren keine Antworten des olfaktorischen Nervs nachzuweisen (vgl. 4.3.1.). Vergleicht man alle getesteten CLSA-Proben aus dieser Versuchsreihe unter Berücksichtigung des Gehalts der vier Schwefelverbindungen und der drei genannten Terpen-Verbindungen (vgl. Abb. 21), fällt auf, daß nur mit Proben, die mehrere Terpen-Verbindungen und eventuell mehrere Schwefelverbindungen enthielten, signifikante Ergebnisse erzielt wurden.

Bemerkenswert ist, daß nur bei 5 μ l der Kot-Probe (F) die Ergebnisse signifikant sind. Bei 2 μ l suchten 57,1 % der Schnecken die Proben-Röhrchen auf, bei einem Volumen von 10 μ l hingegen nur 38,1 %. Dies könnte bedeuten, daß zu hohe Konzentrationen der in dieser Probe enthaltenen Substanzen (vermutlich in einem bestimmten Mischungsverhältnis) die Lockwirkung herabsetzen oder sogar repellierend wirken. Die Schwefelverbindungen Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid dieser Probe können wohl nicht für die attrahierende Wirkung verantwortlich gemacht werden, da sie nur in geringen Mengen auftraten. Besonders Dimethyldisulfid lag mit 6 ppm deutlich unter dem oben erwähnten möglichen Grenzwert von 170 ppm. Möglicherweise wäre mit der Probe E, die in der Zusammensetzung der Probe F ähnelt, ebenfalls ein signifikantes Ergebnis erzielt worden, wenn sie in einem geringeren Volumen (< 10 μ l) eingesetzt worden wäre. Eine Abnahme der Lockwirkung mit zunehmender Konzentration scheint sich auch bei Terpen-Verbindungen anzudeuten (vgl. Abb. 24). Die Probe F mit einem relativ niedrigen Pinen- (13 ppm) und Limonen-Gehalt (5 ppm) und einer niedrigen Lockwirkung bei 10 μ l (s.o.) weicht von dieser Tendenz ab. Möglicherweise wirken diese Verbindungen auch nur in einem bestimmten Mischungsverhältnis in geringeren Konzentration anlockend, in höheren Konzentrationen hingegen eher repellierend. Ein Beispiel für eine von der Konzentration abhängige verhaltensbeeinflussende Wirkung gibt die Untersuchung von Garraway (1992). So wirkt das Monoterpenoid-Keton (+)-Fenchon in niedrigen Konzentration (0,1-1,0 μ g/ μ l) attraktiv auf *D. reticulatum*, in höheren Konzentrationen hingegen repellierend.

Hervorzuheben ist, daß CLSA-Proben mit mindestens zwei Schwefelverbindungen (Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid) von Fußschleim-Kot-Gemischen der Tiere, die mit Kohl gefüttert worden waren, im Olfaktometer signifikant anlockend wirkten. CLSA-Proben,

die aus Körperschleim gewonnen wurden, zeigten hingegen keine anlockende Wirkung. Diese Ergebnisse stimmen mit den Versuchen überein, in denen native Fußschleim-Kot-Gemische sowie nativer Körperschleim eingesetzt wurden. CLSA-Proben aus Kot wurden zwar nicht signifikant bevorzugt, aber von einem größeren Teil der Tiere (66,7 %) aufgesucht. Da sich der native Kot im Y-Olfaktometer als anlockend erwies, scheint das Problem der Wirkung der CLSA-Proben in der geringen Menge des Kots, die eingesetzt wurde, zu liegen (vgl. 4.1.1.).

Übereinstimmend wurden sowohl mit den CLSA-Proben als auch den nativen Proben aus Fußschleim-Kot-Gemischen von *D. reticulatum*, die mit Salat gefüttert worden waren, keine anlockende Wirkung erzielt.

4.2.1.3. Reaktionen auf Schwefelverbindungen

Um die Annahme zu erhärten, daß den vier Schwefelverbindungen Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid eine wichtige Rolle bei der Lockwirkung des Fußschleims und Kots zukommt, wurde Dimethyldisulfid einzeln und in einer Lösung mit den anderen drei Schwefelverbindungen getestet. Dimethyldisulfid wurde ausgewählt, da in allen CLSA-Proben, die aus Fußschleim-Kot-Gemischen, Körperschleim und Kot von Schnecken gewonnen wurden, die mit Kohl gefüttert worden waren, zumindestens Dimethyldisulfid vorlag. Zahlreiche analytische Untersuchungen verschiedener Kohl-Arten belegen, daß beim Zerstören von Gewebe vorwiegend Dimethyldisulfid auftritt (Tab. 19).

Da bereits 5 ppm Dimethyldisulfid von *D. reticulatum* und *D. caruanae* im Olfaktometer gemieden wurden, wurden stärker verdünnte Lösungen (0,25 ppm und 1 ppm) verwendet. Bei niedrigen Konzentrationen $\leq 2,5$ ppm war die Verteilung von *D. reticulatum* auf Proben- und Kontroll-Röhrchen ähnlich. Die Konzentration 2,5 ppm wurde von *D. caruanae* signifikant zuerst gewählt. Daß bereits eine relativ geringe Konzentration von 5 ppm gemieden wurde, war im Hinblick auf die Ergebnisse, die mit den CLSA-Proben erzielt wurden, nicht zu erwarten und läßt sich anhand dieser Daten nicht klären. Die CLSA-Probe E der Versuchsreihe 2 beispielsweise enthielt als schwefelhaltige Substanz eine relativ hohe Konzentration Dimethyldisulfid (1300 ppm) und wurde von 66,7 % *D. reticulatum* bevorzugt.

In dem anderen Versuchsansatz (Lösung mit den vier Schwefelverbindungen) wurden ähnliche Konzentrationen genommen, die in der Probe B der Versuchsreihe 1 auftraten. Mit

dieser Probe wurde der höchste Anteil von Tieren (84 %), die die Probe bevorzugten, erzielt. Die Konzentration von Dimethyldisulfid betrug 1000 ppm. Die Konzentrationen der anderen drei Verbindungen variierte bei den Proben A, die ebenfalls signifikant gewählt wurde, und B zwischen 15 ppm und 33 ppm (s.o.) und wurde daher für die Lösung auf 25 ppm festgelegt (vgl. Abb. 23 b). In der Probe B war zusätzlich noch Thiocyan säuremethyl- und cyclischer Adipinsäureester vorhanden.

Die Lösung wurde von *D. reticulatum* und *D. caruanae* mit Anteilen von 68 % und 81 % deutlich bevorzugt. Im Vergleich zu der Probe B der Versuchsreihe 1 wirkte sie bei *D. reticulatum* zwar etwas weniger attraktiv, dies könnte aber möglicherweise an den beiden anderen Substanzen (s.o.) liegen. Die Wahl von *D. caruanae* war signifikant. Die Gründe, warum eine deutlich geringere Konzentration von Dimethyldisulfid allein eher gemieden wird, bleibt auch nach diesem Ergebnis ungeklärt.

Die Ergebnisse lassen eine Schlußfolgerung zu. Die vier Schwefelverbindungen Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid sind für die anlockende Wirkung des hier getesteten Kots und Fußschleims von Schnecken, die mit Kohl gefüttert worden waren, verantwortlich. Ob diese Wirkung noch durch weitere Verbindungen verstärkt wird, ist nicht auszuschließen. Diese aus der Nahrung stammenden Substanzen wirken sowohl bei *D. reticulatum* als auch *D. caruanae*.

Prüft man andere Schwefelverbindungen, z.B. Methanthiol, das eher dem Duftbouquet von frischem Kohl entspricht, aber auch kurz nach Zerstören des Gewebes auftritt (u.a. Chin & Lindsay, 1993; s.o.), in Konzentrationen von 0,25 ppm und 1 ppm, zeigt sich, daß *D. reticulatum* und *D. caruanae* (jeweils mindestens $n_a=20$) die Proben-Röhrchen mit Methanthiol nicht bevorzugten. Die Konzentration 2,5 ppm wurde hingegen von beiden Arten signifikant gemieden. Da Methanthiol in diesen Konzentration nicht anlockend wirkte, wurde der Versuchsansatz jedoch nicht weiter verfolgt.

4.2.2. Zylindrisches Olfaktometer

In ersten Versuchen ist auch das von Prof. Dr. Berking (Universität Köln) entwickelte zylindrische Olfaktometer eingesetzt worden. Nach meinen Erfahrungen ist es aber sehr schwer, mit solchen Olfaktometern verlässliche und reproduzierbare Daten zu erhalten.

Zunächst fällt der hohe Prozentsatz an inaktiven Tieren auf. Von den mit Kohl gefütterten *D. reticulatum* waren 57,8 % und von denen, die gehungert hatten, 66,0 % in Olfaktometern mit sechs Wahl-Röhrchen inaktiv. Von den mit Kohl gefütterten *D. caruanae* waren 33,3 % (sechs Röhrchen) und 79,0 % (zwei Röhrchen) inaktiv.

Solche Schwankungen, die, wenn auch in weit geringerem Maße, auch in Y-Olfaktometern auftraten, sind vermutlich vom Alter, der Fitneß und der jahreszeitlichen Aktivität der Tiere abhängig, da ja alle Versuchstiere im Laufe der Untersuchungsperiode im Freiland gesammelt werden mußten. Trotzdem ist der Unterschied zur Inaktivität der bei den Y-Olfaktometern eingesetzten Schnecken bemerkenswert. Dort waren in Versuchen mit Proben deutlich weniger Tiere inaktiv (19,2 %, $n_{\text{gesamt}}=2111$). Der Grund für die Inaktivität bleibt ungeklärt. Anscheinend bleiben Schnecken, die in einer Gruppe in ein Testsystem gesetzt werden, zunächst bevorzugt in der Nähe der Artgenossen. Hunger scheint ebenfalls keinen positiven Einfluß auf die Aktivität der Tiere zu haben.

Bei Kontroll-Versuchen mit sechs leeren Wahl-Röhrchen verteilten sich die beiden Schneckenarten in etwa gleichen Anteilen auf jeweils drei zusammengefaßte Röhrchen. Dabei schwankten die Anteile der Tiere in einzelnen Röhrchen von 0 % bis 31,5 %. Auch bei den Versuchen mit Salat als Probe in jedem zweiten Röhrchen wurde keine Bevorzugung der Proben-Röhrchen durch gefütterte und hungrige *D. reticulatum* sowie gefütterte *D. caruanae* festgestellt. Allerdings könnte in diesem Zusammenhang bedeutend sein, daß die Tiere vorher mit Kohl gefüttert worden waren (s.o.). Trotzdem wurde zumindestens bei den nicht gefütterten Tieren ein Aufsuchen des Salats erwartet. Um die Wahlmöglichkeiten zu reduzieren, wurden in einem nächsten Versuchsansatz nur noch zwei Wahl-Röhrchen eingesetzt. In dieser Versuchsanordnung konnte eine teilweise signifikante Bevorzugung der Proben-Röhrchen mit Kohl oder Fußschleim-Kot-Gemischen von jeweils drei *D. caruanae* durch Artgenossen festgestellt werden. Vermutlich wird durch den Einsatz von nur zwei Röhrchen die Möglichkeit der Fehlentscheidung eines Tieres reduziert. Allerdings war hier ein besonders hoher Anteil der Tiere inaktiv (s.o.).

Vergleicht man zylindrische und Y-Olfaktometer miteinander, werden die Nachteile des ersten deutlich. In zylindrischen Olfaktometern beeinflussen sich die Tiere gegenseitig. Sie folgen den Schleimspuren und werden durch ihre Artgenossen angelockt. Kriecht beispielsweise eine Schnecke in ein Kontroll-Röhrchen und ist dort gefangen, können durch den Geruch des Tieres, des Fußschleims und des Kots sowie die zum Röhrchen gelegte

Schleimspur andere Tiere angelockt werden. Möglich ist auch, daß durch gestreßte Schnecken keine weiteren in ein Röhrchen folgen. Zudem verhindert der Klappen-Mechanismus des Törchens, daß Tiere, die nur 1-2 cm in das Röhrchen hineinkriechen, dieses nicht wieder verlassen können. Die Verteilung in den Olfaktometern kann dadurch zufällig werden, besonders wenn die Probe eher eine schwache Anlockwirkung hat. Weiterhin erwiesen sich die Törchen als störungsanfällig. Durch Verschmutzung mit Schleim schwangen sie gelegentlich nach dem Durchkriechen nicht wieder zu, so daß die Tiere ungehindert ein- und auskriechen konnten.

Für ein geeignetes Testsystem lassen sich aufgrund dieser Erfahrungen zwei Bedingungen ableiten: nur eine Schnecke sollte in ein Testsystem gesetzt werden, und die Versuche sollten nach Auswertung von Videoaufnahmen beurteilt werden.

4.3. Elektrophysiologie

4.3.1. Reaktionen des olfaktorischen Nervs

Die spontanen Frequenzen der Nervenpräparate, also die der Prästimulusphase, und somit auch die Frequenzen nach einem Stimulus schwankten stark. Daher wurde in Anlehnung an Dodds (1997) der Frequenzanstieg nach einer Reizgabe in Relation zur Frequenz davor gesetzt. Diese relativen Frequenzen stellen den Faktor dar, um den sich die Frequenz der Poststimulusphasen a oder b gegenüber der der Prästimulusphase verändert. Dodds (1997) stellte ebenfalls unterschiedliche spontane Frequenzen des olfaktorischen Nervs von *Deroceras reticulatum* fest und gab als Beispielwerte 0 Spikes/s und 1,2 Spikes/s an. Die von mir bestimmten durchschnittlichen Frequenzen von $0,86 \pm 0,80$ Spikes/s liegen in diesem Bereich; allerdings war die Schwankungsbreite mit 0,02-3,35 Spikes/s relativ hoch. Dodds (1997) verglich die Frequenzen der Zeiträume 50 s vor Reizgabe und 10 s danach und errechnete daraus einen Faktor, mit dem der Frequenzanstieg angegeben werden konnte (keine genauen Angaben des Rechenweges). Die Auswertung von Aufzeichnungen, die vor dem Stimulus keine spontane Frequenz aufwiesen (=0 Spikes/s), muß entfallen sein, da kein Faktor gebildet werden kann. Ein Vergleich zwischen der Antwort einer Nervenpräparation auf das verwendete Lösungsmittel Hexan und der anschließenden Antwort auf eine darin gelöste Testsubstanz erfolgte nicht. Da jedoch bei meinen Aufzeichnungen auch bei der Reizgabe von Lösungsmitteln unterschiedliche absolute Frequenzen auftraten, schien es mir notwendig, diese Frequenzänderung für jede einzelne in Lösungsmittel gelöste Testsubstanz

zu verrechnen (Tab. 9). Dodds (1997) berücksichtigte bei den Auswertungen noch die Dauer der Antwort sowie die absolute Anzahl der Aktionspotentiale während der gesamten Antwort. Da die Dauer der Antworten sehr unterschiedlich ausfällt und die Frequenzen variieren konnten, erschien es mir aussagekräftiger, auch die Frequenz des Poststimulus b in Relation zur Frequenz der Prästimulusphase zu setzen.

Die Testsubstanzen bewirkten alle eine Erhöhung der relativen Frequenz, mit Ausnahme der Luftströme, die über *Deroceras reticulatum* geleitet wurden, sowie der Testsubstanz Dimethylsulfoxid. Luftströme, die über 20-30 Artgenossen geleitet wurden, hatten eine Erniedrigung der relativen Frequenz zur Folge. Bei diesen Versuchen wurden die Tiere 10 min vor Reizgabe in eine Glasspritze gegeben. Auch hier könnten Streßfaktoren durch zu dichten Besatz von Schnecken eine Rolle spielen, wie es für die Versuche mit Y-Olfaktometern, in denen in Aufsätzen Schnecken eingesetzt wurden, vermutet wird (vgl. 4.2.1.1.). Vielleicht sind in den Luftströmen, die über Artgenossen geleitet werden, sogar repellierende flüchtige Substanzen enthalten, die eine Erniedrigung der relativen Frequenz verursachen. Andere Autoren stellten bei Testsubstanzen, die sich im Verhaltens- oder Fraßtest als repellierend erwiesen, eine Steigerung der Frequenz des olfaktorischen Nervs fest (Garraway, 1991, 1992; Dodds et al., 1996; Dodds, 1997).

Luftströme über fünf Tiere, die mit Hexan zur vermehrten Schleimabgabe gereizt wurden, bewirkten eine leichte Erhöhung der relativen Frequenz. Mit Körperschleim konnte im Verhaltenstest bei *Deroceras reticulatum* keine verhaltensbeeinflussende Wirkung erzielt werden; vermutlich handelt es sich bei der Abgabe von Körperschleim um einen mechanischen Abwehrmechanismus (s. 4.2.1.1.). Auch auf die Reizgabe mit Luftströmen, die über tote Tiere geleitet wurden, reagierten die Nervenpräparationen mit einer leichten Erhöhung der relativen Frequenz.

Beim Dimethylsulfoxid war im Gegensatz zu allen anderen Schwefelverbindungen keine Änderung der Frequenz festzustellen. Die höchsten relativen Frequenzen in der Poststimulusphase a wurden nach unverdünntem und verdünntem Dimethyldisulfid gemessen. Die Erhöhungen waren zumindestens in der Poststimulusphase a gegenüber dem Lösungsmittel bei 25 ppm und 250 ppm sowie der unverdünnten Lösung signifikant. Bei den verschiedenen Konzentrationen von Dimethyldisulfid fällt auf, daß die relativen Frequenzen der Poststimulusphasen a von 25 ppm, 250 ppm und der unverdünnten Lösung alle in einem ähnlich hohen Bereich liegen. Die unverdünnte Lösung bewirkt somit gegenüber der 4000fach verdünnten Lösung 250 ppm nur noch eine geringfügige Steigerung der Frequenzerhöhung.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die olfaktorischen Sinnesepithelien des posterioren Fühlers von *D. reticulatum* deutlich auf Schwefelverbindungen, insbesondere auf Dimethyldisulfid, reagieren.

Schwieriger wird die Beurteilung, wenn Substanzgemische als Reiz geboten werden. Von den CLSA-Proben wurden diejenigen ausgewählt, die Schwefelverbindungen enthielten und / oder eine anlockende Wirkung im Y-Olfaktometer zeigten. Alle Proben enthielten mit einer Ausnahme Dimethyldisulfid. Auf die Körperschleim-Probe B der Versuchsreihe 3, die als schwefelhaltige Substanz nur Dimethylsulfoxid enthielt, reagierte der olfaktorische Nerv nicht (s.o.).

Insgesamt zeigt sich, daß bezüglich der Frequenzerhöhungen und der Dauer bei allen getesteten CLSA-Proben der Fußschleim-Kot-Gemische, des Körperschleims und des Kots ähnliche Ergebnisse vorliegen, mit Ausnahme der Fußschleim-Kot-Probe I der Versuchsreihe 2 (s. u.). Tendenziell wurden mit den Kot-Proben etwas höhere Frequenzerhöhungen erzielt, und auch die Dauer der Antworten war länger als die der anderen Proben (Ausnahme Probe I aus der Versuchsreihe 2). In allen Dimethyldisulfid-haltigen Proben waren 6 ppm oder mehr enthalten (in der Probe I aus der Versuchsreihe 2 wurden 160 ppm ermittelt; nicht in Tab. 15 aufgeführt). Bereits mit einer Konzentration von 2,5 ppm wurde eine Erhöhung der relativen Frequenz ermittelt (s.o.).

Mit den CLSA-Proben, die mehr als 250 ppm enthielten (Proben A und E aus der Versuchsreihe 1 und E aus der Versuchsreihe 2) konnten nicht so hohe relative Frequenzen ermittelt werden, wie bei alleiniger Reizgabe von 250 ppm Dimethyldisulfid. Nach Reizgabe der Probe I aus der Versuchsreihe 2 fällt eine starke, gegenüber dem Lösungsmittel signifikante Erhöhung der relativen Frequenz in der Poststimulusphase b auf (15,35). Die gegenüber den beiden anderen Fußschleim-Kot-Proben (15-25 s) deutlich längeren Antworten (ca. 375 s) sind durch die Art der Ableitungen zu erklären. Bei dieser Probe waren drei Antworten dem Typ c (verzögerte Antwort) und nur eine dem häufigsten Typ a zuzuordnen. Dies erklärt auch die gegenüber der Poststimulusphase b deutlich geringere Frequenzerhöhung in der Poststimulusphase a. Interessanterweise scheint dieser Art der Ableitung keine verhaltensbeeinflussende Reaktion zuzuordnen zu sein, denn im Y-Olfaktometer liefen nur 40 % der Schnecken in die Röhren mit dieser Probe. Antworten des Typs c konnten nur noch einmal, ebenfalls bei einer Fußschleim-Kot-Probe (E aus der Versuchsreihe 1) festgestellt werden. Die Kot-Proben führten zu sechs Antworten des Typs a und zu drei Antworten des Typs b. Der seltene B-Typ trat nur bei der Kot-Probe E aus der Versuchsreihe 2 auf und erklärt dort die relativ langen

Antworten. Bei allen anderen getesteten CLSA-Proben traten Antworten des Typs a und d auf. Das Auftreten des Typs d ist dabei nicht an das Vorkommen von Dimethyldisulfid gebunden.

Bisher liegen aus der Literatur keine Kenntnisse darüber vor, ob die Sinnesepithelien der posterioren Fühler bei *D. reticulatum* unterschiedlich auf attrahierende und repellierende Substanzen reagieren. Daher erschien es mir sinnvoll, neben der Auswertung der Frequenzveränderung und der Dauer der Antwort, unterschiedliche Ableitungstypen zu beschreiben. Aus den vorliegenden Daten läßt sich noch keine Regelmäßigkeit für das Auftreten bestimmter Typen von Ableitungen erkennen. Möglicherweise können die Ergebnisse aber als Grundlage für weitere Untersuchungen dienen.

Neben Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid, Methylpropyldisulfid, Dimethylsulfoxid, Benzothiazol und Methylthiosulfat wurden noch vier nicht schwefelhaltige Substanzen getestet, die ebenfalls in CLSA-Proben detektiert worden waren. Ausgewählt wurden Essigsäureethylester und Sulcaton (= 6-Methyl-5-hepten-2-on), die u.a. in der Körperschleim-Probe B aus der Versuchsreihe 3 auftraten. Die Inhaltsstoffe dieser Probe waren von besonderem Interesse, da sie keine der vier Schwefelverbindungen enthielt, aber im Y-Olfaktometer signifikant gewählt wurde und eine Erhöhung der relativen Frequenz des olfaktorischen Nervs bewirkte. Zudem wurden das in vielen Proben aufgetretene Benzaldehyd und das im Körperschleim des Vorversuchs gefundene Farnesol getestet. Farnesol (n=3) wurde nur unverdünnt angewandt, da es keine Frequenzänderung bewirkte; alle anderen Substanzen wurden 1 %ig und unverdünnt angewandt. Nach Reizgabe der 1 %igen Lösungen traten niedrige relative Frequenzen < 1,5 auf (jeweils n=3), die Antworten dauerten etwa 40 s. Ethylacetat (n=4) bewirkte unverdünnt die stärkste Frequenzänderung (relative Frequenz ca. 4,9), gefolgt von 6-Methyl-5-hepten-2-on (n=5; relative Frequenz ca. 2,4) und Benzaldehyd (n=3; relative Frequenz 1,6). Somit ist vermutlich die Erhöhung der Frequenz in der erwähnten Körperschleim-Probe (s.o.) auf die beiden erstgenannten Substanzen zurückzuführen. Bei den unverdünnten Substanzen dauerten die Antworten maximal 110 s. Alle Lösungen bewirkten Antworten des Typs a, mit Ausnahme von Farnesol, das keine Änderung der Frequenz bewirkte (s.o.). Diese Ergebnisse zeigen, daß die Änderung der Frequenz des olfaktorischen Nervs nach Reizgabe mit CLSA-Proben möglicherweise auch auf andere als schwefelhaltige Substanzen zurückzuführen sind.

Insgesamt zeigten die Untersuchungen, daß von allen von mir getesteten Substanzen die höchste Frequenzänderung in der Poststimulusphase a am olfaktorischen Nerv mit unver-

dünntem Dimethyldisulfid und die längste Antwort (etwa 750 s) mit stark verdünntem Dimethyldisulfid (2,5 ppm) erreicht wurde.

Daten zu neurophysiologischen Untersuchungen an *Deroceras reticulatum* liegen bei Garraway (1992) und Dodds (1997) vor. Beide Autoren testeten allerdings mögliche repellierende oder fraßhemmende Substanzen. Da ich überwiegend Substanzgemische getestet habe, die eine anlockende Wirkung im Verhaltenstest zeigten, lassen sich die Ergebnisse dieser Autoren möglicherweise nur eingeschränkt mit meinen vergleichen (s.o.).

Garraway (1992) wertete die elektrophysiologischen Antworten des olfaktorischen Nervs nach dem Typ des Aktionspotentials (beinhaltet Amplitude, Zeit bis zum Erreichen der maximalen Amplituden und das Zurückkehren zur Basislinie), nach der Dauer der Antwort, der Anzahl der Aktionspotentiale sowie nach der Frequenz (Feuerungsrate von Aktionspotentialen und Zeit zwischen zwei Aktionspotentialen) aus. Er stellte bei einer Zunahme der Konzentration einer Testsubstanz eine Zunahme der Dauer der Antwort und der Anzahl der Aktionspotentiale fest. Substanzen, die sich verhaltensbiologisch als repellierend erwiesen, bewirkten hohe Werte bei allen drei Bewertungsgrößen. Obwohl ich nur mit wenigen Konzentrationsstufen gearbeitet habe, war auch in meinen Versuchen eine positive Korrelation der Substanzen (Dimethyltrisulfid, Ethylacetat, Benzaldehyd und 6-Methyl-5-hepten-2-on) und einer Frequenzerhöhung festzustellen. Die Dauer der Antwort ist allerdings uneinheitlich. Beispielsweise nimmt bei Dimethyldisulfid die Länge der Antwort bei Konzentrationen von 2,5-250 ppm zunächst ab (bei 2,5 ppm wurde eine extrem lange Antwort gemessen), bei der unverdünnten Lösung dauern die Antworten jedoch länger. Auch die Beziehung ‚hohe Frequenzänderung, lange Antwort‘ läßt sich nicht aus meinen Ergebnissen ableiten. Eine weitere Schwierigkeit bei der Festlegung der Dauer der Antwort ist durch die Art der Ableitung bedingt. Bei Ableitungen des Typs d wurde das Ende einer Antwort hinter das erste Maximum gesetzt, die sich oft anschließende zweite Frequenzerhöhung (nach geringerer Aktivität) wurde nicht berücksichtigt. Diese Pausen dauerten unterschiedlich lang, so daß rechnerisch Frequenzerniedrigungen entstehen würden, wenn die zweite Erhöhung mitgewertet würde. Würde die Frequenzänderung als einziges Auswertkriterium gelten, würde eine geringe Frequenzerhöhung oder gar -erniedrigung eine schwache Antwort des Nervs auf diese Substanz bedeuten. Um solche Fehlerquellen zu vermeiden, wurden die Typen genau beschrieben (s.o.). Ähnliche Probleme ergeben sich bei der Auswertung des seltenen Typs c, bei dem das Ende der Antwort hinter das verzögerte Maximum gesetzt wurde. Dadurch ergeben sich jedoch vergleichsweise längere Antworten. Ein einfacher Vergleich der Dauer der Antworten bei

diesen unterschiedlichen Ableitungen scheint daher als einziges Auswertkriterium unzuverlässig zu sein.

Bei der Reizgabe von Pflanzenextrakten (Apiaceae), die sich teilweise als fraßhemmend erwiesen, wurde ein Anstieg der Frequenz in der Poststimulusphase a um bis zu 10,5 und eine maximale durchschnittliche Dauer von etwa 170 s ermittelt (Dodds, 1997; Dodds et al, 1999). Bemerkenswert ist, daß die von mir ermittelte relative Frequenz von 10,4 (Medianwert) in der Poststimulusphase a nach unverdünntem Dimethyldisulfid bei Präparationen des olfaktorischen Nervs damit übereinstimmt, obwohl es sich nicht um vergleichbare Substanzen handelt. In der Poststimulusphase b wurde die höchste Frequenzänderung (19,7; Einzelwert) nach Reizgabe mit einer Fußschleim-Kot-Probe (I aus der Versuchsreihe 2), die Dimethyldisulfid enthielt, ermittelt. Erwartungsgemäß scheint eine Steigerung der Frequenz über einen bestimmten Grenzwert nicht möglich. Mit einer Ausnahme (Probe I aus der Versuchsreihe 2) dauerten die Antworten des olfaktorischen Nervs nach Reizgabe mit den von mir verwendeten Testsubstanzen ebenfalls nicht länger als 170 s (bezogen auf die Mediane); einzelne Ableitungen (nach CLSA-Kot-Proben oder verdünntem Dimethyldisulfid) wichen allerdings davon ab. Garraway et al. (1992) geben als maximale Dauer nach einem Teststimulus (keine Angaben zur Substanz) maximal etwa 150 s an.

Die Form der Aktionspotentiale des olfaktorischen Nervs wird von Dodds (1997) als zusammengesetzt beschrieben; sie stimmt mit der bei meinen Ableitungen vorkommenden überein (vgl. Abb. 28). Diese Form tritt sowohl vor als auch nach Reizgabe von Testsubstanzen auf. Bei den Ableitungen am olfaktorischen Nerv konnte ich fünf Amplitudenklassen unterscheiden. Garraway (1992) fand vier Klassen mit folgenden Amplituden: 0,04-0,08 mV; 0,1-0,12 mV; 0,14-0,18 mV; 0,2-0,25 mV. Diese Klassen entsprechen nach meiner Einteilung den Typen a-d; Typ e mit der größten Amplitude (0,26-0,31 mV) konnte er nicht nachweisen. Weiterhin stellte er fest, daß die Konzentration der Substanzen nur wenig Einfluß auf die Amplitude der Aktionspotentiale hat. Bei den von mir verwendeten Testsubstanzen war in einigen Fällen – häufig in Verbindung mit einer sehr schnellen und starken Frequenzerhöhung – eine Verringerung der Amplituden eines Typs festzustellen; mitunter traten danach zeitweilig keine Aktionspotentiale auf. Dies kam beispielsweise nach Reizgabe mit der Fußschleim-Kot-Probe A aus der Versuchsreihe 1 beim olfaktorischen Nerv vor, konnte aber auch bei Ableitungen am gemeinsamen Nerv des Mundfühlers und Mundlappens nach unverdünntem Dimethyldisulfid beobachtet werden. Dieses Phänomen ist z.B. bei Insekten beschrieben

worden (vgl. Ebbinghaus, 1998) und könnte mit einer temporären Inaktivierung der Ionenkanäle, bei einem besonders starken Reiz, erklärt werden.

4.3.2. Reaktionen der Nerven des Mundfühlers und Mundlappens

Über die Innervierung des Mundfühlers und Mundlappens von *D. reticulatum* sind in der Literatur keine konkreten Angaben zu finden. In schematischen Zeichnungen des Nervensystems dieser Art werden nur die Austrittsstellen der Nerven der Lippen und Tentakeln aus dem Cerebralganglion eingezeichnet, jedoch nicht der weitere Verlauf zu den Sinnesepithelien (vgl. Runham & Hunter, 1970). Bei anderen Schneckenarten werden ebenfalls nur die Austrittsstellen der Lippennerven im Cerebralganglion gekennzeichnet (u.a. Bang, 1917, Kunze, 1917, Hanström, 1925: *Helix pomatia*; Kleinfeld et al., 1994: *Limax maximus*). Der mittlere Lippenerv, auch anteriorer Tentakelnerv genannt (Egan & Gelperin, 1981), verbindet bei *Limax maximus* das Sinnesepithel des anterioren Fühlers mit dem Cerebralganglion (Gelperin & Tank, 1990; Kleinfeld et al., 1994). Hinweise zu einer Verzweigung des gemeinsamen Nervs vom anterioren Fühler (=Mundfühler) und Mundlappen, wie sie bei *D. reticulatum* vorkommt (vgl. Abb. 6b), geben Beschreibungen des mittleren Lippennerven von *Helix*-Arten (de Nabias, 1894, zitiert nach Hanström, 1925). Dieser Nerv, der im Cerebralganglion entspringt, weist zwei Äste auf; einer zieht zur Lippengegend und der andere zum Ganglion des anterioren Fühlers.

Um etwas über die Rolle des Mundfühlers und Mundlappens bei der Chemorezeption aussagen zu können, führte ich zunächst Ableitungen an den jeweiligen Nervenabschnitten durch. Dazu wurde nur am abgeschnittenen Ende des Nervenbündels des Mundfühlers abgeleitet (vgl. Abb. 5, Präparation 3) oder nur am abgeschnittenen gemeinsamen Nerv des Mundfühlers und Mundlappens, nachdem der in den Mundlappen-Nerv einmündende Verbindungsnerv zum Mundfühler abgetrennt wurde. Bei diesen Präparationsarten, bei denen jeweils an der Verzweigungsstelle geschnitten wurde, traten hohe spontane Aktivitäten auf. Dabei könnte es sich um Verletzungsaktivität handeln. Diese starke spontane Frequenz trat bei der Präparation beider Sinnesepithelien, bei denen die Verbindung zwischen den Nervenbündeln des Mundfühlers und Mundlappens intakt blieb und am abgeschnittenen gemeinsamen Nerv abgeleitet wurde (Abb. 5, Präparation 2), nicht auf. Trotzdem sind die Ergebnisse der getrennten Mundfühler- und Mundlappen-Präparation aufschlußreich, da Erhöhungen nach Dimethyldisulfid festzustellen waren.

Auf verdünntes oder unverdünntes Dimethyldisulfid reagierten die Sinnesepithelien bei allen drei Präparationsarten. Nach 250 ppm Dimethyldisulfid reagierten die Nerven des Mundfühlers mit einer signifikanten Frequenzerhöhung, die des Mundlappens reagierten nur mit einer schwachen Erhöhung. Nach unverdünntem Dimethyldisulfid reagierten die Nerven des Mundlappens etwas stärker. Zwei Präparationen des gemeinsamen Nervs beider Sinnesepithelien reagierten jedoch nach einer Reizgabe mit unverdünntem Dimethyldisulfid mit sehr hohen relativen Frequenzen (ca. 11 und 111). So hohe Werte traten nach Reizung des olfaktorischen Nervs nie auf. Die Ergebnisse zeigen deutlich, daß die Sinnesepithelien des Mundfühlers und des Mundlappens getrennt Dimethyldisulfid wahrnehmen können, ohne direkten Kontakt mit der Testsubstanz zu haben (keine Kontakt-Chemorezeption).

Die Präparationen des gemeinsamen Nervs reagierten alle mit einer deutlichen Frequenzerhöhung nach Reizgabe verschiedener CLSA-Proben. Zwar läßt sich nicht klären, welche Rolle die Konzentration von Dimethyldisulfid spielt, doch bestätigen diese Befunde, wie auch die, die erzielt wurden, wenn die Sinnesepithelien von Mundfühler und Mundlappen getrennt getestet wurden, daß Dimethyldisulfid detektiert wird. Obwohl in der Probe F gegenüber der Probe B (gewonnen aus Fußschleim-Kot-Gemischen, Versuchsreihe 1) weniger Dimethyldisulfid nachgewiesen wurde, war die Frequenzerhöhung stärker und die Dauer länger. Auffallend war der hohe Wert der relativen Frequenz (ca. 30) in der Poststimulus-Phase b bei einer Kot-Probe (F aus der Versuchsreihe 3), die nur in sehr geringen Konzentrationen Dimethyldisulfid enthielt. Am stärksten und längsten reagierte der gemeinsame Nerv allerdings auf unverdünntes Dimethyldisulfid. Bei allen drei Präparationsarten traten nur Ableitungen des Typs a und d auf. Wie auch bei den Ableitungen am olfaktorischen Nerv trat der Typ d auch in Abwesenheit von Dimethyldisulfid auf.

Dodds (1997) versuchte, extrazellulär an den anterioren Fühlern von *D. reticulatum* abzuleiten. Dazu beließ sie den Fühler am Tier, schnitt den Fühlernerv ab (eine genaue Angabe, an welcher Stelle geschnitten wurde, fehlt) und zog das Ende in eine Saugelektrode. Die Autorin gab eine 1,0 mM NaCl-Lösung mit einer feinen Bürste (wie bei Kemenes et al., 1986, beschrieben) auf das Sinnesepithel. Da sie lediglich eine schwache Aktivität messen und die Lösung nicht gezielt auf das Sinnesepithel auftragen konnte, hielt sie diese Methode für unzulänglich und führte weitere Untersuchungen nur am olfaktorischen Nerv durch.

Auch ich habe bei den Ableitungen am Mundfühler zunächst versucht, die Testsubstanzen in direkten Kontakt mit den Sinneszellen zu bringen. Diese Reizgabe - direkter Kontakt der

Testsubstanz mit den Sinnesepithelien - schien sinnvoll, da laut Literatur die anterioren Fühler besonders beim Spurenfolgen mittels Kontakt-Chemorezeption eine Rolle spielen sollen (Kittel, 1956; Chase & Croll, 1981). Dazu wurde das abgeschnittene Nervenende in eine Saugelektrode gesaugt, die Sinnesepithelien blieben in der Ringerlösung. Nun wurde frischer Körperschleim oder / und Kot in die Ringerlösung gegeben. Bereits vor Stimulusgabe konnten Aktionspotentiale aufgezeichnet werden. Eine eindeutige Erhöhung nach Stimulusgabe war nicht festzustellen, zumal nicht auszuschließen war, daß das Einbringen der Testsubstanzen einen mechanischen Stimulus auslöste. Da diese Methode ungeeignet schien, habe ich daraufhin die Testsubstanzen in einem Luftstrom über die Sinnesepithelien der anterioren Fühler geleitet.

Meine Ergebnisse machen wahrscheinlich, daß bei der Wahrnehmung von Geruchsstoffen nicht nur die Sinneszellen des olfaktorischen Nervs, sondern auch die des Mundbereichs beteiligt sind. Frühere elektrophysiologische Untersuchungen zur Geruchswahrnehmung bezogen sich meist auf den olfaktorischen Nerv des posterioren Fühlers. Gelperin et al. (1986) konnten bei *Limax maximus* zeigen, daß das Procerebrum des Cerebralganglions direkte Signale vom olfaktorischen Nerv erhält. In weiterführenden Untersuchungen wurde diese Signalwirkung auf das Procerebrum detaillierter untersucht. Dabei wurden nicht nur die Sinnesepithelien des posterioren, sondern auch des anterioren Fühlerpaares betrachtet. Es zeigte sich, daß sich die Frequenz der Schwingungen von Nervenzellen (Interneuronen) des Procerebrums nach der Reizgabe von Gerüchen zum Sinnesepithel des posterioren (Delaney et al, 1994; Gervais et al., 1996) und auch des anterioren Tentakels (Kimura et al., 1998) ändert. Kimura et al. (1999) wiesen nach, daß *Limax maximus* nach Entfernung der posterioren Fühler die Substanzen, auf die sie negativ konditioniert wurden, zwar mieden, die Anzahl der Kopfschwünge beim Orientieren jedoch signifikant zunahm. Beim Entfernen der anterioren Fühler mieden sie die Substanzen nicht. Daraus wurde gefolgert, daß die Nerven der anterioren Fühler beim Erlernen und Erkennen von Geruchsaversionen, diejenigen der posterioren Fühler hingegen bei der Determinierung der Richtung des Geruches eine wichtige Rolle spielen. Auch die Untersuchungen von Ito et al. (1999) sprechen für unterschiedliche Funktionen der beiden Tentakelpaare. Die Autoren zeigten, daß nach elektrischer Stimulation der anterioren und posterioren Fühler die Neuronen des Procerebrums unterschiedlich reagierten. Friedrich & Teyke (1998) geben an, daß die Orientierung von *Helix pomatia* zu attraktiven Gerüchen nur durch die posterioren und nicht durch die anterioren Fühler neuronal gesteuert wird.

Diese Ergebnisse zeigen, daß bei Untersuchungen zu verhaltensbeeinflussenden Substanzen nicht nur die elektrophysiologischen Reaktionen der Sinnesepithelien der posterioren Fühler, sondern auch die Reaktionen der Sinnesepithelien der anterioren Fühler und möglichst auch des Mundlappens getestet werden sollten.

Insgesamt können mit elektrophysiologischen Ableitungen am olfaktorischen Nerv und dem Nerv des Mundfühlers und Mundlappens aus einer Reihe von Duftstoffen diejenigen herausgesucht werden, die vermutlich verhaltensbiologisch keine Reaktion verursachen, da sie keine Antwort der Sinneszellen bewirken. Bisher läßt sich die Art der Ableitung noch keinem bestimmten Verhalten oder der Wirkung der Testsubstanz auf das Tier zuordnen.

4.4. Struktur des Integuments

Der Aufbau der Epidermis von *D. reticulatum* entspricht dem anderer Gastropoden. Die Epidermiszellen sind apikal durch zahlreiche Mikrovilli gekennzeichnet (vgl. u.a. Newell, 1973, 1977: *Arion hortensis*; Lane, 1963: *Helix aspersa*). Auf diese Weise kann die Körperoberfläche bis um etwa das fünffache erhöht werden (vgl. Lane, 1963). Nacktschnecken nehmen über das Integument aktiv Ionen und Wasser auf (Newell, 1977). Die Mikrovilli halten u.a. den schützenden Schleim auf der Körperoberfläche (Lane, 1963).

Einsenkungen der apikalen Plasmamembran weisen auf endocytotische Vorgänge hin. Ryder & Bowen (1977) geben an, daß das Fußepithel von *D. reticulatum* Proteine (Ferritin, Peroxidase) endocytieren kann.

Im medianen Bereich der Fußsohle und an den Fußrändern tragen die Epidermiszellen neben Mikrovilli auch Cilien. Dieser Befund stimmt mit den Untersuchungen von Lainé (1971, zitiert nach South, 1992) überein, der zudem Cilien um das Atemloch und auf der ventralen Oberfläche des Pedaldrüsenganges bei *D. reticulatum* fand. Die Cilien dienen u.a. der Verteilung des Schleims über die Fußsohle (vgl. Barr, 1926: Cilien bei *Milax sowerbii*; Cook & Shirbhate, 1983: *Limax pseudoflavus*).

D. reticulatum sezerniert beim Kriechen einen durchsichtigen Fußschleim und während einer Reizung vermehrt weißlichen Schleim über die Körperoberfläche. In der Epidermis konnten drei verschiedene Schleimzellentypen unterschieden werden. Zellen des Typs I besitzen mit dem ausgeprägten Golgi-Apparat und dem mäßig entwickelten rauhen Endoplasmatischen Retikulum Merkmale von mukösen Drüsenzellen mit einem zähflüssigen, kohlenhydrat- und glykoproteinreichen Schleim. Zellen des Typs II sind mit ihrem weitlumigen rauhen Endo-

plasmatischen Retikulum, das große Teile des Cytoplasmas ausfüllt, den serösen Drüsenzellen zuzuordnen (vgl. Weiss, 1988). Die Zellen des Typs III lassen sich nicht eindeutig charakterisieren, da sowohl das rauhe Endoplasmatische Retikulum als auch der Golgi-Apparat nicht auffallend ausgeprägt sind. Während im Mantel- und Dorsalepithel die Zellen des Typs I überwiegen, sind im Fußepithel hauptsächlich Zellen des Typs II vorhanden. Sehr wahrscheinlich sind die unterschiedlichen Schleimarten Gemische aus den Sekreten der drei Schleimzellen-Typen, wobei im Fußschleim Sekrete der Zellen des Typs II und im Körperschleim Sekrete der Zellen des Typs I überwiegen. Die Zellen des Typs III konnten nur im Dorsal- und Mantelepithel nachgewiesen werden und spielen vermutlich bei der Bildung des weißen Körperschleims keine besondere Rolle.

Triebskorn et al. (1998) wiesen drei Typen von Schleimzellen (Mantel-, Fuß-, Peripodialschleimzelle) im Integument von *D. reticulatum* nach. Die Mantelschleimzelle (vorhanden im Mantel-, Dorsal- und Fußepithel) entspricht dem von mir beschriebenen Typ I. Triebskorn et al. (1998) bezeichnet eine Schleimzelle mit unterschiedlich dichten Sekretvakuolen im Fußepithel ebenfalls als Mantelschleimzelle; sie ist nach meiner Unterteilung als Schleimzelle des Typs III zu benennen. Somit scheint dieser Typ, den ich nur im Mantel- und Dorsalepithel nachweisen konnte, auch im Fußepithel aufzutreten. Die Fußschleimzelle (vorhanden in der Fußsohle) entspricht dem Typ II, den ich vereinzelt auch im Dorsal- und Mantelepithel fand. Die keulenförmige Peripodialschleimzelle (vorhanden in den Fußrändern) zeichnet sich durch einen basal gelegenen Zellkern und leicht erweiterte Zisternen des rauhen Endoplasmatischen Retikulums auf. Die von mir beschriebenen Zellen des Typs III, die vermutlich im gesamten Körperepithel auftreten (s.o.), sind mit diesem Zelltyp nicht identisch.

Die Schleimzellen verschiedener Nacktschneckenarten sind morphologisch sehr ähnlich. Newell (1977) beschreibt in der Haut von *D. reticulatum* und *Arion hortensis* einen Schleimzellentyp, der meinem Typ I entspricht. Bei Arioniden werden Manteldrüsenzellen, Sohlendrüsenzellen und Peripodialdrüsenzellen unterschieden (Barr, 1928; Wondrak, 1967, 1969). Die beiden erstgenannten gleichen morphologisch den Typen I und II bei *D. reticulatum*. Die Peripodialdrüsenzellen, die Wondrak (1969) bei *Arion rufus* im ventralen Teil der Peripodialdrüse fand, zeigt Ähnlichkeiten zum Typ III, der allerdings bei *D. reticulatum* auch im Mantel-, Dorsal- und möglicherweise Fußepithel vorhanden ist (s.o.).

Die Drüsenzellen des Typs I enthalten vorwiegend saure Glykosaminoglykane (AB-positiv), die des Typs II vorwiegend neutrale Glykosaminoglykane (PAS-positiv). Zellen des Typs III lassen sich nach dieser Färbung nicht eindeutig von den anderen Drüsenzellen unterscheiden und enthalten wohl saure und neutrale Glykosaminoglykane.

Detaillierte histochemische Untersuchungen an den Schleimzellen von *D. reticulatum* liegen von Triebkorn et al. (1998) vor, die in den Mantelschleimzellen (=Typ I) sulfatierte und / oder carboxylierte Glykosaminoglykane, in den Fußschleimzellen (=Typ II) vorwiegend sulfatierte und in den Peripodialschleimzellen neutrale Glykosaminoglykane nachwiesen.

In den Schleimzellen des Körperepithels von *Limax pseudoflavus* konnten ebenfalls saure und in denen des Fußepithels neutrale Glykosaminoglykane nachgewiesen werden (Cook & Shirbhate, 1983).

Die weißliche Färbung und die besondere Zähigkeit des Körperschleims läßt sich mit dem Auftreten von Glykosaminoglykanen allein nicht erklären. Generell sind einige Schnecken in der Lage, ihren Schleim den erforderlichen Umweltbedingungen anzupassen. Jones (1973) zeigte, daß *D. reticulatum* bei niedrigen Temperaturen einen weniger viskosen Schleim produziert als bei höheren. Die Napfschnecke *Lottia limatula* produziert - je nach Protein- und Kohlenhydrat-Gehalt - einen sehr viskosen Schleim, um sich an Felsen anzuheften, oder einen weniger viskosen zur Fortbewegung (Smith et al, 1999). Für die Beschaffenheit des Körperschleims von *D. reticulatum* und anderen Nacktschneckenarten wird Calcium verantwortlich gemacht. So konnten nach Reizung im Körperschleim von *D. reticulatum*, *Arion ater* und *Ariolimax columbianus* größere Mengen Calcium nachgewiesen werden (Deyrup-Olsen, 1996; vgl. Deyrup-Olsen & Jindrova, 1996). Auch von der Gehäuseschnecke *Helix aspersa* wird nach Reizung ein Calcium-haltiger Schleim abgegeben (Campion, 1961). Der Ursprung des Calciums und der Transport an die Körperoberfläche ist bisher meines Wissens nicht genau geklärt. Calcium-Ionen können offenbar die Epidermis passieren (Simkiss & Wilbur, 1977: *Helix aspersa*). Bei *Arion hortensis* und *Helix aspersa* werden Calciumdrüsen des Dorsalepithels beschrieben (Campion, 1961; Dyson, 1964, zitiert nach South, 1992).

Den generellen Einfluß von Calcium auf die Viskosität des Schleims belegen Experimente von Marriot et al. (1982). Calcium-Ionen erhöhen die Viskosität des Luftröhrenschleims vom Menschen deutlich, die Elastizität des Schleims änderte sich hingegen nicht. Interessanterweise zeigen besonders saure Glykosaminoglykane, die in den Zellen des Typs I gefunden wurden (s.o), eine starke Affinität zu Kationen wie Na^+ , K^+ , Ca^{2+} (Katchalsky, 1964). Dadurch wird wiederum die Wasserspeicherung der Glykosaminoglykane herabgesetzt, wie Untersu-

chungen zur Wasserdampfabsorption gezeigt haben (Bettelheim & Ehrlich, 1963; Glykosaminoglykane u.a. aus Luftröhrenschleim von Rindern gewonnen). Dies ist auf eine starke Verbindung der Monomere der Polysaccharidketten über Wasserstoff- und Ca^{2+} -Brücken zu erklären. Solche Mechanismen könnten auch für die Zähigkeit des Körperschleims bei *D. reticulatum* verantwortlich sein.

Die Schleimarten unterscheiden sich nicht nur in ihrer Viskosität und Farbe, sondern offenbar auch, wie die analytischen Untersuchungen gezeigt haben, im Gehalt der (aus der Nahrung stammenden) flüchtigen Substanzen.

5. Zusammenfassung

An den Ackerschnecken *Deroceras reticulatum* und z.T. *Deroceras caruanae* wurde getestet, welche körpereigenen oder aus der Nahrung (vornehmlich Kohl) aufgenommenen flüchtigen Substanzen attrahierend wirken. Die flüchtigen Substanzen von Kot und Fuß- sowie Körperschleim wurden gaschromatographisch-massenspektroskopisch analysiert. Die anlockende Wirkung von Futterpflanzen, Artgenossen, Fuß- und Körperschleim, Kot sowie von Gemischen (CLSA-Proben) aus den detektierten flüchtigen Substanzen und einzelnen Verbindungen wurden in Y-Olfaktometern getestet. Elektrophysiologische Ableitungen an den Nervenbündeln der posterioren und anterioren Fühler sowie der Mundlappen prüften, welche Sinnesepithelien an der Wahrnehmung dieser flüchtigen Substanzen beteiligt sind. Histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten die Verteilung und Struktur unterschiedlicher Schleimzellen im Integument der Ackerschnecken.

1. Die meisten Testsubstanzen wirken in den Y-Olfaktometern, in denen sich die Schnecken an einem Geruchsgradienten orientieren, bis zu 10 cm anlockend. Da sich die Schnecken gegenseitig beeinflussen, darf nur jeweils ein Tier in ein Olfaktometer eingesetzt werden. Zylindrische Olfaktometer, in die mehrere Versuchstiere gesetzt werden, sind zum Testen flüchtiger Substanzen ungeeignet.
2. Mit Kohl gefütterte *D. reticulatum* und *D. caruanae* werden signifikant von Kohl angelockt. Gleiches gilt für den entsprechenden Versuch mit Kopfsalat (nur *D. reticulatum*, die zuvor mit Salat gefüttert worden waren).
3. *D. reticulatum* und *D. caruanae* werden von Fußschleim-Kot-Gemischen von Artgenossen signifikant angelockt, wenn alle Versuchstiere zuvor mit Kohl gefüttert worden waren. Drei Artgenossen, die zuvor mit Kohl gefüttert worden waren, wirken anlockend auf *D. reticulatum*.
4. Mit Salat gefütterte *D. reticulatum* werden von Fußschleim-Kot-Gemischen, die von Tieren aus derselben Versuchsgruppe gewonnen wurden, nicht angelockt.
5. Körperschleim von *D. reticulatum* zeigt keine verhaltensbeeinflussende Wirkung auf Artgenossen, Körperschleim von *D. caruanae* wirkt hingegen anlockend auf Artgenossen. Alle Tiere wurden bei diesen Versuchen zuvor mit Kohl gefüttert.
6. Gaschromatographisch-massenspektroskopische Analysen von nativen Proben (Injektion durch benetzte SPME-Faser) und CLSA-Proben (On Column-Injektor) zeigen, daß pflanzliche Inhaltstoffe im Fuß- und Körperschleim sowie Kot von *D. reticulatum* vorhanden sind.

7. Im Fußschleim und Kot von *D. reticulatum*, die mit Kohl gefüttert worden waren, ist immer Dimethyldisulfid, oft auch noch Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid und Methylpropyldisulfid, vorhanden. Es handelt sich um Aromastoffe von *Brassica*-Arten.
8. CLSA-Proben, die aus Fußschleim-Kot-Gemischen oder nur aus Kot von mit Kohl gefütterten Tieren gewonnen wurden und mindestens Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid enthalten, sind signifikant anlockend. Eine Lösung mit den vier Verbindungen in einem bestimmten Mischungsverhältnis (überwiegend Dimethyldisulfid) wird von *D. reticulatum* im Y-Olfaktometer bevorzugt und von *D. caruanae* signifikant gewählt.
9. Im Körperschleim von *D. reticulatum*, die mit Kohl gefüttert worden waren, treten die vier Schwefelverbindungen nicht oder nur in sehr geringen Mengen auf. Die nicht anlockende Wirkung von Körperschleim wird auf das Fehlen dieser Verbindungen zurückgeführt.
10. Im Fuß- und Körperschleim sowie Kot von *D. reticulatum*, die 26 Tage mit Kopfsalat gefüttert worden waren, kommen die vier Schwefelverbindungen nicht vor.
11. Der olfaktorische Nerv des posterioren Fühlers reagiert mit einer deutlichen Frequenzerhöhung nach Reizgabe von Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Dipropyldisulfid, Methylpropyldisulfid und Methylthiosulfat; Benzothiazol bewirkt eine leichte und Dimethylsulfoxid keine Änderung der Frequenz. Unverdünntes Dimethyldisulfid erzeugt die höchste, signifikante Frequenzänderung in der Poststimulusphase a, stark verdünntes Dimethyldisulfid (2,5 ppm) die längste Antwort (bis etwa 750 s).
12. Die Nerven der anterioren Fühler und des Mundlappens reagieren ebenfalls mit einer deutlichen Frequenzerhöhung auf Dimethyldisulfid.
13. In der Epidermis von *D. reticulatum* sind drei verschiedene Typen von Schleimzellen vorhanden. Im Dorsal- und Mantelepithel überwiegen muköse Schleimzellen (Typ I) mit sauren Glykosaminoglykanen und im Fußepithel seröse Schleimzellen (Typ II) mit neutralen Glykosaminoglykanen. Die Zellen des Typs III sind eher mukös und befinden sich im Dorsal- und Mantelepithel. Fuß- und Körperschleim von *D. reticulatum* sind Gemische aus den Sekreten der drei Schleimzellen-Typen, in denen jeweils der Anteil eines Schleimzellentyps überwiegt.

6. Literaturverzeichnis

- Arndt, R., Baumjohann, P., Passon, H. & Prokop, A. (1998): Ferramol Schneckenkorn – ein neues Molluskizid zur Bekämpfung von Nacktschnecken in Zierpflanzen und Gemüse. Mitt. Biol. Bundesanst. Land Forstwirtsch. **357**: 373-374.
- Atema, J. & Stenzler, D. (1977): Alarm substance of the marine mud snail *Nassarius obsoletus*: biological characterization and possible evolution. J. Chem. Ecol. **3**: 173-187.
- Audesirk, T.E. (1975): Chemoreception in *Aplysia californica* - I. Behavioral localization of distance chemoreceptors used in food-finding. Behavioral Biology **15**: 45-55.
- Bailey, S.E.R. (1989): Foraging behaviour of terrestrial gastropods: integrating field and laboratory studies. J. Moll. Stud. **55**: 263-272.
- Bailey, S.D., Bazinet, M.L., Driscoll, J.L. & McCarthy, A.I. (1961): The volatile sulfur components of cabbage. J. Food Sci. **26**: 163-170.
- Bailey, S.E.R. & Wedgwood, M.A. (1991): Complementary video and acoustic recordings of foraging by two pest species of slugs on non-toxic and molluscicidal baits. Ann. appl. Biol. **119**: 163-176.
- Bang, T. (1917): Zur Morphologie des Nervensystems von *Helix pomatia* L. Zool. Anz. **48**: 281-292.
- Barr, R.A. (1926): Some observations on the pedal gland of *Milax*. Quart. J. micr. Sci. **70**: 647-667.
- Barr, R.A. (1928): Some notes on the mucous and skin glands of *Arion ater*. Quart. J. micr. Sci. **71**: 503-525.
- Benjamin, P.R. (1983): Gastropod feeding: behavioural and neural analysis of a complex multicomponent system, pp. 159-193. In: Neural origins of rhythmic movements. Roberts, A. & Roberts, B. (eds.), Cambridge University Press, Cambridge.
- Bettelheim, F.A. & Ehrlich, S.H. (1963): Water vapor sorption of mucopolysaccharides. J. Phys. Chem. **67**: 1948-1953.
- Bhati, A. (1962): Neophytadiene, the diterpenic hydrocarbon from tobacco, *Nicotiana tabacum*, Hicks. Perfum. Essent. Oil Res. **53**: 685-688.
- Binot, D. & Chétail, M. (1968): Les mucocytes du manteau d'*Arion rufus* (L.) et leur développement: histologie et histochimie. Ann. Histochem. **13**: 73-82.
- Blumberg, S., Haran, T., Botzer, D., Susswein, A.J. & Teyke, T. (1998): Pheromones linked to sexual behaviors excite the appetitive phase of feeding behavior of *Aplysia fasciata*. I. Modulation and excitation of appetitive behaviors. J. Comp. Physiol. A **182**: 777-783.

- Bousfield, J.D., Tait, A.I. & Towner-Jones, D. (1981): Behavioural studies on the nature of stimuli responsible for triggering mucus trail tracking by *Biomphalaria glabrata*. *Malacol. Rev.* **14**: 49-64.
- Bullock, T.H. & Horridge, G.A. (1965): Structure and function of the nervous systems of invertebrates. Freeman, San Francisco and London.
- Buttery, R.G., Seifert, R.M., Guadagni, D.G., Black, D.R. & Ling, L.C. (1968): Characterization of some volatile constituents of carrots. *J. Agr. Food Chem.* **16**: 1009-1015.
- Buttery, R.G., Guadagni, D.G., Ling, L.C., Seifert, R.M. & Lipton, W. (1976): Additional volatile components of cabbage, broccoli and cauliflower. *J. Agric. Food Chem.* **24**: 829-832.
- Campion, M.M. (1961): The structure and function of the cutaneous glands in *Helix aspersa*. *Q. J. microsc. Sci.* **102**: 195-116.
- Chang, J.J. & Gelperin, A. (1980): Rapid taste-aversion learning by an isolated molluscan central nervous system. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **77**: 6204-6206.
- Chase, R. (1981): Electrical responses of snail tentacle ganglion to stimulation of the epithelium with wind and odors. *Comp. Biochem. Physiol.* **70A**: 149-155.
- Chase, R. (1982): The olfactory sensitivity of snails, *Achatina fulica*. *J. Comp. Physiol.* **148A**: 225-235.
- Chase, R. & Boulanger, C.M. (1978): Attraction of the snail *Achatina fulica* to extracts of conspecific pedal glands. *Behav. Biol.* **23**: 107-111.
- Chase, R. & Croll, R.P. (1981): Tentacular function in snail olfactory orientation. *J. Comp. Physiol.* **143A**: 357-362.
- Chase, R., Pryer, K., Baker, R. & Madison, D. (1978): Responses to conspecific chemical stimuli in the terrestrial snail *Achatina fulica* (Pulmonata: Sigmurethra). *Behav. Biol.* **22**: 302-315.
- Chase, R., Croll, R.P. & Zeichner, L.L. (1980): Aggregation in snails, *Achatina fulica*. *Behav. Neural Biol.* **30**: 218-230.
- Chelazzi, G., Le Voci, G. & Parpagnoli, D. (1988): Relative importance of airborne odours and trails in the group homing of *Limacus flavus* (Linnaeus) (Gastropoda, Pulmonata). *J. Moll. Stud.* **54**: 173-180.
- Chétail, M. & Binot, D. (1967): Particularites histochimiques de la glande et de la sole pedieuses d'*Arion rufus* (Stylommatophora: Arionidae). *Malacologia* **5**: 269-284.

- Chin, H.-W. & Lindsay, R.C. (1993): Volatile sulfur compounds formed in disrupted tissues of different cabbage cultivars. *J. Food Sci.* **58**: 835-841.
- Cook, A. (1977): Mucus trail following by the slug *Limax grossui* Lupu. *Anim. Behav.* **25**: 774-781.
- Cook, A. (1979a): Homing by the slug *Limax pseudoflavus*. *Anim. Behav.* **27**: 545-552.
- Cook, A. (1979b): Homing in the Gastropoda. *Malacologia* **18**: 315-318.
- Cook, A. (1981): A comparative study of aggregation in pulmonate slugs (Genus *Limax*). *J. Anim. Ecol.* **50**: 703-713.
- Cook, A. (1985): Tentacular function in trail following by the pulmonate slug *Limax pseudoflavus* Evans. *J. Moll. Stud.* **51**: 240-247.
- Cook, A. (1992): The function of trail following in the pulmonate slug, *Limax pseudoflavus*. *Anim. Behav.* **43**: 813-821.
- Cook, A. (1994): Trail following in slugs: the stimulus, its reception and the behavioural response. *Ethol. Ecol. & Evol.* **6**: 55-64.
- Cook, A. & Shirbhate, R. (1983): The mucus producing glands and the distribution of the cilia of the pulmonate slug *Limax pseudoflavus*. *J. Zool. Lond.* **201**: 97-116.
- Cook, R., Thomas, B.J. & Mizen, K.A. (1989): Dissemination of white clover mosaic virus and stem nematode, *Ditylenchus dipsaci*, by the slug *Deroceras reticulatum*, pp. 107-112. In: *Slugs and Snails in World Agriculture*. Henderson, I.F. (ed.), BCPC Monograph 41, Thornton Heath: BCPC Publications.
- Cook, R.T., Bailey, S.E.R., McCrohan, C.R., Nash, B. & Woodhouse, R.M. (2000): The influence of nutritional status on the feeding behaviour of the field slug, *Deroceras reticulatum* (Müller). *Anim. Behav.* **59**: 167-176.
- Cragg, J.B. & Vincent, M.H. (1952): The action of metaldehyde on the slug *Agriolimax reticulatus* (Müller). *Ann. appl. Biol.* **39**: 392-406.
- Croll, R.P. & Chase, R. (1980): Plasticity of olfactory orientation to foods in the snail *Achatina fulica*. *J. Comp. Physiol.* **136A**: 267-277.
- Crosby, D.G. (1963): The organic constituents of food. I. Lettuce. *J. Food Sci.* **28**: 347-355.
- Culligan, N. & Gelperin, A. (1983): One-trial associative learning by an isolated molluscan central nervous system: use of different chemoreceptors for training and testing. *Brain Res.* **266**: 319-328.

- Dainton, B.H. (1989): Field and laboratory observations on slug and snail behaviour, pp. 201-207. In: *Slugs and Snails in World Agriculture*. Henderson, I.F. (ed.), BCPC Monograph 41, Thornton Heath: BCPC Publications.
- Dan, K., Nagata, M. & Yamashita, I. (1997a): Methanethiol formation in disrupted tissue solution of fresh broccoli. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **66**: 621-627.
- Dan, K., Todoriki, S., Nagata, M. & Yamashita, I. (1997b): Formation of volatile sulfur compounds in broccoli stored under anaerobic condition. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **65**: 867-875.
- Dan, K., Nagata, M. & Yamashita, I. (1998): Effects of pre-storage duration and storage temperatures on the formation of volatile sulfur compounds in broccoli under anaerobic conditions. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **67**: 544-548.
- Dawkins, G., Hislop, J., Luxton, M. & Bishop, C. (1986): Transmission of bacterial soft rot of potatoes by slugs. *J. Moll. Stud.* **52**: 25-29.
- Derbali, E., Makhlof, J. & Vezina, L.-P. (1998): Biosynthesis of sulfur volatile compounds in broccoli seedlings stored under anaerobic conditions. *Postharvest Biol. Technol.* **13**: 191-204.
- Delaney, K.R., Gelperin, A., Fee, M.S., Flores, J.A., Gervais, R., Tank, D.W. & Kleinfeld, D. (1994): Waves and stimulus-modulated dynamics in an oscillating olfactory network. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 669-673.
- Deyrup-Olsen, I. (1996): Product release by mucous granules of land slugs: II. Species diversity in triggering of mucous granule rupture. *J. Exp. Zool.* **276**: 330-334.
- Deyrup-Olsen, I. & Jindrova, H. (1996): Product release by mucous granules of land slugs: *Agriolimax columbianus* as a model species. *J. Exp. Zool.* **276**: 387-393.
- Deyrup-Olsen, I., Luchtel, D.L. & Martin, A.W. (1983): Components of mucus of terrestrial slugs (Gastropoda). *Am. J. Physiol.* **245**: R448-R452.
- Digweed, S.C. (1993): Selection of terrestrial Gastropod prey by cychrine and pterostichine ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Can. Entomol.* **125**: 463-472.
- Dodds, C.J. (1997): The action of naturally-occurring semiochemicals on feeding behaviour and neurophysiology of the field slug *Deroceras reticulatum* (Müller). PhD thesis. University of Portsmouth, England.
- Dodds, C.J., Ford, M.G., Henderson, I.F., Leake, L.D., Martin, A.P., Pickett, J.A., Wadhams, L.J. & Watson, P. (1996): Slug chemical ecology: electrophysiological and behavioural studies, pp. 73-81. In: *Slug and snail pests in agriculture*. Henderson, I.F. (ed.), BCPC Symposium Proceedings 66, Farnham.

- Dodds, C.J., Henderson, I.F., Watson, P. & Leake, L.D. (1999): Action of extracts of Apiaceae on feeding behavior and neurophysiology of the field slug *Deroceras reticulatum*. *J. Chem. Ecol.* **25**: 2127-2145.
- Dundee, D.S., Tizzard, M. & Traub, M. (1975): Aggregative behaviour in veronicellid slugs. *Nautilus* **89**: 69-72.
- Dyson, M. (1964): An experimental study of wound healing in *Arion*. PhD thesis, University of London, England. (Zitiert nach South, 1992)
- Ebbinghaus, D. (1998): Die Wahrnehmung von Pheromonen und flüchtigen Inhaltsstoffen der Wirtspflanze *Malus domestica* beim Apfelwickler *Cydia pomonella* L. Dissertation, Universität Hohenheim.
- Egan, M.E. & Gelperin, A. (1981): Olfactory inputs to a bursting serotonergic interneuron in a terrestrial mollusc. *J. Moll. Stud.* **47**: 80-88.
- Elliott, C.J.H. & Benjamin, P.R. (1985): Interactions of pattern-generating interneurons controlling feeding by *Lymnaea stagnalis*. *J. Neurophys.* **54** (6): 1396-1411.
- Emden, van, H.F. (1972): Aphids as phytochemists, pp. 25-43. In: *Phytochemical Ecology*. Harbourne, J. (ed.). Academic Press, London.
- Ettlinger, M.G. & Kjaer, A. (1968): Sulfur compounds in plants. *Recent Advan. Phytochem.* **1**: 59-144.
- Fechter, R. & Falkner, G. (1990): Weichtiere. Europäische Meeres- und Binnenmollusken. Mosaik Verlag, München.
- Fischer, J. (1992): Sulphur- and nitrogen-containing volatile components of kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes* L.). *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **194**: 259-262.
- Forney, C.F. & Jordan, M.A. (1998): Induction of volatile compounds in broccoli by postharvest hot-water dips. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 5295-5301.
- Forney, C.F., Mattheis, J.P. & Austin, R.K. (1991): Volatile compounds produced by broccoli under anaerobic conditions. *J. Agric. Food Chem.* **39**: 2257-2259.
- Frain, M.J. & Newell, P.F. (1982): Meal size and a feeding assay for *Deroceras reticulatum*. *J. Moll. Stud.* **48**: 98-99.
- Friedrich, A. & Teyke, T. (1998): Identification of stimuli and input pathways mediating food-attraction conditioning in the snail, *Helix*. *J. Comp. Physiol. A* **183**: 247-254.

- Fröhlich, G., Hanke, A., He, H. & Schnitzler, W.H. (1998): Chinese cabbage cultivars. Identification of glucosinolate degradation products by different sample preparations. / Chinesische Kohllarten. Identifizierung von Glucosinolat-Abbauprodukten nach Einsatz verschiedener Probenaufbereitungs-Methoden. *Gartenbauwissenschaft* **63**: 272-277.
- Garraway, R., Leake, L.D., Ford, M.G. & Pickett, J.A. (1991): The action of a range of volatile compounds on a tentacular preparation of the field slug, *Deroceras reticulatum* (Müll.). *Pestic. Sci.* **33**: 240-242.
- Garraway, R. (1992): The action of semiochemicals on olfactory nerve activity and behaviour of *Deroceras reticulatum* (Müll.). PhD.thesis. Portsmouth Polytechnic School of Biological Science, England.
- Garraway, R., Leake, L.D., Ford, M.G. & Pickett, J.A. (1992): The development of a chemoreceptive neurophysiological assay for the field slug, *Deroceras reticulatum* (Müll.). *Pestic. Sci.* **34**: 97-98.
- Gelperin, A. (1974): Olfactory basis of homing behavior in the giant garden slug, *Limax maximus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **71**: 966-970.
- Gelperin, A. & Chang, J.J. (1976): Molluscan feeding motor program: response to lip chemostimulation and modulation by identified serotonergic interneurons. *Soc. Neurosci. Abstr.* **2**: 322.
- Gelperin, A. & Tank, D.W. (1990): Odour-modulated collective network oscillations of olfactory interneurons in a terrestrial mollusc. *Nature* **345**: 437-440.
- Gelperin, A., Tank, P.W. & Chiel, H.J. (1986): Cellular and synaptic responses recorded from an olfactory processing circuit. *Soc. Neurosci. Abstr.* **12**: 862.
- Gervais, R., Kleinfeld, D., Delaney, K.R. & Gelperin, A. (1996): Central and reflex neuronal responses elicited by odor in a terrestrial mollusc. *J. Neurophys.* **76**: 1327-1339.
- Glen, D.M., Jones, H. & Fieldsend, J.K. (1990): Damage to oilseed rape seedlings by the field slug *Deroceras reticulatum* in relation to glucosinolate concentration. *Ann. appl. Biol.* **117**: 197-207.
- Glen, D.M., Wilson, M.J., Hughes, L., Cargeeg, P. & Hajjar, A. (1996): Exploring and exploiting the potential of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a biocontrol agent for slugs, pp. 271-280. In: *Slug and snail pests in agriculture*. Henderson, I.F. (ed.), BCPC Symposium Proceedings 66, Farnham.
- Godan, D. (1973): Les dégâts des Limacides et des Arionides et leur importance économique en République Fédérale d'Allemagne. *Haliotis* **3**: 27-32.
- Godan, D. (1983): *Pest slugs and snails - biology and control*. Springer Verlag, Berlin.

- Gregg, M. (1957): Germination of oospores of *P. erythroseptica*. *Nature* **180**: 150.
- Hansen, M., Buttery, R.G., Stern, D.J., Cantwell, M.I. & Ling, L.C. (1992): Broccoli storage under low-oxygen atmosphere: identification of higher boiling volatiles. *J. Agric. Food Chem.* **40**: 850-852.
- Hansen, M., Krumbein, A. & Hansen, A.M. (1997): Aroma volatiles in broccoli dependent on sample preparation. *Riv. Ital. EPPOS* **22**: 299-302.
- Hanström, B. (1925): Über die sogenannten Intelligenzspären des Molluskengehirns und die Innervation des Tentakels von *Helix*. *Acta Zool.* **6**: 183-215.
- Harvard University (1955): The annals of computation laboratory of Harvard University, Vol. XXXV: Tables of the cumulative binomial probability distribution. Harvard University Press, Cambridge (Massachusetts).
- Heatherbell, D.A., Wrolstad, R.E. & Libbey, L.M. (1971a): Carrot volatiles. 1. Characterization and effects of canning and freeze drying. *J. Food Sci.* **36**: 219-224.
- Heatherbell, D.A., Wrolstad, R.E. & Libbey, L.M. (1971b): Carrot volatiles. 2. Influence of variety, maturity and storage. *J. Food Sci.* **36**: 225-227.
- Heatherbell, D.A., Wrolstad, R.E. & Libbey, L.M. (1971c): Isolation, concentration, and analysis of carrot volatiles using on-column trapping and gas-liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Agr. Food Chem.* **19**: 1069-1073.
- Heinze, K. (1958): Können Schnecken pflanzliche Virose übertragen? *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* **65**: 193-198.
- Herrmann, K. (1977): Übersicht über nichtessentielle Inhaltsstoffe der Gemüsearten. II. Cruciferen (Kohlarten, Radieschen, Rettiche, Speiserüben, Kohlrüben, Meerrettich) sowie Gramineen (Zwiebeln, Porree, Schnittlauch, Knoblauch, Spargel). *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **165**: 151-164.
- Herrmann, K. (1978): Übersicht über nichtessentielle Inhaltsstoffe der Gemüsearten. III. Möhren, Sellerie, Pastinaken, Rote Rüben, Spinat, Salat, Endivien, Treibzichorie, Rhabarber und Artischocken. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **167**: 262-273.
- Hunter, P.J. & Symonds, B.V. (1970): The distribution of bait pellets for slug control. *Ann. appl. Biol.* **65**: 1-7.
- Ito, I., Kimura, T., Suzuki, H., Sekiguchi, T. & Ito, E. (1999): Effects of electrical stimulation of the tentacular digits of a slug upon the frequency of electrical oscillations in the procerebral lobe. *Brain Res.* **815**: 121-125.

- Itoh, H., Yano, M., Okada, N. & Nikkuni, S. (1985): Study on volatile isothiocyanate detected in cultivar of *Brassica* vegetable (Part 2): Analysis of flavour of cabbage by gas-chromatography-mass spectrometry. Rept. Natl. Food Res. Inst. **47**: 41-48.
- Jahan-Parwar, B. (1972): Behavioral and electrophysiological studies on chemoreception in *Aplysia*. Am. Zool. **12**: 525-537.
- Jones, H.D. (1973): The mechanism of locomotion of *Agriolimax reticulatus* (Mollusca: Gastropoda). J. Zool. (London) **171**: 489-498.
- Karnovsky, M.J. (1971): Use of ferrocyanide-reduced osmium tetroxide in electron microscopy. J. Cell Biol. **51**: 284.
- Katchalsky, A. (1964): Polyelectrolytes and their biological interactions. Biophys. J. **4**:9-41.
- Kemenes, G., Hernádi, L. & Salánki, J. (1986): Neural regulation of food-finding and feeding in *Helix pomatia*. Central representation of afferent and efferent pathways mediating feeding responses. Acta Physiol. Hung. **68**: 366.
- Kimura, T., Toda, S., Sekiguchi, T. & Kirino, Y. (1998): Behavioral modulation induced by food odor aversive conditioning and its influence on the olfactory responses of an oscillatory brain network in the slug *Limax marginatus*. Learn. & Mem. **4**: 365-375.
- Kimura, T., Iwama, A. & Sekiguchi, T. (1999): Contributions of superior and inferior tentacles to learned food-avoidance behavior in *Limax marginatus*. Zool. Sci. **16**: 595-602.
- Kittel, R. (1956): Untersuchungen über den Geruchs- und Geschmackssinn bei den Gattungen *Arion* und *Limax* (Mollusca: Pulmonata). Zool. Anz. **157**: 185-195.
- Kleinfeld, D., Delaney, K.R., Fee, M.S., Flores, J.A., Tank, D.W. & Gelperin, A. (1994). Dynamics of propagating waves in the olfactory network of a terrestrial mollusk: an electrical and optical study. J. Neurophys. **72**: 1402-1419.
- Kovatscheva, E.G. & Popova, J.G. (1977): Vorkommen von S-Methylmethionin in Pflanzen und in tierischen Produkten und dessen Beständigkeit während der Lagerung. Die Nahrung **21**: 465-472.
- Kunze, H. (1917): Über den Aufbau des Centralnervensystems von *Helix pomatia* L. und die Struktur seiner Elemente. Zool. Anzeiger **48**: 232-240.
- Lainé, H. (1971): Some observations on the structure of the skin of *Agriolimax reticulatus*. MSc thesis, University of Keele. (Zitiert nach South, 1992)
- Lane, N.J. (1963): Microvilli on the external surfaces of gastropod tentacles and body-walls. Quart. J. micr. Sci. **104** (4): 495-504.

- Linko, R.R., Kallio, H., Tapani, P. & Rainio, K. (1978): Volatile monocarbonyl compounds of carrot roots at various stages of maturity. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **166**: 208-211.
- MacLeod, A.J. & MacLeod, G. (1968): Volatiles of cooked cabbage. *J. Sci. Fd Agric.* **19**: 273-277.
- Mae, T., Ohira, K. & Fujiwara, A. (1971): Fate of (+)-S-methyl-L-cysteine sulfoxide in chinese cabbage, *Brassica pekinensis* Rupr. *Plant Cell Physiol.* **12**: 1-11.
- Marks, H.S., Hilson, J.A., Leichtweis, H.C. & Stoewsand, G.S. (1992): S-methylcysteine sulfoxide in *Brassica* vegetables and formation of methyl methanethiosulfinate from Brussels sprouts. *J. Agric. Food Chem.* **40**: 2098-2101.
- Marriott, C., Beeson, M.F. & Brown, D.T. (1982): Biopolymer induced changes in mucus viscoelasticity, pp. 89-92. In: *Mucus and health in disease II*. Chantler, E.N., Elder, J.B. & Elstein, M. (eds.), Plenum Press, New York.
- Maruyama, F.T. (1970): Identification of dimethyl trisulfide as a major aroma component of cooked Brassicaceous vegetables. *J. Food Sci.* **35**: 540-543.
- Mateos, M., Ke, D., Cantwell, M. & Kader, A.A. (1993): Phenolic metabolism and ethanolic fermentation of intact and cut lettuce exposed to CO₂-enriched atmospheres. *Postharvest Biol. Technol.* **3**: 225-233.
- Maw, G.A. (1982): Biochemistry of S-methyl-L-cysteine and its principal derivatives. *Sulfur Rep.* **2**: 1-32.
- McCrohan, C.R. & Kyriakides, M.A. (1992): Motor programme selection and the control of feeding in the snail, pp. 37-51. In: *Neurobiology of motor programme selection*. Kien, J.M. & Winlow, W. (eds.), Pergamon Press, Oxford.
- McCrohan, C.R., Mills, J.D., Cheng, S.C. & Bailey, S.E.R. (1995): Inhibition of feeding responses by the molluscicide metaldehyde. *Acta Biol. Hung.* **46**: 241-245.
- Mills, J.D., McCrohan, C.R. & Bailey, S.E.R. (1990): Effects of metaldehyde and acetaldehyde on feeding responses and neuronal activity in the snail, *Lymnaea stagnalis*. *Pestic. Sci.* **28**: 89-99.
- Morris, C.J. & Thompson, J.F. (1956): The identification of (+)-S-methyl-L-cysteine sulfoxide in plants. *J. Am. Chem. Soc.* **78**: 1605-1608.
- Murray, K.E. & Whitfield, F.B. (1975): The occurrence of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in raw vegetables. *J. Sci. Fd Agric.* **26**: 973-986.
- Nabias, de (1894): Recherches histologiques et organologiques sur les centres nerveux des Gastéropodes. *Actes de la Soc. Linnéenne de Bordeaux*, T. **47**. (Zitiert nach Hanström, 1925)

- Newell, P.J. (1973): Etude de l'ultrastructure de l'épithélium dorsal et pédieux des limaces *Arion hortensis* (Ferussac) et *Agriolimax reticulatus* (Müller). *Haliotis* **3**: 131-141.
- Newell, P.F. (1977): The structure and enzyme histochemistry of slug skin. *Malacologia* **16**: 183-195.
- Niemelä, P., Tuomi, J. & Molarius, A. (1988): Feeding aversion to conspecific material in a terrestrial slug *Deroceras agreste*. *Agric. Eco. Env.* **20**: 175-180.
- Nordlund, D.A. (1981): Semiochemicals: a review of the terminology, pp. 13-28. In: Semiochemicals - their role in pest control. Nordlund, D.A., Jones, R.L. & Lewis, W.J. (eds.). John Wiley & Sons Ltd.
- Nuhn, P. (1990): Naturstoffchemie. Mikrobielle, pflanzliche und tierische Naturstoffe. S. Hirzel Verlag, Stuttgart.
- Oldham, N.J. & Boland, W. (1996): Chemical ecology: multifunctional compounds and multitrophic interactions. *Naturwiss.* **83**: 248-254.
- Pakarinen, E. (1992): Feeding avoidance of terrestrial gastropods to conspecific and nonspecific material. *J. Moll.Stud.* **58**: 109-120.
- Pakarinen, E. (1994): The importance of mucus as a defence against carabid beetles by the slugs *Arion fasciatus* and *Deroceras reticulatum*. *J. Moll. Stud.* **60**: 149-155.
- Pearse, A.G.E. (1968): Histochemistry. Theoretical and applied (Vol. 1). London, J. & A. Churchill.
- Peiser, G., López-Gálvez, G. & Cantwell, M. (1997): Changes in off-odor volatiles of salad products during storage. *Postharvest Hort. Ser.* **19**: 23-28.
- Petersen, M.A., Poll, L. & Larsen, L.M. (1998): Comparison of volatiles in raw and boiled potatoes using a mild extraction technique combined with GC odour profiling and GC-MS. *Food Chem.* **61**: 461-466.
- Pevzner, R.A., Benedeczky, I. & Salánki, J. (1980): The ultrastructure of sensory dendrites following chemical stimulation of the lip of *Helix pomatia* L. *Acta biol. Acad. Sci. hung.* **31**: 233-247.
- Pickett, J.A. & Stephenson, J.W. (1980): Plant volatiles and components influencing behaviour of the field slug, *Deroceras reticulatum* (Müll.). *J. Chem. Ecol.* **6**: 435-444.
- Preston, R.J. & Lee, R.M. (1973): Feeding behaviour in *Aplysia californica*: role of chemical and tactile stimuli. *J. Comp. Physiol.* **82**: 368-381.
- Robbins, R.G. & Hamilton, P.V. (1996): Role of the cephalic tentacles in trail following by *Littoraria irrorata* (Say). *J. Moll. Stud.* **62**: 537-539.

- Rollo, C.D. & Wellington, W.G. (1981): Environmental orientation by terrestrial Mollusca with particular reference to homing behaviour. *Can. J. Zool.* **59**: 225-239.
- Romeis, B. (1948): *Mikroskopische Technik*. R. Oldenbourg Verlag, München.
- Römpp (1999): *Römpp Lexikon Chemie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- Runham, N.W. & Hunter, P.J. (1970): *Terrestrial slugs*. Hutchinson University Library, London.
- Ryder, T.A. & Bowen, I.D. (1977): Endocytosis and aspects of autophagy in the foot epithelium of the slug *Agriolimax reticulatus* (Müller). *Cell. Tiss. Res.* **181**: 129-142.
- Sachs, L. (1999): *Angewandte Statistik*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Salánki, J. & van Bay, T. (1975): Sensory input characteristics at the chemical stimulation of the lip in the snail *Helix pomatia*. *Ann. Inst. Biol (Tihany) Hung. Acad. Sci.* **42**: 115-128.
- Schreier, P. (1984): *Chromatographic studies of biogenesis of plant volatiles*. Hüthig, Heidelberg.
- Schultz, F. (1938): Bau und Funktion der Sinneszellen in der Körperoberfläche von *Helix pomatia*. *Z. f. Morphol. u. Ökol. d. Tiere* **33**: 555-581.
- Siegl, H., Hanke, A. & Schnitzler, W.H. (1995): Leichtflüchtige Aromastoffe des Chinakohls. *Geschmacksstoffe Pflanz. Nahrungsm. – Dtsch. Ges. Qualitätsforsch.* **30**: 322-325.
- Simkiss, K. & Wilbur, K.M. (1977): The molluscan epidermis and its secretions. *Symp. Zool. Soc. Lond.* **39**: 35-76.
- Sleeper, H.L. & Fenical, W. (1977): Navenones A-C: trail-breaking alarm pheromones from the marine opisthobranch *Navanax inermis*. *J. Amer. Chem. Soc.* **99**: 2367-2368
- Smith, A.M., Quick, T.J. & Peter, R.L. (1999): Differences in the composition of adhesive and non-adhesive mucus from the limpet *Lottia limatula*. *Biol. Bull.* **196**: 34-44.
- South, A. (1992): *Terrestrial slugs. Biology, ecology and control*. Chapman & Hall, London.
- Speiser, B. & Rowell-Rahier, M. (1993): Does the land snail *Arianta arbustorum* prefer sequentially mixed over pure diets? *Funct. Ecol.* **7**: 403-410.
- Spurr, A.R. (1969): A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **26**: 31-43.

- Stephenson, J.W. (1978): A bioassay for comparing the acceptability to slugs of plant extracts or solutions of pure chemicals. *J. Moll. Stud.* **44**: 340-343.
- Stephenson, J.W. (1979): The functioning of the sense organs associated with feeding behaviour in *Deroceras reticulatum* (Müll.). *J. Moll. Stud.* **45**: 167-171.
- Synge, R.L.M. & Wood, C.J. (1956): (+)-S-methyl-L-cysteine S-oxide in cabbage. *Biochem J.* **64**: 252-259.
- Takeda, N. & Tsuruoka, H. (1979): A sex pheromone secreting gland in the terrestrial snail, *Euhadra peliomphala*. *J. Exp. Zool.* **207**: 17-26.
- Teyke, T. (1995): Food-attraction conditioning in the snail, *Helix pomatia*. *J. Comp. Physiol. A* **177**: 409-414.
- Thomas, J.D., Assefa, B., Cowley, C. & Ofosu-Barku, J. (1980): Behavioural responses to amino acids and related compounds including propionic acid by adult *Biomphalaria glabrata* (Say), a snail host of *Schistosoma mansoni*. *Comp. Biochem. Physiol.* **66 C**: 17-27.
- Townsend, C.R. (1973): The food-finding mechanism of *Biomphalaria glabrata* (Say). *Anim. Behav.* **21**: 544-548.
- Townsend, C.R. (1974): Mucus trail following by the snail *Biomphalaria glabrata* (Say). *Anim. Behav.* **22**: 170-177.
- Triebskorn, R. (1989): Ultrastructural changes in the digestive tract of *Deroceras reticulatum* (Müller) induced by a carbamate molluscicide and by metaldehyde. *Malacologia* **31**: 141-156.
- Triebskorn, R., Christensen, K. & Heim, I. (1998): Effects of orally and dermally applied metaldehyde on mucus cells of slugs (*Deroceras reticulatum*) depending on temperature and duration of exposure. *J. Moll. Stud.* **64**: 467-487.
- Triebskorn, R., Henderson, I.F., Martin, A. & Köhler, H.-R. (1996): Slugs as targets or non-target organisms for environmental chemicals, pp. 65-72. In: *Slug and Snail Pests in Agriculture*. Henderson, I.F. (ed.), BCPC Symposium Proceedings 66, Farnham.
- Triebskorn, R. & Künast, C. (1990): Ultrastructural changes in the digestive system of *Deroceras reticulatum* (Mollusca, Gastropoda) induced by lethal and sublethal concentrations of the carbamate molluscicide Cloethocarb. *Malacologia* **32**: 87-104.
- Turchetti, T. & Chelazzi, G. (1984): Possible role of slugs as vectors of the chestnut blight fungus. *Euro. J. Forest Pathol.* **14**: 125-127.
- Ushadevi, S.V. & Krishnamoorthy, R.V. (1980): Do slugs (*Mariella dussumieri*) have silver-track pheromone? *Indian J. Exp. Biol.* **18**: 1502-1504.

- Venable, J.H. & Coggeshall, R. (1965): A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **25**: 407-408.
- Vokou, D., Tziolas, M. & Bailey, S.E.R. (1998): Essential-oil-mediated interactions between oregano plants and Helicidae grazers. *J. Chem. Ecol.* **24**: 1187-1202.
- Walker, G. (1969): Studies on digestion of the slug *Agriolomax reticulatus* (Müller) (Mollusca, Pulmonata, Limacidae). PhD thesis, University of Wales. (Zitiert nach South, 1992)
- Wareing, D.R. (1986): Directional trail following in *Deroceras reticulatum* (Müller). *J. Moll. Stud.* **52**: 256-258.
- Wareing, D.R. (1993): Feeding history - a factor in determining food preference in slugs. *J. Moll. Stud.* **59**: 368-370.
- Weiss, L. (1988): Cell and tissue biology. Baltimore, Munich, Urban & Schwarzenberg.
- Whelan, R.J. (1982): Response of slugs to unacceptable food items. *J. Appl. Ecol.* **19**: 79-87.
- Whittle, P.J., Smith, R.H. & McIntosh, A. (1976): Estimation of S-methylcysteine sulphoxide (kale anaemia factor) and its distribution among *Brassica* forage and root crops. *J. Sci. Food Agric.* **27**: 633-642.
- Wilkinson, C.F. (1976): Insecticide biochemistry and physiology. Rheine, London and New York.
- Wilson, R.A. (1968): An investigation into the mucus produced by *Lymnaea truncatula*, the snail host of *Fasciola hepatica*. *Comp. Biochem. Physiol.* **24**: 629-633.
- Wondrak, G. (1967): Die exoepithelialen Schleimdrüsenzellen von *Arion empiricorum* (Fér.). *Z. Zellforsch.* **76**: 287-294.
- Wondrak, G. (1969): Elektronenoptische Untersuchungen der Drüsen- und Pigmentzellen aus der Körperdecke von *Arion rufus* (L.) (Pulmonata). *Z. mikrosk. anat. Forsch.* **80**: 17-40.
- Wright, B.R. (1974): Sensory structure of the tentacles of the slug, *Arion ater* (Pulmonata, Mollusca) 2. Ultrastructure of the free nerve endings in the distal epithelium. *Cell Tiss. Res.* **151**: 245-257.
- Young, A.G. & Wilkins, R.M. (1989): The response of invertebrate acetylcholinesterase to molluscicides, pp. 121-128. In: *Slugs and Snails in World Agriculture*. Henderson, I.F. (ed.), BCPC Monograph 41, Thornton Heath: BCPC Publications.
- Zill, L.P. & Harmon, E.A. (1962): Lipids of photosynthetic tissue. I. Silicic acid chromatography of the lipids from whole leaves and chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **57**: 573-583.

Tab. III: Mittels GC-MS-Analytik detektierte Substanzen der CLSA-Proben K1, K2 sowie A-M der Versuchsreihe 3. VU s. Tab. I.

| | Kontrolle | | Körperschleim | | | | Kot | | | | Fußschleim, Kot | | | |
|-------------------------------|-----------|----|---------------|---|---|---|-----|---|---|---|-----------------|---|---|---|
| | K1 | K2 | A | B | C | D | E | F | G | H | I | K | L | M |
| Benzaldehyd | | x | | | x | x | | | x | x | | | x | x |
| Isobuttersäuremethylester | | | | | | | x | x | | | | | | |
| Buttersäuremethylester | | | | | | | x | x | | | | | | |
| Dimethyldisulfid | | | | | | | x | x | | | x | x | | |
| Dimethylsulfon | | | | | | | | x | | | | | | |
| Dimethylsulfoxid | | | | x | | x | | x | | x | | x | | |
| Dimethyltrisulfid | | | | | | | | x | | | | | | |
| Dipropylsulfid | | | | | | | x | x | | | | | | |
| Essigsäure | | | | | | x | | | | | | | | |
| Essigsäureethylester | | | | x | | | | | | | | x | | |
| Hexadecanol | | | | | | | x | | | | | | | |
| Limonen | | | x | x | | | x | x | | | | | | |
| Methylpropylsulfid | | | | | | | x | x | | | | | | |
| Milchsäureester | | | | x | | | | | | | | | | |
| Monoterpen (m/z: 126) | | | | | | | x | | | | | | | |
| α-Pinen | | | x | x | | | x | x | | | x | | | |
| β-Pinen | | | x | x | | | x | x | | | | | | |
| Sulcaton | | | | x | | | | x | | | | | | |
| Tetradecanol | | | | | | | x | | | | | | | |
| VU | | | | | | | | | | | | | | |
| Acetylaceton | | | | | | | | x | x | | | | | |
| Adipinsäurediethylester | | | | x | | | x | x | | | | x | | |
| Azulen | | | | | x | | | | | | | | | |
| Chloroform | | | | | | | | x | | | | | | |
| Diethoxymethan | | | | x | | | | | | | | | | x |
| 2-Ethoxy-2-methylbutan | | | | x | | | | x | | | | x | | |
| Formaldehyddiethylacetal | | | | | | x | | x | | | | x | | |
| Hexan | | | x | | | | x | | | | | | | |
| 4-Methyl-4-hydroxy-2-pentanon | | x | | | x | | | | | | | | x | |
| Phosphorsäuretributylester | | | x | | | | | | | | | | | |
| Trimethyloxiran | | | | x | | | | x | | | | x | | |
| Trimethylpenten | | | | | | | x | | | | | | | |

Tab. IV: Mittels GC-MS-Analytik detektierte Substanzen der Proben Körperschleim, Fußschleim und Kot, gewonnen von mit Kohl oder Kopfsalat gefütterten *D. reticulatum*. Es sind nur die Verbindungen aufgeführt, die wahrscheinlich aus Verunreinigungen (VU) stammen.

| VU | Mit Kohl gefütterte <i>D. reticulatum</i> | | | Mit Salat gefütterte <i>D. reticulatum</i> | | |
|----------------------|---|------------|-----|--|------------|-----|
| | Körperschleim | Fußschleim | Kot | Körperschleim | Fußschleim | Kot |
| Adipinsäureester | x | | x | | | |
| Alkylamin | x | | x | | | x |
| Alkylsiloxan | x | | | | | |
| Cyclosiloxan | x | | | | | |
| Dimethoxyacetophenon | x | | | | | |
| Di-N-butylamin | x | | | | x | |
| 1-Hydroxypropan-2-on | | | | | x | |
| Methylcyclosiloxan | x | | | | | |
| N-Methylmorpholin | x | | | | | x |
| Phthalat | x | | x | x | | x |
| Trimethylamin | | | | | x | |

Tab. Va: Verteilung von *D. reticulatum* (*D.r.*) und *D. caruanae* (*D.c.*) auf Proben (P)- und Kontroll (K)-Röhrchen im zylindrischen Olfaktometer mit sechs Wahl-Röhrchen (n = Gesamtzahl Tiere, n_a = Anzahl der in die Röhrchen gelaufenen Tiere, HT = Tiere, die zwei Tage gehungert hatten).

| Probe | Kontrolle | Art | n (P) | n (K) | n _a | n | % inaktiv |
|--------------------|-----------|------------------|-------|-------|----------------|-----|-----------|
| Kontrolle | | | | | | | |
| leer | leer | <i>D.r.</i> | 8 | 8 | 16 | 48 | 66,7 |
| leer | leer | <i>D.c.</i> | 10 | 6 | 16 | 48 | 66,7 |
| Kopfsalat | | | | | | | |
| Kopfsalat (500 mg) | leer | <i>D.r.</i> (HT) | 28 | 21 | 49 | 144 | 66,0 |
| Kopfsalat (500 mg) | leer | <i>D.r.</i> | 20 | 24 | 44 | 84 | 47,6 |
| Kopfsalat (500 mg) | leer | <i>D.c.</i> | 26 | 22 | 48 | 72 | 33,3 |

Tab. Vb: Verteilung von *D. caruanae* (*D.c.*) auf Proben (P)- und Kontroll (K)-Röhrchen im zylindrischen Olfaktometer mit zwei Wahl-Röhrchen (n = Gesamtzahl Tiere, n_a = Anzahl der in die Röhrchen gelaufenen Tiere). * ohne Kohl / mit Kohl bedeutet, daß die Tiere ohne Kohl / mit Kohl im Röhrchen zur Gewinnung des Fußschleims und Kots gehalten wurden.

| Probe | Kontrolle | n (P) | n (K) | n _a | n | % inaktiv |
|---|-----------|-------|-------|----------------|----|-----------|
| Kohl | leer | 13 | 5 | 18 | 84 | 78,6 |
| Fußschleim + Kot: 3 <i>D.c.</i> (ohne Kohl*) + Kohl | leer | 18 | 8 | 26 | 96 | 72,9 |
| Fußschleim + Kot: 3 <i>D.c.</i> (mit Kohl*) + Kohl | leer | 7 | 2 | 9 | 72 | 87,5 |

Tab. VI: Verteilung von *D. reticulatum* (*D.r.*) und *D. caruanae* (*D.c.*) auf Proben (P)- und Kontrolle (K)-Röhrchen im Y-Olfaktometer (n = Anzahl Tiere, n_a = Anzahl der in die Röhrchen gelaufenen Tiere).

| Probe | Kontrolle | Art | n (P) | n (K) | n_a | n | % inaktiv |
|--|-----------|-------------|-------|-------|-------|----|-----------|
| Kontrolle | | | | | | | |
| leer | leer | <i>D.r.</i> | 6 | 7 | 13 | 24 | 45,8 |
| leer | leer | <i>D.c.</i> | 8 | 6 | 14 | 28 | 50,0 |
| Mit Kohl gefütterte Tiere | | | | | | | |
| Kohl | | | | | | | |
| Kohl (500 mg) | leer | <i>D.r.</i> | 15 | 5 | 20 | 24 | 16,7 |
| Kohl (500 mg) | leer | <i>D.c.</i> | 19 | 4 | 23 | 26 | 11,5 |
| Aufsatz mit Schnecken | | | | | | | |
| 10 cm: 3 <i>D.r.</i> (ohne Kohl) | leer | <i>D.r.</i> | 26 | 2 | 28 | 32 | 12,5 |
| 10 cm: 3 <i>D.r.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.r.</i> | 20 | 4 | 24 | 26 | 7,7 |
| 15 cm: 3 <i>D.r.</i> (ohne Kohl) | leer | <i>D.r.</i> | 6 | 16 | 22 | 24 | 8,3 |
| 15 cm: 3 <i>D.r.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.r.</i> | 16 | 6 | 22 | 25 | 12,0 |
| 15 cm: 10 <i>D.c.</i> (ohne Kohl) | leer | <i>D.c.</i> | 4 | 18 | 22 | 30 | 26,7 |
| Fußschleim + Kot: <i>D.r.</i> | | | | | | | |
| 5 cm: 3 <i>D.r.</i> (ohne Kohl) | leer | <i>D.r.</i> | 21 | 3 | 24 | 34 | 29,4 |
| 5 cm: 3 <i>D.r.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.r.</i> | 22 | 2 | 24 | 32 | 25,0 |
| 5 cm: 10 <i>D.r.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.r.</i> | 20 | 6 | 26 | 32 | 18,8 |
| 10 cm: 10 <i>D.r.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.r.</i> | 20 | 4 | 24 | 32 | 25,0 |
| 15 cm: 10 <i>D.r.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.r.</i> | 9 | 15 | 24 | 30 | 20,0 |
| Fußschleim + Kot: <i>D.c.</i> | | | | | | | |
| 5 cm: 3 <i>D.c.</i> (ohne Kohl) | leer | <i>D.c.</i> | 16 | 5 | 21 | 24 | 12,5 |
| 5 cm: 3 <i>D.c.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.c.</i> | 14 | 6 | 20 | 20 | 0,0 |
| 5 cm: 10 <i>D.c.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.c.</i> | 16 | 4 | 20 | 32 | 37,5 |
| 10 cm: 10 <i>D.c.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.c.</i> | 24 | 2 | 26 | 30 | 13,3 |
| 15 cm: 10 <i>D.c.</i> (mit Kohl) | leer | <i>D.c.</i> | 12 | 9 | 21 | 30 | 30,0 |
| Körperschleim | | | | | | | |
| 3 <i>D.r.</i> | leer | <i>D.r.</i> | 19 | 22 | 41 | 56 | 26,8 |
| 5 <i>D.r.</i> | leer | <i>D.r.</i> | 14 | 10 | 24 | 30 | 20,0 |
| 10 <i>D.r.</i> | leer | <i>D.r.</i> | 10 | 12 | 22 | 26 | 15,4 |
| 3 <i>D.c.</i> | leer | <i>D.c.</i> | 20 | 13 | 33 | 37 | 10,8 |
| 5 <i>D.c.</i> | leer | <i>D.c.</i> | 16 | 8 | 24 | 34 | 29,4 |
| 10 <i>D.c.</i> | leer | <i>D.c.</i> | 21 | 3 | 24 | 28 | 14,3 |
| Fußschleim / Kot: <i>D.r.</i> | | | | | | | |
| Fußschleim | leer | <i>D.r.</i> | 13 | 7 | 20 | 28 | 28,6 |
| Fußschleim | Kot | <i>D.r.</i> | 6 | 17 | 23 | 32 | 28,1 |
| Mit Kopfsalat gefütterte Tiere | | | | | | | |
| Kopfsalat (500 mg) | leer | <i>D.r.</i> | 18 | 5 | 23 | 30 | 23,3 |
| Fußschleim + Kot: 3 <i>D.r.</i> (ohne Kopfsalat), 5 cm | leer | <i>D.r.</i> | 7 | 13 | 20 | 24 | 16,7 |
| Fußschleim + Kot: 3 <i>D.r.</i> (mit Kopfsalat), 5 cm | leer | <i>D.r.</i> | 14 | 9 | 23 | 26 | 11,5 |

Tab. VII: Verteilung von *D. reticulatum* (*D.r.*) und *D. caruanae* (*D.c.*) auf Proben (P)- und Kontroll (K)-Röhrchen im Y-Olfaktometer (n = Anzahl Tiere). Einsatz der CLSA-Proben der Versuchsreihen 1-3 gegen die entsprechenden Lösungsmittel-Kontrollen. Di: Dichlormethan, H: Hexan, M: Methanol, P: Pentan (vgl. 2.4., Tab. 3), Vol.: Volumen, weitere Abkürzungen s. Tab. VI.

| Probe | Kontrolle | Vol. P/K | Art | n (P) | n (K) | n_a | n | % inaktiv |
|-----------------|-----------|------------|-------------|-------|-------|-------|----|-----------|
| Versuchsreihe 1 | | | | | | | | |
| A | K1 | 2 μ l | <i>D.r.</i> | 21 | 6 | 27 | 36 | 25,0 |
| A | K1 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 22 | 6 | 28 | 30 | 6,7 |
| B | Di : H | 2 μ l | <i>D.r.</i> | 18 | 4 | 22 | 22 | 0,0 |
| B | Di : H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 21 | 4 | 25 | 30 | 16,7 |
| C | K2 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 7 | 13 | 20 | 30 | 33,3 |
| D | Di : M | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 10 | 10 | 20 | 24 | 16,7 |
| E | K1 | 2 μ l | <i>D.r.</i> | 15 | 7 | 22 | 26 | 15,4 |
| E | K1 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 15 | 6 | 21 | 26 | 19,2 |
| F | Di : H | 2 μ l | <i>D.r.</i> | 15 | 12 | 27 | 32 | 15,6 |
| F | Di : H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 16 | 6 | 22 | 30 | 26,7 |
| G | K2 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 8 | 16 | 24 | 26 | 7,7 |
| H | Di : M | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 12 | 8 | 20 | 24 | 16,7 |
| Versuchsreihe 2 | | | | | | | | |
| A | K1 | 2 μ l | <i>D.r.</i> | 10 | 10 | 20 | 26 | 23,1 |
| A | K1 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 15 | 9 | 24 | 28 | 14,3 |
| B | Di : H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 11 | 11 | 22 | 25 | 12,0 |
| E | K1 | 2 μ l | <i>D.r.</i> | 13 | 8 | 21 | 24 | 12,5 |
| E | K1 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 16 | 8 | 24 | 28 | 14,3 |
| F | Di : H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 12 | 15 | 27 | 32 | 15,6 |
| I | K1 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 8 | 12 | 20 | 28 | 28,6 |
| K | Di : H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 9 | 15 | 24 | 32 | 25,0 |
| L | K2 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 8 | 16 | 24 | 32 | 25,0 |
| M | Di : M | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 14 | 10 | 24 | 26 | 7,7 |
| Versuchsreihe 3 | | | | | | | | |
| A | K1 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 18 | 9 | 27 | 30 | 10,0 |
| B | Di : P | 5 μ l | <i>D.r.</i> | 15 | 5 | 20 | 25 | 20,0 |
| B | Di : P | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 18 | 6 | 24 | 29 | 17,2 |
| C | K2 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 10 | 12 | 22 | 22 | 0,0 |
| D | Di : M | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 15 | 12 | 27 | 30 | 10,0 |
| E | K1 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 12 | 10 | 22 | 24 | 8,3 |
| F | Di : P | 2 μ l | <i>D.r.</i> | 12 | 9 | 21 | 34 | 38,2 |
| F | Di : P | 5 μ l | <i>D.r.</i> | 15 | 6 | 21 | 32 | 34,4 |
| F | Di : P | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 8 | 13 | 21 | 24 | 12,5 |
| G | K2 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 12 | 8 | 20 | 20 | 0,0 |
| H | Di : M | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 10 | 10 | 20 | 24 | 16,7 |
| I | K1 | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 15 | 12 | 27 | 34 | 20,6 |
| K | Di : P | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 14 | 10 | 24 | 32 | 25,0 |

Tab. VIII: Verteilung von *D. reticulatum* (*D.r.*) und *D. caruanae* (*D.c.*) auf Proben (P)- und Kontroll (K)-Röhrchen im Y-Olfaktometer (n = Anzahl Tiere). Einsatz von Dimethyldisulfid (DMDS) u. a. Schwefelverbindungen in unterschiedlichen Konzentrationen, in Hexan (H) gelöst. Zusammensetzung der Lösung mit vier Schwefelverbindungen (4-S-Lösung) s. 2.5. Vol.: Volumen, weitere Abkürzungen s. Tab. VI.

| Probe | Kontrolle | Vol. P/K | Art | n (P) | n (K) | n_a | n | % inaktiv |
|------------|-----------|------------|-------------|-------|-------|-------|----|-----------|
| DMDS | | | | | | | | |
| 0,25 ppm | H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 9 | 11 | 20 | 25 | 20,0 |
| 1 ppm | H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 18 | 12 | 30 | 39 | 23,1 |
| 2,5 ppm | H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 12 | 10 | 22 | 30 | 26,7 |
| 5 ppm | H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 6 | 17 | 23 | 30 | 23,3 |
| 0,25 ppm | H | 10 μ l | <i>D.c.</i> | 14 | 10 | 24 | 36 | 33,3 |
| 1 ppm | H | 10 μ l | <i>D.c.</i> | 16 | 8 | 24 | 28 | 14,3 |
| 2,5 ppm | H | 10 μ l | <i>D.c.</i> | 17 | 7 | 24 | 30 | 20,0 |
| 5 ppm | H | 10 μ l | <i>D.c.</i> | 7 | 14 | 21 | 28 | 25,0 |
| 4-S-Lösung | | | | | | | | |
| 4-S-Lösung | H | 10 μ l | <i>D.r.</i> | 17 | 8 | 25 | 30 | 16,7 |
| 4-S-Lösung | H | 10 μ l | <i>D.c.</i> | 17 | 4 | 21 | 24 | 12,5 |

Tab. IX: Absolute (Fr) und relative (rF) Frequenzen der Zeiträume Prästimulus (Prä), Poststimulus a (Post a) und b (Post b) von verschiedenen Testsubstanzen (Test) sowie Dauer der Antwort. Angabe der signifikanten Unterschiede (+) zwischen den absoluten Frequenzen der Prästimulusphase und denen der Poststimulusphasen a oder b (U-Test nach Mann und Whitney bei Stichprobenumfängen ≥ 3 ; vgl. 2.9.). Bei einer Antwort von 10 s entfällt der Zeitraum Poststimulus b, die absolute Frequenz wird dann gleich der des Zeitraumes der Prästimulusphase gesetzt.

| Substanz | Fr (Prä) [1/s] | Fr (Post a) [1/s] | Fr (Post b) [1/s] | rF a (Test) | rF b (Test) | Dauer [s] |
|---|-------------------|----------------------|----------------------|----------------|----------------|--------------|
| Olfaktorischer Nerv des Augenfühlers | | | | | | |
| 10 Tiere | 2,39 | 2,10 | 3,11 | 0,88 | 1,30 | 129,05 |
| | 2,28 | 2,44 | 2,43 | 1,07 | 1,07 | 25,66 |
| | 0,24 | 0,31 | 0,03 | 1,29 | 0,13 | 52,94 |
| Signifikanz | | - | - | | | |
| 20 Tiere | 2,25 | 1,53 | 1,98 | 0,68 | 0,88 | 94,64 |
| | 1,35 | 1,09 | 1,49 | 0,81 | 1,10 | 39,01 |
| | 3,19 | 1,91 | 2,17 | 0,60 | 0,68 | 31,44 |
| Signifikanz | | - | - | | | |
| 30 Tiere | 1,12 | 0,20 | 0,92 | 0,18 | 0,82 | 37,37 |
| | 1,94 | 1,78 | 1,69 | 0,92 | 0,87 | 20,52 |
| | 1,02 | 0,70 | 0,72 | 0,69 | 0,71 | 33,12 |
| Signifikanz | | - | - | | | |
| Tiere (tot) | 2,75 | 3,22 | 3,27 | 1,17 | 1,19 | 39,40 |
| | 0,05 | 0,12 | 0,32 | 2,40 | 6,40 | 54,07 |
| | 1,87 | 2,21 | 2,13 | 1,18 | 1,14 | 27,12 |
| | 2,80 | 2,83 | 3,22 | 1,01 | 1,15 | 70,74 |
| Signifikanz | | - | - | | | |

| | | | | | | |
|---|-------|-------|-------|--------|-------|--------|
| DMDS | 0,68 | 7,07 | 1,67 | 10,40 | 2,46 | 163,21 |
| | 0,97 | 8,83 | 3,01 | 9,10 | 3,10 | 148,03 |
| | 0,42 | 5,75 | 2,64 | 13,69 | 6,29 | 48,64 |
| Signifikanz | | + | + | | | |
| DMTS | 0,73 | 1,69 | 1,04 | 2,32 | 1,42 | 23,39 |
| | 0,30 | 0,81 | 0,30 | 2,70 | 1,00 | 10,00 |
| | 1,20 | 1,68 | 2,16 | 1,40 | 1,80 | 30,30 |
| Signifikanz | | - | - | | | |
| DMSO | 1,12 | 1,11 | 1,12 | 0,99 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,87 | 1,00 | 0,87 | 1,15 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,45 | 0,30 | 0,45 | 0,67 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,60 | 0,60 | 0,76 | 1,00 | 1,27 | 15,28 |
| Signifikanz | | - | - | | | |
| Benzothiazol | 0,47 | 0,49 | 0,47 | 1,04 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,93 | 0,93 | 0,98 | 1,00 | 1,05 | 16,79 |
| | 0,33 | 0,89 | 0,58 | 2,70 | 1,76 | 42,21 |
| Signifikanz | | - | - | | | |
| Methylthio- sulfat | 0,49 | 0,55 | 0,49 | 1,12 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,82 | 3,52 | 2,41 | 4,29 | 2,94 | 28,76 |
| | 0,59 | 2,30 | 1,26 | 3,90 | 2,14 | 17,90 |
| Signifikanz | | - | - | | | |
| Nerv des Mundlappens | | | | | | |
| DMDS | 10,35 | 19,35 | 13,46 | 1,87 | 1,30 | 181,88 |
| | 5,82 | 11,35 | 6,52 | 1,95 | 1,12 | 235,87 |
| 2 Tiere | 4,08 | 6,81 | 35,13 | 1,67 | 8,61 | 11,39 |
| | 4,77 | 12,07 | 37,35 | 2,53 | 7,83 | 12,51 |
| Nerv des Mundlappens und Mundfühlers | | | | | | |
| DMDS | 0,03 | 3,33 | 0,52 | 111,00 | 17,33 | 75,57 |
| | 0,37 | 4,35 | 0,37 | 11,76 | 1,00 | 10,00 |

Tab. X: Absolute (Fr) und relative (rF) Frequenzen der Zeiträume Prästimulus (Prä), Poststimulus a (Post a) und b (Post b) von verschiedenen in Lösungsmittel gelösten Testsubstanzen (Test), relative Frequenzen des Lösungsmittels (Lsm) des Poststimulus a (rF a) und b (rF b), relative Frequenzen 1 und 2 (rF 1 und rF 2; vgl. 2.6.4., Tab. 9) sowie Dauer der Antwort. Angabe der signifikanten Unterschiede (+) zwischen den relativen Frequenzen des Lösungsmittels und denen der Testsubstanz, jeweils für den Poststimulus a und b (U-Test nach Mann und Whitney bei Stichprobenumfängen ≥ 3 ; vgl. 2.9.). Bei einer Antwort von 10 s entfällt der Zeitraum Poststimulus b, die absolute Frequenz wird dann gleich der des Zeitraumes der Prästimulusphase gesetzt.

| Substanz | Fr (Prä) [1/s] | Fr (Post a) [1/s] | Fr (Post b) [1/s] | rF a (Lsm) | rF a (Test) | rF 1 | rF b (Lsm) | rF b (Test) | rF 2 | Dauer [s] |
|-------------------------------------|-------------------|----------------------|----------------------|---------------|----------------|------|---------------|----------------|-------|--------------|
| Tiere (gereizt) | 1,35 | 1,80 | 1,74 | 0,85 | 1,33 | 1,56 | 0,68 | 1,29 | 1,90 | 187,39 |
| | 1,52 | 1,31 | 2,78 | 0,80 | 0,86 | 1,08 | 0,91 | 1,83 | 2,01 | 22,00 |
| | 1,29 | 1,92 | 1,87 | 1,08 | 1,49 | 1,38 | 0,67 | 1,45 | 2,16 | 159,60 |
| | 0,50 | 0,81 | 0,50 | 1,02 | 1,62 | 1,59 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 10,00 |
| Signifikanz | | | | | + | | | + | | |
| 1 A (Fußschleim- Kot-Gemisch) | 0,25 | 0,60 | 0,25 | 2,06 | 2,40 | 1,17 | 1,12 | 1,00 | 0,89 | 10,00 |
| | 0,29 | 0,46 | 0,30 | 1,91 | 1,59 | 0,83 | 1,18 | 1,03 | 0,87 | 62,83 |
| | 0,38 | 0,21 | 2,15 | 1,04 | 0,55 | 0,53 | 1,00 | 5,66 | 5,66 | 12,77 |
| | 1,58 | 11,88 | 10,46 | 1,00 | 7,52 | 7,52 | 1,00 | 6,62 | 6,62 | 22,41 |
| | 0,99 | 3,81 | 2,71 | 3,06 | 3,85 | 1,26 | 1,52 | 2,74 | 1,80 | 13,32 |
| | 0,16 | 0,71 | 0,16 | 2,94 | 4,44 | 1,51 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,10 | 0,29 | 0,10 | 0,80 | 2,90 | 3,63 | 1,39 | 1,00 | 0,72 | 10,00 |
| Signifikanz | | | | | - | | | - | | |
| 1 E (Fußschleim- Kot-Gemisch) | 0,54 | 1,31 | 1,31 | 1,00 | 2,43 | 2,43 | 1,00 | 2,43 | 2,43 | 36,97 |
| | 0,80 | 0,80 | 0,80 | 0,91 | 1,00 | 1,10 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,07 | 0,52 | 0,07 | 5,74 | 7,43 | 1,29 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,05 | 1,10 | 3,79 | 12,00 | 22,00 | 1,83 | 14,70 | 75,80 | 5,16 | 120,86 |
| Signifikanz | | | | | - | | | - | | |
| 2 I (Fußschleim- Kot-Gemisch) | 0,10 | 0,40 | 1,97 | 9,00 | 4,00 | 0,44 | 1,00 | 19,70 | 19,70 | 209,61 |
| | 0,83 | 2,09 | 24,40 | 1,67 | 2,52 | 1,51 | 2,00 | 29,40 | 14,70 | 24,90 |
| | 0,05 | 0,90 | 0,80 | 12,00 | 18,00 | 1,50 | 1,00 | 16,00 | 16,00 | 630,26 |
| | 0,03 | 1,44 | 0,17 | 30,00 | 48,00 | 1,60 | 9,97 | 5,67 | 0,57 | 545,95 |
| Signifikanz | | | | | - | | | + | | |
| 2 A (Körper- Schleim) | 0,11 | 2,88 | 0,29 | 13,00 | 26,15 | 2,01 | 1,00 | 2,60 | 2,60 | 41,24 |
| | 1,13 | 2,99 | 2,47 | 0,89 | 2,65 | 2,98 | 1,00 | 2,19 | 2,19 | 37,43 |
| | 0,28 | 0,79 | 4,32 | 30,00 | 2,82 | 0,09 | 9,97 | 15,43 | 1,55 | 38,37 |
| | 2,85 | 4,30 | 3,48 | 0,95 | 1,51 | 1,59 | 1,50 | 1,22 | 0,81 | 36,52 |
| | 0,12 | 5,04 | 1,97 | 22,38 | 42,00 | 1,88 | 17,50 | 16,42 | 0,94 | 34,02 |
| | 0,12 | 0,49 | 0,40 | 1,00 | 4,08 | 4,08 | 2,48 | 3,36 | 1,35 | 58,60 |
| | 0,17 | 0,86 | 0,44 | 8,56 | 5,05 | 0,59 | 1,00 | 2,57 | 2,57 | 103,56 |
| Signifikanz | | | | | - | | | - | | |
| 3 B (Körper- Schleim) | 0,47 | 2,52 | 1,11 | 2,53 | 5,36 | 2,12 | 1,00 | 2,36 | 2,36 | 45,23 |
| | 1,12 | 2,18 | 2,14 | 1,42 | 1,95 | 1,37 | 1,21 | 1,91 | 1,58 | 26,80 |
| | 0,65 | 4,45 | 2,07 | 2,01 | 6,85 | 3,41 | 1,00 | 3,18 | 3,18 | 55,34 |
| Signifikanz | | | | | - | | | + | | |
| 2 E (Kot) | 0,02 | 0,60 | 0,08 | 9,00 | 30,00 | 3,33 | 1,00 | 4,00 | 4,00 | 24,42 |
| | 0,55 | 1,20 | 0,65 | 1,67 | 2,18 | 1,31 | 2,00 | 1,18 | 0,59 | 173,48 |
| | 0,10 | 0,20 | 1,86 | 1,00 | 2,00 | 2,00 | 1,89 | 18,60 | 9,84 | 469,00 |
| | 0,08 | 0,20 | 0,18 | 1,00 | 2,50 | 2,50 | 1,00 | 2,25 | 2,25 | 91,23 |
| | 3,35 | 6,10 | 4,69 | 0,95 | 1,82 | 1,92 | 1,50 | 1,40 | 0,93 | 111,30 |
| | 1,67 | 4,09 | 5,68 | 1,18 | 2,45 | 2,08 | 1,06 | 3,40 | 3,21 | 500,80 |
| Signifikanz | | | | | + | | | + | | |

| | | | | | | | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 3 F (Kot) | 0,83 | 4,98 | 1,60 | 2,53 | 6,00 | 2,37 | 1,00 | 1,93 | 1,93 | 54,77 |
| | 0,64 | 4,54 | 2,12 | 1,93 | 7,09 | 3,67 | 1,17 | 3,31 | 2,83 | 70,11 |
| | 1,13 | 2,55 | 1,63 | 2,11 | 2,26 | 1,07 | 1,23 | 1,44 | 1,17 | 29,08 |
| Signifikanz | | | | | - | | | + | | |
| DMDS [2,5 ppm] | 0,38 | 8,23 | 3,37 | 12,63 | 21,66 | 1,71 | 6,30 | 8,87 | 1,41 | 16,48 |
| | 0,05 | 0,60 | 3,16 | 2,50 | 12,00 | 4,80 | 5,03 | 63,20 | 12,56 | 751,16 |
| | 0,25 | 2,80 | 1,00 | 2,36 | 11,20 | 4,75 | 2,44 | 4,00 | 1,64 | 31,98 |
| | 0,27 | 3,31 | 0,92 | 9,81 | 12,26 | 1,25 | 5,26 | 3,41 | 0,65 | 14,61 |
| Signifikanz | | | | | - | | | - | | |
| DMDS [25 ppm] | 0,08 | 5,18 | 0,08 | 6,66 | 64,75 | 9,72 | 2,86 | 1,00 | 0,35 | 10,00 |
| | 0,05 | 1,80 | 0,82 | 4,62 | 36,00 | 7,79 | 2,44 | 16,40 | 6,72 | 23,41 |
| | 0,27 | 7,76 | 2,47 | 2,93 | 28,74 | 9,81 | 2,03 | 9,15 | 4,51 | 16,71 |
| Signifikanz | | | | | + | | | - | | |
| DMDS [250 ppm] | 0,02 | 1,68 | 0,02 | 8,73 | 84,00 | 9,62 | 2,19 | 1,00 | 0,46 | 10,00 |
| | 0,34 | 10,91 | 0,41 | 4,62 | 32,09 | 6,95 | 2,44 | 1,21 | 0,50 | 18,10 |
| | 0,29 | 6,82 | 0,29 | 2,93 | 23,52 | 8,03 | 2,37 | 1,00 | 0,42 | 10,00 |
| Signifikanz | | | | | + | | | + | | |
| DMTS [250 ppm] | 0,21 | 1,72 | 0,21 | 6,33 | 8,19 | 1,29 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,54 | 3,20 | 0,60 | 4,12 | 5,93 | 1,44 | 1,00 | 1,11 | 1,11 | 12,89 |
| | 0,91 | 3,62 | 0,91 | 3,94 | 3,98 | 1,01 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 10,00 |
| Signifikanz | | | | | - | | | - | | |
| DPDS [250 ppm] | 0,45 | 1,69 | 0,45 | 1,03 | 3,76 | 3,65 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 10,00 |
| | 0,27 | 0,52 | 0,36 | 1,12 | 1,93 | 1,72 | 1,10 | 1,33 | 1,21 | 46,66 |
| | 0,23 | 1,68 | 0,23 | 1,89 | 7,30 | 3,86 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 10,00 |
| Signifikanz | | | | | + | | | - | | |
| MPDS [250 ppm] | 0,49 | 2,55 | 1,56 | 1,03 | 5,20 | 5,05 | 1,00 | 3,18 | 3,18 | 107,84 |
| | 0,87 | 4,16 | 2,78 | 1,12 | 4,78 | 4,27 | 1,10 | 3,20 | 2,91 | 34,11 |
| | 0,31 | 1,69 | 0,93 | 0,97 | 5,45 | 5,62 | 1,00 | 3,00 | 3,00 | 137,98 |
| Signifikanz | | | | | + | | | + | | |
| Nerv des Mundfühlers | | | | | | | | | | |
| DMDS [250 ppm] | 4,48 | 7,80 | 5,91 | 1,10 | 1,74 | 1,58 | 1,17 | 1,32 | 1,13 | 33,62 |
| | 5,62 | 9,50 | 5,23 | 1,03 | 1,69 | 1,64 | 1,09 | 0,93 | 0,85 | 11,64 |
| | 3,11 | 5,07 | 3,83 | 1,29 | 1,63 | 1,26 | 1,31 | 1,23 | 0,94 | 23,90 |
| Signifikanz | | | | | + | | | - | | |
| Nerv des Mundlappens | | | | | | | | | | |
| DMDS [250 ppm] | 10,00 | 16,00 | 12,98 | 1,68 | 1,60 | 0,95 | 1,32 | 1,30 | 0,98 | 368,97 |
| | 8,11 | 11,60 | 10,31 | 1,32 | 1,43 | 1,08 | 1,19 | 1,27 | 1,07 | 242,09 |
| Nerv des Mundfühlers und Mundlappens | | | | | | | | | | |
| 1 B (Fußschleim- Kot-Gemisch) | 0,13 | 8,46 | 2,00 | 2,84 | 65,08 | 22,92 | 2,21 | 15,38 | 6,96 | 26,99 |
| | 0,23 | 4,04 | 0,84 | 14,25 | 17,57 | 1,23 | 11,22 | 3,65 | 0,33 | 12,36 |
| | 0,56 | 22,33 | 5,04 | 8,50 | 39,88 | 4,69 | 4,60 | 9,00 | 1,96 | 14,89 |
| Signifikanz | | | | | + | | | - | | |
| 1 F (Fußschleim- Kot-Gemisch) | 0,93 | 18,80 | 2,26 | 2,84 | 20,22 | 7,12 | 2,21 | 2,43 | 1,10 | 40,82 |
| | 0,07 | 3,57 | 0,25 | 8,49 | 51,00 | 6,01 | 2,15 | 3,57 | 1,66 | 30,90 |
| | 0,87 | 23,72 | 3,91 | 5,37 | 27,26 | 5,08 | 3,12 | 4,49 | 1,44 | 31,29 |
| Signifikanz | | | | | + | | | - | | |
| 3 B (Körper- schleim) | 0,11 | 1,92 | 1,41 | 7,18 | 17,45 | 2,43 | 2,33 | 12,82 | 5,50 | 34,40 |
| | 1,03 | 8,39 | 13,13 | 3,92 | 8,15 | 2,08 | 1,88 | 12,75 | 6,78 | 22,12 |
| 3 F (Kot) | 0,30 | 9,40 | 24,73 | 7,18 | 31,33 | 4,36 | 2,33 | 82,43 | 35,38 | 20,88 |
| | 0,44 | 6,04 | 21,44 | 3,92 | 13,73 | 3,50 | 1,88 | 48,73 | 25,92 | 17,90 |

Abb. I: Chromatogramm der gaschromatographischen Auftrennung der Probe A aus der Versuchsreihe 2 (Körperschleim von *D. reticulatum*, die mit Kohl gefüttert worden waren). Nicht beschriftete Peaks sind Lösungsmittel (Lsm.) oder Verunreinigungen, die auch in der Kontroll-Probe vorhanden waren. a) Übersicht b) Ausschnitt. DMDS (→) = Dimethyldisulfid.

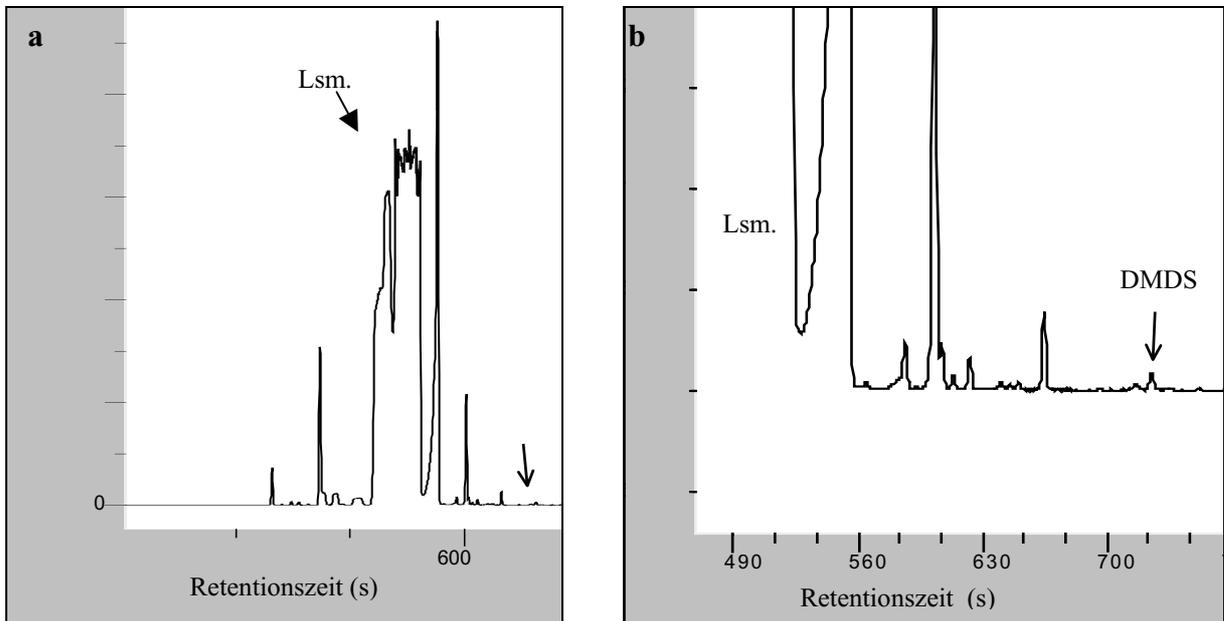
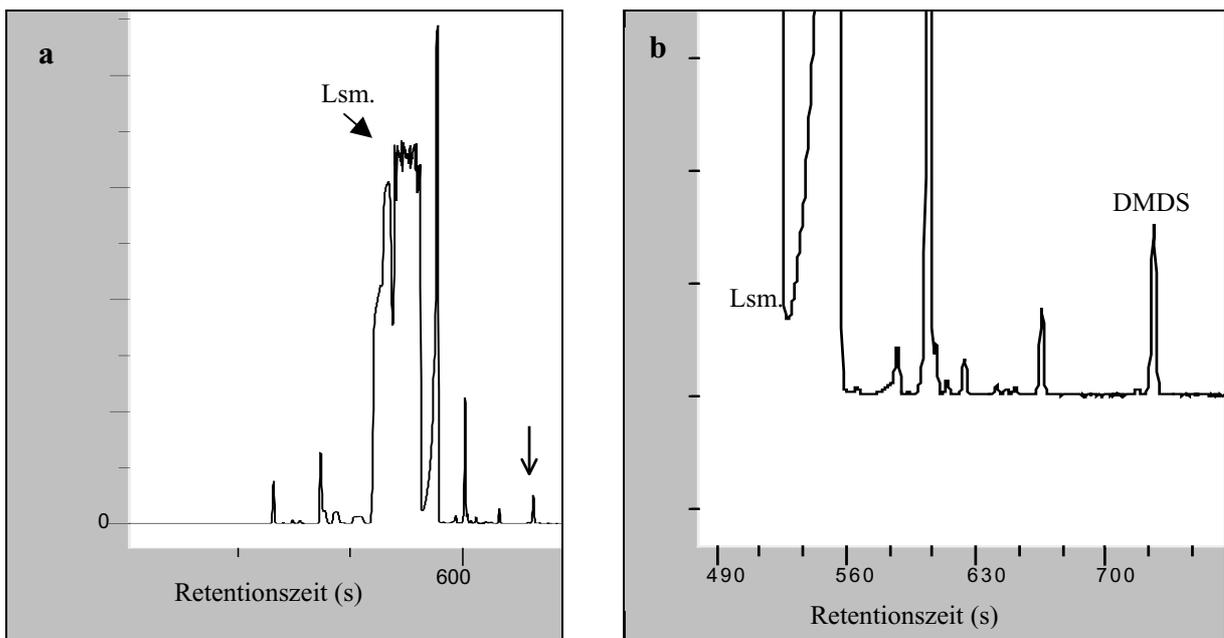


Abb. II: Chromatogramm der gaschromatographischen Auftrennung der Probe E aus der Versuchsreihe 2 (Kot von *D. reticulatum*, die mit Kohl gefüttert worden waren). Nicht beschriftete Peaks sind Lösungsmittel (Lsm.) oder Verunreinigungen, die auch in der Kontroll-Probe vorhanden waren. a) Übersicht b) Ausschnitt. DMDS (→) = Dimethyldisulfid.



Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, daß ich bei der Anfertigung der Arbeit keine unerlaubte Hilfe und nur die in der Abhandlung angeführten Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Düsseldorf, den 21.12.2000

Danksagung

Auch ich möchte mich traditionell zum Schluß dieses Werkes bei all den Menschen bedanken, die durch ihre Hilfe dazu beigetragen haben, daß es nun druckreif vorliegt:

Herrn Prof. Dr. Hartmut Greven möchte ich für die Übernahme und die wissenschaftliche Betreuung der Arbeit und besonders für seine rege Diskussionsbereitschaft danken.

Herrn Prof. Dr. Jochen D'Haese danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Herrn Dr. Jürgen Schnorbach möchte ich für die fachliche Betreuung der gesamten Arbeit und besonders für das mir entgegengebrachte Vertrauen danken.

Herrn Dr. Udo Reckmann danke ich herzlich für sein Interesse und die Betreuung in der letzten Phase der Arbeit.

Herrn Dr. Alfred Elbert danke ich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes am Institut für Tierische Schädlinge.

Herrn Dr. Peter Lösel und Herrn Dr. Dirk Ebbinghaus verdanke ich viele wertvolle Anregungen bei elektrophysiologischen Fragestellungen.

Herrn Dr. Karl Justus danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeiten mit der CLSA und Herrn Dr. Olaf Fleck für die analytischen Untersuchungen, die Auswertung der zahlreichen Chromatogramme und seine vielen weiteren Anregungen. Mein Dank gilt auch den beteiligten Mitarbeitern beider Labore der Zentralen Forschung der Bayer AG in Leverkusen.

Bei Herrn Joachim Schwerdtfeger aus dem Mathematischen Institut der Universität Düsseldorf bedanke ich mich für seine Unterstützung bei allen statistischen Fragestellungen.

Herrn Marcel Brenner aus dem Zoologischen Institut der Universität Düsseldorf danke ich herzlich für seine Hilfeleistung bei allen Fragen zur Transelektronenmikroskopie.

Natürlich möchte ich auch all denjenigen Mitarbeitern des Instituts für Tierische Schädlinge danken - besonders meinen Kollegen Roland Giebner, Ulrike Ruback und Bettina Larbig sowie meiner Schreibtisch-Nachbarin Dr. Olga Malsam -, die mir durch ihr Zuhören und ihre Ratschläge geholfen oder einfach nur durch ein ‚gemeinsames Täbchen Kaffee‘ für eine nette Atmosphäre gesorgt haben.

Und zum Schluß geht ein großes Dankeschön an meine Familie, die mir über die gesamte Ausbildung immer so fest die Daumen gedrückt hat.

Die vorliegende Arbeit wurde durch die Bayer AG finanziell unterstützt.

Lebenslauf

| | |
|--------------|--|
| Name | Constanze E. Kuckuck |
| Geburtsdatum | 02.04.1970 |
| Geburtsort | Moers, Kreis Wesel |
| 1976-1980 | Adolf-Reichwein-Grundschule Moers |
| 1980-1989 | Städtisches Gymnasium mit grundständigem Gymnasium Moers |
| 1989-1995 | Studium der Biologie (Diplom) an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf |
| 1992 | Vordiplom |
| 1994 | Diplom-Hauptprüfung in den Fächern Zoologie, Biophysik und Physik |
| 1994-1995 | Anfertigung der Diplomarbeit am Institut für Zoomorphologie und Zellbiologie, betreut durch Prof. Dr. H. Greven, Universität Düsseldorf |
| 1996-1997 | Praktikum im Pflanzenschutzzentrum der Fa. Bayer AG, Monheim, Ressort Forschung, am Institut für Tierische Schädlinge |
| 1997-2000 | Doktorandin im Pflanzenschutzzentrum der Fa. Bayer AG, Monheim, Ressort Forschung, am Institut für Tierische Schädlinge |