



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Geographische Variation in der Schalenmorphologie,  
Anatomie und Histologie von *Cylindrus obtusus*  
(Gastropoda: Pulmonata: Helicidae)“

Verfasserin

Laura Zopp

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 439

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Zoologie

Betreuerin: Priv.-Doz. Dr. Elisabeth Haring

## Danksagung

Mit hoher Bereitschaft und tatkräftiger Unterstützung konnte ich jederzeit bei meiner Arbeitsgruppe „Alpine Landschnecken“ rechnen und dafür möchte ich ihnen allen herzliche danken. Vor allem Diskussionen, Input und Korrektur von Elisabet Haring, Helmut Sattmann und Luise Kruckenhauser, als auch Josef Harl, Michael Duda, Katharina Jaksch und Sandra Kirchner haben mir nicht nur geholfen und von jedem einzelnen konnte ich sehr viel lernen.

Weiters gilt ein besonderer Dank Wilhelm Pinsker, der allzeit bereit mit Ideen und Korrektur aushelfen konnte.

Licht in das Innenleben von *Cylindrus obtusus* brachte mir die besonders effektive Sezier-Methode von Anatoly Schileyko und sein umfassendes Wissen über diese Schnecke.

Ein noch tieferer Einblick in das Innenleben von *C. obtusus* wurde mir durch die Kooperation mit dem Labor der „Integrativen Zoologie“ ermöglicht, die ich vor allem Andreas Wanninger und Livia Rudoll zu verdanken habe.

Große Umbauarbeiten in diesem Labor, haben zwar dazu geführt, dass ich einen großen Teil *Cylindrus obtusus* dieser Arbeit auslagern musste, ich wurde jedoch herzlich von Daniela Gruber und Alexandra Kerbl im Institut „CIUS – Cell Imaging and Ultrastructure Research“ aufgenommen und fachmännisch betreut.

In die Liste der Bedankten reiht sich auch Phillip Mitteröcker, der mir immer wieder tatkräftig mit statistischem Input zur Seite stand.

Die Vielfalt der Methoden meiner Arbeit spiegelt sich auch in dieser Liste wider und so möchte ich mich auch sehr bei Luitfried Salvini-Plawen bedanken, der mir bei der Interpretation meiner histologischen Ergebnisse geholfen hat.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie dafür danken, dass sie mich unterstützt haben sowie besonders meiner Mutter, Angelika Kafka, und meinem Vater, Raimund Zopp, für das Korrekturlesen.

# INHALTSVERZEICHNIS:

<b>EINLEITUNG</b>	<b>4</b>
Systematik und Taxonomie	5
Ökologie und Biologie	6
Verbreitung	7
Fortpflanzung und Sexualbiologie	8
Geographische Variation des Genitaltraktes von <i>Cylindrus obtusus</i>	11
Fortpflanzungsstrategie	12
<b>Fragestellung und Strategie</b>	<b>15</b>
<b>Material und Methoden</b>	<b>17</b>
Material	17
Fixierung und Probenaufbereitung	18
Anzahl der Individuen	18
Methoden	19
Schalenmorphologie	19
Genitalanatomie	20
Histologie	22
<b>Ergebnisse</b>	<b>24</b>
Schalenmorphologie	24
Geographische Unterschiede der Schalenhöhe	24
Einfluss der Fundorthöhe auf die Schalenhöhe	25
Morphometrische Analyse mittels Landmark-Koordinaten	27
Zusammenfassung Schalenmorphometrie	29
Genitalanatomie	29
Schleimdrüsen und Stylophor	30
Der Liebespfeil	35
Männlicher Genitaltrakt	35
Histologie	36
<b>Diskussion</b>	<b>40</b>
Schalenmorphologie	40
Genitalanatomie	44
Histologie	47

<b>Conclusio</b>	<b>49</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>50</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>55</b>
<b>Anhang</b>	<b>57</b>
Tabellen	57
Zusammenfassung	64
Abstract	66
Lebenslauf	67
Publikationsliste	68

## EINLEITUNG

Erschwerte Lebensbedingungen in den Hochgebirgslagen der Alpen ermöglichen es nur spezifisch angepassten, Tieren dort zu siedeln. Insekten wurden dahingehend bereits sehr gut untersucht (Janetschek 1949), wobei festgestellt wurde, dass die Biodiversität mit der Seehöhe abnimmt (Nagy & Grabherr 2009). Aus der Literatur ist bekannt, dass niedrige Temperaturen, geringer Sauerstoffgehalt und eine kürzere Aktivitätsperiode (Kokshoorn 2008; Nagy & Grabherr 2009) spezifische Anpassungen der Physiologie und somit der Morphologie, Anatomie sowie des Verhaltens erfordern. Je nach Ausprägung dieser Anpassungen kann es dazu kommen, dass ein Überleben in niedrigeren Lagen der Gebirge erschwert wird, was zwangsweise zu einer inselartigen Verbreitung führt. In Extremfällen, wie zum Beispiel bei einigen Landschneckenarten der Gattung *Campylaea* (*C. phalerata*, *C. schmidtii*, *C. glacialis*) sowie auch bei *Clausilia diodon* und *Vitrinopugio nivalis*, kann das dazu führen, dass ein Vorkommen im Alpenraum unter 2300 m (ü. M.) nicht mehr möglich ist (Scharff 1928). Als Beispiele für Hochgebirgsformen mit inselartig zerklüftetem Verbreitungsareal aus den österreichischen Alpen sind die Ostalpen-Haarschnecke *Trochulus oreinos* (Wagner 1915) und die Zylinderfelsenschnecke *Cylindrus obtusus* (Draparnaud 1805) zu nennen (Duda et al. 2010). *C. obtusus*, ein Endemit in den nordöstlichen Kalkalpen, steht im Zentrum der vorliegenden Arbeit.

Was die Schalenform betrifft, so lässt sich *C. obtusus* von den verwandten Ariantinae-Arten insofern unterscheiden, als er keine kugelige oder abgeflachte Schalenform besitzt, sondern eine zylindrische (Abb. 1). Auch in anderen Merkmalen hebt sich *C. obtusus* von seinen Verwandten ab und war daher Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Die zylindrisch-walzenförmige Schale von *C. obtusus* ist gekennzeichnet durch 7 - 8 langsam zunehmende Windungen, eine tiefe Naht und das Fehlen eines Nabels. Die Farbe der Schale kann je nach Alter und Abnutzungsgrad sehr variieren und wird von Frömming (1954) als weiß, leicht hellblau-grau oder opak beschrieben. Ebenso variabel ist die Gehäusegröße von *C. obtusus*. Sie variiert in Höhe und Breite und wird mit 11.0 - 13.0 x 4.0 - 4.5 mm (Bisenberger et al. 1999) bzw. 11.0 - 14.0 x 4.0 - 6.0 mm (Frömming 1954) angegeben. Ein gewisser geographischer Trend in Bezug auf die Gehäusegröße wurde von Adensamer (1937) vermerkt. Demnach sind Schalen von Schneeberg und Rax kleiner als die anderer Fundorte (Adensamer 1937). Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch Edlinger (1999) in einer morphometrischen Analyse mehrerer Schalenmerkmale. Er unterschied

schalenmorphometrisch drei geographisch differenzierte Gruppen (NO, SW und Hohe Tauern) (Edlinger 1999). Die Messungen der Schalengröße durch Freitag und Desch (1996) weichen von den durch Adensamer (1937) festgestellten Messwerten ab. Die von Freitag und Desch an denselben Fundorten gesammelten Schnecken waren demnach kleiner als die von Adensamer 60 Jahre früher gesammelten.

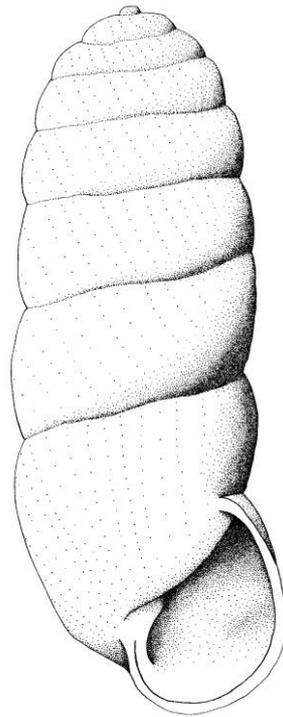


Abbildung 1. *C. obtusus* (Hochschwab, Zeichnung L. Zopp)

### **Systematik und Taxonomie**

*C. obtusus* wurde im Jahr 1805 von Draparnaud in der „Histoire naturelle des mollusques terrestres et fluviatiles de la France“ als *Pupa obtusa* beschrieben. Draparnaud (1805) beschrieb *C. obtusus* in seinem Buch über französische Mollusken, obwohl die Art in Frankreich nicht vorkommt (Férussac 1807). Eine genaue Typuslokalität konnte daher zwar nicht angegeben werden, sie wird jedoch von Adensamer (1937) im Traunsteinmassiv vermutet. Die Gattung beinhaltet bei Draparnaud Arten, die heute den Pupillacea zugeordnet werden können. Fitzinger (1833) stellte sie als einzige Art in die somit monotypische Gattung *Cylindrus*. In einer rezenten Arbeit von Dubois und Bour (2010) wurde die Gültigkeit dieser Gattung jedoch wieder angezweifelt und wird nun diskutiert.

Die Zuordnung zu den Helicidae wurde aufgrund anatomischer Merkmale (siehe weiter unten) von Martens (1895) vorgenommen. Aufgrund weiterer anatomischer Untersuchungen stellte Sturany (Sturany und Wagner 1914) die Gattung in die Unterfamilie Campylaeinae. Die aktuelle Auffassung zur Taxonomie von *C. obtusus* beruht auf der Arbeit von Schileyko (1991), der die Art der Unterfamilie Ariantinae zuordnet. Aus Mangel an datierbaren Fossilien von *C. obtusus* und aufgrund des Fehlens von Fossilien morphologisch ähnlicher möglicher Vorläuferarten gibt es weder für das Alter dieser Form noch für Zeitraum und Ort der Entstehung klare Anhaltspunkte. Boettger (1949) ging von einer relativ jungen und schnellen Entstehung der Art aus, was jedoch von Adensamer kontroversiell diskutiert wurde (1962).

### **Ökologie und Biologie**

*C. obtusus* zeigt eine starke Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen, hält jedoch tiefen Temperaturen im Hochgebirge stand (Kühnelt 1937). Es handelt sich bei *C. obtusus* um einen Karst- und Hochlandbewohner, der hauptsächlich auf Kalkstein aus dem Trias und Jura (Dachsteinkalk, Wettersteinkalk und Gutensteiner Kalke) zu finden ist (Freitag & Desch 1996). Die Art bewohnt primär waldfreie Flächen, felsiges Habitat und subalpine bis alpine Ökotope (Duda et al. 2010). Soweit im Habitat vorhanden, wird *C. obtusus* eher auf Pflanzen und Erde als auf Steinen gefunden, wobei *C. obtusus* stark an schwarze, alpine Erde (Rendzinen), jedoch nicht an eine spezielle Pflanzengesellschaft gebunden ist (Kühnelt 1937). *C. obtusus* wurde fressend auf verschiedenen Pflanzenarten wie *Rhodiola rosea*, *Achillea atrata*, *Viola biflora*, *Hieracium sp.*, *Rumex sp.* (Kühnelt 1937) sowie *Arabis alpina*, *Aster bellidiastrum*, *Campanula cochleariifolia*, *Carex sempervirens* und einigen weiteren Pflanzenarten beobachtet (Freitag & Desch 1996). Die Populationsdichte ist mit 0.2 - 48 Individuen pro m<sup>2</sup> sehr variabel (Bisenberger et al. 1999). Die durchschnittliche Lebensdauer der Art wurde auf Basis der gemessenen Zuwachsraten der Umgänge hochgerechnet und grob auf bis zu 15 Jahre geschätzt (Bisenberger et al. 1999). Durch die Bindung an Kalkstein und spezielle Bodenbedingungen sowie seiner Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen unterliegt *C. obtusus* starken ökologischen Restriktionen und besitzt ein fragmentiertes Verbreitungsareal. Dieses beschränkt sich primär auf von menschlicher Bewirtschaftung unbeeinflusste Gipfelregionen der nordöstlichen Kalkalpen (Kühnelt 1937) zwischen 900 und 2680 m Seehöhe (Adensamer 1937), wobei sich die häufigsten Funde zwischen 1600 und 2500 m befinden (Klemm 1974; Bisenberger et al. 1999; Frank 2006).

## Verbreitung

Die durch die speziellen Habitatansprüche isolierten Vorkommen von *C. obtusus* reichen vom Schneeberg im Osten bis zum Großglockner im Südwesten. Das südlichste Vorkommen liegt in den Hohen Tauern (Mildner & Kofler 1990) (Abb. 2), wo die Art auf isolierten Kalkvorkommen zu finden ist. Ein Vergleich der Eiszeitkarte nach Van Husen (1987) mit der Verbreitung von *C. obtusus* nach Klemm (1974) veranschaulicht, dass die rezenten Fundorte sich größtenteils außerhalb der eiszeitlichen Vergletscherungszone befinden. Daher ist eine nacheiszeitliche Besiedelung der in Kaltzeiten vergletscherten Gebiete naheliegend (Abb. 2), wengleich noch nicht geklärt werden konnte, wie diese isolierten Areale besiedelt worden sind.

Fossilien von *C. obtusus* sowie von anderen alpinen Landschnecken sind nur selten erhalten (Adensamer 1937). Das dürfte mit den schlechten Sedimentationsbedingungen in alpinen Habitaten, der starken Erosion und Erdbewegung, den extremen klimatischen Bedingungen und der chemischen Beschaffenheit der Böden zusammenhängen. Die wenigen Fossilfunde von *C. obtusus* sind nicht datierbar (Frank 2006; Rabeder pers. Mitt. an Sattmann).

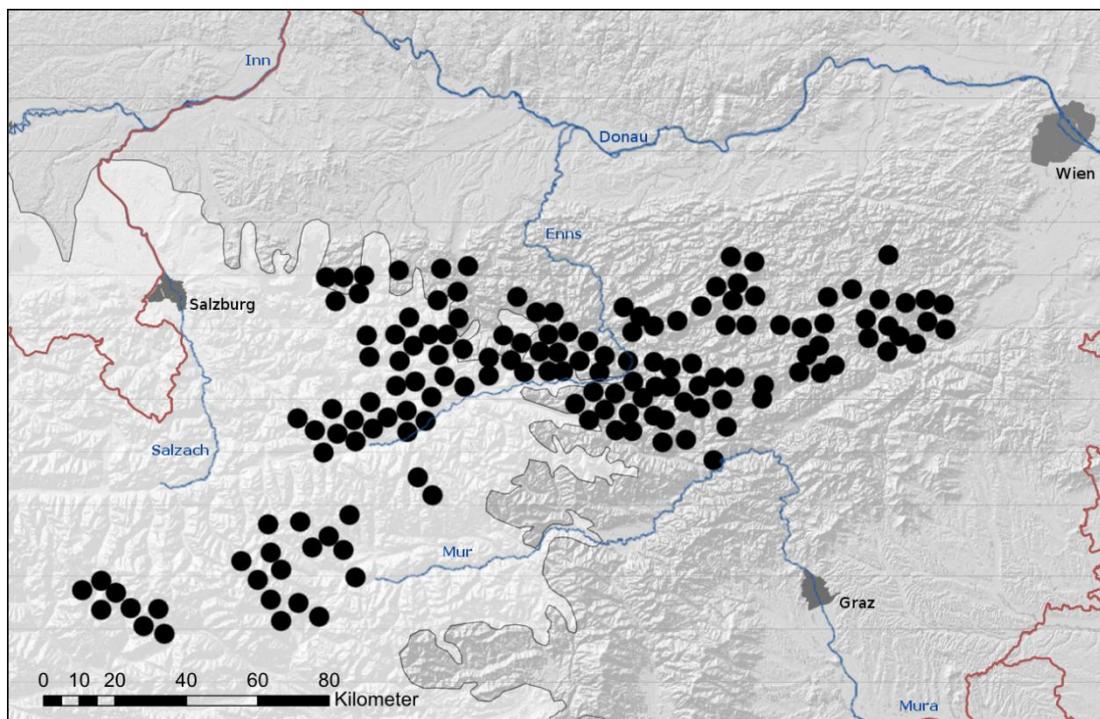


Abbildung 2. Verbreitungskarte von *C. obtusus* illustriert durch die Fundorte von Klemm (1974; schwarze Punkte) sowie das maximale Ausmaß der Vergletscherung während der letzten Eiszeit (Würm) nach Van Husen (1987)

## Fortpflanzung und Sexualbiologie

*C. obtusus* ist wie die meisten Pulmonata ein simultaner Hermaphrodit (Dillen et al. 2009). Genauere Aussagen über die Fortpflanzungsstrategie und die Entwicklung von *C. obtusus* sind nicht möglich, da es keine detaillierten Beobachtungen zu Balz und Kopula gibt und bis jetzt noch keine Erfolge bei Haltung und Züchtung in Gefangenschaft verzeichnet wurden. Es wird vermutet, dass Züchtungsversuche im Labor bisher immer fehlschlagen, weil *C. obtusus* bei der Reproduktion auf alpine klimatische Gegebenheiten angewiesen ist. Die einzig jemals unter kontrollierten Bedingungen gelungene Eiablage (24 Gelege) fand in Käfigen nahe dem natürlichen Habitat statt. Die Gelegegrößen betragen zwischen zwei und sieben Eiern. Es wurde beobachtet, dass bis zum Schlüpfen der Jungtiere durchschnittlich 18 Tage vergingen (Kleewein et al. 2000). Was Balz, Kopula und Befruchtung betrifft, wird vermutet, dass sie ähnlich ablaufen wie bei verwandten Helicidae.

Der Genitaltrakt von Gastropoden stellt ein sehr wichtiges taxonomisches Unterscheidungsmerkmal dar und ist für das Verständnis der Biologie und Strategie der Fortpflanzung von großer Bedeutung. *Arianta arbustorum*, eine nah verwandte Art von *C. obtusus*, ist bezüglich der Genitalanatomie sehr gut untersucht (Bojat et al. 2001a, b; Baminger & Haase 2002; Beese & Baur 2006; Jordaens et al. 2007) und zeigt zumindest in der äußeren Morphologie und Anordnung der Organe große Ähnlichkeiten zu *C. obtusus* (Abb. 3).

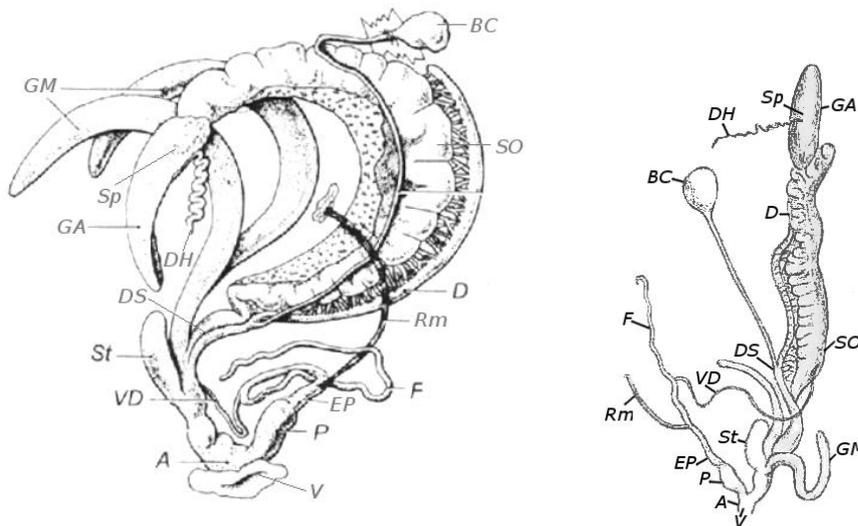


Abbildung 3. Genitaltrakt von *A. arbustorum* (links) im Vergleich zu dem Genitaltrakt von *C. obtusus* (rechts), nach Schileyko (2006), modifiziert. Es sind dieselben Strukturen ausgebildet: Atrium (A), Bursa copulatrix (BC), Diverticulum (D), Ductus hermaphroditicus (DH), Ductus der Spermatheka (DS), Epiphallus (EP), Flagellum (F), Glandula albumen (GA), Glandula mucosa (GM), Penis (P), Retraktormuskel (Rm), Spermoviduct (SO), Spermatheka (Sp), Stylophor (St), Vagina (V) und Vas deferens (VD).

Der folgende Abschnitt soll einen kurzen Überblick über Aufbau und Funktion der Genitalorgane der Helicidae verschaffen, wobei die Funktionsweise der einzelnen Organe bei *Helix pomatia* und *Helix aspersa* besonders detailliert untersucht wurde (Lind 1973; Gómez 2001). Der Genitaltrakt besteht aus einem weiblichen und einem männlichen Teil sowie einem Zwitterteil, die Gameten (Spermien und Eizellen) werden in der Gonade (auch Ovotestis) produziert und in weiterer Folge über den Ductus hermaphroditicus weitertransportiert. Die Autospermien (Eigenspermien) verbleiben bei *Helix pomatia* teilweise im Ductus hermaphroditicus, teilweise sind sie im Spermoviduct verteilt. Während der Kopulation werden die Spermien dann über den Vas deferens abgeleitet und im Epiphallus/Flagellum in eine Spermatophore verpackt, die im Epiphallus und Flagellum produziert wird (Lind 1973). Die Abgabe der Spermatophore an einen Geschlechtspartner erfolgt über den Penis, der in die Vagina des Partners eingeführt wird. Dabei bewirkt die Kontraktion der Peniswand, dass durch hydrostatische Wirkung die Papille vollständig herausgestreckt wird, um die Spermatophore zu übergeben (Gómez 2001). Die übernommene Spermatophore wandert in das Diverticulum des Geschlechtspartners, wo die Spermien die Spermatophore verlassen und über den Oviduct (durch Eigenbewegung und Kontraktionen des Spermoviducts) in die Spermatheka gelangen (Lind 1973). Jene Spermien, die nicht in die Spermatheka (Receptaculum seminis) gelangen, werden in der Bursa copulatrix verdaut (Beese & Baur 2006; Gómez 2001). Die Allospermien (Fremdspermien) der unterschiedlichen Partner werden bei *A. arbustorum* bis an die blasenförmigen Enden der Tubuli der Spermatheka weitergeleitet (Bojat et al. 2001b) und in separaten Kammern gespeichert (Beese & Baur 2006). Die Spermatheka ist demnach ein wichtiges Organ für sexuelle Selektion, bzw. sogenannte kryptische Weibchenwahl (Baminger & Haase 2002). Ultrastrukturanalysen zeigen, dass das Spermatheka-Epithel und die umgebende Muskulatur die SpermienSpeicherung manipulieren (Bojat et al. 2001a, b; bzw. Beese 2007). Die Spermatheka ist durch einen Gang mit der Befruchtungstasche verbunden, sodass die Spermien dorthin zur Befruchtung der Eizellen abgegeben werden können. Die Oozyten werden mit Nährstoffen und Flüssigkeit aus der Eiweißdrüse (Glandula albumen) versorgt und in den Carrefour (Anm.: = Befruchtungstasche) transferiert, in dem die Befruchtung stattfindet (Gómez 2001) (Abb. 4).

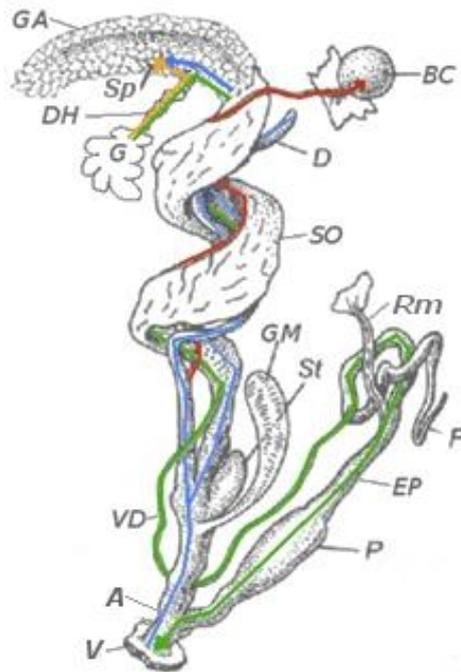


Abbildung 4. Genitaltrakt von *C. obtusus* mit den farblich markierten, anzunehmenden Wegen der Spermien und Oozyten (orange – Weg der Oozyten, grün – Weg der Eigenspermien, blau – Weg der Fremdspermien, rot – Weg der Fremdspermien, die in der Bursa copulatrix enden). Die Enden der Wege sind mit Pfeilspitzen gekennzeichnet (verändert nach Schileyko 2006). Atrium (A), Bursa copulatrix (BC), Diverticulum (D), Ductus hermaphroditicus (DH), Epiphallus (EP), Flagellum (F), Glandula albumen (GA), Glandula mucosa (GM), Gonade (G), Penis (P), Retraktormuskel (Rm), Spermooviduct (SO), Spermatheka (Sp), Stylophor (St), Vagina (V) und Vas deferens (VD).

Der Stylophor (Liebespfeilsack) mit den ihn umgebenden Schleimdrüsen ist ein Organ, das insbesondere bei den Helicidae sehr stark ausgeprägt ist. Er wurde bei verschiedenen Helicidae genauer untersucht (Chung 1986; Chase 2006; Jordaens et al. 2009) und befindet sich am weiblichen, distalen Geschlechtstrakt nahe der Vagina. Der Stylophor produziert eine kalkige, längliche Struktur, den so genannten Liebespfeil (Jordaens et al. 2009). Dieser wird mit einem Sekret aus den Schleimdrüsen ausgestattet, welches ein Kontakt-Sex-Pheromon (Chung 1986) beinhaltet, und wird während des Kopulationsprozesses in die Haut eines Geschlechtspartners gestochen (Jordaens et al. 2009). Die erfolgreiche Abgabe eines Liebespfeiles mit Sekret verdoppelt den Reproduktionserfolg (Chase & Blanchard 2006). Grund dafür ist, dass das Eindringen des Liebespfeiles eine Kontraktion der Muskeln in der Bursa copulatrix bewirkt (Koene & Chase 1998), wodurch der enzymatische Verdau der Allospermien verhindert bzw. verzögert wird. Die Spermien eines erfolgreichen Donators können weiter zum Receptaculum seminis wandern (Chase 2006). Weibliche Selektion findet hauptsächlich über das Sekret der Schleimdrüsen und nicht über mechanische Stimulierung durch den Liebespfeil statt (Chase & Blanchard 2006).

## Geographische Variation des Genitaltraktes von *Cylindrus obtusus*

Der Stylophor von *C. obtusus* ist kurz, produziert einen lanzettförmigen Liebespfeil und mündet in der Nähe von zwei länglichen Schleimdrüsen in die Vagina (Schileyko 1997). In einer vergleichenden Analyse wurde eine geographische Variation bezüglich der Länge der Schleimdrüsen festgestellt (Schileyko 1996; Schileyko et al. 1997). Es zeigte sich, dass diese in einer Population aus dem Gesäuse (Ennstaler Alpen) etwa gleich lang und zirka doppelt so lang wie der Stylophor waren, während sie in einer Population vom Schneeberg unterschiedliche Formen der Reduktion aufwiesen (Abb. 5). Ausgedehntere Untersuchungen dieses Merkmalkomplexes ergaben eine klare geographische Differenzierung in eine westliche und eine östliche Gruppe (Schileyko unpubl.). Diese ungewöhnlich hohe Variabilität der Schleimdrüsenlänge erklärt die unterschiedlichen Darstellungen bei Martens (1895) und Sturany & Wagner (1914). Weiters wirft sie mehrere Fragen auf: (1) Was sind die Hintergründe der geographisch unterschiedlichen Ausprägung dieses Merkmals? (2) Unterscheiden sich die Individuen der westlichen Gruppe von den östlichen hinsichtlich der Schalenmerkmale? (3) Ist die geographische Variation der Schleimdrüsen mit anderen anatomischen Merkmalen korreliert? (4) Ist die unterschiedliche anatomische Variabilität in östlichen und westlichen Populationen mit einer genetischen Differenzierung verknüpft? (5) Ist bei den reduzierten Schleimdrüsen auch eine Veränderung des Gewebes zu finden? (6) Wird durch die Reduktion der Drüsen der Fortpflanzungserfolg beeinflusst?

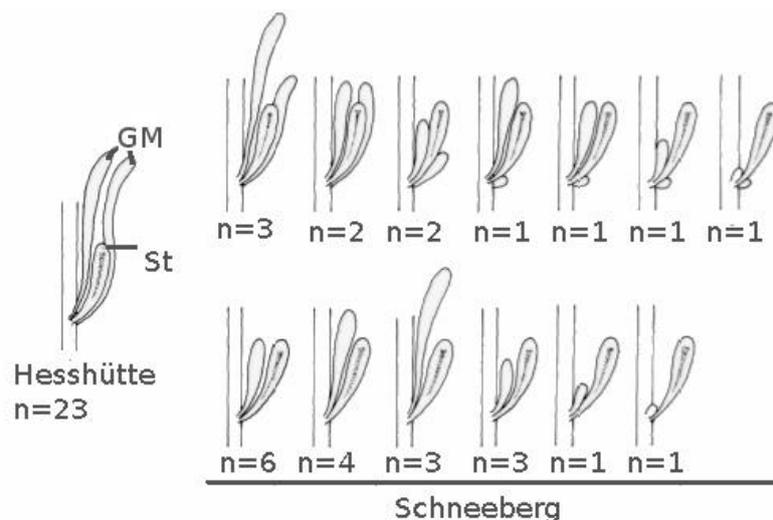


Abbildung 5. Gegenüberstellung von Stylophor (St) und Schleimdrüsen (GM) von unterschiedlichen Individuen von *C. obtusus* vom Schneeberg (östliche Population) sowie von einem Individuum aus dem Gesäuse, Fundort Hesshütte (westliche Population), nach Schileyko et al. (1997).

## Fortpflanzungsstrategie

Die vermutete geographische Differenzierung des distalen weiblichen Genitaltraktes war Ausgangspunkt für eine molekulargenetische Untersuchung verschiedener Populationen (Kruckenhauser et al. 2010). Ziel war es festzustellen, ob sich die Variabilität auch in DNA-Sequenzen von Individuen des gesamten Verbreitungsgebietes widerspiegelt (Abb. 6). Der Vergleich eines 650 bp langen Abschnitts des mitochondrialen COI-Gens von 200 Individuen ergab, dass *C. obtusus* in drei geographische Clades (West-, Zentral- und Ost-Clade) unterteilt ist, wenn auch die genetische Distanz zwischen diesen Gruppen gering war (max. 1.7%) (Kruckenhauser et al. 2010). Der Ost-Clade enthält auch jene östliche Population, in der Schileyko (1997) die hohe Variation des distalen weiblichen Genitaltraktes feststellte, so wie weitere Populationen, wo eine solche vermutet wurde (Schileyko unpubl.).

Die genetische Analyse zeigte noch eine weitere Besonderheit der östlichen Populationen auf: Eine auf neun Loci basierende Mikrosatelliten-Analyse ergab, dass sich die westlichen Populationen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befanden, während die östlichen Populationen einen hohen Anteil an homozygoten Genotypen aufwiesen (Kruckenhauser et al. 2010). Der Zusammenhang zwischen Heterozygotiegrad und Fortpflanzungsstrategie wurde bereits mehrmals, auch bei Helicidae, nachgewiesen (Minoretti et al. 2011). Populationen, in denen die Individuen vermehrt kopulierten, hatten auch einen entsprechend höheren Anteil an Heterozygoten. Somit wurde von Kruckenhauser et al. (2010) die Hypothese aufgestellt, dass sich die Tiere der östlichen Populationen von *C. obtusus* zu einem großen Teil über Selbstbefruchtung fortpflanzen.

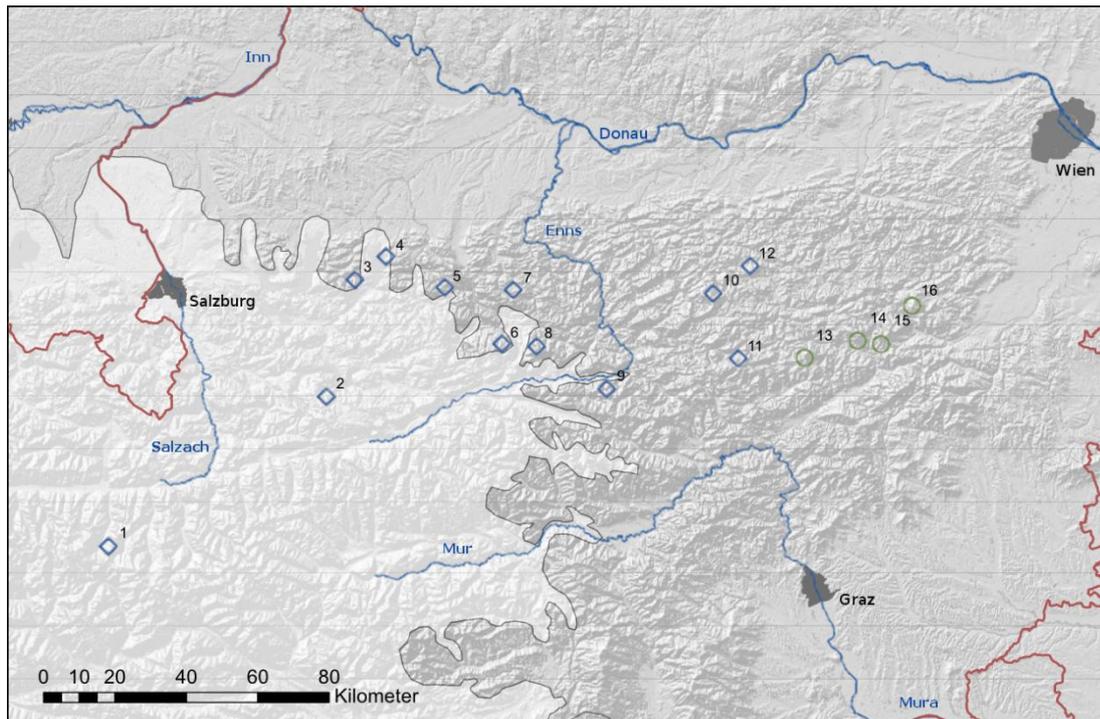


Abbildung 6. Verbreitungskarte von *C. obtusus* mit den Fundorten der Mikrosatelliten-Analyse von Kruckenhauser et al. (2010) und den Vergletscherungszonen nach Van Husen (1987; weiße Fläche); westliche Populationen: blaue Karos (1-12), östliche Populationen: grüne Kreise (13-16), rote Linie: Grenze Österreichs, blaue Linie: große Flüsse.

Theoretisch ist Selbstbefruchtung bei *C. obtusus* möglich, denn diese Fortpflanzungsstrategie wurde bei verschiedenen anderen Pulmonaten, darunter auch bei der nah verwandten Art *A. arbustorum*, beschrieben (Baur & Baur 1997; Chen 1993; Dillen et al. 2009). Von *A. arbustorum* ist bekannt, dass sie in der Regel sexuelle Reproduktion der Selbstbefruchtung vorzieht und es erst nach zwei bis drei Jahren der Isolation zu Selbstbefruchtung kommt (Chen 1993). Ein möglicher Grund dafür ist, dass Selbstbefruchtung sich problematisch auf den Nachwuchs auswirken kann, da vermehrt Homozygotie nachteiliger Allele auftritt, was zu Inzuchtdepression führen kann (Chen 1993). In der Population kann eine niedrigere Häufigkeit an Heterozygoten besonders wegen der reduzierten Abwehrfähigkeit gegen Parasiten eine Reduktion der Wettbewerbsfähigkeit bewirken (Jordaens et al. 2007), dies ist auch als Prädator-induzierte-Plastizität bekannt (Auld & Relyea 2008). Andererseits können über mehrere Generationen der Selbstbefruchtung nachteilige Allele durch natürliche Selektion eliminiert werden, wogegen homozygote Träger mit vorteilhaften Allelen erhalten bleiben. Weiters kann unter bestimmten Umweltbedingungen, wie zum Beispiel geringer Populationsdichte und kurzer Fortpflanzungsperiode, Selbstbefruchtung als

Fortpflanzungsstrategie von Vorteil sein, da sie den Erhalt der Population unter widrigen Umständen sichert (Chen 1993).

Ein Hinweis auf das Vorkommen von Selbstbefruchtung in einer Population ist das Auftreten von „delayed selfing“. Dabei reproduzieren selbstbefruchtende Tiere mit einer zeitlichen Verzögerung, da sie diese Strategie erst anwenden, wenn es zu keiner erfolgreichen Paarung gekommen ist. Experimentell konnte „delayed selfing“ bei *Succinea putris* und auch bei *A. arbustorum* und *Triodopsis albolabris* beobachtet werden (Dillen et al. 2009). Weder Inzuchtdepression noch „delayed selfing“ konnten bei *C. obtusus* aus den bereits genannten Gründen (kein Züchtungserfolg in Gefangenschaft) nachgewiesen werden. Um herauszufinden, ob sich die östlichen Populationen von *C. obtusus* vermehrt über Selbstbefruchtung fortpflanzen (siehe Fragestellungen), ist es daher notwendig, andere Methoden anzuwenden.

## FRAGESTELLUNG UND STRATEGIE

Die Tatsache, dass die östlichen Populationen von *C. obtusus*, die eine hohe Variabilität in der Ausprägung der Genitalmerkmale (Schileyko et al. 1997) aufweisen, genetisch differenziert sind (Kruckenhauser et al. 2010), legt nahe, dass es Unterschiede in der Reproduktionsweise zwischen östlichen und westlichen Populationen gibt und diese auch in anatomischen und morphologischen Strukturen erkennbar sein könnten. Diese Hypothese sollte in der vorliegenden Arbeit getestet werden.

Unter Heranziehen derselben Individuen, die von Kruckenhauser et al. (2010) genetisch untersucht wurden, sollte ein direkter Schluss auf die geographische Differenzierung der Schleimdrüsenausbildung gezogen werden. Dabei sollten in einer umfassenden quantitativen Analyse Stichproben aus dem gesamten Verbreitungsgebiet von *C. obtusus* untersucht werden. Unterschiede in den variablen Strukturen sollten vermessen und statistisch analysiert werden.

Um auszuschließen, dass die Größenvariation der Schleimdrüsen mit der Größe der Individuen in Zusammenhang steht, wurde in einer morphometrischen Analyse die geographische Variation der Schalenhöhe und der Schalenform quantifiziert. Weiters wurde mit dieser Analyse auch der Frage nachgegangen, ob es eine geographische oder ökologische Korrelation mit der Variation der Gehäusegröße gibt, ob z.B. die Gehäuse in höheren Lagen generell kleiner sind (Höhenformen).

Des Weiteren waren bisher noch nicht untersuchte Strukturen, wie zum Beispiel der Stylophor, von Interesse. Es sollte die Länge des Stylophors gemessen sowie das Vorhandensein eines Liebespfeils überprüft werden. Unterschiede der Penisapille und des Flagellums sollten ebenfalls analysiert werden. Diese anatomischen Untersuchungen wurden an denselben Individuen durchgeführt, um eine klare Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

Die Funktionalität der Schleimdrüsen kann schwer direkt gemessen werden. Als erster Schritt, um diese Frage zu klären, sollten histologische Untersuchungen an Tieren aus östlichen und westlichen Populationen durchgeführt werden. Ein eindeutiger geographischer Unterschied, bzw. ein Hinweis auf Funktionsverlust der Schleimdrüsen östlicher Individuen, würde die Annahme unterstützen, dass diese Populationen vermehrt Selbstbefruchtung betreiben.

Folgende Fragen liegen dieser Diplomarbeit zugrunde:

- 1) Kann die geographische Variation von Merkmalen der Schale (Höhe, Breite, Form) statistisch bestätigt werden?
- 2) Kann die geographische Variation von Maßen des Schleimdrüsen-Stylophor-Komplexes statistisch bestätigt werden?
- 3) Ist die Länge der Schleimdrüsen mit der Größe der Tiere korreliert?
- 4) Gibt es weitere anatomische Merkmale, die eine geographische Variation aufweisen?
- 5) Findet sich die Übereinstimmung zwischen genetischer Gruppierung und anatomischer Variabilität in allen genetisch untersuchten Populationen? Sind die anatomischen Unterschiede quantifizierbar und statistisch signifikant?
- 6) Gibt es Unterschiede in der Funktionalität der Schleimdrüsen? Sind z.B. größenreduzierte Schleimdrüsen in ihrer Funktionalität beeinträchtigt?

Folgende Untersuchungen wurden an repräsentativen Stichproben durchgeführt:

- Morphometrische Untersuchung der Gehäusegrößen
- Morphometrische Untersuchung der Schleimdrüsen- und Stylophorlänge
- Überprüfung des Vorhandenseins von Liebespfeilen in den Liebespfeilsäcken
- Vergleich der Form der Penisapille und des Flagellums
- Histologische Untersuchung der Schleimdrüsen und des Stylophors

## MATERIAL UND METHODEN

### MATERIAL

Das Material der vorliegenden Untersuchung wurde im Rahmen des FWF-Projektes „19592-B17“ „Phylogeography of Alpine land snails“ von April bis Oktober in den Jahren 2007-2010 gesammelt. Wie in Duda et al. (2010) erwähnt, wurden die Fundorte nach der Beschreibung von Klemm (1974) ausgewählt. Die Tiere wurden auf einer Fläche von ca. 100-300 m<sup>2</sup> manuell von ca. 2-5 Personen über einen Zeitraum von 10-30 Minuten gesucht. Die Suche wurde beendet, sobald ein vorher festgelegtes Limit von 30 lebenden Schnecken erreicht war. Es wurden zudem Sammeldatum, Meereshöhe, Hanglage, Koordinaten (Geo\_WGS\_84), Vegetation und Funde anderer Schneckenarten vermerkt. Alle Individuen wurden mit einer Individuums-Nummer (ID) versehen und in einer Datenbank erfasst. Das Material wird in der Molluskensammlung des Naturhistorischen Museums Wien aufbewahrt.

Da das Material dieser Untersuchung über mehrere Jahre (2007-2010) verteilt zwischen Mai und Oktober gesammelt wurde, wird in einem Histogramm (Abb. 7) verdeutlicht, dass östliche und westliche Fundorte während jeder Saison zu verschiedenen Zeiten besammelt wurden. Während im Westen lediglich im Sommer (Juni – August) gesammelt wurde, stammen die östlichen Funde von Mai, Juni, Juli und Oktober.

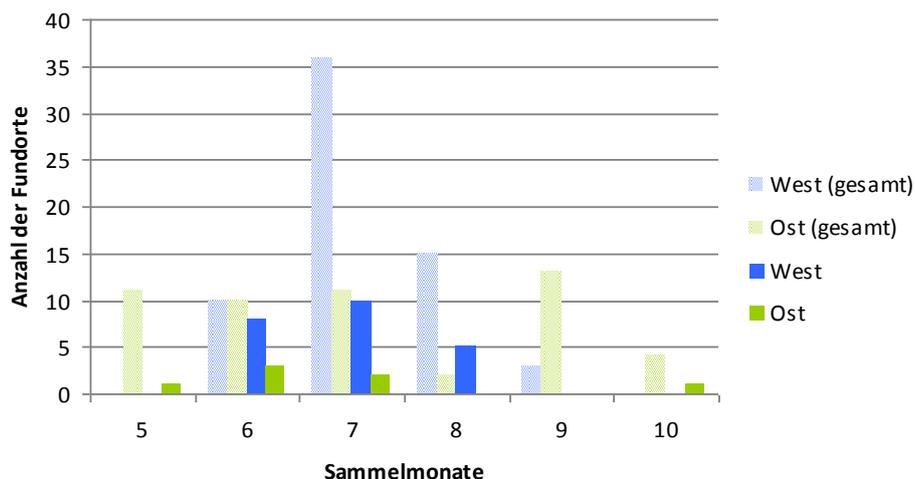


Abbildung 7. Zahl der Fundorte, die pro Monat (Mai bis Oktober) besammelt wurden. Der Farbcode markiert die östlichen (grün) und die westlichen (blau) Fundorte, wobei gefüllte Balken Daten der vorliegenden Untersuchung repräsentieren und schraffierte Balken das gesamte Sammelmateriale umfassen.

## **Fixierung und Probenaufbereitung**

Leerschalen wurden in käuflichen Gelatine kapseln vereinzelt und in Plastiksachteln bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Lebende Tiere wurden in Gläser mit lauwarmem Wasser transferiert und bei 36°C in einem Wärmeschrank nach der Methode von Kruckenhauser et al. (2011) getötet. Für die morphometrische Untersuchung der Genitalanatomie wurden die getöteten Individuen in 2 ml Eppendorf-Gefäße in 80% Ethanol überführt und dort bei 4°C gelagert. Für die histologische Untersuchung wurden die getöteten Individuen zunächst für ca. eine Woche in Bouin fixiert und in weiterer Folge in 70% Ethanol gelagert, bis die Proben weiter bearbeitet wurden (siehe Teil Methoden).

## **Anzahl der Individuen**

### *Schalenmorphologie*

Insgesamt wurden an 296 Individuen, die von 27 Fundorten aus 16 Regionen stammen, Messungen der Schneckengehäuse vorgenommen. Es wurden jeweils 20 Individuen pro Region vermessen, wobei bei Sample 13 nur 3 Tiere, bei Sample 14 nur 14 Tiere und bei Sample 15 nur 19 Tiere zur Verfügung standen. Während die meisten Proben aus Alkoholmaterial bestanden (243 Proben), erfolgte ein geringer Teil der Messungen (53 Proben) anhand von Leerschalen (Tab. 7, Anhang).

### *Genitalanatomie*

Nach der Vermessung der Schneckengehäuse wurden 76 der Individuen, die in Alkohol gelagert waren, für die Sektionen herangezogen. Es wurden dieselben Individuen ausgewählt, die auch in der genetischen Untersuchung von Kruckenhauser et al. (2010) inkludiert waren. Diese Auswahl an Proben repräsentiert je 10 Individuen aus 4 Ost-Regionen und jeweils 3 Individuen aus 12 West-Regionen. In Summe wurden demnach 40 Tiere aus dem Osten und 36 Tiere aus dem Westen seziiert und deren Genitalanatomie untersucht. Da die Variabilität der Genitalanatomie der westlichen Individuen in Voruntersuchungen offensichtlich geringer war, wurden nur jeweils 3 Tiere pro westlichem Fundort untersucht (Tab. 8, Anhang).

### *Histologie*

Für die histologische Untersuchung wurden insgesamt 15 Tiere bearbeitet. Neben dem geographischen Aspekt wurde auch auf saisonale Unterschiede Rücksicht genommen. Dafür

wurden im Frühjahr fünf Tiere aus dem Gesäuse (West-Gruppe) und fünf vom Schneeberg (Ost-Gruppe) gesammelt. Zusätzlich wurden fünf im Herbst gesammelte Individuen vom Schneeberg herangezogen. Da sich jedoch die Tiere von der Frühjahrssammlung am Schneeberg bei der Präparation als problematisch herausstellten, mussten sie wieder aus der Analyse herausgenommen werden.

## METHODEN

### **Schalenmorphologie**

Für die Vermessung der Schalenmorphologie wurden die Tiere abgetupft und mit einem Stück Plastilin auf einen grauen Objektträger positioniert. Jedes Tier wurde mit seiner Individuums-ID abgebildet. Die Tiere wurden so positioniert, dass die Schale in der horizontalen Ebene parallel zum Objektträger ausgerichtet und die Kante der Mündung gerade noch sichtbar war.

#### *Fotografieren*

Jedes Tier wurde einzeln durch das Stereomikroskop (Leica MZ12 5, Heerbrugg) bei einer 0.8-fachen Vergrößerung mit der Kamera (Nikon DS F11, Digital Sight, Japan) als TIFF 2560\*1920 fotografiert. Mittels der Kamera-Kontrolleinheit „Nikon DS Camera Control Unit DS-L2“ wurden die Fotos direkt auf einem USB-Stick gespeichert. Sämtliche Fotos wurden in GIMP (2.6) bearbeitet.

#### *Messung und Landmark-Analyse*

Morphometrische Messungen der Schalen von *C. obtusus* wurden bereits von Adensamer (1937) und später auch von Edlinger (1999) vorgenommen. Größe und Form von *C. obtusus* erwiesen sich als variabel, weshalb sie auch in dieser Untersuchung gemessen wurden. Die Messung der Schalenhöhe und die Aufnahme der Landmark-Koordinaten erfolgte mit dem Programm tpsDig2 (2.16) (Rohlf 2005). Es wurden insgesamt 11 Landmark-Koordinaten (Abb. 8) aufgenommen.

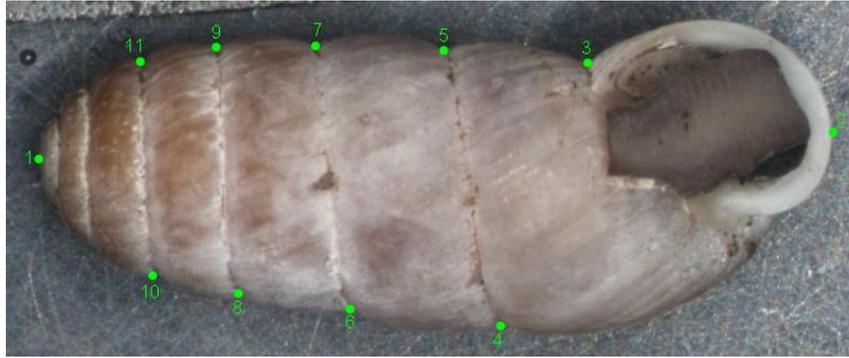


Abbildung 8. Die Fotografie des Gehäuses von *C. obtusus* (Veitsch) illustriert die Position der 11 Landmark-Koordinaten.

### *Statistik*

Die Gehäusehöhe ließ sich aus den Koordinatenwerten errechnen und in ein Editor-File (gedit 2.30.4) transferieren. Mit dem Programm IBM SPSS Statistics (19.0) wurden Scatterplots erstellt und statistische Analysen (T-Test, univariate Varianzanalyse) durchgeführt. Nach der übersichtlichen Darstellung der Daten mittels Scatterplots wurde ein T-Test durchgeführt, um Unterschiede in der Schalenhöhe zwischen den beiden Gruppen festzustellen. Ein Zusammenhang zwischen Fundorthöhe und Schalengröße, in Hinblick auf eine geographische Gruppierung, wurde mittels univariater Varianzanalyse getestet. Histogramm und Liniendiagramm wurden in Microsoft Office Excel (2007) erstellt.

Die nach einer „Procrustes Superimposition“-Methode veränderten Daten der morphometrischen Landmark-Analyse (Hauptkomponentenanalyse) wurden in MorphoJ (0.2) (Klingenberg 2011) berechnet und in einem Scatterplot übersichtlich dargestellt. Die Deformationsgitter wurden mit tpsSplin (1.20) (Rohlf 2003) erstellt und in GIMP (2.6) bearbeitet und übereinander gelegt.

### **Genitalanatomie**

#### *Sektion*

Die Sektion der 76 Tiere erfolgte in einer mit 80% Ethanol gefüllten Glasschale. Zunächst wurde das Schneckengehäuse zerkleinert und in Stücken abgetrennt, um den Genitaltrakt frei zu legen. In weiterer Folge wurde der Genitaltrakt auch von Mantel und Eingeweidesack befreit. Die jeweiligen Strukturen wurden einzeln von dem freigelegten, mit Insekten-Präpariernadeln befestigten Genitaltrakt abgenommen.

Die Schleimdrüsen wurden gemeinsam mit dem Stylophor vom restlichen Genitaltrakt separiert und fotografiert. Penis und Flagellum wurden ebenfalls gemeinsam abgetrennt und fotografiert.

### *Fotografieren*

Sämtliche Strukturen wurden mit dem Auflicht-Fotomikroskop (Wild Makroskop, M 420, 1.25x, Heerbrugg) mit der Kamera (Nikon DS F11, Digital Sight, Japan) bei einer 8-fachen Vergrößerung (Penis mit 12.5- und 25-facher, Liebespfeil mit 35-facher Vergrößerung) in den Dimensionen 2560\*1920 als .TIFF fotografiert.

Die Messung erfolgte mit dem Programm Inkscape (0.48). Dabei wurden die jeweiligen Umfänge der beiden Schleimdrüsen und des Stylophors mit dem Bézierkurven-Werkzeug nachgezogen und über „Extensions-Visualize Path-Measure Path“ in Pixel gemessen (Abb. 9). Die Pixel wurden mit einem Faktor von 592.30 in mm umgerechnet. Da es sich bei den Umfanglängen der untersuchten Organe im Gegensatz zu der tatsächlichen Länge der gewundenen Schleimdrüsen und des Stylophors um klare, messbare Strukturen handelt, wurden diese für die Analyse herangezogen und für die Statistik beibehalten.

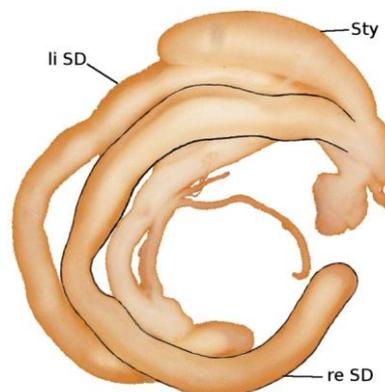


Abbildung 9. Fotografie einer rechten (re SD) und linken Schleimdrüse (li SD) sowie des Stylophors (Sty), wobei die Umrislinie der rechten Schleimdrüse schwarz nachgefahren wurde. Diese Umfanglängen der Schleimdrüsen und des Stylophors wurde anstelle der tatsächlichen Länge der Strukturen für die statistische Analyse herangezogen.

### *Statistik*

Mit dem Programm IBM SPSS Statistics (19.0) wurden Scatterplots erstellt. Korrelationen, Hauptkomponentenanalyse und Varianzanalysen (ANOVA) wurden in Wolfram Mathematica (8.0) berechnet. Die Scatterplots dienten zur Orientierung über die Zusammensetzung der

Daten. Der gegenseitige Einfluss von Schalenhöhe, Umfanglängen der Schleimdrüsen und des Stylophors wurde mittels Korrelationsanalyse ermittelt. Mit einer Hauptkomponentenanalyse wurde getestet, ob sich anhand der Merkmale „Umfanglängen der Schleimdrüsen“ und „Umfanglängen des Stylophors“ Gruppierungen von Individuen erkennen lassen. Anschließend wurden mit einer Varianzanalyse die Signifikanzen zwischen den Gruppen getestet.

#### *Auswertung der quantitativen Merkmale*

Für die Extraktion des Liebespfeils wurde der Stylophor nach dem Fotografieren von den Schleimdrüsen getrennt und in eine Lösung aus 200 µl destilliertem Wasser mit 10 µl Proteinase K bei 56°C für ca. zwei Stunden gegeben. Nachdem sich das Gewebe des Stylophors aufgelöst und den Liebespfeil freigegeben hatte, wurde dieser in ein neues Eppendorfgefäß mit 200 µl 96% Ethanol transferiert. Das Vorhandensein eines Liebespfeiles wurde im Mikroskop untersucht und dokumentiert.

Die Strukturen des männlichen Genitaltraktes wurden während der Sektion und anhand der Fotografien beurteilt. Dabei wurden Struktur und Form der Organe fotografisch aufgenommen. Weiters wurden zwei unterschiedliche Penispapillen graphisch mit Tuschezeichnungen dargestellt, um die Unterschiede zu verdeutlichen.

### **Histologie**

#### *Fixierung*

Die Fixierung der 15 Individuen (5 Gesäuse / Frühjahr, 5 Schneeberg / Frühjahr, 5 Schneeberg / Herbst) erfolgte in einer Bouin'schen Lösung (Piechocki 1975) (70 Teile Pikrinsäure, 25 Teile Formalin (40%), 5 Teile Eisessig (Ethansäure) in 24% Ethanol ausgewaschen. Nach ca. einer Woche wurden die von der Schale befreiten Weichkörper in 70% Ethanol transferiert. Die Schleimdrüsen wurden mitsamt dem Liebespfeil und einem Teil der Vagina vom restlichen Weichkörper abgenommen und ab diesem Moment voneinander getrennt weiterverarbeitet. Die im Frühjahr gesammelten Tiere vom Schneeberg wurden zwar nach demselben Verfahren, jedoch zu einem anderen Zeitpunkt behandelt. Da bei diesen Proben die Fixierlösung aus ungeklärten Gründen nicht ausreichend in das Material eindrang, konnten diese nicht verwertet werden.

### *Einbettung*

Nach der Fixierung erfolgte die Einbettung, bei der die Proben über eine Alkoholreihe (80%, 90%, 2x 96% und 2x 100% Ethanol) in eine 1:3 Mischung aus Azeton und Araldit eingebracht und über Nacht in offenen Gefäßen in einen (nicht Umluft) Abzug gestellt wurden. Nach ca. 12 Stunden erfolgte die Einbettung der behandelten Organe in frisch zubereitetem Araldit (Rezept: 5.35 g Harz Araldite M, 4.98 g Härter, 0.23 g Beschleuniger, 0.7 g Phtalsäuredibutylester; sämtliche Chemikalien von der Firma Merck) in speziell angefertigten Formen. Die Formen wurden bei 60°C für 12 Stunden in einen Wärmeschrank gebracht, wo das Araldit polymerisierte.

### *Semidünnschnitte*

Die auspolymerisierten Blöcke dienten als Grundlage für die Anfertigung von Semidünnschnitten. Es wurden 0.99 µm Semidünnschnitte mit einem Glasmesser an dem Mikrotom (Reichert Ultracut E) angefertigt. Die Semidünnschnitte wurden mit Methylazurblau eingefärbt.

### *Auswertung*

Die Auswertung bestand aus einer qualitativen Beurteilung der Zellinhalte und Zellgrößen. Dabei wurden ausgewählte Schnitte einzeln mit der Kamera (Nikon DS FI1, Digital Sight, Japan) als TIFF 2560\*1920 mit einem Durchlicht-Fotomikroskop (Leitz, Diaplan, Wetzlar) mit 100-facher Vergrößerung (Öl) fotografiert. Die digitalen Bilder konnten somit direkt anhand ihrer Zellinhalte und Zellgröße miteinander verglichen werden.

## ERGEBNISSE

Im Folgenden werden Tiere jener Fundorte zu der Ost-Gruppe gezählt, die bei der genetischen Analyse (Kruckenhauser et al. 2010) einen hohen Homozygotiegrad aufwiesen (Schneeberg, Rax, Schnealpe, Veitsch). Alle restlichen Populationen werden als West-Gruppe definiert.

### SCHALENMORPHOLOGIE

#### Geographische Unterschiede der Schalenhöhe

Bei einer graphischen Darstellung (Abb. 10) der Verteilung der Schalenhöhen über die 16 aufgelisteten geographischen Regionen zeigt sich, dass an sieben Fundorten aus den westlichen Regionen die Schalenhöhe einzelner Individuen größer ist als der Maximalwert der östlichen Regionen (13.7 mm).

Die mittlere Schalenhöhe (östliche und westliche Populationen gepoolt) beträgt 12.47 mm, mit einer Standardabweichung von 0.8 mm. Der Median liegt bei 12.43 mm. Die Schalenhöhen erreichen ein Maximum von 14.96 mm, das Minimum liegt bei 10.06 mm.

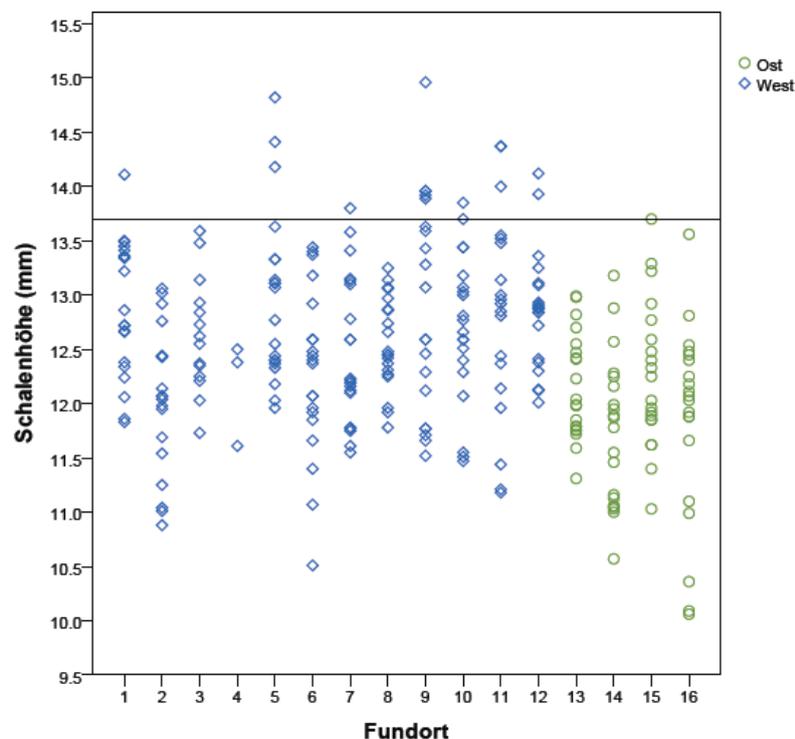


Abbildung 10. Der Scatterplot stellt die Schalenhöhen in mm entlang der 16 Fundorte - von West (blaues Karo) nach Ost (grüner Kreis) sortiert - dar. Die Bezugslinie auf 13.7 mm stellt die maximale Schalenhöhe bei östlichen Populationen dar.

Wie Tabelle 1 zeigt, ist der Mittelwert der Schalenhöhen der östlichen Populationen kleiner (12.00 mm) als jener der westlichen Populationen (12.64 mm). Der Levene-Test auf Varianzgleichheit resultiert in einem F-Wert von 0.952, welcher nicht signifikant ist ( $p > 0.05$ ). Der t-Wert ist mit  $-6.576$  hochsignifikant ( $p < 0.001$ ). Die Varianzen der beiden Gruppen sind somit vergleichbar.

Tabelle 1. Die Tabelle der Gruppenstatistiken zeigt Stichprobenanzahl (N), Mittelwerte ( $\mu$ ), Standardabweichung ( $\sigma$ ) und Standardfehler der Mittelwerte ( $\sigma_n$ ) der beiden dem T-Test zugrunde liegenden geographischen Gruppen (Ost, West).

<b>Gruppenstatistik Schalenhöhe</b>				
	<b>N</b>	<b><math>\mu</math></b>	<b><math>\sigma</math></b>	<b><math>\sigma_n</math></b>
<b>Ost</b>	80	12.00	.726	.081
<b>West</b>	215	12.64	.759	.052

### **Einfluss der Fundorthöhe auf die Schalenhöhe**

Um der Frage nachzugehen, ob die Unterschiede in der Schalenhöhe mit der Höhe des Fundorts in Zusammenhang stehen, wurde ein Scatterplot erstellt sowie eine univariate Varianzanalyse durchgeführt. Trägt man die Schalenhöhe gegen die Fundorthöhe auf, so zeigt sich eine große Variabilität der Schalenhöhe an allen Fundorten unabhängig von geographischer Gruppierung und Fundorthöhe (Abb. 11).

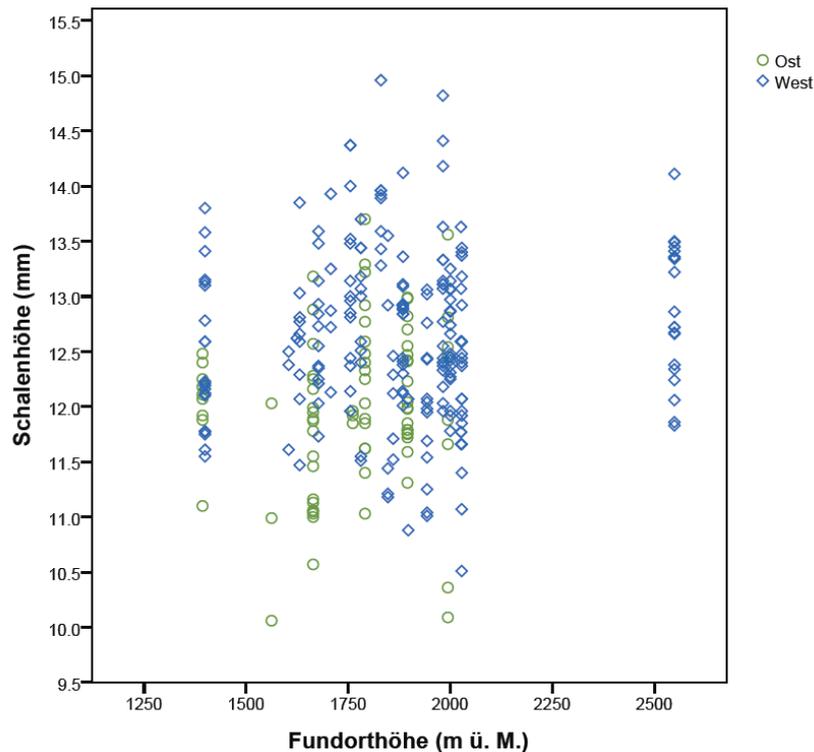


Abbildung 11. Der Scatterplot zeigt die Verteilung der Messwerte der Schalenhöhen der Individuen über die Fundorthöhen. Der Farbcode (Ost = grüner Kreis; West = blaues Karo) verdeutlicht die geographische Verbreitung der Fundorte.

Die Fundorte befanden sich zwischen 1393 m und 2549 m Seehöhe, wobei der Großteil der Fundorte zwischen 1500 m und 2200 m lag und sich westliche und östliche Populationen im Spektrum ihrer Fundorthöhe weitgehend (bis zu einer Höhe von 1994 m) überschneiden. Der höchste Standort lag auf 2549 m Höhe und stellt gleichzeitig auch den südwestlichsten Fundort dar (Glocknergruppe). Zwischen diesem und dem nächstgelegenen Fundort auf 2179 m existiert eine größere Lücke im Sampleset (Abb. 11). Ein Liniendiagramm sämtlicher Fundorte, die im Rahmen des Projekts besammelt wurden, zeigt jedoch, dass *C. obtusus* durchgängig in fast allen Höhen zwischen 1393 m und 2606 m vorkommt (Abb. 12). Die höchsten Fundorte befinden sich in den westlichen Regionen. Der höchste östliche Fundort befindet sich auf 2024 m.

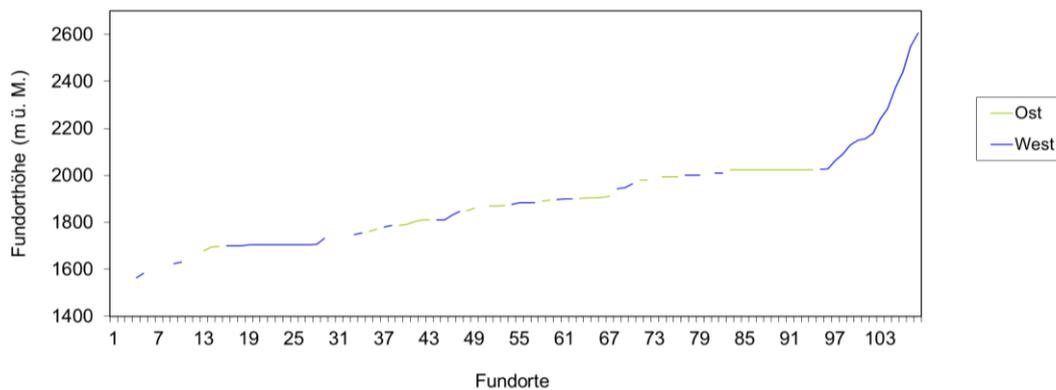


Abbildung 12. Das Liniendiagramm zeigt die Höhenverteilung sämtlicher im Rahmen des Projekts besammelten Fundorte von *C. obtusus* farblich markiert nach der Ost- (hellgrün) und Westgruppe (dunkelblau).

Das Ergebnis der univariaten Varianzanalyse (Tab. 2) zeigt, dass sich die Schalenhöhen der beiden geographischen Gruppen (Ost und West) signifikant voneinander unterscheiden, jedoch kein Zusammenhang mit der Fundorthöhe besteht.

Tabelle 2. Die Tabelle der univariaten Varianzanalyse zeigt die F-Werte des Tests der Zwischensubjekteffekte mit Signifikanzniveau (Sig.).

	F	Sig.
<b>Fundorthöhe (m ü. M.)</b>	1.267	0.261
<b>Ost/West</b>	37.335	<0.001

### Morphometrische Analyse mittels Landmark-Koordinaten

Die Hauptkomponentenanalyse der Landmark-Koordinaten wurde durchgeführt, um eine etwaige schalenmorphometrische Differenzierung der geographischen Gruppen (Ost, West) zu erfassen. Die Verteilung der Fundorte im Scatterplot (Abb. 13) zeigt, dass die Schalenform weder in der ersten, noch in der zweiten Hauptkomponente mit der geographischen Verbreitung korreliert ist. Die erste Hauptkomponente beeinflusst die Variabilität der Gesamtdaten am meisten (62,9 %) und setzt sich aus den x-Positionen des 1. und 2. Landmark-Punktes (entsprechen dem Apex und dem äußersten Mündungsrand) zusammen (entspricht der Schalenhöhe), während die zweite Hauptkomponente einen deutlich geringeren Einfluss hat (14,9 %) (Tab. 3). In keiner weiteren Hauptkomponente lassen sich die östlichen Fundorte von den westlichen trennen. Das heißt, dass sich die Varianz der Landmark-Daten nicht durch die geographischen Gruppen erklären lässt.

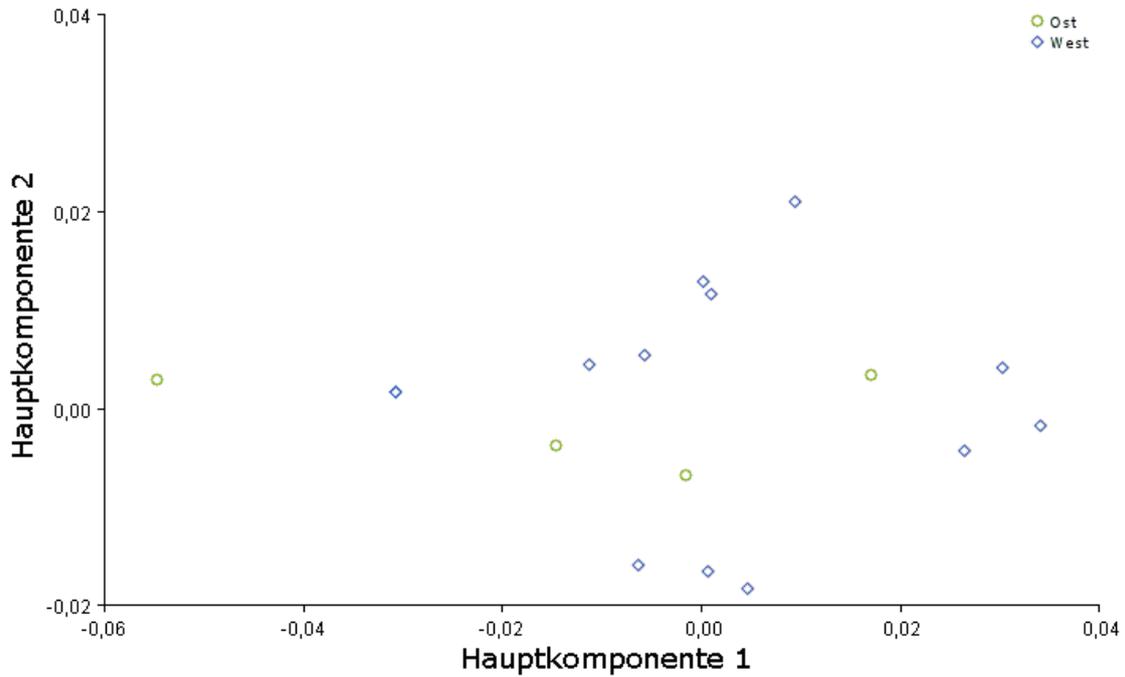


Abbildung 13. Scatterplot der 1. und 2. Hauptkomponente der Landmark-Analyse (Ost = grüne Kreise, West = blaue Karos).

Tabelle 3. Eigenwerte und Prozentwerte der erklärten Varianz ( $\% \sigma^2$ ) sowie die Eigenvektoren sind für die ersten drei Hauptkomponenten (HK) angeführt. Die zwei höchsten Werte wurden jeweils „fett“ markiert.

		<b>1. HK</b>	<b>2. HK</b>	<b>3. HK</b>
<b>Eigenwerte</b>		0,000502	0,000119	6,763E-05
<b>% <math>\sigma^2</math></b>		<b>62,91</b>	<b>14,92</b>	8,48
<b>Eigenvektoren</b>	x1	<b>-0,69</b>	-0,11	-0,02
	y1	0,02	-0,18	-0,03
	x2	<b>-0,29</b>	-0,14	0,19
	y2	0,01	<b>-0,44</b>	0,40
	x3	0,02	<b>0,55</b>	0,37
	y3	-0,19	0,26	-0,30
	x4	0,19	-0,10	-0,06
	y4	0,25	0,06	0,09
	x5	0,16	-0,13	0,04
	y5	-0,19	0,21	-0,15
	x6	0,25	-0,04	-0,25
	y6	0,14	0,29	0,32
	x7	0,19	-0,16	0,01
	y7	-0,15	-0,04	-0,21
	x8	0,15	0,20	-0,14
	y8	0,05	0,13	0,12
	x9	0,12	-0,15	-0,01
	y9	-0,02	-0,12	-0,32
	x10	-0,01	0,20	-0,27
	y10	-0,12	0,02	0,27
	x11	-0,08	-0,14	0,15
	y11	0,20	-0,18	-0,19

Die Darstellung der gemittelten Landmark-Punkte der Ost- und der Westpopulationen in den jeweiligen Deformationsgittern verdeutlicht nochmals, dass der Unterschied zwischen den

beiden geographischen Gruppen nicht in der Schalenform sondern in der der Schalenhöhe liegt (Abb. 14).

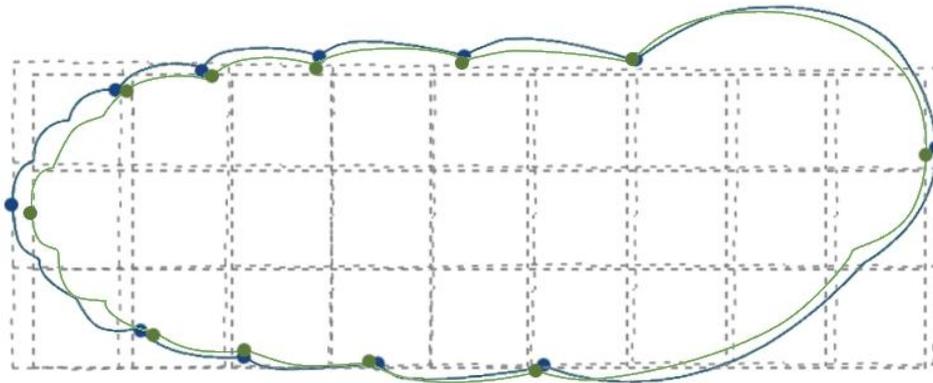


Abbildung 14. Landmark-Punkte mit Umrisslinien der Schalen in den dazu passenden Deformationsgittern der Ost- (grün) und Westpopulationen (blau).

### **Zusammenfassung Schalenmorphometrie**

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Schalenhöhen in den Westpopulationen signifikant höher sind als in den Ostpopulationen. Die Fundorte verteilen sich mit Ausnahme eines Fundorts gleichmäßig über ein Höhenspektrum zwischen 1393 m und 2179 m. Die unterschiedlichen Schalenhöhen sind jedoch nicht auf die Fundorthöhe zurückzuführen.

### **GENITALANATOMIE**

Der Genitaltrakt von *C. obtusus* gliedert sich in einen männlichen, einen weiblichen und einen Zwitterteil. Eine starke, mit den geographischen Gruppen (Ost, West) gekoppelte Variabilität lässt sich hauptsächlich im Zwitterteil erkennen. Das der genitalanatomischen Untersuchung zugrunde liegende Material zeigt hinsichtlich der Fundorthöhe keine Differenzierung in eine Ost- bzw. West-Gruppe (Abb. 15). Es zeigt sich, dass die verwendete Stichprobe (n = 76) ein breites Höhenspektrum (1399 m - 2549 m) abdeckt und sich die östlichen Individuen (wie auch bei der morphometrischen Messung der Schalenhöhe) auf einen Bereich zwischen 1664 m und 1994 m konzentrieren, während die westlichen Individuen das Höhenspektrum von 1400 m bis 2549 m abdecken.

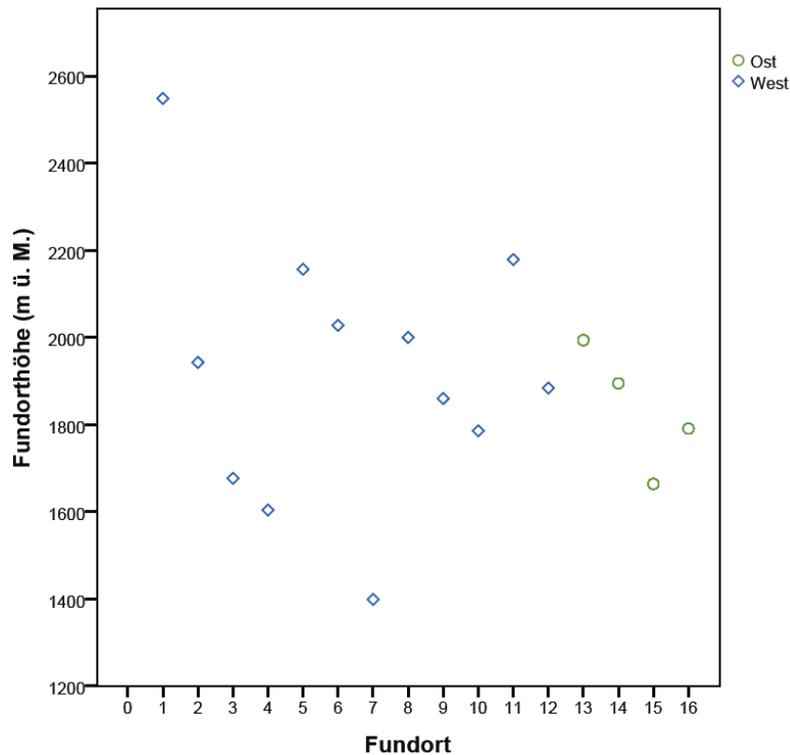


Abbildung 15. In diesem Scatterplot sind die Fundorte nach geographischer Gruppierung farblich markiert (Ost = grüne Kreise, West = blaue Karos) und gegen die Fundorthöhe aufgetragen.

## Schleimdrüsen und Stylophor

### *Schleimdrüsen*

Die Umfanglängen der Schleimdrüsen weisen eine klare geographische Differenzierung auf. Die Überlappung zwischen den beiden Gruppen ist sehr gering bis kaum vorhanden, da die Schleimdrüsenumfanglängen der westlichen Populationen in einem Bereich zwischen 5.19 und 9.59 mm liegen und die der östlichen Populationen in einem Bereich zw. 0.41 und 5.96 mm. Weiters ist die Variation der Umfanglänge bei den östlichen Populationen größer als bei den westlichen Individuen. Während die mittlere Standardabweichung der Schleimdrüsenumfanglänge bei den westlichen Populationen bei ca. 0.6 mm liegt, beträgt sie bei den östlichen Population ca. 1 mm (Abb. 16).

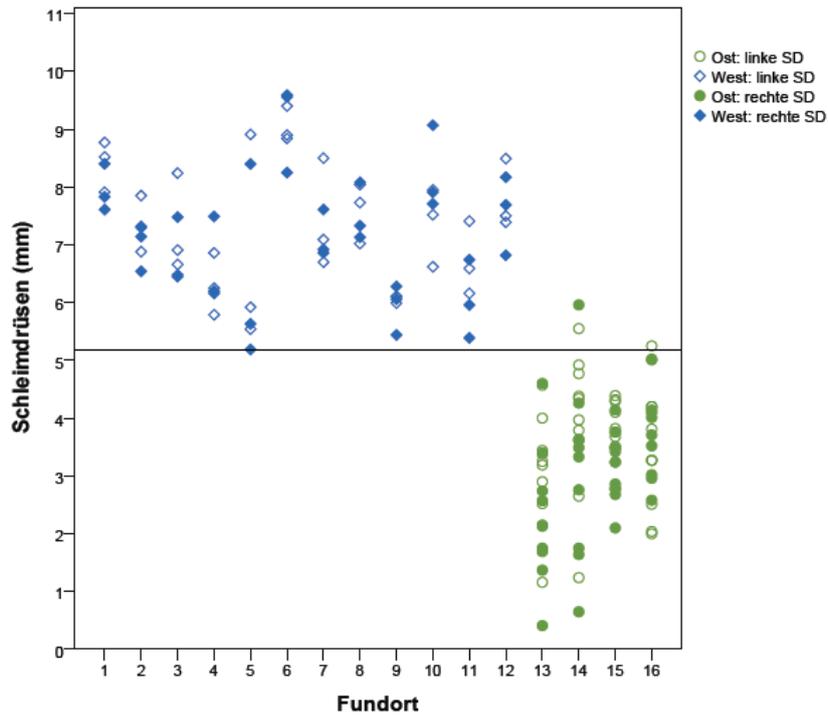


Abbildung 16. Die Längen der linken (leere Symbole) und der rechten (gefüllte Symbole) Schleimdrüsenumfänge nach den geographischen Gruppen (Ost = grüne Kreise, West = blaue Karos) markiert und nach den Fundorten sortiert. Die Bezugslinie bei 5.19 mm liegt unterhalb der kürzesten westlichen Schleimdrüse.

### *Stylophor*

Die Umfanglängen des Stylophors in den östlichen Populationen lagen zwischen 2.06 mm und 2.69 mm und damit deutlich unter den Umfanglängen der westlichen Populationen, die zwischen 2.29 mm und 3.22 mm lagen. Die Standardabweichung an den westlichen Fundorten lag mit 0.22 mm über der der östlichen (0.15 mm). Trotz eines großen Überlappungsbereichs waren die Stylophorumfanglängen der westlichen Populationen bis zu 0.53 mm länger als die der östlichen (Abb. 17).

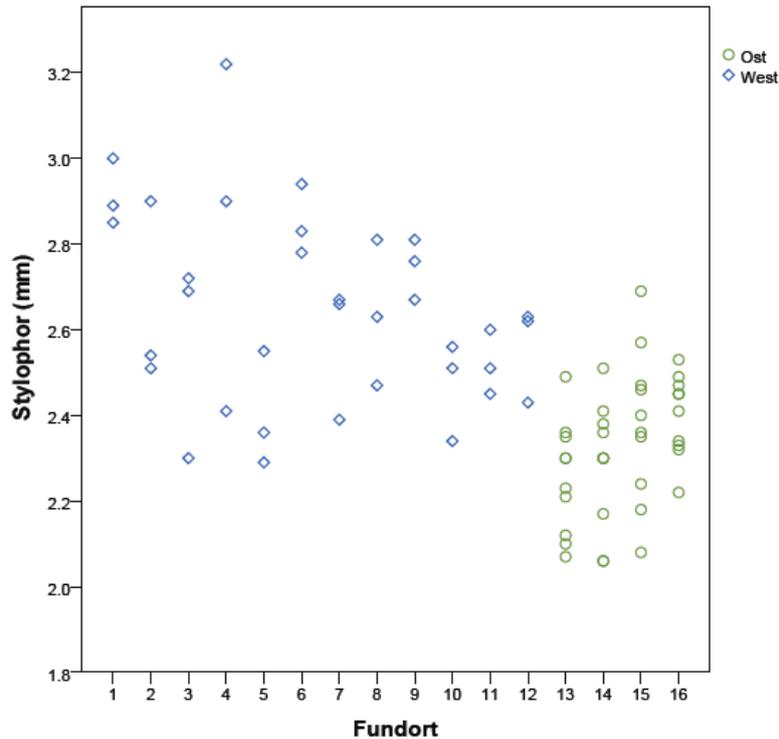


Abbildung 17. Die Stylophorumumfanglängen (mm) sind in diesem Scatterplot von West nach Ost nach Fundorten sortiert. Die östlichen Fundorte sind mit grünen Kreisen, die westlichen mit blauen Karos markiert.

### *Statistische Analyse der genitalanatomischen Messungen*

Die Korrelationsmatrix in Tab. 4 zeigt Korrelationen zwischen Schalenhöhe, Umfanglängen der beiden Schleimdrüsen sowie der Umfanglänge des Stylophors. Hier wurde das gesamte Material ohne Berücksichtigung der geographischen Zuordnung analysiert. Eine starke Korrelation ist bei den Schleimdrüsen zu finden. Des Weiteren besteht auch eine schwache Korrelation zwischen den Umfanglängen der beiden Schleimdrüsen und der Stylophore. Keine signifikante Korrelation besteht zwischen Schalenhöhe und Umfanglängen der Schleimdrüsen bzw. dem Stylophor.

Tabelle 4. Die Tabelle stellt die Korrelationen zwischen Schalenhöhe und Umfanglängen der linken (li) und rechten (re) Schleimdrüse sowie des Stylophors dar.

	Schalenhöhe	Schleimdrüse li	Schleimdrüse re	Stylophor
Schalenhöhe	1			
Schleimdrüse li	0.300312	1		
Schleimdrüse re	0.331837	0.9026	1	
Stylophor	0.286443	0.639347	0.662932	1

Die Umfanglängen der Schleimdrüsen wie auch der Stylophore wurden in einer Hauptkomponentenanalyse inkludiert. Es stellt sich heraus, dass die beiden geographischen Gruppen (Ost, West) in der ersten Hauptkomponente deutlich voneinander getrennt werden. Es gibt keine Überlappung zwischen den östlichen und den westlichen Populationen.

Die Eigenwerte der Hauptkomponentenanalyse nehmen stark mit dem Grad der Hauptkomponente ab, wodurch die größte Variabilität der Daten mit der ersten Hauptkomponente erklärt werden kann (Tab. 5). Die erste und die zweite Hauptkomponente werden hauptsächlich von den beiden Schleimdrüsen beeinflusst. Die dritte Hauptkomponente hingegen ist fast gänzlich von den Umfanglängen der Stylophore abhängig.

Tabelle 5. Eigenwerte und Eigenvektoren der ersten drei Hauptkomponenten der Hauptkomponentenanalyse der Schleimdrüsen und des Stylophors

		<b>1. HK</b>	<b>2. HK</b>	<b>3. HK</b>
<b>Eigenwerte</b>		976.258	0.494494	0.0323359
<b>Eigenvektoren</b>	<b>Schleimdrüse links</b>	0.671882	0.740264	-0.0241666
	<b>Schleimdrüse rechts</b>	0.738826	-0.672157	-0.048385
	<b>Stylophor</b>	0.0520614	-0.0146541	0.998536

Die Korrelation der Umfanglängen von linker und rechter Schleimdrüse wird auch in Abb. 18 deutlich. Die Umfanglängen der Stylophore hingegen zeigen einen sehr geringen Zusammenhang mit den beiden Schleimdrüsen (Abb. 18).

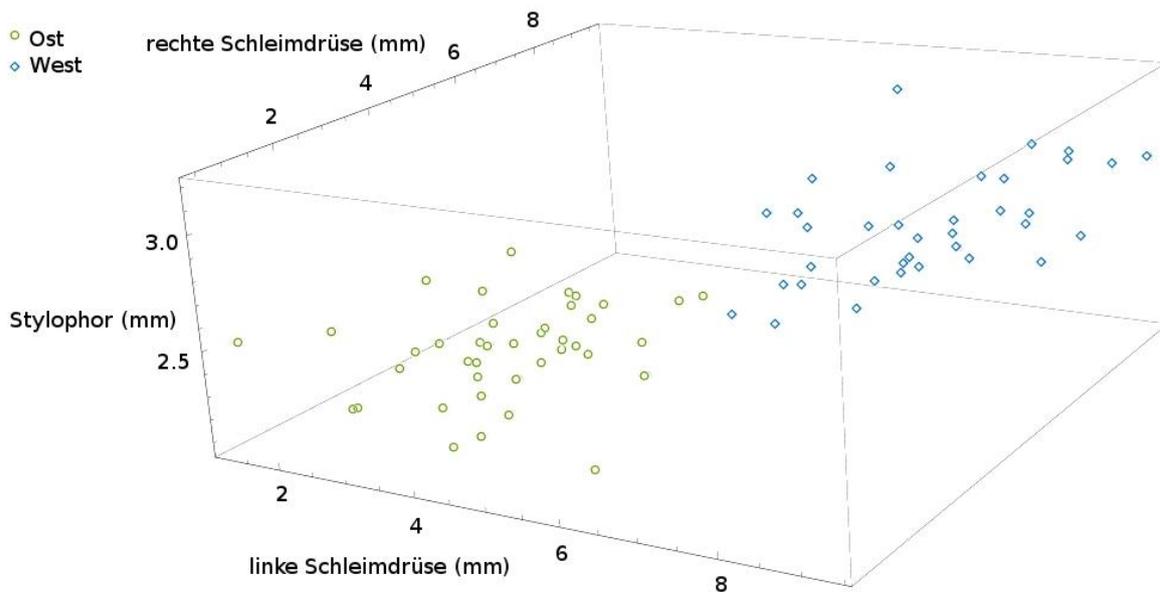


Abbildung 18. Der 3D-Scatterplot zeigt die einzelnen Individuen, markiert nach geographischen Gruppen (West = blaue Karos; Ost = grüne Kreise) im Vergleich zwischen den beiden Schleimdrüsenumfanglängen (rechts und links) und dem Stylophor.

Die ANOVA der gemessenen Merkmale verdeutlicht die signifikanten Ost/West-Unterschiede der Umfänge von Schleimdrüsen und Stylophoren ( $p < 0.001$ ). Obschon bereits die Korrelationsanalyse den Zusammenhang zwischen Schalenhöhe und den genitalanatomischen Merkmalen und damit der Ost/West-Differenzierung gezeigt hat, so wird mittels Varianzanalyse klar, dass die Höhen der Schneckenschalen sich geographisch nicht signifikant unterscheiden (Tab. 6).

Tabelle 6. Die Tabelle der Varianzanalyse der Schalenhöhe, der Umfanglängen der linken und rechten Schleimdrüsen und der Umfanglängen der Stylophore zeigt die Werte zwischen den Gruppen Ost und West (Zw.d.Gr.) und innerhalb der Gruppen (Inh.d.Gr.) sowie die Gesamtvariabilität: Freiheitsgrade (DF), Quadratsummen, Mittel der Quadrate und F-Wert mit Signifikanzniveau (Sign.)

		DF	Quadratsummen	Mittel der Quadrate	F	Sign.
Schalenhöhe	Zw.d.Gr.	1	2.1568	2.1568	4.852	< 0.05
	Inh.d.Gr.	74	32.8886	0.44444		
	Gesamt	75	35.0454			
Schleimdrüse links	Zw.d.Gr.	1	273.62	273.62	262.159	< 0.001
	Inh.d.Gr.	74	77.2352	1.04372		
	Gesamt	75	350.855			
Schleimdrüse rechts	Zw.d.Gr.	1	320.113	320.113	245.916	< 0.001
	Inh.d.Gr.	74	96.3269	1.30171		
	Gesamt	75	416.44			
Stylophor	Zw.d.Gr.	1	1.87641	1.87641	54.792	< 0.001
	Inh.d.Gr.	74	2.53419	0.0342458		
	Gesamt	75	4.41059			

## Der Liebespfeil

Das Vorhandensein eines Liebespfeils im Stylophor konnte bei einer großen Anzahl an Individuen festgestellt werden. Der Pfeil besitzt eine lanzettförmige, spitze Form und liegt mit der Spitze Richtung Stylophoransatz im Stylophor (Abb. 18, Abb. 19). Bei insgesamt 74 Tieren wurde in 64 Fällen ein Liebespfeil gefunden. Das Fehlen des Liebespfeils wurde bei westlichen Populationen häufiger beobachtet als bei östlichen. So fehlte der Pfeil nur in einer von 39 Schnecken aus dem Osten, während bei Individuen aus westlichen Populationen in 9 von 35 Individuen die Pfeile fehlten (Tab. 8, Anhang).

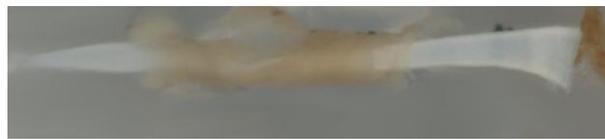


Abbildung 19. Fotografie eines extrahierten Liebespfeiles, teilweise von Gewebe des Stylophors verdeckt.



Abbildung 20. Die Fotografie des teilweise aufgelösten Stylophors gibt Einblick in die Position, die der Liebespfeil (gebrochen) im Sack einnimmt. Die Spitze des Pfeiles (links) zeigt in die Richtung der Öffnung zur Vagina.

## Männlicher Genitaltrakt

Die untersuchten Merkmale des männlichen Genitaltraktes sind Penisapille und Flagellum. Diese wurden anhand ihrer Form, Struktur und Länge qualitativ beurteilt. Die Penisapille zeigt eine große Variationsbreite der Struktur, wobei die Anzahl der Falten stark variiert. Vier der Papillen unterscheiden sich deutlich von den anderen, indem sie rundlich geformt sind und eine glatte, faltenfreie Oberfläche besitzen (Abb. 21B). Diese Ausnahmen entsprechen der von Schileyko (2006) (Abb. 21A) gezeichneten Penisapille. Sie sind nicht der geographischen Ost/West-Differenzierung zuzuordnen, da sie in Individuen von Schneeberg, Schnealpe, Traunstein und der Glocknergruppe gefunden wurden. Der Großteil der Papillen (N=58) entsprach jedoch in allen Populationen der rechts dargestellten Penisapille in Abb. 21C. Alle drei Darstellungen der Penisapille zeigen eine V-förmige Rinne und unterscheiden sich in ihrem Grundaufbau nicht.

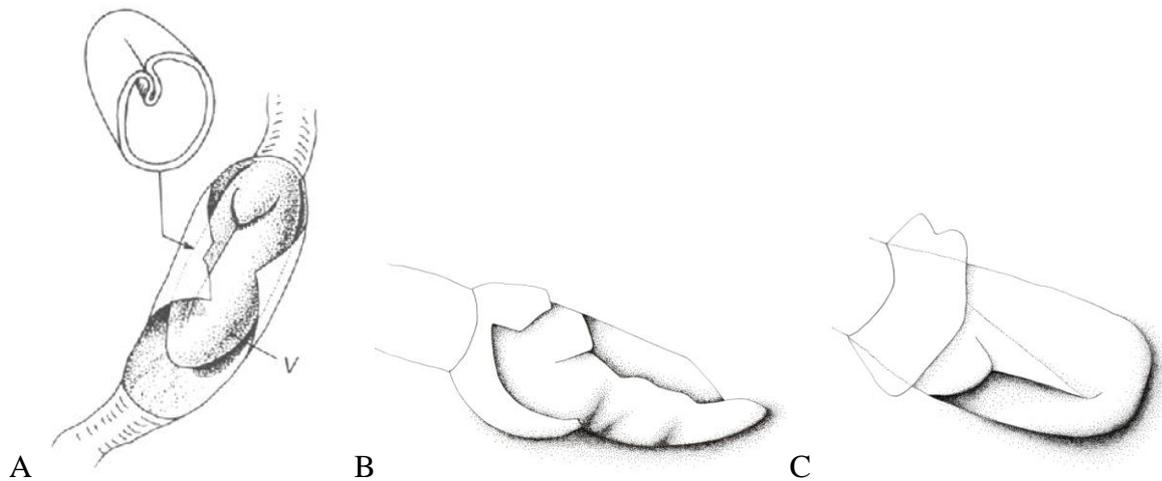


Abbildung 21. Penispapille (V) aus Schileyko (2006) (A) im Vergleich zu zwei Darstellungen der Penispapille, bei denen eine V-förmig und faltig ist (B) und eine andere rund und glatt (C). Zeichnung B und C: L. Zopp

Bei dem Flagellum handelt es sich um eine längliche Struktur, die stark gewunden sein kann. Bei *C. obtusus* lässt sich eine vage Ost/West-Differenzierung feststellen, da das Flagellum bei östlichen Populationen eine stärker gewundene bis verknotete Form aufweist, wogegen es bei westlichen Populationen oft kaum bis gar nicht gewunden ist. Diese Unterschiede wurden allerdings nicht quantitativ erfasst.

## HISTOLOGIE

Der Semidünnschnitt durch die Schleimdrüsen (Glandula mucosa) zeigt, dass die schlauchförmigen Organe eine äußere Schicht aus Muskelzellen besitzen. Nach innen anschließend folgen die Basallamina sowie ein einschichtiges Drüsenepithel (Abb. 22, Abb. 23). Das Lumen der Schleimdrüsen im Inneren der Schleimdrüse ist mit einem Sekret gefüllt, welches stellenweise in Form von Granula vorliegt (Abb. 24). Die Semidünnschnitte der Zellen der Drüsenschicht lassen einen sehr großen Zellkern und ein sekretorisches Vesikel erkennen. Die in der Genitalanatomie festgestellten geographischen Gruppen lassen sich anhand dieser Schnitte nicht differenzieren. Dennoch zeigt sich eine gewisse Variation der Zellgrößen und des Vorhandenseins von Schleimdrüsensekret (Abb. 25, Abb. 26).

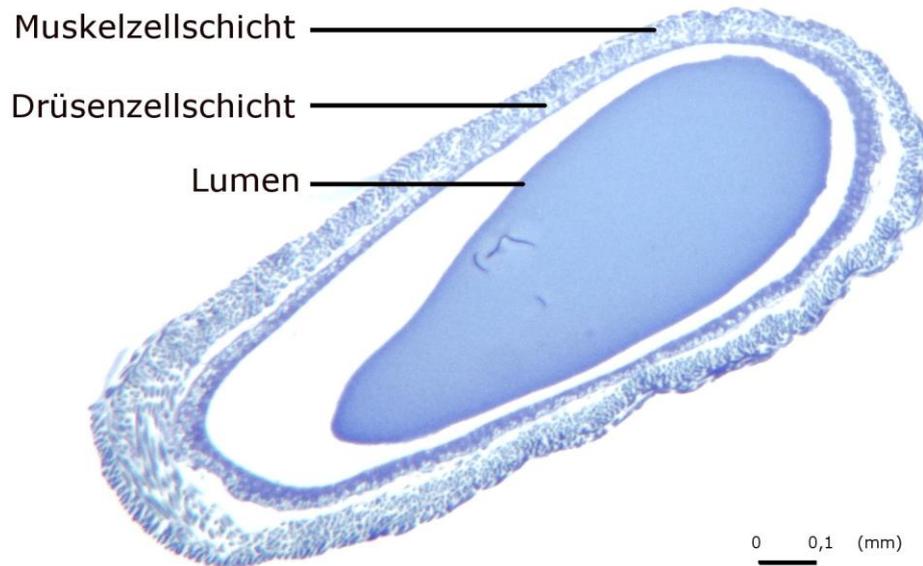


Abbildung 22 Der 1  $\mu\text{m}$  Semidünnschnitt durch die Schleimdrüse aus einer östlichen Population zeigt den schlauchförmigen Aufbau. Eine Muskelzellschicht umgibt ein einschichtiges Drüsenepithel, welches wiederum ein Lumen einschließt.

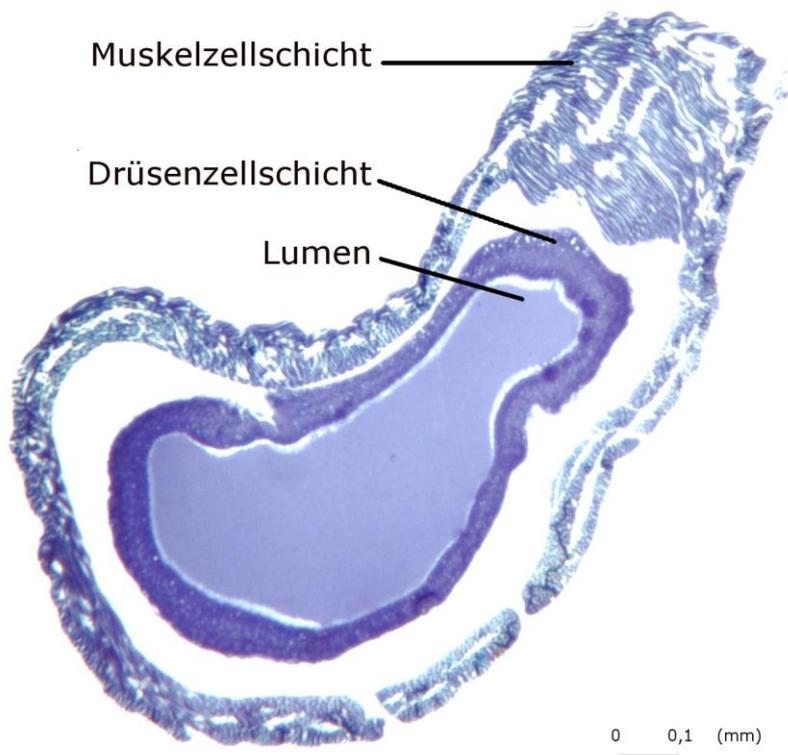


Abbildung 23 Der 1  $\mu\text{m}$  Semidünnschnitt durch die Schleimdrüse aus einer westlichen Population zeigt einen sehr ähnlichen schlauchförmigen Aufbau wie die Schleimdrüse der östlichen Population. Eine Muskelzellschicht umgibt ein einschichtiges Drüsenepithel, welches wiederum ein Lumen einschließt.

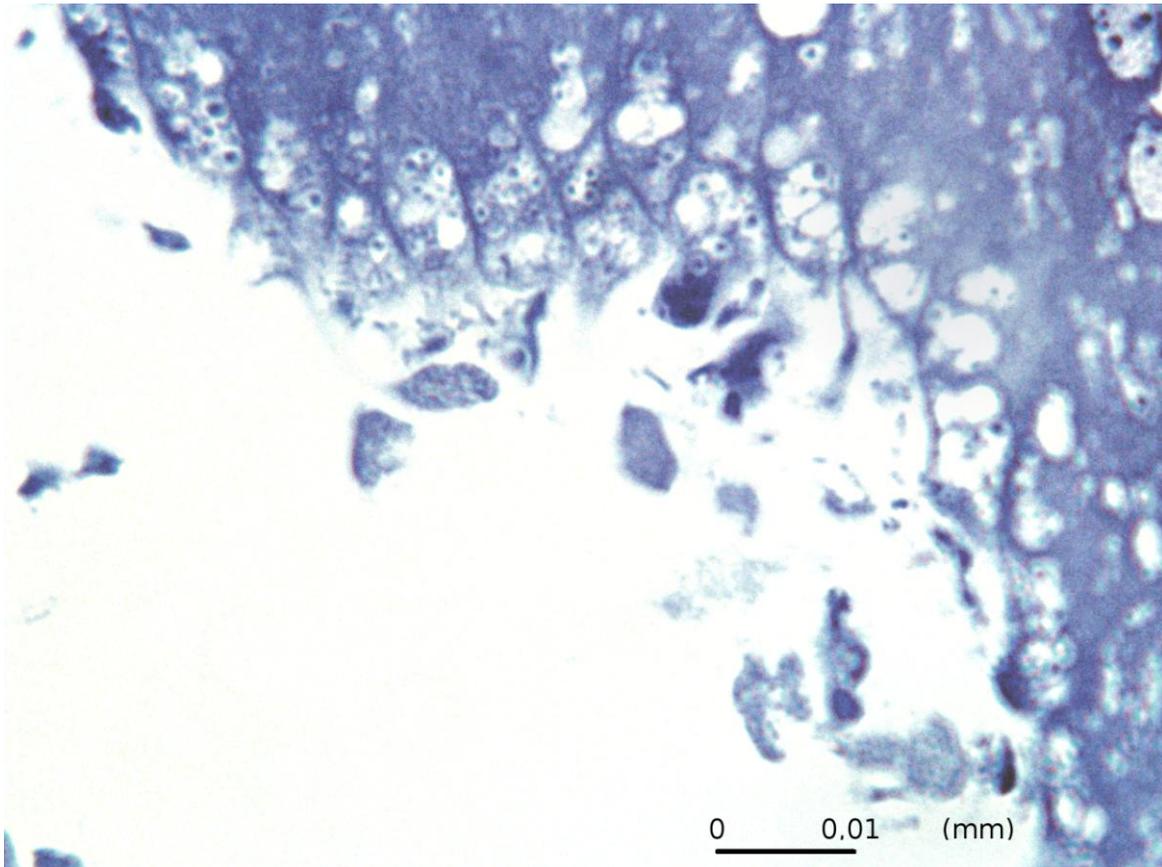


Abbildung 24 Der 1  $\mu\text{m}$  Semidünnschnitt einer Schleimdrüse (Schneeberg, Ost-Population) zeigt wie Sekretgranula aus den sekretorischen Vesikeln in das Lumen entlassen werden.

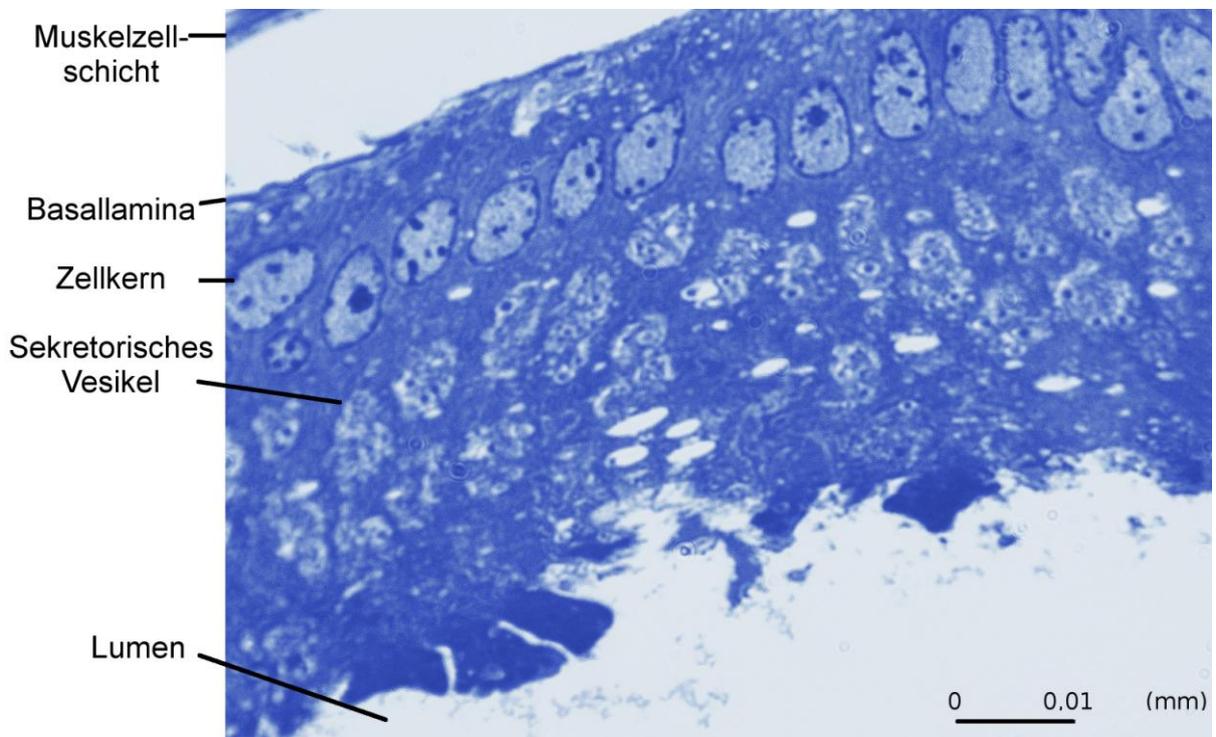


Abbildung 25 Der Querschnitt durch das einschichtige Drüsenepithel der Schleimdrüse des Genitaltraktes eines *C. obtusus*-Individuums von einem östlichen Fundort (Schneeberg) gibt Einblick in den zellulären Aufbau. Zu sehen sind (von außen nach innen) die Muskelschicht, eine dünne Basallamina, die Epithelschicht mit nach außen ausgerichteten Zellkernen und nach innen positionierten sekretorischen Vesikeln. Letztere umschließt das Lumen.

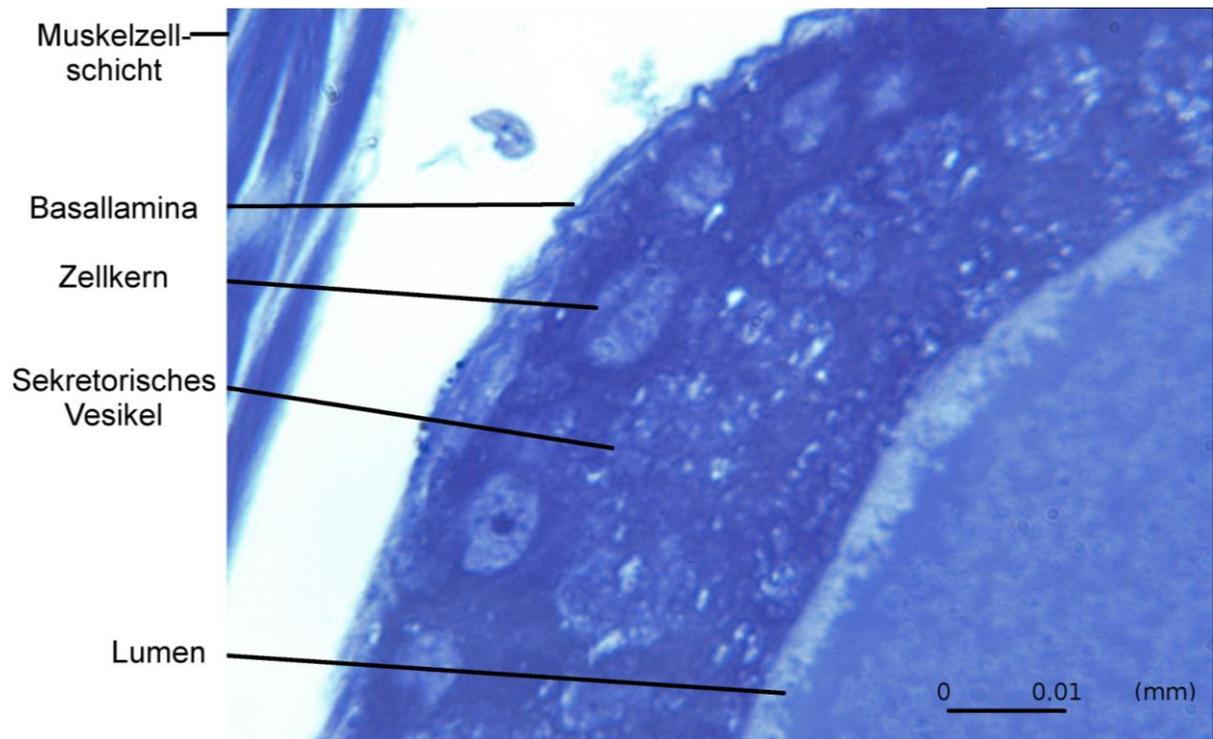


Abbildung 26 Querschnitt durch das einschichtige Drüsenepithel der Schleimdrüse des Genitaltraktes von einem Individuum von einem westlichen Fundort Gesäuse dargestellt. Zu sehen sind Muskelschicht, eine dünne Basallamina, die Epithelschicht mit nach außen ausgerichteten Zellkernen und nach innen positionierten sekretorischen Vesikeln. Letztere umschließt das Lumen.

## DISKUSSION

Zur taxonomischen Kategorisierung und zur Interpretation als phylogenetische Merkmale bei Schnecken dienen häufig Merkmale der Schale sowie auch der Genitalanatomie. Solche Merkmale sind daher meist besonders gut untersucht. Sie können jedoch sehr stark von der Umwelt beeinflusst sein und müssen daher in einem breiteren Kontext betrachtet werden. In der vorliegenden Arbeit wurden schalenmorphologische, genitalanatomische und histologische Merkmale untersucht, um eine bereits von Adensamer (1937), Freitag und Desch (1996), Schileyko (1997) und Edlinger (1999) vermutete geographische Merkmalsdifferenzierung bei *Cylindrus obtusus* zu überprüfen. Unter Heranziehen desselben Probenmaterials wie bei der genetischen Analyse von Kruckenhauser et al. (2010), welche das gesamte Verbreitungsgebiet abdeckt, wurde eine mögliche geographische Differenzierung der Schalenmorphologie und der Genitalanatomie quantitativ untersucht. Zusätzlich wurden zwei Populationen anhand der Histologie der Schleimdrüsen verglichen, um etwaige Unterschiede in der Funktionalität des Genitaltraktes zu erkennen und eventuell weitere Hinweise auf veränderte Reproduktionsmechanismen, die in der genetischen Analyse (Kruckenhauser et al. 2010) postuliert wurden, zu erlangen.

## SCHALENMORPHOLOGIE

Die morphometrische Analyse der Schalen von *C. obtusus* erbrachte eine geographische Differenzierung, bei der die Schalenhöhe der westlichen Populationen sich als signifikant größer erwiesen hat als die östlichen. Allerdings überlappen die Schalenmaße der westlichen und der östlichen Fundorte geringfügig. Weiters besteht ein Ungleichgewicht zwischen den beiden Gruppen in der Anzahl der Fundorte und der Individuen, welches hauptsächlich auf der stark unterschiedlichen Größe der von den beiden Gruppen eingenommenen Areale beruht. Dass die Daten dennoch abgesichert sind und dass diese Inhomogenität keinen wesentlichen Einfluss auf das Ergebnis hat, ergab eine statistische Testung.

Das Ergebnis der morphometrischen Analyse deckt sich insofern mit den Befunden der Mikrosatellitenanalyse von Kruckenhauser et al. (2010), als sich die östlichen Populationen (Schneeberg, Rax, Schneealpe, Veitsch) klar absetzen. Dies korrespondiert auch mit den

Daten von Adensamer (1937), wobei sich bei ihm die Fundorte Schneealpe und Veitsch nicht so stark von den westlichen unterscheiden. Auch die geographische Gruppierung von Edlinger (1999) stimmt mit der hier gefundenen teilweise überein. Während Edlinger (1999) sich nicht über mögliche Ursachen der schalenmorphometrischen Ost-West-Differenzierung äußert, gibt Adensamer (1937) das Klima der Fundorte als Einflussfaktor an. Er bezieht sich dabei auf das kontinentale Klima, welchem der Schneeberg stärker ausgesetzt ist, und auf lokale Temperatur- und Feuchtigkeitsunterschiede. Im Folgenden soll der Einfluss der Höhe sowie des globalen und des Mikroklimas auf die geographische Differenzierung von *C. obtusus* diskutiert werden.

Bei der nah-verwandten Art *A. arbustorum* wurde nachgewiesen, dass die Schalenhöhe mit der Fundorthöhe negativ korreliert (Burla & Stahel 1986; Baur & Raboud 1988; Nemeschkal & Kothbauer 1988; Kothbauer et al. 1991; Gittenberger 1991; Bisenberger 1993; Baminger 1997), wurde auch in der vorliegenden Arbeit die Fundorthöhe als Einflussfaktor auf die Schalenhöhe bei *C. obtusus* untersucht. Kokshoorn (2008) begründete eine solche Korrelation zwischen Größenabnahme und steigender Fundorthöhe mit den extremen Bedingungen in höheren Lagen, da nicht nur Temperatur und Sauerstoffgehalt abnehmen, sondern auch die Länge der saisonalen Aktivitätsperiode. Nagy & Grabherr (2009) nennen noch weitere Umweltbedingungen, die sich mit der Fundorthöhe verändern, wobei sie besonders den Einfluss von Niederschlag und Bewölkungsgrad sowie UV-Strahlung auf die Organismen betonen. Eine wesentliche Rolle spielt auch die Veränderung des atmosphärischen Drucks (Mani 1968). „Höhenformen“ im Sinne von innerartlicher Variation, bei der die Schalengröße mit der Fundorthöhe abnimmt, wurden bei gebirgsbewohnenden Schnecken immer wieder beobachtet, z.B. bei *Abida secale* (Kokshoorn 2008) und *Arianta arbustorum* (Burla & Stahel 1986; Baur & Raboud 1988; Nemeschkal & Kothbauer 1988; Gittenberger 1991). Eine solche „Höhenform“ konnte in der vorliegenden Untersuchung bei *C. obtusus* jedoch nicht nachgewiesen werden, da Schalenhöhe und Fundorthöhe nicht korrelieren. Allerdings besiedelt *C. obtusus*, im Unterschied zu den anderen untersuchten Arten, ein sehr schmales Höhenspektrum (1600 – 2500 m), wodurch ein etwaiger Einfluss der Fundorthöhe vom Einfluss anderer Faktoren womöglich überlagert wird.

Dass die geographische Gruppierung von *C. obtusus* mit möglichen klimatischen Einflüssen aufgrund der Höhe in Zusammenhang steht, konnte in der vorliegenden Untersuchung ausgeschlossen werden, da sich die Höhenspektren der beiden Gruppen (Ost, West) in weiten

Bereichen überschneiden. Dies bestätigte auch die Varianzanalyse der Schalenhöhe und der Fundorthöhe (Tab. 2).

Was die großklimatischen Faktoren betrifft, so ist hervorzuheben, dass sich die Fundorte der vier östlichen Regionen am Alpenostrand befinden (Abb. 6). Während der Schneeberg stark vom pannonischen Klima beeinflusst wird (Dirnboeck & Greimler 1997), werden Rax, Schnealpe und Veitsch zwar hauptsächlich vom humiden Stauklima beeinflusst, grenzen jedoch an ein niederschlagsärmeres Klimagebiet. Im Allgemeinen nimmt der Niederschlag in den Ostalpen von West nach Ost ab. Bezüglich der Niederschläge gibt es im Westen zwei Maxima (Sommer und Winter), im Osten hingegen nur eines im Juli (Kilian et al. 1993). *C. obtusus* ist daher in den östlichen Regionen eher niederschlagsärmeren Bedingungen ausgesetzt als in den westlichen. Für die klimatisch hochsensiblen Tiere (Kühnelt 1937) könnte diese „Niederschlagsarmut“ durchaus ein Stress- bzw. Einflussfaktor sein und dadurch zu einer Verringerung des Größenwachstums führen. Andererseits argumentieren Duda et al. (2010) in einem Vergleich der ökologischen Bedingungen von zwei Populationen, dass der östliche Fundort Schneeberg mildere klimatische Bedingungen aufweist und den Tieren daher eine längere Aktivitätsperiode ermöglicht als der westliche Fundort Hochschwab. In meinem Datenset ist eine saisonal längere Aktivitätsperiode in den östlichen Populationen in der Auflistung der Fundorte in den unterschiedlichen Sammelmonaten erkennbar. Während die westlichen Funde wegen der Schneelage ausschließlich aus den Sommermonaten (Juni-September) stammen, wurde an den östlichen Fundorten durchgehend zwischen Mai und Oktober gesammelt. Dennoch ist nicht auszuschließen, dass diese Verteilung ein Artefakt der zeitlich abgestimmten Sammelexkursionen ist und westliche Gebiete grundsätzlich seltener besammelt wurden.

Weiters könnte das Mikroklima einen Einfluss auf die Morphologie von *Cylindrus* haben. Durch diverse Umweltfaktoren wie Gesteins- und Bodenbeschaffenheit, Vegetation und Vergletscherung könnte ein vom Großklima abweichendes Mikroklima entstehen. Bei diversen Insekten gilt das Mikroklima, neben dem atmosphärischen Druck und der atmosphärischen Aridität, zu den dominanten Einflussfaktoren auf verschiedenste Körpermerkmale. Temperaturunterschiede zwischen Luft und Untergrund, hervorgerufen durch unterschiedliche Intensität der Sonneneinstrahlung, können sehr hoch sein. So berichtet Mani (1968) von Temperaturunterschieden zwischen 2°C (Luft) und 35°C (Felsen). Ökophysiologische Untersuchungen von Alpenpflanzen haben, unter anderem bei *Carex*

*firma*, gezeigt, dass es auch innerhalb und zwischen unterschiedlichen Pflanzengesellschaften sehr große Temperaturunterschiede gibt (Reisigl & Keller 1987). Obwohl der Einfluss klimatischer Bedingungen von Mikrohabitaten bei *C. obtusus* bis jetzt noch nicht untersucht wurde, ist anzunehmen, dass die Tiere je nach Aufenthaltsort, z.B. auf der Felsenoberfläche, in Felsspalten, im Geröll und auch in alpinen Rasen, großen Schwankungen des Mikroklimas ausgesetzt sind. Die Variation der Schalenhöhe und -form zwischen den Fundorten und innerhalb der Fundorte könnte ein Hinweis dafür sein, dass klimatische Bedingungen der Mikrohabitate einen gewissen Einfluss ausüben.

Es stellt sich die Frage, ob es neben klimatischen Faktoren noch weitere gibt, welche die Schalengröße beeinflussen können. Eine Verringerung der Schalengröße wurde in der Literatur oft mit Populationsdichte bzw. -größe in Zusammenhang gebracht (Perry 1991). Perrys Beobachtungen an verschiedenen Arten der Gattung *Cepaea* (Helicidae) weisen ebenfalls auf einen negativen Zusammenhang zwischen Schalengröße und Populationsdichte bei Populationen einer Art hin. Ein weiterer Effekt der Populationsdichte wurde bei *Bulinus truncatus* (Planorbidae) beobachtet. Bei einer größeren Individuendichte von *B. truncatus* pro Wassermenge kam es zur Abnahme der Fertilität und zur Modifikation von Körpermerkmalen (Doums et al. 1994). Bei *A. arbustorum* wurde beobachtet, dass die Schleimspuren der Artgenossen einen negativen Einfluss auf die Fertilität haben (Oosterhoff 1977; Cameron & Carter 1979; Dan & Bailey 1982: zitiert in Locher & Baur 2000).

In Hinblick auf die oben genannten Untersuchungen könnten sowohl Schalenhöhe als auch Fortpflanzungsstrategie von *C. obtusus* mit der Populationsdichte zusammenhängen. Mittels Mikrosatellitenanalyse wurde von Kruckenhauser et al. (2010) bei den östlichen Populationen, deren Schalen durchschnittlich kleiner sind, ein erhöhter Homozygotiegrad festgestellt werden, was als Hinweis auf eine vermehrte Rate von Selbstbefruchtung interpretiert wurde. Allerdings lässt sich die Annahme, ob dies in Zusammenhang mit der Populationsdichte steht, zurzeit nicht überprüfen, da keine Daten zu den Populationsdichten von *C. obtusus*, insbesondere zu Unterschieden zwischen den beiden Gruppen (Ost, West), vorhanden sind. Einzig von einem Fundort im Gesäuse existieren Daten zur Populationsdichte (Bisenberger et al. 1999). Unsere (nicht quantifizierten) Beobachtungen zeigen, dass es auf vielen Gebirgen Fundorte gibt, an denen die Populationsdichten sehr hoch sind. Diese sind jedoch nicht auf östliche oder westliche Regionen beschränkt.

Eine alternative Hypothese, die man ebenfalls aus der Mikrosatellitenanalyse von Kruckenhauser et al. (2010) ableiten könnte, ist, dass kleine und isolierte Populationen Selbstbefruchtung in den östlichen Populationen begünstigen, da Merkmale, welche die Kopulation erschweren, leichter erhalten bleiben. In weiterer Folge können solche genetische Veränderungen durch Flaschenhals- bzw. Gründereffekte fixiert werden. Unter Betrachtung der derzeitigen Verbreitung von *C. obtusus* mit Hinblick auf die Vergletscherungszone während der letzten Eiszeit, erscheint eine Reduktion der Populations- bzw. Individuenanzahl, als auch eine inselartige Zerklüftung des Verbreitungsgebietes von *C. obtusus* plausibel. Die Unterschiede in Morphologie und Genitalanatomie (siehe unten) könnten demnach eine Folge sowohl von Drifteffekten als auch von vermehrter Selbstbefruchtung sein.

Die Zusammenhänge zwischen Fortpflanzungsstrategien und Populationsdichte in anderen Schneckenarten werden kontroversiell diskutiert. Zwar wurde geographische Variation im Hinblick auf unterschiedliche Fortpflanzungsstrategien (Selbstbefruchtung vs. Kopulation mit Partner) auch bei *Carinarion ssp.* (Jordaens et al. 2000), *Arion intermedius* (Reise et al. 2001) und *Rumina decollata* (Selander & Hudson 1976) beobachtet, doch konnte kein eindeutiger Einflussfaktor definiert werden, der Selbstbefruchtung nur bei bestimmten Populationen begünstigt (Reise et al. 2001). Selander und Hudson (1976) postulierten wiederum, dass der hohe Grad an Selbstbefruchtung bei *R. decollata* mit einer guten Kolonialisierfähigkeit und damit großer Ausbreitungsrate zusammenhängt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es geographische Unterschiede in den Schalengrößen gibt. Diese stimmen mit der in der genetischen Analyse festgestellten Ost-Westdifferenzierung überein. Ob sie aber klimatisch bedingt sind oder / und eine Folge unterschiedlicher Fortpflanzungsstrategien, bzw. eine Folge von Drifteffekten sind, lässt sich derzeit nicht eindeutig entscheiden.

## GENITALANATOMIE

Neben diversen Schalenmerkmalen zählen auch jene der Genitalanatomie zu den wichtigsten taxonomischen Unterscheidungsmerkmalen bei Gastropoden. Bei *C. obtusus* wurde der Genitaltrakt in früheren Arbeiten bereits untersucht (Martens 1895; Sturany & Wagner 1914). In Arbeiten von Schileyko et al. (1996, 1997) wurde erstmals ersichtlich, dass die Unterschiede in den Schleimdrüsenlängen einem geographischen Muster folgen könnten.

Diese Vermutung wurde in weiteren Untersuchungen bestärkt (Schileyko unpubl.). Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden in der vorliegenden Arbeit diese Merkmale quantitativ untersucht. Da die vorliegende anatomische Analyse anhand von Individuen durchgeführt wurde, die allesamt auch genetisch analysiert wurden (Kruckenhauser et al. 2010), konnte gezeigt werden, dass es sich bei den Tieren dieser Fundorten mit besonders kurzen und längenvariablen Schleimdrüsen um dieselben Fundorte handelt, bei denen die Mikrosatellitenanalyse einen besonders erhöhten Anteil an Homozygoten zeigte.

Die Vermessung der Schleimdrüsenumfänge liefert ein eindeutiges Ergebnis, bei dem sich die beiden geographischen Gruppen (Ost, West) deutlich voneinander unterscheiden. Die Individuen der westlichen Gruppe hatten im Mittel zwar eine signifikant höhere Schale als die der östlichen, doch zeigte sich, dass die Schalenhöhen nicht direkt mit den Umfanglängen der Schleimdrüsen zusammenhängen, womit die Annahme, dass ein höheres Gehäuse, welches den Organen mehr Platz gewährt, auch längere Schleimdrüsen beinhaltet, nicht bestätigt werden kann. Auch die Fundorthöhe scheint keinen Einfluss auf die Variabilität der Umfanglängen der Schleimdrüsen von *C. obtusus* zu haben, womit andere Einflussfaktoren in Betracht gezogen werden müssen.

Eine Reduktion der symmetrischen und weitaus längeren Schleimdrüsen, wie sie in den westlichen Populationen zu finden ist, zu kürzeren und asymmetrischen Schleimdrüsen (wie in den östlichen Populationen) scheint aufgrund des Vergleichs mit anderen Ariantinae (Sattmann & Nemeschkal 1993) plausibler als der umgekehrte Vorgang. Daher ist anzunehmen, dass die Drüsenform der westlichen Populationen den ursprünglichen Zustand bei *C. obtusus* repräsentiert, wogegen es sich beim östlichen Typ um einen abgeleiteten Zustand handelt. Die reduzierten Schleimdrüsen wurden ausschließlich in den vier östlichen Populationen gefunden. Da es sich bei diesen Fundorten um dieselben handelt, die sich auch bei der genetischen Analyse von Kruckenhauser et al. (2010) von westlichen Fundorten unterschieden, könnte die Reduktion bei Schleimdrüsen der östlichen Populationen als weiterer Hinweis auf Selbstbefruchtung der östlichen Tiere angesehen werden bzw. damit in Zusammenhang stehen. Man könnte annehmen, dass sich der Größenunterschied der Schleimdrüsen in irgendeiner Form auf die Funktionalität der Drüsen auswirkt. Umgekehrt wäre es ebenso möglich, dass die Reduktion der Funktionalität zu einer Veränderung der Größe geführt hat.

Bei der Etablierung von Selbstbefruchtung als Hauptfortpflanzungsstrategie einer Population kommt es unter Umständen zu einer Inzuchtdepression. Obwohl im Laufe der sich selbst befruchtenden Generationen letale Allele eliminiert werden, können die negativen Effekte nie vollständig ausgemerzt werden, was zu einem Effekt führt, der auch als „Self-fertilization-Syndrom“ (Doums et al. 1996) bezeichnet wird. Der Phänotyp des sich selbst befruchtenden Individuums bleibt erhalten und es besteht eine geringe neutrale Variabilität. Dass gewisse Merkmale, wie zum Beispiel die Reduktion von Reproduktionsorganen (Aphallie) (Jarne et al. 1992), dazu tendieren, mit Selbstbefruchtung zu korrelieren, kann einerseits daran liegen, dass sie durch die Effekte der Selbstbefruchtung hervorgerufen wurden, oder Selbstbefruchtung direkt fördern (Jarne & Charlesworth 1993).

Die starke Abweichung der Symmetrie bei den Schleimdrüsenlängen der östlichen Populationen lässt zudem vermuten, dass es sich um „Fluctuating Asymmetry“ handeln könnte. Dabei wird angenommen, dass es durch Umweltfaktoren wie z.B. Stress, aber auch durch Inzuchteffekte zu einer Abweichung von der Symmetrie kommt. Das Ausmaß der Abweichung wird auch als Maß für Entwicklungspräzision herangezogen (Palmer & Strobeck 1992). Demnach kann ein direkter Zusammenhang zwischen dem erhöhten Anteil an Homozygoten bei den östlichen Populationen mit der hohen Variabilität an Schleimdrüsenlängen, bzw. dem asymmetrischen Wachstum zwischen linker und rechter Schleimdrüse vermutet werden.

Was den männlichen Genitaltrakt betrifft, so ist die unterschiedliche Gestalt der Penisapille weder geographisch korreliert, noch hängt sie mit Fundorthöhe, Saison oder dem Sammeljahr zusammen. Es handelt sich bei den besonderen Formen immer um einzelne abweichende Individuen an verschiedenen Fundorten. Die von Schileyko (1991) illustrierte Penisapille stellt demnach eher den Ausnahmezustand bei *C. obtusus* dar. Die häufigere Variante ähnelt stark jener von *A. arbustorum* sowie teilweise jener von *Campylaea* und *Helicigona* (Schileyko 1991).

Der Liebespfeil bei verschiedenen Pulmonaten ist eine kalkhaltige, lanzettförmige Struktur, die während der Kopulation auf den Geschlechtspartner übertragen wird, um den Reproduktionserfolg zu sichern (Kothbauer 1988; Jordaens et al. 2007). Er liegt im sogenannten Liebespfeilsack (Stylophor) und wird, bevor es zum Abschuss kommt, mit einem Sekret aus den Schleimdrüsen umhüllt (Chung 1986). Das Vorhandensein von Liebespfeilen

in *C. obtusus* sollte Hinweise auf Unterschiede in der Funktionalität der Genitalorgane liefern. Da die genetischen Ergebnisse vermuten lassen, dass in den östlichen Populationen Selbstbefruchtung vorherrscht (Kruckenhauser et al. 2010), stellte sich die Frage, ob die Tiere der östlichen Populationen möglicherweise keinen Liebespfeil produzieren. Entgegen dieser Hypothese fanden sich in beinahe allen Tieren der östlichen Populationen Liebespfeile, während er bei den westlichen Populationen häufig fehlte. Nach Jordaens et al. (2007) gibt es für fehlende Liebespfeile zwei Ursachen: Entweder es wurde noch keiner nachproduziert, nachdem er während der Kopulation zum Einsatz kam, oder es wurde überhaupt kein Liebespfeil produziert. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung lassen sich am besten dahingehend interpretieren, dass von den Tieren der östlichen Populationen Liebespfeile ausgebildet, aber nicht oder selten verwendet werden, was mit der Hypothese der vermehrten Selbstbefruchtung in Einklang steht. Das Fehlen eines Liebespfeils in manchen Tieren der westlichen Populationen könnte demnach auf den Gebrauch desselben hindeuten. In jedem Fall wäre eine Überprüfung dieser Vermutungen an einer größeren Zahl von Tieren unter Berücksichtigung jahreszeitlicher Unterschiede sinnvoll.

Insgesamt weisen die Organe des Liebespfeilkomplexes statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Ost- und Westpopulationen auf. Eine Reduktion der Organe wurde nur bei Individuen aus den Ostpopulationen beobachtet, in denen die genetische Analyse (Kruckenhauser et al. 2010) einen Überschuss an Homozygoten zeigte. Dies legt nahe, dass ein Zusammenhang zwischen Organreduktion und vermuteten Inzuchteffekten besteht.

## HISTOLOGIE

Die Zellzusammensetzung der Schleimdrüsen entspricht der in Gómez et al. (1996) für *Helix aspersa* beschriebenen. Eine Epithelzellschicht, bei *C. obtusus* ein Muskelepithel, umgibt ein einschichtiges Drüsenepithel, das wiederum ein Lumen umschließt. In diesem Lumen kommen zwei verschiedene Formen von Sekret vor, es gibt Bereiche mit homogenem Sekret und andere, die Granula enthalten. Laut Gómez et al. (1996) besteht das homogene Sekret aus dünnen Filamenten, was sich im TEM zeigt. Da sich die Größen der Granula bei unterschiedlichen Landlungenschneckenarten unterscheiden, ist ein sinnvoller Vergleich zwischen *H. aspersa* und *C. obtusus* nicht möglich. Die Epithelzellen hingegen sind in den untersuchten Arten gleich ausgebildet und beinhalten Organellen (RER-System, Golgi-Apparat, sekretorische Vesikel), die mit der Produktion von Sekret-Material in Verbindung

stehen (Gómez et al. 1996). Die auch bei *C. obtusus* gefundenen, zahlreichen sekretorischen Vesikel entlassen das Sekret in das Lumen der Schleimdrüsen. Wie Gómez et al. (1996) feststellten, verändert sich das Sekret nach dem Übertritt von den sekretorischen Vesikeln in das Lumen nicht.

Dieses Sekret, welches mittels Liebespfeil in den Partner injiziert wird, bewirkt, dass die Samen des Donators mit höherer Wahrscheinlichkeit zur Befruchtung herangezogen werden (Chase 2006). Da jedoch keine geographischen Unterschiede in der lichtmikroskopischen Untersuchung der histologischen Schnitte von *C. obtusus* gefunden wurden, sind keine unmittelbaren Hinweise auf eine Veränderung der Funktionalität gegeben. Allerdings wäre es auch möglich, dass sich die Menge des produzierten Sekretes zwischen den beiden geographischen Gruppen unterscheidet. Die kürzeren, asymmetrisch ausgebildeten Schleimdrüsen der östlichen Populationen besitzen, aufgrund räumlicher Beschränkung, vermutlich weniger Schleimdrüsenzellen. Eine Bestätigung dieser Annahme sowie weitere Hinweise auf veränderte Funktionalität könnten TEM-Untersuchungen erbringen. Weiters bleibt zu untersuchen, ob das Sekret der östlichen Populationen sich aus denselben Komponenten wie jenes der westlichen Populationen zusammensetzt. Die Semidünnschnitte der Schleimdrüsen lassen keine Aussagen über die chemische Zusammensetzung des Sekretes zu. Dazu wäre eine histochemische Analyse notwendig. Weiters müssten mehr Tiere in die Analyse inkludiert werden, die aus verschiedenen aufeinanderfolgenden Monaten gesammelt wurden. Damit könnten saisonale Veränderungen erkannt werden und das Sampleset würde sich automatisch vergrößern.

Eine histologische Untersuchung könnte mehr Hinweise auf den Verlust der Funktion der Schleimdrüsen liefern, wenn die Untersuchung auf den gesamten Genitaltrakt ausgeweitet würde. Neben dem histologischen Befund über die Zellzusammensetzung und die Funktion der einzelnen Organe könnten mittels solcher Analyse auch klare anatomische Unterschiede, die auf eine Reduktion der Organe bei östlichen Populationen hinweisen, erkannt werden.

## CONCLUSIO

Die Untersuchungen an *C. obtusus* zeigen, dass sich die Schalenhöhen der angenommenen geographischen Gruppen (Ost, West) signifikant unterscheiden. Die Schalen von *C. obtusus* der westlichen Populationen sind tendenziell höher als die der östlichen, was das Ergebnis vorangegangener Untersuchungen bestätigt (Adensamer 1937; Edlinger 1999). Ein Zusammenhang der Fundorthöhe mit der Variation der Schalenmorphologie sowie der Genitalanatomie konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei einer theoretischen Betrachtung des klimatischen Einflusses auf die Gruppierung lässt sich eine gewisse Korrelation mit der Klimakline von Ost nach West vermuten. Um fundierte Aussagen über den direkten Einfluss von Klima, bzw. auch Mikroklima, auf die Ausprägung unterschiedlicher Merkmale von *C. obtusus* und Präferenzen bezüglich der Fortpflanzungsstrategie zu treffen, sind genaue Klimadaten der Fundorte erforderlich.

Ein Blick in das Innere von *C. obtusus* zeigt, dass sich die zwei genetisch differenzierten Gruppen bezüglich der Schleimdrüsen und des Stylophors sehr stark unterscheiden. Die östlichen Populationen weisen sowohl eine Reduktion und starke Variabilität der Schleimdrüsen als auch einen erhöhten Anteil an Homozygoten auf. Dies unterstützt die Annahme, dass die geographischen Gruppen unterschiedliche Fortpflanzungsstrategien anwenden. Ein Nachweis von „Fluctuating Asymmetry“ bei den Schleimdrüsenlängen würde diese Hypothese nochmals bestärken.

Auch wenn es geographische Unterschiede bezüglich Vorhandenseins eines Liebespfeils gibt, bleibt zu klären, ob es Unterschiede in dessen Funktionalität gibt. Dazu müssten weitere histologische, und eventuell auch histochemische Untersuchungen durchgeführt werden. Zukünftige Analysen der Zusammensetzung und Menge des Drüsensekrets sowie TEM-Untersuchungen könnten die offenen Fragen klären.

Zusammenfassend ist zu betonen, dass alle bisherigen Befunde in Kombination stark für eine veränderte Fortpflanzungsstrategie in den östlichen Populationen sprechen. Sämtliche geographischen Unterschiede – sowohl schalenmorphologische als auch genitalanatomische – stimmen mit den in der genetischen Analyse festgestellten geographischen Gruppierungen überein und lassen gemeinsame Ursachen vermuten.

## LITERATURVERZEICHNIS

- Adensamer W, 1937. *Cylindrus obtusus* (Draparnaud 1805), seine relikthafte Verbreitung und geringe Variabilität, sowie zoogeographisch-phylogenetische Betrachtungen über alpine Gastropoden überhaupt. Arch. Moll. 69: 66-116
- Adensamer W, 1962. Weitere Betrachtungen über *Cylindrus obtusus* mit seinem auffallend einheitlichen Artbild. Arch. Moll. 91: 67-70
- Auld JR, Relyea RA, 2008. Are there interactive effects of mate availability and predation risk on life history and defence in a simultaneous hermaphrodite? J. Evol. Biol. 21: 1371–1378
- Baminger H, 1997. Shell-morphometrical characterization of populations of *Arianta arbustorum* (L.) (Gastropoda, Helicidae) in the Ennstaler Alpen (Styria, Austria). Ann. Naturhist. Mus. Wien 99B: 497-519
- Baminger H, Haase M, 2002. Development of the sperm storage organ in *Arianta arbustorum* (Stylommatophora: Helicidae). J. Moll. Stud. 68: 192–194
- Baur B, Baur A, 1997. Random mating with respect to relatedness in the simultaneously hermaphroditic land snail *Arianta arbustorum*. Invertebr. Biol. 116: 294-298
- Baur B, Raboud C, 1988. Life History of the Land Snail *Arianta arbustorum* Along an Altitudinal Gradient. J. Anim. Ecol. 57: 71-87
- Beese K, Baur B, 2006. Expandable Spermatheka influences sperm storage in the simultaneously hermaphroditic snail *Arianta arbustorum*. Invertebr. Reprod. Dev. 49: 93–101
- Beese K, 2007. Evolution of female sperm-storage organs in the carrefour of stylommatophoran gastropods. Dissertation an der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel
- Bisenberger A, 1993. Zur phänotypischen Charakterisierung verschiedener *Arianta*-Populationen (*A. arbustorum*, *A. chamaeleon*, *A. schmidti*; Helicidae, Gastropoda). Ann. Naturhist. Mus. Wien 94/95: 335-352
- Bisenberger A, Baumgartner G, Kleewein D, Sattmann H, 1999. Untersuchungen zur Populationsökologie von *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805) (Pulmonata, Helicidae). Ann. Naturhist. Mus. Wien 101B: 453-464
- Boettger C, 1949. Die Entstehung der Schallengestalt der ostalpinen Landschnecke *Cylindrus obtusus* (Draparnaud). Arch. Moll. 78: 157-158
- Bojat NC, Dürrenberger M, Haase M, 2001a. The Spermatheca in the Land Snail, *Arianta arbustorum* (Pulmonata: Stylommatophora): Muscle System and Potential Role in Sexual Selection. Invertebr. Biol. 120: 217-226
- Bojat NC, Sauder U, Haase M, 2001b. The Spermathekal epithelium, sperm and their interactions in the hermaphroditic land snail *Arianta arbustorum* (Pulmonata, Stylommatophora). Zoomorphology 120: 149-157
- Burla H, Stahel W, 1983. Altitudinal variation in *Arianta arbustorum* (Mollusca, Pulmonata) in the Swiss Alps.- Genetica 62: 95-108
- Cameron RAD, Carter MA, 1979. Intra- and inter-specific effects of population density on growth and activity in some helioid land snails (Gastropoda: Pulmonata). J. Anim. Ecol. 48: 237-246
- Chase R, 2006. The function of dart shooting in helioid snails. Amer. Malac. Bull. 23: 183-189

- Chase R, Blanchard KC, 2006. The snail's love-dart delivers mucus to increase paternity. *Proc. R. Soc. B.* 273: 1471–1475
- Chen X, 1993. Comparison of inbreeding and outbreeding in hermaphroditic *Arianta arbustorum* (L.) (land snail). *Heredity* 71: 456—461
- Chung DJD, 1986. Stimulation of Genital Eversion in the Land Snail *Helix aspersa* by Extracts of the Glands of the Dart Apparatus. *J. Exp. Zool.* 238: 129-139
- Dan N, Bailey SER, 1982. Growth, mortality and feeding rates of the snail *Helix aspersa* at different population densities in the laboratory and the depression of activity of Helicid snails by other individuals or their mucus. *J. Moll. Stud.* (1982) 48: 257-265.
- Dillen L, Jordaens K, Bacheljiau T, 2009. Life-history variation and breeding system in the hermaphroditic land snail *Succinea putris* (Pulmonata: Succineidae). *UK, J. Moll. Stud.* 75: 311–313
- Dirnböck TH, Greimler J, 1997. Subalpin-alpine Vegetationskartierung der Raxalpe, nordöstliche Kalkalpen Vegetationskarte 1 : 12.500. *Linzer biol. Beitr.* 29: 299-339
- Dubois A, Bour R, 2010. The distinction between family-series and class-series nomina in zoological nomenclature, with emphasis on the nomina created by Batsch (1788, 1789) and on the higher nomenclature of turtles. *Bonn Zool. Bull.* 57: 149-171
- Doums C, Delay B, Jarne P, 1994. A Problem with the Estimate of Self-Fertilization Depression in the Hermaphrodite Freshwater Snail *Bulinus truncatus*: The Effect of Grouping. *Evolution* 48: 498-504
- Doums C, Viard F, Pernot A, Delay B, Jarne P, 1996. Inbreeding depression, neutral polymorphism, and copulatory behaviour in freshwater snails: a self-fertilization syndrome. *Evolution* 50: 1908-1918
- Draparnaud JPR, 1805. Histoire naturelle des mollusques terrestres et fluviatiles de la France. Ouvrage posthume. *Ecology* 79: 720–733
- Duda M, Kruckenhauser L, Haring E, Sattmann H, 2010. Habitat requirements of the pulmonate land snails *Trochulus oreinos oreinos* and *Cylindrus obtusus* endemic to the Northern Calcareous Alps, Austria. *Ecomont* 2: 5-12
- Edlinger K, 1999. Morphometrische Untersuchungen an der Zylinder-Felsenschnecke *Cylindrus obtusus* (Draparnaud 1805) (Pulmonata/Helicidae/Ariantinae). *Club Conchylia Informationen* 31: 44-56
- Férrusac JBL d'A De, 1807. Essai d'une méthode conchyliologique appliquée aux mollusques fluviatiles et terrestres d'après la considération de l'animal et de son test. Nouvelle édition augmentée d'une synonymie des espèces les plus remarquables, d'une table de concordance systématique de celles qui ont été décrites par Geoffroy, Poiret et Draparnaud, avec Müller et Linné, et terminée par un catalogue d'espèces observées en divers lieux de la France. *Delance* 8: 110-111
- Fitzinger LI, 1833. Systematisches Verzeichniß der im Erzherzogthume Oesterreich vorkommenden Weichthiere, als Prodom einer Fauna derselben. *Beiträge zur Landeskunde Oesterreich's unter der Enns* 3: 88-122
- Frank C, 2006. Plio-Pleistozähne und Holozäne Mollusken Österreichs. Verlag der Österreichischen Wissenschaft, Wien
- Freitag B, Desch W, 1996. *Cylindrus obtusus* (Draparnaud 1805) – Futterpflanzen, neue Fundorte und Assoziationen mit anderen Gehäuseschnecken, sowie Vergleiche mit früheren Gehäusevermessungen (Gastropoda: Helicidae). *Mitt. Dtsch. Malakozool. Ges.* 58: 1-16
- Frömming E, 1954. Biologie der mitteleuropäischen Landgastropoden. Duncker & Humblot, Berlin
- Gittenberger E, 1991. Altitudinal variation and adaptive zones in *Arianta arbustorum*: a new look at a widespread species. *J. Moll. Stud.* 57: 99-109

- Gómez BJ, Serrano T, Angulo E, 1996. Morphology and fine structure of the glands of the dart-sac complex in Helicoidea (Gastropoda, Stylommatophora). *Invertebr. Reprod. Dev.* 29: 47-55
- Gómez BJ, 2001. Structure and Functioning of the Reproductive System. In: Barker GM (Hg.). *The biology of terrestrial molluscs*. Cabi Publishing, Wallingford
- Husen D v, 1987. Die Ostalpen und ihr Vorland in der letzten Eiszeit.- Landkarte 1:500.000.- Geologische Bundesanstalt, Wien
- Janetschek H, 1949. Tierische Successionen auf hochalpinem Neuland. *Ber. Naturw. Med. Ver., Innsbruck*
- Jarne P, Finot L, Bellec C, Delay B, 1992. Aphally Versus Euphally in Self-Fertile Hermaphrodite Snails from the Species *Bulinus truncatus* (Pulmonata: Planorbidae). *The American Naturalist* 139: 424-432
- Jarne P, Charlesworth D, 1993. The evolution of the selfing rate in functionally hermaphrodite plants and animals. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24: 441-466
- Jordaens K, Geenen S, Reise H, Riel Pv, Verhagen R, Backeljau T, 2000. Is there a geographical pattern in the breeding system of a complex of hermaphroditic slugs (Mollusca: Gastropoda: Carinarion)? *Heredity* 85: 571-579
- Jordaens K, Dillen L, Backeljau T, 2007. Effects of mating, breeding system and parasites on reproduction in hermaphrodites: pulmonate gastropods (Mollusca). *Anim. Biol.* 57: 137-195
- Jordaens K, Dillen L, Backeljau T, 2009. Shell shape and mating behaviour in pulmonate gastropods (Mollusca). *Biol. J. Linn. Soc.* 96: 306-321
- Kerney Die MP, Cameron RAD, Jungbluth JH 1983. *Landschnecken Nord- und Mitteleuropas*. Paul Parey Verlag, Hamburg/Berlin
- Kilian W, Müller F, Starlinger F, 1993. *Die forstlichen Wuchsgebiete Österreichs*. Forstliche Bundesversuchsanstalt, Wien
- Kleewein D, Baumgartner G, Sattmann H, 2000. Erste Beobachtungen zur Reproduktionsbiologie von *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805) (Pulmonata, Helicidae). *NHM - Wien, Arianta* 3: 49-51
- Klemm W, 1974. Die Verbreitung der rezenten Landgehäuseschnecken in Österreich. *Denkschriften der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse* 117: 1-503
- Klingenberg CP, 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353-357
- Koene JM, Chase R, 1998. Changes in the reproductive system of the snail *Helix aspersa* caused by mucus from the love dart. *J. Exp. Biol.* 201: 2313-2319
- Kokshoorn B, Bos MM, 2008. Altitudinal gradients and shell morphology in *Abida secale*: Ecophenotypic variation and subspecies. In: Kokshoorn B (Hg.). *Resolving riddles and presenting new puzzles in chondrinidae phylogenetics*. Dissertation an der Universität Leiden, pp. 99-114
- Kothbauer H, 1988. Über Liebespfeile, Schnecken und Weltbilder. *Ann. Naturhist. Mus. Wien* 90: 163-169
- Kothbauer H, Nemeschkal HL, Sattmann H, Wawra E, 1991. Über den Aussagewert von Typen und qualitativen Aufsammlungen: Eine kritische Sicht am Beispiel von *Arianta arbustorum styriaca* (Frauenfeld, 1868) (Pulmonata: Helicidae)1). *Ann. Naturhist. Mus. Wien* 92B: 229-240
- Kruckenhauser L, Sattmann H, Däubel B, Cadahia L, Zopp L, Haring E, 2010. Phylogeography of a high Alpine Austrian endemic: *Cylindrus obtusus* (Gastropoda: Pulmonata: Helicidae). Abstract, World Congress of Malacology, Phuket (Thailand)
- Kühnelt W, 1937. Biologische Beobachtungen an *Cylindrus obtusus*. *Arch. Moll.* 69: 53-56

- Lind H, 1973. The functional significance of the spermatophore and the fate of spermatozoa in the genital tract of *Helix pomatia* (Gastropoda: Stylommatophora). J. Zool. 169: 39-64
- Locher R, Baur B, 2000. Mating frequency and resource allocation to male and female function in the simultaneous hermaphrodite land snail *Arianta arbustorum* exposed to an increased sperm competition risk. Invertebr. Reprod. Dev. 38: 53-60
- Mani MS, 1968. Ecology and biogeography of high altitude insects. Dr. W. Junk N.V. Publishers, The Hague
- Martens Ev, 1895. Die Gattung *Cylindrus* FITZ. Arch. Naturgesch. , Leipzig: 103-108
- Mildner P, Kofler A, 1990. Zur Verbreitung von *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805) in Kärnten und Osttirol (Mollusca, Gastropoda: Helicidae). Carinthia 180/100: 455-461
- Nagy L, Grabherr G, 2009. The Biology of Alpine Habitats. Oxford University Press, USA
- Nemeschkal HL, Kothbauer H, 1988. *Arianta arbustorum* alpicola (FÉRUSSAC, 1819) (Pulmonata, Helicidae): Über Interpretation und Realität eines Taxon. Zool. Anz. 221: 343-354
- Oosterhoff LM, 1977. Variation in growth rate as an ecological factor in the landsnail *Cepaea nemoralis* (L.). Neth. J. Zool. 27: 1-132
- Palmer AR, Strobeck C, 1992. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: Implications of non-normal distributions and power of statistical tests. Acta. Zool. Fennica 191: 57-72
- Perry R, Arthur W, 1991. Shell size and population density in large helioid land snails. J. Anim. Ecol. 60: 409-421
- Reise H, Zimdars B, Jordaens K, Backeljau T, 2001. Brief report. First evidence of possible outcrossing in the terrestrial slug *Arion intermedius* (Gastropoda: Pulmonata). Hereditas 134: 267-270
- Reisigl H, Keller R, 1987. Alpenpflanzen im Lebensraum. Alpine Rasen, Schutt- und Felsvegetation. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart/Jena/New York
- Rohlf FJ, 2003. tpsSuper, superimposition and image averaging, version 1.12. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf FJ, 2005. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.05. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Sattmann H, Nemeschkal HL, 1993. Genitalmorphometrische Untersuchungen an *Arianta arbustorum* (LINNÉ 1758), *A. chamaeleon* (L. Pfeiffer 1842) und *A. schmidti* (Rossmässler 1836) (Mollusca, Gastropoda, Helicidae). Ann. Naturhist. Mus. Wien 94/95B: 353-359
- Scharff RF, 1928. On the terrestrial molluscs of the high Alps and their origin. In: Lechevalier P, Contribution a l'étude du peuplement des hautes montagnes., Mem. Soc. Biogeogr., Paris
- Schileyko AA, 1991. Taxonomic status, phylogenetic relations and system of the Helicoidea sensu lato (Pulmonata). Arch. Moll. 120: 187-236
- Schileyko AA, 1996. On the peculiar features of the reproductive anatomy of *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1821) (Pulmonata, Helicidae). In: Sattmann H, Bisenberger A, Kothbauer H (eds): NHM - Wien. Arianta II: 37-38
- Schileyko AA, Baminger H, Sattmann H, 1997. On the variability of the distal genital tract of *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805) (Gastropoda: Helicidae). Ann. Naturhist. Mus. Wien 99B: 535 – 538
- Schileyko AA, 2006. Helicidae, Pleurodontidae, Polygyridae, Ammonitellidae, Oreohelicidae, Thysanophorida. Treatise on Recent terrestrial pulmonate molluscs 13: 1785

Selander RK, Hudson RO, 1976. Animal population structure under close inbreeding: The land snail *Rumina* in southern France. *The American Naturalist* 110: 695-718

Sturany R, Wagner AJ, 1914. Über schalentragende Landmollusken aus Albannien und Nachbargebieten. *Denkschriften der Akademie der Wissenschaften, mathematischnaturwissenschaftliche Klasse* 12: 269-287

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1. <i>C. obtusus</i> (Hochschwab, Zeichnung L. Zopp).....	5
Abbildung 2. Verbreitungskarte von <i>C. obtusus</i> illustriert durch die Fundorte von Klemm (1974; schwarze Punkte) sowie das maximale Ausmaß der Vergletscherung während der letzten Eiszeit (Würm) nach Van Husen (1987) .....	7
Abbildung 3. Genitaltrakt von <i>A. arbustorum</i> (links) im Vergleich zu dem Genitaltrakt von <i>C. obtusus</i> (rechts), nach Schileyko (2006), modifiziert. Es sind dieselben Strukturen ausgebildet: Atrium (A), Bursa copulatrix (BC), Diverticulum (D), Ductus hermaphroditicus (DH), Ductus der Spermatheka (DS), Epiphallus (EP), Flagellum (F), Glandula albumen (GA), Glandula mucosa (GM), Penis (P), Retraktormuskel (Rm), Spermoviduct (SO), Spermatheka (Sp), Stylophor (St), Vagina (V) und Vas deferens (VD). .....	8
Abbildung 4. Genitaltrakt von <i>C. obtusus</i> mit den farblich markierten, anzunehmenden Wegen der Spermien und Oozyten (orange – Weg der Oozyten, grün – Weg der Eigenspermien, blau – Weg der Fremdspermien, rot – Weg der Fremdspermien, die in der Bursa copulatrix enden). Die Enden der Wege sind mit Pfeilspitzen gekennzeichnet (verändert nach Schileyko 2006). Atrium (A), Bursa copulatrix (BC), Diverticulum (D), Ductus hermaphroditicus (DH), Epiphallus (EP), Flagellum (F), Glandula albumen (GA), Glandula mucosa (GM), Gonade (G), Penis (P), Retraktormuskel (Rm), Spermoviduct (SO), Spermatheka (Sp), Stylophor (St), Vagina (V) und Vas deferens (VD). .....	10
Abbildung 5. Gegenüberstellung von Stylophor (St) und Schleimdrüsen (GM) von unterschiedlichen Individuen von <i>C. obtusus</i> vom Schneeberg (östliche Population) sowie von einem Individuum aus dem Gesäuse, Fundort Hesshütte (westliche Population), nach Schileyko et al. (1997). .....	11
Abbildung 6. Verbreitungskarte von <i>C. obtusus</i> mit den Fundorten der Mikrosatelliten-Analyse von Kruckenhauser et al. (2010) und den Vergletscherungszonen nach Van Husen (1987; weiße Fläche); westliche Populationen: blaue Karos (1-12), östliche Populationen: grüne Kreise (13-16), rote Linie: Grenze Österreichs, blaue Linie: große Flüsse.....	13
Abbildung 7. Zahl der Fundorte, die pro Monat (Mai bis Oktober) besammelt wurden. Der Farbcode markiert die östlichen (grün) und die westlichen (blau) Fundorte, wobei gefüllte Balken Daten der vorliegenden Untersuchung repräsentieren und schraffierte Balken das gesamte Sammelmaterial umfassen. ....	17
Abbildung 8. Die Fotografie des Gehäuses von <i>C. obtusus</i> (Veitsch) illustriert die Position der 11 Landmark-Koordinaten. ....	20
Abbildung 9. Fotografie einer rechten (re SD) und linken Schleimdrüse (li SD) sowie des Stylophors (Sty), wobei die Umrisslinie der rechten Schleimdrüse schwarz nachgefahren wurde. Diese Umfanglängen der Schleimdrüsen und des Stylophors wurde anstelle der tatsächlichen Länge der Strukturen für die statistische Analyse herangezogen.....	21
Abbildung 10. Der Scatterplot stellt die Schalenhöhen in mm entlang der 16 Fundorte - von West (blaues Karo) nach Ost (grüner Kreis) sortiert - dar. Die Bezugslinie auf 13.7 mm stellt die maximale Schalenhöhe bei östlichen Populationen dar. ....	24
Abbildung 11. Der Scatterplot zeigt die Verteilung der Messwerte der Schalenhöhen der Individuen über die Fundorthöhen. Der Farbcode (Ost = grüner Kreis; West = blaues Karo) verdeutlicht die geographische Verbreitung der Fundorte.....	26

Abbildung 12. Das Liniendiagramm zeigt die Höhenverteilung sämtlicher im Rahmen des Projekts besammelten Fundorte von <i>C. obtusus</i> farblich markiert nach der Ost- (hellgrün) und Westgruppe (dunkelblau). .....	27
Abbildung 13. Scatterplot der 1. und 2. Hauptkomponente der Landmark-Analyse (Ost = grüne Kreise, West = blaue Karos). .....	28
Abbildung 14. Landmark-Punkte mit Umrisslinien der Schalen in den dazu passenden Deformationsgittern der Ost- (grün) und Westpopulationen (blau). .....	29
Abbildung 15. In diesem Scatterplot sind die Fundorte nach geographischer Gruppierung farblich markiert (Ost = grüne Kreise, West = blaue Karos) und gegen die Fundorthöhe aufgetragen. ....	30
Abbildung 16. Die Längen der linken (leere Symbole) und der rechten (gefüllte Symbole) Schleimdrüsenumfänge nach den geographischen Gruppen (Ost = grüne Kreise, West = blaue Karos) markiert und nach den Fundorten sortiert. Die Bezugslinie bei 5.19 mm liegt unterhalb der kürzesten westlichen Schleimdrüse. ....	31
Abbildung 17. Die Stylophorumfängeln (mm) sind in diesem Scatterplot von West nach Ost nach Fundorten sortiert. Die östlichen Fundorte sind mit grünen Kreisen, die westlichen mit blauen Karos markiert. ....	32
Abbildung 18. Der 3D-Scatterplot zeigt die einzelnen Individuen, markiert nach geographischen Gruppen (West = blaue Karos; Ost = grüne Kreise) im Vergleich zwischen den beiden Schleimdrüsenumfängeln (rechts und links) und dem Stylophor. ....	34
Abbildung 19. Fotografie eines extrahierten Liebespfeiles, teilweise von Gewebe des Stylophors verdeckt. ....	35
Abbildung 20. Die Fotografie des teilweise aufgelösten Stylophors gibt Einblick in die Position, die der Liebespfeil (gebrochen) im Sack einnimmt. Die Spitze des Pfeiles (links) zeigt in die Richtung der Öffnung zur Vagina. ....	35
Abbildung 21. Penisapille (V) aus Schileyko (2006) (A) im Vergleich zu zwei Darstellungen der Penisapille, bei denen eine V-förmig und faltig ist (B) und eine andere rund und glatt (C). Zeichnung B und C: L. Zopp .....	36
Abbildung 22 Der 1 µm Semidünnschnitt durch die Schleimdrüse aus einer östlichen Population zeigt den schlauchförmigen Aufbau. Eine Muskelzellschicht umgibt ein einschichtiges Drüsenepithel, welches wiederum ein Lumen einschließt. ....	37
Abbildung 23 Der 1 µm Semidünnschnitt durch die Schleimdrüse aus einer westlichen Population zeigt einen sehr ähnlichen schlauchförmigen Aufbau wie die Schleimdrüse der östlichen Population. Eine Muskelzellschicht umgibt ein einschichtiges Drüsenepithel, welches wiederum ein Lumen einschließt. ....	37
Abbildung 24 Der 1 µm Semidünnschnitt einer Schleimdrüse (Schneeberg, Ost-Population) zeigt wie Sekretgranula aus den sekretorischen Vesikeln in das Lumen entlassen werden. ....	38
Abbildung 25 Der Querschnitt durch das einschichtige Drüsenepithel der Schleimdrüse des Genitaltraktes eines <i>C. obtusus</i> -Individuums von einem östlichen Fundort (Schneeberg) gibt Einblick in den zellulären Aufbau. Zu sehen sind (von außen nach innen) die Muskelschicht, eine dünne Basallamina, die Epithelschicht mit nach außen ausgerichteten Zellkernen und nach innen positionierten sekretorischen Vesikeln. Letztere umschließt das Lumen. ....	38
Abbildung 26 Querschnitt durch das einschichtige Drüsenepithel der Schleimdrüse des Genitaltraktes von einem Individuum von einem westlichen Fundort. Gesäuse dargestellt. Zu sehen sind Muskelschicht, eine dünne Basallamina, die Epithelschicht mit nach außen ausgerichteten Zellkernen und nach innen positionierten sekretorischen Vesikeln. Letztere umschließt das Lumen. ....	39

# ANHANG

## TABELLEN

Tabelle 7. Gesammelte Daten zu den Individuen, die für die Schalenvermessung herangezogen wurden

Gruppe	Fundort	Region	Fundort ID	Individuum ID	Schalenhöhe (mm)	Fundorthöhe (m ü.M.)	Sammelmonat	Material
West	1	Glocknergruppe	401	3968	13,36	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3969	13,45	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3970	12,86	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3971	12,66	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3979	11,86	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3981	12,38	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3984	13,50	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3985	11,83	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3986	12,24	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3987	12,72	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3990	13,49	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3992	12,72	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	3993	13,41	2549	Juli	Alkoholmaterial
West	1	Glocknergruppe	401	6801	13,35	2549	Juli	Leerschale
West	1	Glocknergruppe	401	6802	13,22	2549	Juli	Leerschale
West	1	Glocknergruppe	401	6803	12,34	2549	Juli	Leerschale
West	1	Glocknergruppe	401	6804	12,06	2549	Juli	Leerschale
West	1	Glocknergruppe	401	6805	14,11	2549	Juli	Leerschale
West	1	Glocknergruppe	401	6806	12,67	2549	Juli	Leerschale
West	1	Glocknergruppe	401	6807	13,34	2549	Juli	Leerschale
West	2	Dachstein	163	1706	10,88	1943	Juni	Leerschale
West	2	Dachstein	163	1707	12,07	1943	Juni	Leerschale
West	2	Dachstein	162	1853	11,25	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1854	13,02	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1856	12,76	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1857	12,04	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1858	13,06	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1860	12,44	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1861	11,95	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1862	11,04	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1863	11,69	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1864	12,43	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1868	11,54	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1869	11,01	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1870	11,98	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	162	1871	12,07	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	182	2757	12,44	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	182	2758	12,14	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	2	Dachstein	182	2759	12,92	1943	Juni	Alkoholmaterial
West	3	Höllengebirge	12	694	13,14	1677	Juni	Alkoholmaterial
West	3	Höllengebirge	12	695	12,25	1677	Juni	Alkoholmaterial
West	3	Höllengebirge	12	696	11,73	1677	Juni	Alkoholmaterial
West	3	Höllengebirge	12	697	13,59	1677	Juni	Alkoholmaterial
West	3	Höllengebirge	12	698	12,37	1677	Juni	Alkoholmaterial
West	3	Höllengebirge	12	699	12,55	1677	Juni	Alkoholmaterial
West	3	Höllengebirge	12	700	12,03	1677	Juni	Alkoholmaterial
West	3	Höllengebirge	46	1838	12,62	1677	Juni	Alkoholmaterial
West	3	Höllengebirge	12	6795	13,48	1677	Juni	Leerschale
West	3	Höllengebirge	12	6796	12,35	1677	Juni	Leerschale
West	3	Höllengebirge	12	6797	12,73	1677	Juni	Leerschale
West	3	Höllengebirge	12	6798	12,93	1677	Juni	Leerschale
West	3	Höllengebirge	12	6799	12,84	1677	Juni	Leerschale
West	3	Höllengebirge	12	6800	12,21	1677	Juni	Leerschale
West	4	Traunstein	400	3965	11,61	1604	Juni	Alkoholmaterial
West	4	Traunstein	400	3966	12,50	1604	Juni	Alkoholmaterial
West	4	Traunstein	400	3967	12,38	1604	Juni	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	37	12,44	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	40	11,96	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	41	13,07	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	42	12,33	2157	Juli	Alkoholmaterial

West	5	Totes Gebirge	114	43	14,41	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	45	12,55	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	46	13,33	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	47	12,40	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	48	13,11	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	49	12,37	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	50	14,82	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	51	14,18	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	53	12,18	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	56	13,14	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	57	13,63	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	58	13,11	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	59	12,03	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	60	12,40	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	61	12,77	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	5	Totes Gebirge	114	63	13,33	2157	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	441	12,92	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	443	11,96	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	444	13,18	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	446	12,44	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	447	13,40	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	448	12,40	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	449	11,40	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	450	12,59	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	451	13,37	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	452	12,48	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	453	12,37	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	454	12,07	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	455	13,44	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	457	11,07	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	458	12,07	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	459	11,92	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	461	11,66	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	462	10,51	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	463	11,85	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	6	Warscheneck	132	465	12,59	2028	Juli	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3728	11,77	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3729	13,13	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3730	12,10	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3733	13,58	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3734	13,80	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3735	13,15	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3736	13,10	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3737	12,12	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3738	12,16	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3739	12,59	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3740	12,78	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3742	11,55	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3743	12,23	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3745	11,78	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3747	11,61	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3748	13,41	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3750	12,59	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3751	12,21	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3752	12,19	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	7	Sengsengebirge	369	3753	11,75	1399	Juni	Alkoholmaterial
West	8	Haller Mauern	444	4185	12,45	2000	August	Alkoholmaterial
West	8	Haller Mauern	444	4187	12,31	2000	August	Alkoholmaterial
West	8	Haller Mauern	444	4189	12,74	2000	August	Alkoholmaterial
West	8	Haller Mauern	444	4191	13,14	2000	August	Alkoholmaterial
West	8	Haller Mauern	444	6779	13,25	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6780	12,42	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6781	12,27	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6782	12,86	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6783	12,48	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6784	12,45	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6785	13,07	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6786	13,06	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6787	12,66	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6788	12,87	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6789	12,97	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6790	11,92	2000	August	Leerschale

West	8	Haller Mauern	444	6791	11,96	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6792	12,25	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6793	11,78	2000	August	Leerschale
West	8	Haller Mauern	444	6794	12,37	2000	August	Leerschale
West	9	Gesäuse	55	226	12,59	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	55	227	11,66	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	55	228	12,59	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	55	229	11,77	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	55	230	13,07	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	55	231	13,63	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	55	232	11,77	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	53	1796	13,89	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	53	1797	13,59	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	53	1798	13,96	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	53	1799	13,92	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	53	1800	14,96	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	53	1801	13,96	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	531	5943	11,71	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	531	5944	11,52	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	531	5959	12,29	1860	Juli	Alkoholmaterial
West	9	Gesäuse	53	6775	13,28	1860	Juli	Leerschale
West	9	Gesäuse	53	6776	13,43	1860	Juli	Leerschale
West	9	Gesäuse	531	6777	12,46	1860	Juli	Leerschale
West	9	Gesäuse	531	6778	12,12	1860	Juli	Leerschale
West	10	Dürrenstein	111	14	11,55	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	15	13,18	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	25	13,00	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	27	12,40	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	29	13,70	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	30	13,44	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	32	11,51	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	33	12,59	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	34	13,44	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	35	13,07	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	111	36	12,51	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	113	150	12,81	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	113	151	12,77	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	113	153	11,47	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	113	154	12,29	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	113	155	12,59	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	113	157	13,03	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	113	158	12,07	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	113	159	13,85	1786	August	Alkoholmaterial
West	10	Dürrenstein	113	160	12,66	1786	August	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	103	8	13,55	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	103	10	12,92	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	103	11	11,18	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	103	12	11,44	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	103	13	11,21	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	481	13,14	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	483	12,44	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	484	12,81	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	485	12,85	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	486	14,37	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	487	9,88	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	488	12,14	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	489	12,37	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	490	14,00	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	491	13,52	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	492	11,96	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	493	13,48	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	494	12,96	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	495	13,00	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	11	Hochschwab	133	496	14,37	2179	Juli	Alkoholmaterial
West	12	Ötscher	397	3851	13,09	1884	Juli	Alkoholmaterial
West	12	Ötscher	397	3852	12,38	1884	Juli	Alkoholmaterial
West	12	Ötscher	397	3853	13,36	1884	Juli	Alkoholmaterial
West	12	Ötscher	397	3956	12,89	1884	Juli	Alkoholmaterial
West	12	Ötscher	397	3960	12,84	1884	Juli	Alkoholmaterial
West	12	Ötscher	397	3961	12,88	1884	Juli	Alkoholmaterial
West	12	Ötscher	397	6761	12,91	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	397	6762	12,84	1884	Juli	Leerschale

West	12	Ötscher	397	6763	13,11	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	397	6764	12,41	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	397	6765	12,93	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	397	6766	14,12	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	397	6767	12,12	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	397	6768	12,30	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	397	6769	12,01	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	396	6770	12,13	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	396	6771	12,87	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	396	6772	12,72	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	396	6773	13,93	1884	Juli	Leerschale
West	12	Ötscher	396	6774	13,25	1884	Juli	Leerschale
Ost	13	Veitsch	591	6215	11,59	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6216	11,99	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6217	12,41	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6218	12,47	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6220	11,72	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6221	12,04	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6222	11,76	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6223	11,79	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6472	11,75	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6473	11,79	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6474	12,42	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6475	11,85	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6476	11,31	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6477	11,98	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6479	12,70	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6480	12,23	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6481	12,55	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6482	12,99	1895	Oktober	Alkoholmaterial
Ost	13	Veitsch	591	6759	12,82	1895	Oktober	Leerschale
Ost	13	Veitsch	591	6760	12,98	1895	Oktober	Leerschale
Ost	14	Schneealpe	338	3279	12,88	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3280	12,25	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3281	11,03	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3282	12,57	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3284	11,00	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3285	11,16	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3286	11,89	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3287	11,06	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3288	11,78	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3289	10,57	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3295	11,55	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3296	11,46	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3424	11,05	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3425	11,95	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3428	13,18	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3431	12,16	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3432	11,13	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	3434	11,99	1664	Mai	Alkoholmaterial
Ost	14	Schneealpe	338	6757	12,28	1664	Mai	Leerschale
Ost	14	Schneealpe	338	6758	11,87	1664	Mai	Leerschale
Ost	15	Rax-Schneeberg	80	222	11,92	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	80	224	11,96	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	80	225	11,85	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	259	11,40	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	260	11,89	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	263	11,03	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	264	12,40	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	266	11,85	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	267	12,48	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	268	11,62	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-	76	269	12,77	1791	Juli	Alkoholmaterial

		Schneeberg						
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	271	12,03	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	272	13,29	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	273	12,92	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	274	13,22	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	275	11,62	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	276	12,59	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	277	12,33	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	280	13,70	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	15	Rax-Schneeberg	76	281	12,25	1791	Juli	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	176	1178	12,54	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	176	1179	10,09	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	176	1180	13,56	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	176	1181	12,81	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	176	1182	11,66	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	176	1183	11,88	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	176	1186	12,45	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	176	1187	10,36	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	170	1188	11,88	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	170	1189	12,25	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	170	1190	12,48	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	170	1191	12,40	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	170	1192	12,07	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	170	1193	12,11	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	170	1194	11,10	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	170	1195	12,18	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	170	1196	11,92	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	172	1198	10,06	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	172	1199	12,03	1994	Juni	Alkoholmaterial
Ost	16	Schneeberg	172	1200	10,99	1994	Juni	Alkoholmaterial

Tabelle 8 Gesammelte Daten zu den Individuen die für die genitalanatomische Untersuchung herangezogen wurden.

Gruppe	Fundort	Region	Individuum ID	Schalenhöhe (mm)	Schleimdrüsen-Umfang links (mm)	Schleimdrüsen-Umfang rechts (mm)	Stylophor-Umfang (mm)	Fundorthöhe (m ü.M.)	Sammelmonat	Liebespfeil
West	1	Glocknergruppe	3985	1,07	0,90	0,88	0,45	2549	Juli	vorhanden
West	1	Glocknergruppe	3986	1,09	0,94	0,92	0,46	2549	Juli	vorhanden
West	1	Glocknergruppe	3987	1,10	0,93	0,89	0,48	2549	Juli	vorhanden
West	2	Dachstein	1854	1,07	0,84	0,85	0,46	1943	Juni	fehlt
West	2	Dachstein	1856	1,11	0,86	0,82	0,40	1943	Juni	fehlt
West	2	Dachstein	1857	1,08	0,90	0,86	0,40	1943	Juni	vorhanden
West	3	Höllengebirge	695	1,08	0,84	0,81	0,43	1677	Juni	vorhanden
West	3	Höllengebirge	697	1,13	0,92	0,87	0,43	1677	Juni	fehlt
West	3	Höllengebirge	698	1,09	0,82	0,81	0,36	1677	Juni	vorhanden
West	4	Traunstein	3965	1,06	0,76	0,79	0,38	1604	Juni	vorhanden
West	4	Traunstein	3966	1,10	0,84	0,87	0,21	1604	Juni	vorhanden
West	4	Traunstein	3967	1,09	0,80	0,79	0,46	1604	Juni	fehlt
West	5	Totes Gebirge	3803	1,10	0,77	0,75	0,36	2157	Juli	fehlt
West	5	Totes Gebirge	3805	1,04	0,74	0,72	0,37	2157	Juli	fehlt
West	5	Totes Gebirge	3806	1,09	0,95	0,92	0,41	2157	Juli	vorhanden
West	6	Warscheneck	450	1,10	0,97	0,98	0,45	2028	Juli	vorhanden
West	6	Warscheneck	470	1,10	0,95	0,92	0,47	2028	Juli	vorhanden
West	6	Warscheneck	473	1,12	0,95	0,98	0,44	2028	Juli	vorhanden
West	7	Sengsengebirge	3742	1,06	0,93	0,88	0,43	1399	Juni	vorhanden
West	7	Sengsengebirge	3743	1,09	0,85	0,84	0,43	1399	Juni	vorhanden
West	7	Sengsengebirge	3745	1,07	0,83	0,84	0,38	1399	Juni	vorhanden
West	8	Haller Mauern	4185	1,10	0,89	0,85	0,42	2000	August	vorhanden
West	8	Haller Mauern	4187	1,09	0,91	0,91	0,45	2000	August	vorhanden
West	8	Haller Mauern	4189	1,11	0,85	0,87	0,39	2000	August	vorhanden
West	9	Gesäuse	5943	1,07	0,79	0,78	0,44	1860	Juli	vorhanden
West	9	Gesäuse	5944	1,06	0,78	0,74	0,45	1860	Juli	vorhanden
West	9	Gesäuse	5959	1,09	0,79	0,80	0,43	1860	Juli	vorhanden
West	10	Dürrenstein	199	1,07	0,82	0,90	0,30	1786	August	fehlt
West	10	Dürrenstein	213	1,09	0,88	0,89	0,40	1786	August	Teilw. vorhanden
West	10	Dürrenstein	168	1,10	0,90	0,96	0,41	1786	August	fehlt
West	11	Hochschwab	510	1,12	0,82	0,73	0,42	2179	Juli	vorhanden
West	11	Hochschwab	516	1,06	0,87	0,83	0,40	2179	Juli	fehlt
West	11	Hochschwab	534	1,07	0,79	0,77	0,39	2179	Juli	vorhanden
West	12	Ötscher	3851	1,12	0,87	0,89	0,42	1884	Juli	vorhanden
West	12	Ötscher	3852	1,09	0,87	0,83	0,42	1884	Juli	vorhanden
West	12	Ötscher	3853	1,13	0,93	0,91	0,39	1884	Juli	vorhanden
Ost	13	Veitsch	6213	1,10	0,60	0,23	0,30	1895	Oktober	vorhanden
Ost	13	Veitsch	6215	1,06	0,06	0,41	0,37	1895	Oktober	vorhanden
Ost	13	Veitsch	6217	1,09	0,66	0,66	0,32	1895	Oktober	vorhanden
Ost	13	Veitsch	6218	1,10	0,53	0,14	0,40	1895	Oktober	vorhanden
Ost	13	Veitsch	6220	1,07	0,40	0,33	0,36	1895	Oktober	vorhanden
Ost	13	Veitsch	6221	1,08	0,51	0,44	0,35	1895	Oktober	vorhanden
Ost	13	Veitsch	6222	1,07	0,46	0,53	0,36	1895	Oktober	vorhanden

Ost	13	Veitsch	6223	1,07	0,23	0,33	0,32	1895	Oktober	vorhanden
Ost	13	Veitsch	6472	1,07	0,50	-0,39	0,37	1895	Oktober	vorhanden
Ost	13	Veitsch	6473	1,07	0,54	0,24	0,34	1895	Oktober	vorhanden
Ost	14	Schneealpe	3279	1,11	0,09	-0,19	0,17	1664	Mai	vorhanden
Ost	14	Schneealpe	3280	1,09	0,56	0,21	0,31	1664	Mai	unklar
Ost	14	Schneealpe	3281	1,04	0,74	0,24	0,31	1664	Mai	vorhanden
Ost	14	Schneealpe	3282	1,10	0,64	0,78	0,36	1664	Mai	vorhanden
Ost	14	Schneealpe	3284	1,04	0,68	0,63	0,36	1664	Mai	vorhanden
Ost	14	Schneealpe	3285	1,05	0,58	0,54	0,38	1664	Mai	vorhanden
Ost	14	Schneealpe	3286	1,08	0,60	0,56	0,36	1664	Mai	vorhanden
Ost	14	Schneealpe	3287	1,04	0,64	0,52	0,37	1664	Mai	vorhanden
Ost	14	Schneealpe	3288	1,07	0,42	0,56	0,34	1664	Mai	vorhanden
Ost	14	Schneealpe	3289	1,02	0,69	0,44	0,38	1664	Mai	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	259	1,07	0,55	0,51	0,34	1791	Juli	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	260	1,08	0,61	0,54	0,37	1791	Juli	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	264	1,08	0,64	0,62	0,39	1791	Juli	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	267	1,09	0,64	0,53	0,41	1791	Juli	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	268	1,05	0,58	0,45	0,38	1791	Juli	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	271	1,07	0,57	0,32	0,35	1791	Juli	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	272	1,12	0,54	0,46	0,39	1791	Juli	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	273	1,10	0,57	0,44	0,32	1791	Juli	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	277	1,08	0,63	0,43	0,37	1791	Juli	vorhanden
Ost	15	Rax-Schneeberg	280	1,13	0,51	0,58	0,43	1791	Juli	vorhanden
Ost	16	Schneeberg	1178	1,10	0,51	0,70	0,37	1994	Juni	vorhanden
Ost	16	Schneeberg	1179	1,00	0,51	0,48	0,37	1994	Juni	vorhanden
Ost	16	Schneeberg	1180	1,13	0,72	0,70	0,39	1994	Juni	vorhanden
Ost	16	Schneeberg	1182	1,05	0,40	0,61	0,39	1994	Juni	vorhanden
Ost	16	Schneeberg	1183	1,06	0,31	0,55	0,40	1994	Juni	vorhanden
Ost	16	Schneeberg	1186	1,10	0,30	0,57	0,35	1994	Juni	fehlt
Ost	16	Schneeberg	1900	1,05	0,51	0,41	0,36	1994	Juni	vorhanden
Ost	16	Schneeberg	1901	1,11	0,62	0,47	0,39	1994	Juni	vorhanden
Ost	16	Schneeberg	1902	1,08	0,58	0,62	0,40	1994	Juni	vorhanden
Ost	16	Schneeberg	1903	1,07	0,62	0,60	0,38	1994	Juni	vorhanden

## ZUSAMMENFASSUNG

Bei der in den nordöstlichen Österreichischen Kalkalpen endemischen Landlungenschnecke *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805) wurden in der Vergangenheit anhand von Schalenmorphometrie und Genitalanatomie Unterschiede zwischen östlichen und westlichen Populationen festgestellt (Adensamer 1937; Edlinger 1999; Schileyko 1997). Die auf diesen Ergebnissen basierende Mikrosatelliten-Analyse von Kruckenhauser et al. (2010) ergab, dass sich die Genotypen westlicher Populationen im Hardy-Weinberg Gleichgewicht befinden, während die östlichen Populationen einen extrem hohen Anteil an Homozygoten besitzen und über alle Loci nicht im HW-Gleichgewicht sind. Als Erklärung für diesen Befund wurde vermehrte Selbstbefruchtung in diesen Populationen vermutet.

In der vorliegenden Arbeit wurde mittels einer morphometrischen Analyse von Schalenmerkmalen festgestellt, dass sich zwei geographische Gruppen (Ost, West) insofern voneinander unterscheiden, als östliche Populationen tendenziell kleinere Schalen ausbilden. Unter Heranziehen derselben Individuen wie in der genetischen Analyse von Kruckenhauser et al. (2010) konnte diese geographische Differenzierung auch in einer genitalanatomischen Untersuchung belegt werden. Damit konnte zwar kein direkter Zusammenhang zwischen Schalengröße und Genitaltrakt festgestellt werden, es zeigte sich jedoch, dass in Populationen mit erhöhtem Homozygotiegrad (Ost) der Liebespfeilsack-Komplex reduziert ist, wobei der Liebespfeilsack durchgängig kürzer und die Schleimdrüsen kürzer und asymmetrisch ausgebildet sind. Im Gegensatz dazu wurde bei den westlichen Populationen ein durchschnittlich längerer Stylophor und längere als auch tendenziell eher symmetrisch ausgebildete Schleimdrüsen gemessen. Trotz Längenvariation des Liebespfeilsack-Komplexes konnte weder ein Nachweis für funktionelle Veränderungen der Schleimdrüsen erbracht werden, da histologische Untersuchungen zeigten, dass die Zellzusammensetzung bei den beiden Gruppen die gleiche ist. Auch scheint die Liebespfeilproduktion nicht von der Reduktion des Stylophors beeinträchtigt zu sein. Dennoch könnte das häufige Vorhandensein eines Liebespfeils bei den östlichen Populationen daraus resultieren, dass die Pfeile nicht oder in geringerem Ausmaß benutzt wurden bzw. werden. Im Gegensatz dazu kann das häufige Fehlen eines Pfeiles in Individuen westlicher Populationen als Indiz für den Gebrauch der Pfeile gewertet werden.

Unter Betrachtung der Merkmale in Kombination lässt sich der Unterschied zwischen den östlichen und den westlichen Populationen auf verschiedenen Ebenen nachweisen. In Summe unterstützt dies die Hypothese einer erhöhte Selbstbefruchtungsrate bei den östlichen Populationen (Kruckenhauser et al. 2010). Um die Frage nach der Funktionalität des Genitaltraktes endgültig zu klären, sind jedoch noch weitere histologische bzw. histochemische Untersuchungen notwendig.

## ABSTRACT

In *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805), a land snail endemic to the north-eastern Calcareous Alps of Austria, preliminary investigations revealed geographic differences in shell size and the genital tract (Adensamer 1937; Edlinger 1999; Schileyko 1997). Moreover, in a recent investigation by Kruckenhauser et al. (2010) genetic groups were detected that correspond to certain differences in genital anatomy. Microsatellite analyses indicated that only in the western populations the genotypes are in Hardy-Weinberg equilibrium, whereas eastern populations show a strong deviation from HW equilibrium at all loci displaying an extreme excess of homozygotes. Altogether these results suggested an altered mode of reproduction in eastern populations where selfing seems to occur predominantly.

In the present study a morphometric analysis of the shell revealed that there is a significant difference in shell-size (height) between two geographical groups (east, west), in which eastern populations are slightly smaller than western. Although geographical differences in the genital tract were highly significant, there was no correlation between shell-size and size of the mucous glands and the stylophore. In the eastern populations the mucous glands were significantly shorter and asymmetrical and the stylophore was also shortened compared to the western populations, where mucous glands were long and symmetrical. A comparative histological analysis did not reveal any significant differences in the cell-structure between the two groups.

Alltogether, the results indicate that size reduction of the mucous glands and the stylophore may not influence the mucous secretion, nor the general production of a love-dart, since there was a love-dart present in all individuals of the eastern populations. However, it might influence the amount of secrete-product. The lack of a love-dart in many individuals of the western populations may be explained by the fact that it had been shot already during copulation and had not been reproduced. This would not be the case for most of the individuals of the eastern populations. The significant geographic differences support the former hypothesis of Kruckenhauser et al. (2010) that eastern populations mainly reproduce via selfing. Nevertheless, as the knowledge about the reproductive cycle of *C. obtusus* is very limited, an extended histological investigation covering seasonal variation would be necessary to clarify functional aspects.

## LEBENS LAUF

### **Zur Person:**

Geboren am 26.4.1987, Wien

Österreichische Staatsbürgerschaft

### **Ausbildung**

2006 / 05 – Matura an der Höheren Lehranstalt für Produktmanagement und Präsentation, Mödling

2006 / 10 – Studienbeginn Biologie (Zoologie, Evolutionsbiologie) an der Universität Wien

von 2011 / 01- 2012 -05 Diplomarbeit an der Universität Wien und im NHM-Wien (Zentrale Forschungslaboratorien) sowie im NHM-Wien 3. Zoologischen Department (Mollusca): „Geographische Variation in der Schalenmorphologie, Anatomie und Histologie von *Cylindrus obtusus* (Gastropoda: Pulmonata: Helicidae).“

### **Berufliche Karriere**

seit 2007 / 05 – Laborassistentin der Zentralen Forschungslaboratorien (ehemals 1. Zoologische Abteilung, Molekulare Systematik) im Naturhistorischen Museum Wien

### **Weitere fachliche Aktivitäten**

#### *Teilnahme an Fachtagungen*

30.11.2010 – The Malacological Society of London, Molluscan Forum, London (UK)

22.6.2011 – 6th Congress of the European Malacological Societies (CEMS), Vitoria-Gasteiz (Spain).

16.-19.8.2011 – Excursions & Workshop "Alpine land snails", Johnsbach, Styria (Austria).

30.11.2011 – The Malacological Society of London, Molluscan Forum, London (UK).

2.12.2011 – 5. Jahrestagung NOBIS Austria, Salzburg (Austria)

## PUBLIKATIONSLISTE

### *Abstracts*

- Zopp L., Kruckenhauser L., Haring E., Harl J., Schileyko A., Sattmann H. (2010) Do geographically distinct populations of *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805) (Gastropoda: Helicidae) differ in the mode of reproduction? - The Malacological Society of London, Molluscan Forum, London (UK). – Poster
- Kruckenhauser L., Sattmann H., Däubel B., Cadahia L., Zopp L., Haring E. (2010) Phylogeography of a high Alpine Austrian endemic: *Cylindrus obtusus* (Gastropoda: Pulmonata: Helicidae).- World Congress of Malacology, Phuket (Thailand). – Vortrag
- Kruckenhauser L., Haring L., Däubel B., Cadahia L., Zopp L., Sattmann H. (2010) Population genetics and phylogeography of *Cylindrus obtusus* (Gastropoda: Pulmonata: Helicidae), an endemic of the Austrian Alps.- 4. Jahrestagung NOBIS Austria, Graz (Austria). – Poster
- Kruckenhauser, L., Haring E., Däubel B., Cadahia L., Zopp L., Sattmann H. (2010) Selfing in geographically separated populations of *Cylindrus obtusus* (Gastropoda: Pulmonata: Helicidae) – speciation in progress?- Conference “Speciation Research 2010”, Laxenburg (Austria).- Poster
- Zopp L., Kruckenhauser L., Haring E., Schileyko A., Sattmann H. (2011) Geographic differences in genital anatomy and histology among populations of *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805) (Gastropoda: Helicidae) - 6th Congress of the European Malacological Societies (CEMS), Vitoria-Gasteiz (Spain). – Poster
- Kruckenhauser L., Sattmann H., Däubel B., Cadahia L., Zopp L., Haring E. (2011) Selfing in geographically separated populations of *Cylindrus obtusus* (Gastropoda: Pulmonata: Helicidae).- 6th Congress of the European Malacological Societies, Vitoria-Gasteiz (Spain) – Poster
- Zopp L., Kruckenhauser L., Haring E., Schileyko A., Sattmann H. (2011) Enigmatic *Cylindrus obtusus*, a hermaphrodite going astray – Excursions & Workshop "Alpine land snails", Johnsbach, Styria (Austria). – Vortrag
- Zopp L., Kruckenhauser L., Haring E., Schileyko A., Sattmann H. (2011) Geographic variation in the reproductive mode of *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805) (Gastropoda: Helicidae). – The Malacological Society of London, Molluscan Forum, London (UK). – Vortrag
- Zopp L., Kruckenhauser L., Haring E., Schileyko A., Sattmann H. (2011) Does the hermaphroditic land snail *Cylindrus obtusus* (Draparnaud, 1805) always use the same mode of reproduction? (Gastropoda: Helicidae) – 5. Jahrestagung NOBIS Austria, Salzburg (Austria). – Vortrag