

ZOOLOGIE

Wirtspflanzenenerkennung der spezialisierten Mauerbiene *Osmia adunca*

Von HANNAH BURGER, Ulm

ZUSAMMENFASSUNG

Bienen orientieren sich an Blütensignalen wie Duft, Farbe oder Form, um verschiedene Blüten zu erkennen. Hier untersuchten wir, wie die spezialisierte (oligolektische) Bienenart *Osmia adunca* (Megachilidae), die ausschließlich auf *Echium*-Pollen (Boraginaceae) sammelt, ihre Wirtspflanze findet und erkennt. Wir bestimmten die Bedeutung von visuellen (hauptsächlich Farbe) und olfaktorischen Signalen von *Echium vulgare*-Blüten bei der Wirtspflanzenenerkennung für blütennaive und blüten erfahrene *O. adunca*-Weibchen. Außerdem analysierten wir Blütensignale (Duft, Farbe) verschiedener *Echium* Arten und *Anchusa officinalis*, um *Echium*-spezifische Merkmale aufzeigen zu können, die sich von einem *Anchusa*-Nicht-Wirt unterscheiden und als Erkennungssignal für *O. adunca* dienen könnten. Unsere Untersuchungen zeigten, dass das Zusammenspiel von visuellen und olfaktorischen Signalen von *E. vulgare*-Blüten entscheidend ist, damit die oligolektischen *O. adunca*-Bienen ihre Wirtspflanzen finden und erkennen. Wir vermuten, dass die blaue Farbe der Petalen auf mögliche Wirtspflanzen hinweist, die Bienen jedoch den *Echium*-spezifischen Duft nutzen, um ihre Wirtspflanzen zu erkennen.

Schlüsselwörter: Oligolektie, Wirtspflanzenenerkennung, Blütensignale, Duft, Farbe, *Osmia adunca*, *Echium*

ABSTRACT

Bees orientate on floral cues such as scent, colour or shape to recognise flowers. In this study we tested the host finding and recognition behaviour in a specialised (oligolectic) bee species, *Osmia adunca* (Megachilidae), which collects pollen exclusively on flowers of *Echium* (Boraginaceae) species. We determined the importance of visual (especially floral colour) and olfactory cues of *Echium vulgare* flowers for host plant recognition by foraging-naïve and -experienced *O. adunca* females. Furthermore, we analysed floral cues (scent, colour) of different *Echium* species and *A. officinalis* to reveal *Echium* specific cues that occur not in an *Anchusa* non-host and that could act as recognition cue for *O. adunca*. Our investigations showed that the interplay between visual and olfactory cues of *E. vulgare* flowers is essential for host plant finding and recognition by the oligolectic bee *O. adunca*. We assume that the blue colour of flowers alerts *O. adunca* females, however, the bees use *Echium* specific olfactory cues, to recognise their host plant.

Key words: oligolecty, host plant recognition, floral cues, scent, colour, *Osmia adunca*, *Echium*

EINLEITUNG

Zur Biologie von Wildbienen

Neben der Honigbiene gibt es in Deutschland noch ca. 550 Wildbienenarten. All diese Bienenarten nehmen eine wichtige Stellung im Naturhaushalt ein, da sie dafür sorgen, dass Blütenpflanzen bestäubt werden und sich Früchte und Samen bilden, die wiederum die Nahrungsgrundlage vieler anderer Tiere bilden (WESTRICH 1989). Gerade Wildbienen bestäuben aufgrund ihrer großen Artenfülle, ihrer weiten Verbreitung und ihrer vielfältigen Anpassungen zahlreiche Wild- und Nutzpflanzen. Mittlerweile wurde auch in der Landwirtschaft die Bedeutung von Wildbienen erkannt und sie werden inzwischen vielfach gezielt angesiedelt, um höhere Erträge zu erzielen. Viele Nutzpflanzen werden ausschließlich durch Wildbienen bestäubt, während die Honigbiene diese Pflanzen zwar besucht, jedoch nicht als effektiver Bestäuber fungiert. Dies ist oft auch bei einheimischen Apfelblüten der Fall. Trotz ihrer großen ökologischen Bedeutung ist die Biologie der meisten Wildbienenarten allerdings wenig untersucht.

Um das Vorkommen von Wildbienen zu sichern, müssen bestimmte Bedingungen für den Lebensraum erfüllt sein. Grundvoraussetzungen sind die Verfügbarkeit von Nahrungspflanzen, das Vorhandensein von Nistplätzen und Baumaterial sowie klimatische Bedingungen. Viele Wildbienenarten findet man an sonnigen Standorten, die eine große Fülle unterschiedlicher Blütenpflanzen aufweisen, wie Trockenrasen oder Naturgärten. Die meisten Arten nisten im Boden oder in vorgefundenen Hohlräumen. Es gibt aber auch Arten mit sehr spezifischen Ansprüchen, die ihre Nester z. B. aus Pflanzenharz bauen wie *Anthidium strigatum* (Harzbiene) oder sogar in leeren Schneckenhäusern nisten wie *Osmia bicolor* (Zweifarbige Mauerbiene) oder *Osmia aurulenta* (Schneckenhaus-Mauerbiene). Gute Nistmöglichkeiten finden Wildbienen auch in Sandgruben oder alten Häusern. Wenn man Wildbienen im eigenen Garten ansiedeln möchte, sollte man ebenfalls darauf achten, dass man ein hohes Blütenangebot über die gesamte Vegetationsperiode und unterschiedliche Kleinstrukturen für den Nestbau bereitstellt. Einige Arten lassen sich schnell in einer selbst gebastelten Nisthilfe aus Bambusröhren oder aus Hartholz, in das man Löcher mit unterschiedlichem Durchmesser gebohrt hat, ansiedeln. Die Nisthilfen sollten an gut besonnten Standorten angebracht werden.

Bienen besuchen Blüten hauptsächlich zum Nahrungserwerb. Ein Teil dient dabei der eigenen Versorgung, ein Großteil wird aber zur Ernährung der Brut gesammelt. Viele Blüten bieten ihren Bestäubern als Belohnung zuckerhaltigen Nektar an, der den Bienen als Energielieferant dient. Zusätzlich liefern alle Blütenpflanzen Pollen, der den Pflanzen zur Fortpflanzung dient. Für Bienen ist Pollen vor allem als Proteinquelle bei der Ernährung der Bienenlarven wichtig und wird nur in geringen Mengen zur Eigenversorgung aufgenommen.



Abb. 1. *Osmia adunca*-Weibchen an einer *Echium vulgare*-Infloreszenz.

Wirtspflanzenerkennung oligolektischer Bienen

In der mitteleuropäischen Bienenfauna sind knapp 30% der nestbauenden Arten oligolektisch (MÜLLER et al. 1997), d.h. dass die Weibchen Pollen von nur einer oder wenigen nah verwandten Pflanzengattungen sammeln (Pollenspezialisten). Dagegen nutzen polylektische Arten wie die Honigbiene zur Versorgung ihres Nachwuchses Pollenquellen von unterschiedlichen Pflanzenfamilien (Pollengeneralisten). Wie die meisten Wildbienenarten zeigen auch oligolektische Bienen eine solitäre Lebensweise. Dies bedeutet, dass jedes Weibchen eigenen Nachwuchs produziert und dass es nicht wie bei Honigbienen und Hummeln Staaten mit Königin und Arbeiterinnen gibt, die sich die Aufgaben von Fortpflanzung und Nahrungsbeschaffung teilen.

Da Solitärbienen meist nur eine Generation pro Jahr haben und wenige Wochen in einem bestimmten Zeitraum aktiv sind, stellt sich die Frage, wie frisch geschlüpfte Pollenspezialisten das erste Mal ihre Wirtspflanze finden und erkennen. Für eine Art, *Heriades truncorum* (Löcherbiene), konnte bereits gezeigt werden, dass die Erkennungsprozesse angeboren sind (PRAZ et al. 2008). Über die Signale, die von den Blüten ausgehen und die die Bienen zur Erkennung nutzen, ist allerdings wenig bekannt. Manche Bienen können olfaktorisch ihre Wirtspflanze von anderen Arten aufgrund des Blüten- oder Pollenduftes unterscheiden. Nur bei zwei Bienenarten, *Chelostoma florissomne* (Scherenbiene) und *Andrena vaga* (Weidensandbiene), wurden bisher Stoffe identifiziert, die bei der Wirtspflanzen-



Abb. 2. Untersuchte *Echium*-Arten (*E. vulgare*, *E. italicum*, *E. russicum*, *E. plantagineum*) und *Anchusa officinalis* als Vergleichsart.

findung der Bienen eine Rolle spielen (DOBSON u. BERGSTRÖM 2000; DÖTTERL et al. 2005). Bei all den anderen spezialistischen Bienen ist nicht bekannt, wie die Wirtspflanzen gefunden und erkannt werden, auch wenn angenommen wird, dass Blütenduft grundsätzlich eine große Bedeutung hat.

Die Mauerbiene *Osmia adunca* (Megachilidae) (Abb. 1) ist eng auf Natternkopf *Echium* (Boraginaceae) spezialisiert und stellt damit einen geeigneten Versuchsorganismus dar, um die Bedeutung von Blütensignalen zur Wirtspflanzenerkennung zu untersuchen. Da in Deutschland nur der zweijährige Gewöhnliche Natternkopf (*E. vulgare*) einheimisch ist, stellt dieser die einzige Pollen- und auch fast ausschließliche Nektarquelle für *O. adunca* dar. Falls weitere *Echium*-Arten (z.B. *E. plantagineum*, *E. italicum*, *E. russicum*) als Adventivpflanzen vorhanden sind, werden auch diese besucht (Abb. 2). Vermutlich besitzt die Gattung *Echium*-spezifische Blütensignale, die *O. adunca* nutzt, um ihre Wirtspflanzen zu erkennen und sie von anderen Arten zu unterscheiden. Wie bei anderen Oligolekten schon gezeigt wurde, spielt dabei wahrscheinlich der Blütenduft eine entscheidende Rolle. Da *O. adunca* zum Nektartrinken fast ausschließlich blaue Blüten, wie die nah zu *Echium* verwandte Ochsenzunge *Anchusa officinalis* (Boraginaceae) aufsucht, ist es möglich, dass auch die Farbe bei Wirtspflanzenfindung von Bedeutung ist.

MATERIAL UND METHODEN

Die Untersuchungen wurden an den Universitäten Ulm und Bayreuth im Jahr 2006 und 2008 durchgeführt. Die Versuchstiere und -pflanzen stammten aus dem Ökologisch-Botanischen Garten der Universität Bayreuth.

Verhaltensexperimente

Es wurden Verhaltensexperimente mit blütennaiven und blütenerfahrenen *O. adunca*-Weibchen durchgeführt, um die Rolle von visuellen und olfaktorischen Blütensignalen bei der Lokalisierung und Erkennung der Wirtspflanze zu ermitteln. Während der Experimente wurden ca. 50 verpaarte *O. adunca* Weibchen in einem Flugkäfig gehalten. Während der Versuchsreihe mit blütennaiven Tieren wurde den Bienen nur Zuckerwasser als Nahrungsquelle angeboten.

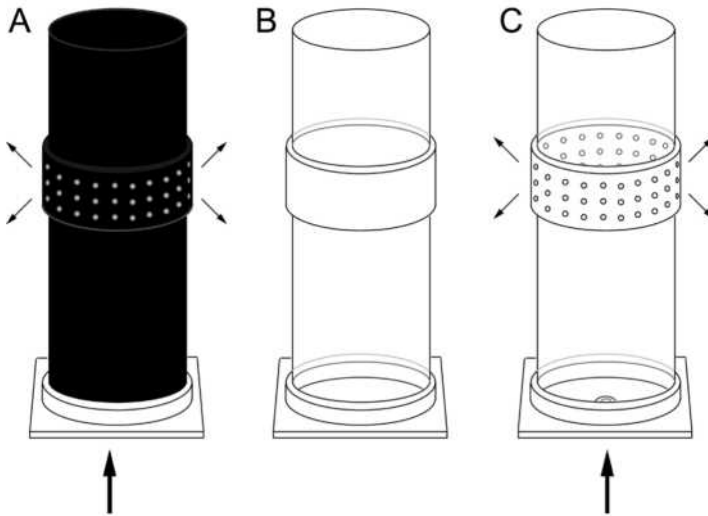


Abb. 3. Quarzglaszylinder für den Biotest „Attraktivität visueller und olfaktorischer Blütensignale“. Der Zylinder mit *E. vulgare*- oder *A. officinalis*-Blüten kann so manipuliert werden, dass die Bienen entweder nur den Duft (A), nur die Optik (B) oder eine Kombination aus beidem (C) wahrnehmen können. Die Pfeile zeigen die Richtung des Luftstroms an (aus BURGER et al. 2010a).

Der Flugkäfig (7,3 x 3,6 x 2,2 m) befand sich in einem belüfteten Glashaus im Ökologisch-Botanischen Garten der Universität Bayreuth. Für die Versuche wurden blühende Pflanzen mit einem UV-Licht-durchlässigen Quarzglaszylinder abgedeckt, den man entsprechend manipulieren kann, damit die Bienen die Blüten entweder nur riechen, nur sehen oder beide Sinneseindrücke wahrnehmen können (Abb. 3). Als Kontrolle diente ein leerer Zylinder. Den Bienen wurden für eine Dauer von 20 min jeweils zwei Zylinder im Wahlexperiment (*E. vulgare*: Kontrolle gegen Duft, Kontrolle gegen Optik, Optik gegen Optik + Duft; *E. vulgare* gegen *A. officinalis*: Optik, Optik + Duft) angeboten und die Anflüge registriert.

In weiteren Wahlexperimenten wurde die Rolle von speziellen Farbstimuli untersucht. Dabei wurden den Bienen gelbe und blaue Kunstblüten angeboten, die mit olfaktorischen Stimuli kombiniert werden konnten (Abb. 4). Die Blüten bestanden aus einer Papierscheibe mit 5 cm Durchmesser (HKS 3N oder HKS 47N Papier; Hostmann-Steinberg, K+E, Schmincke). Diese waren mit einem abgedeckten Glascontainer verbunden, in dem *E. vulgare* oder *A. officinalis*-Blüten positioniert werden konnten. Den Bienen wurde für eine Dauer von 20 min jeweils zwei Kunstblüten im Wahlexperiment (Kontrolle gegen gelb, Kontrolle gegen blau, gelb gegen gelb + Duft *E. vulgare*, blau gegen blau + Duft *E. vulgare*, blau gegen blau + Duft *A. officinalis*) angeboten und die Anflüge registriert.

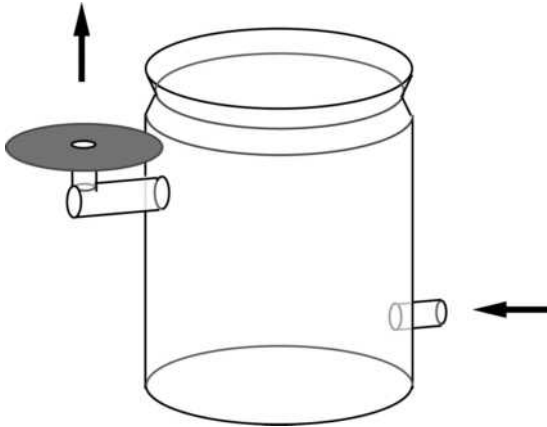


Abb. 4. Kunstblüte für den Biotest „Attraktivität von Farbstimuli“. Gelbe und blaue Farbstimuli aus Papier konnten mit olfaktorischen Stimuli von *E. vulgare* oder *A. officinalis* kombiniert werden. Dazu wurden Blüten in einen abgedeckten Glascontainer positioniert. Die Pfeile zeigen die Richtung des Luftstroms an (aus BURGER et al. 2010a).

Die statistische Auswertung erfolgte mit einem Chi²-Test (Statistica), bei dem die beobachteten Anflüge mit einem erwarteten Wert verglichen wurden, für den gleich viele Anflüge auf die Versuchsaufbauten angenommen wurde. Da es keinen signifikanten Unterschied nach dem exakten Fischertest im Verhalten blütennaiver und blütenerfahrener *H. adunca*-Weibchen gab, wurden die statistischen Vergleiche mit der absoluten Anzahl naiver und erfahrener Tiere durchgeführt.

Farbanalyse

Die Farbmuster und Farbkontraste auf den *Echium*- und *Anchusa*-Blüten (Abb. 5) wurden mit Hilfe von Messungen der spektralen Reflektion mit einem Spektrometer (Cary 5, Varian) analysiert. Die relative Reflektion verschiedener Blütenteile wurde im Vergleich zu einem Weißstandard (Bariumsulfat) über einen Wellenlängenbereich von 300 bis 700 nm aufgezeichnet. Es wurden von allen Arten folgende Blütenteile in dreifacher Ausfertigung gemessen: Pollen, Petalen, Blattoberseite. Aus den drei Messwiederholungen wurde der Mittelwert gebildet.

Sammeln der Duftproben

Blütenduftstoffe von *Echium* (*E. vulgare*, *E. plantagineum*, *E. italicum*) und *A. officinalis* wurden mittels Lösungsmittelextraktion gesammelt. Bei einer Lösungsmittelextraktion der Blüten erhält man neben volatilen Blütenduftstoffen auch z. B. schwererflüchtige Verbindungen wie Oberflächenwachse, die für die Bestäuberanlockung im Nahbereich eine Rolle spielen könnten. Von jeder Pflanzenart



Abb. 5. Blüten für die Farbanalyse (von links nach rechts): *E. vulgare*, *E. plantagineum*, *E. italicum*, *E. russicum*, *A. officinalis* (verändert nach BURGER et al. 2010b)

wurden drei bis fünf Petalen- und Pollenproben, bzw. von *A. officinalis* drei Ganzblütenproben von je 30 Blüten gesammelt. Diese wurden für 24 h bei Zimmertemperatur in Pentan extrahiert.

Elektrophysiologische Untersuchungen

Elektrophysiologische Methoden ermöglichen die Identifikation biologisch aktiver Substanzen innerhalb eines Duftbouquets. Mit Hilfe einer Kombination von Gaschromatographie und Elektroantennographie (GC-EAD) wurden elektrophysiologisch aktive Blütenduftstoffe in *Echium* mit Antennen von *O. adunca* identifiziert, um Hinweise auf mögliche Schlüsselsubstanzen für die Wirtspflanzenerkennung zu erhalten.

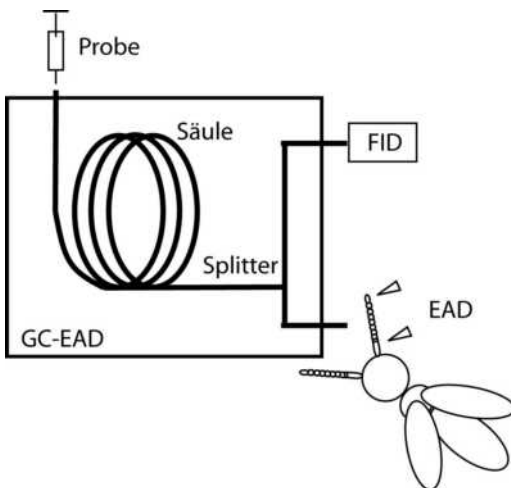


Abb. 6. Aufbau eines Gaschromatographen gekoppelt mit Elektroantennographie (GC-EAD).

Für die Durchführung von GC-EADs wurde ein Gaschromatograph (GC) verwendet, der zusätzlich zum Flammen-Ionisationsdetektor (FID) mit einem Elektroantennogramm-detektor (EAD) ausgestattet war (Abb. 6). Durch einen in der Säule eingebauten Splitter wurden die aufgetrennten Duftstoffe gleichzeitig zum FID und zu einer präparierten Antenne als biologischem Detektor geleitet. Wenn simultan zum FID-Signal ein EAD-Signal verzeichnet werden kann, bedeutet dies, dass die Substanz elektrophysiologisch aktiv ist, also von dem Insekt über Chemorezeptoren wahrgenommen wird.

Der Gaschromatograph (Vega 6000 Series 2, Carlo Erba, Rodano, Italien) enthielt eine ZB-5 Säule (30 m lang, 0,32 mm Innendurchmesser, 0,25 µm Filmdicke, Phenomenex). Als Träger- (1,8 ml/min) und Make-up-Gas (16 ml/min) wurde Helium verwendet. 1 µl der *Echium*-Proben wurde splittlos bei 60°C eingespritzt. Nach einer Minute wurde der Splitter geöffnet und der Ofen mit 10°C/min auf 300°C erhitzt. Die Endtemperatur wurde 5 min lang gehalten. Die Läufe wurden mit dem Programm GC/EAD32 Version 4.1 (Syntech Hilversum Niederlande, 2005) aufgezeichnet.

Chemische Analyse

Um Ähnlichkeiten und Unterschiede zwischen den Duftbouquets der untersuchten Arten auszumachen, wurden die Blütenextrakte qualitativ und quantitativ mit Hilfe eines Gaschromatographen analysiert. Zusätzlich wurden die GC-EAD-aktiven Substanzen durch Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (GC-MS) identifiziert.

Die Duftstoffproben wurden über einen Gaschromatographen aufgetrennt. Für die Analyse wurden Pollen- und Petalenextrakte der Arten *E. vulgare*, *E. plantagineum* und *E. italicum* und Ganzblütenextrakte von *A. officinalis* verwendet. 1 µl der Proben wurde splittlos bei 50°C in einen Gaschromatographen (HP 5890 Serie II) eingespritzt. Nach einer Minute wurde der Splitter geöffnet und der Ofen mit 10°C/min auf 310°C erhitzt. Die Endtemperatur wurde 93 min gehalten. Für die Analyse wurde eine unpolare DB-5 Säule (J&W, 30 m lang, 0,25 mm Innendurchmesser) und als Trägergas Wasserstoff verwendet (2 ml/min). Die Auswertung der Läufe erfolgte mit dem Programm ChemStation (Agilent Technologies). Um Ähnlichkeiten und Unterschiede im Duft der untersuchten Arten feststellen zu können, wurden Ähnlichkeitsanalysen mit elektrophysiologisch aktiven Substanzen mit dem Programm Primer 6.1.6 durchgeführt.

Die für GC-EADs verwendeten Extrakte wurden in einem Gaschromatographen (Varian Saturn 3800) gekoppelt mit einem Massenspektrometer (Varian Saturn 2000) analysiert. Dafür wurde 2 µl einer Probe injiziert und der Injektor wurde bei geöffnetem Splitter (1/20) auf 40°C aufgeheizt. Nach zwei Minuten wurde das Splitventil geschlossen und der Injektor innerhalb einer Minute auf eine Endtemperatur von 200°C gebracht, die für 4,2 min gehalten wurde. Danach wurde das Splitventil wieder geöffnet (1/10) und der Injektor kühlte ab.

Für die Analyse wurde eine ZB-5-Säule (5% Phenyl-Polysiloxane, 60 m lang, 0,25 mm Innendurchmesser, 0,25 µm Filmdicke, Phenomenex) und als Trägergas

Helium mit einem konstanten Fluss von 1,8 ml/min verwendet. Die Ofentemperatur des GCs wurde für sieben Minuten auf 40°C gehalten und dann mit einer Rate von 6°C/min auf 250°C erhöht und für eine Minute gehalten. Die Transferline hatte eine Temperatur von 260°C und die Ionenfalle arbeitete bei 175°C. Das Massenspektrum wurde mit einer Scangeschwindigkeit von 1 scan/s von m/z 30 bis m/z 350 im EI-Modus mit 70 eV aufgenommen.

Die Aufzeichnung und Auswertung der Läufe erfolgte mit dem Programm Saturn GC/MS Workstation Version 5.2.1 (1998 Varian). Die elektrophysiologisch aktiven Substanzen wurden mit der Massenspektrendatenbank NIST 02 und MassFinder 3.0 identifiziert und die Retentionszeiten mit bereits veröffentlichten Daten (Adams 1995) verglichen. Zusätzlich wurden die elektrophysiologisch aktiven Verbindungen in den *E. vulgare*-Proben an der TU Braunschweig von Stefan Schulz und Mitarbeitern durch GC-MS identifiziert.

ERGEBNISSE

Verhaltensexperimente

Blütennaive und blütenerfahrene *H. adunca*-Weibchen verhielten sich in allen Experimenten ähnlich (exakter Fischertest $P > 0,05$). Deshalb wurden die folgenden statistischen Vergleiche mit der absoluten Anzahl naiver und erfahrener Tiere durchgeführt. In Wahlexperimenten wurde die Attraktivität olfaktorischer und visueller Blütensignale von *E. vulgare* getestet (Abb. 7 A). Im Gegensatz zum Duft waren die visuellen Signale von *E. vulgare* und die Kombination aus Duft und Optik attraktiv. Allerdings zeigten die Bienen keine Präferenz für die Optik

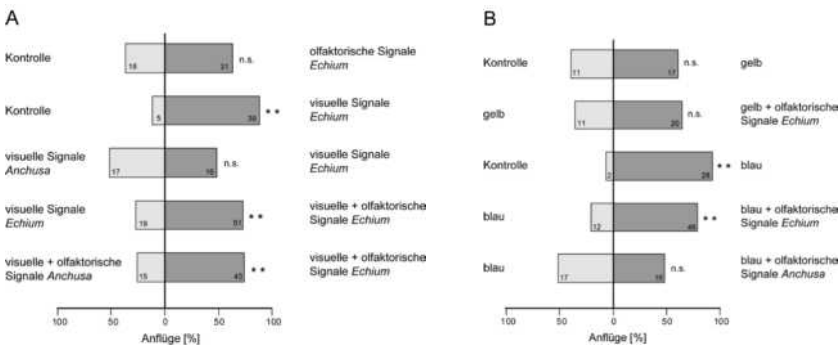


Abb. 7. Verhaltensexperimente zur Wirtspflanzenerkennung mit *O. adunca*-Weibchen. In Wahlexperimenten wurde die Attraktivität olfaktorischer und visueller Blütensignale von *E. vulgare* getestet (A). Weiterhin wurde die Rolle von speziellen Farbstimuli untersucht (B). Die Experimente wurden in einem großen Flugkäfig mit ca. 50 frei fliegenden Bienen durchgeführt. Für jeweils 20 min wurde die Anzahl angelockter Bienen registriert (Angabe Anzahl in Balken) und mit einem Chi²-Test verglichen (**: $P < 0,001$; n.s.: $P > 0,05$).

von *Echium* im Vergleich zu dem Nicht-Wirt *A. officinalis*. Die Wirtspflanze wurde erst bei der Kombination aus Optik und Duft bevorzugt. In weiteren Wahlexperimenten wurde die Rolle von speziellen Farbstimuli untersucht (Abb. 7 B). Dabei wurden den Bienen gelbe und blaue Kunstblüten angeboten, die mit olfaktorischen Stimuli kombiniert werden konnten. Gelbe Blüten, auch in Kombination mit dem Duft von *E. vulgare*, waren nicht attraktiv. Dagegen waren blaue Blüten und vor allem blaue Blüten mit dem Duft der Wirtspflanze hoch attraktiv. Wurde Blau mit dem Duft des Nicht-Wirts *A. officinalis* kombiniert, gab es keine Präferenz im Vergleich zu einer blauen Kunstblüte ohne Duft.

Farbmessungen

Die Petalen aller *Echium*-Arten und von *A. officinalis* wiesen ein Reflektionsmaximum im Blaubereich auf (Abb. 8 und 9). Da die allermeisten Hymenopteren keinen Rotrezeptor besitzen, wurde der Wellenlängenbereich ab 600 nm von den Betrachtungen ausgeschlossen. Eine weitere Gemeinsamkeit der *Echium*-Arten zeigte das Spektrum des Pollens. Dieser hob sich optisch vom Blütenrand ab, da Licht im UV-Bereich ausschließlich absorbiert wurde. Die Blätter zeigten eine erhöhte Reflektion im Grünbereich mit einem Maximum bei ca. 550 nm.

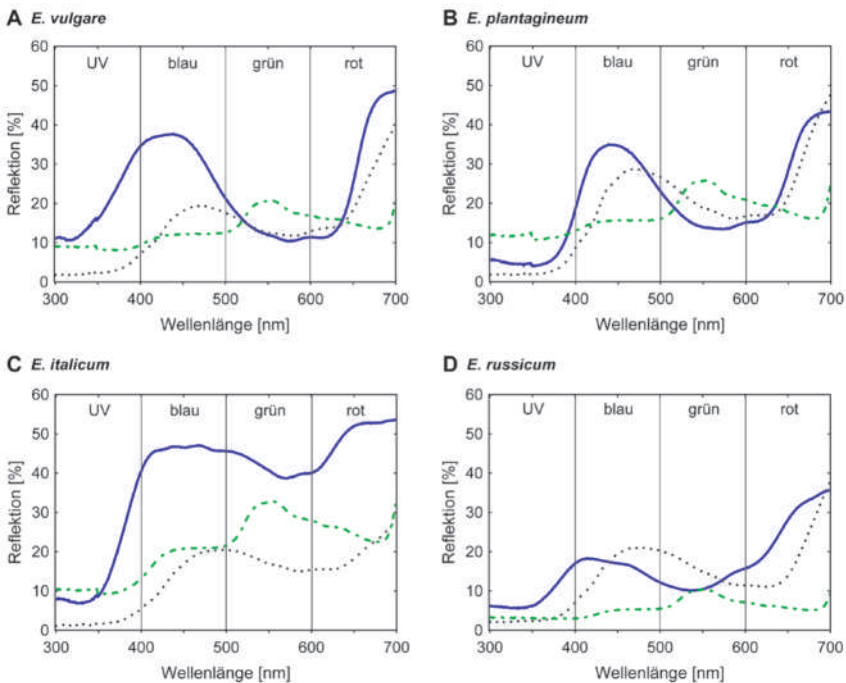


Abb. 8. Farbreflectionsspektren der *Echium*-Blüten (Pollen: gepunktete Linie; Petalen: durchgezogene Linie; Blattoberseite: gestrichelte Linie).

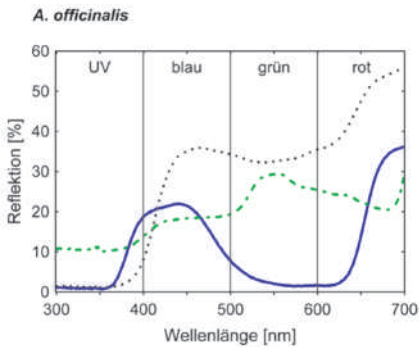


Abb. 9. Farbreflektionsspektrum der *A. officinalis*-Blüten (Pollen: gepunktete Linie; Petalen: durchgezogene Linie; Blattoberseite: gestrichelte Linie).

Chemische und elektrophysiologische Untersuchungen

In den Blütenextrakten von *E. vulgare* konnten durch GC-EAD-Analysen mit Antennen von *O. adunca* 16 elektrophysiologisch aktive Substanzen nachgewiesen werden (Abb. 10). Es konnten 14 der Substanzen durch GC-MS identifiziert werden. Die korrekte Identifizierung muss teilweise noch durch eine Synthese der Substanzen überprüft werden.

Zwischen dem Duftbouquet von *A. officinalis* und allen *Echium*-Proben gab es einen signifikanten Unterschied (ANOSIM (Gattung): $R = 0,812, P < 0,001$) (Abb. 11). *Echium plantagineum*, *E. vulgare* und *E. italicum* wiesen artspezifische Duftbouquets auf (two-way ANOSIM (*Echium*-Art (Organ)): $R = 0,662, P < 0,001$).

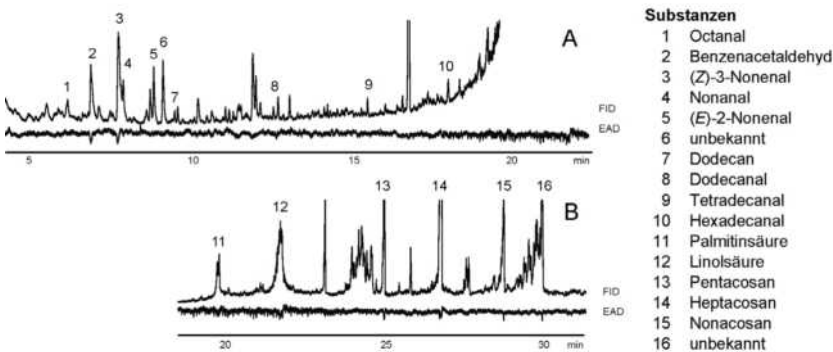


Abb. 10. GC-EAD eines *E. vulgare*-Ganzblütenextrakts (leicht- (A) und schwererflüchtiger (B) Bereich). Die Messung wurde mit einer Antenne eines *O. adunca* Weibchen durchgeführt. Es konnten 16 aktive Substanzen nachgewiesen werden. Wenn simultan zu einer detektierten Substanz (FID) ein Signal der Antenne (EAD) verzeichnet wird, bedeutet dies, dass die Biene diese Substanz wahrnehmen kann.

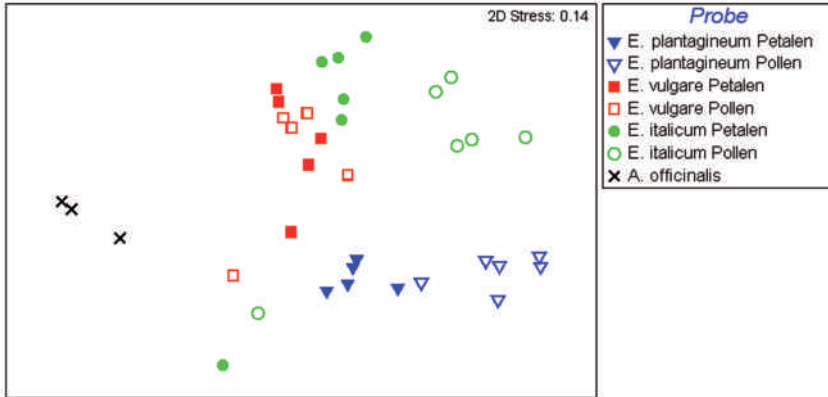


Abb. 11. Vergleich der aktiven Substanzen der Pentanextrakte der *Echium*-Arten und von *A. officinalis* mittels einer Ähnlichkeitsanalyse (Bray-Curtis-Index).

Außerdem unterschied sich das Bouquet der Petalen und des Pollen signifikant zwischen den *Echium*-Arten (ANOSIM Petalen: $R = 0,653$, $P < 0,001$; Pollen: $R = 0,719$, $P < 0,001$).

DISKUSSION

Osmia adunca-Weibchen finden und erkennen ihre Wirtspflanzen an visuellen wie auch olfaktorischen Signalen der *E. vulgare*-Infloreszenzen (BURGER et al. 2010a) (Abb. 12). Wahrscheinlich orientieren sich die Bienen auf der Suche nach ihren Wirtspflanzen zuerst an visuellen Merkmalen der Blüten und fliegen potentielle Wirtspflanzen an. Die Pflanze wird schließlich aber am Duft aus kurzer Entfernung erkannt. Duft alleine reichte allerdings nicht aus, eine Kombination aus visuellen und olfaktorischen Signalen war notwendig, um die Bienen anzulocken.

Die Verhaltensexperimente mit Kunstblüten haben gezeigt, dass Farbe ein entscheidender Stimulus beim Auffinden von Wirtspflanzen ist (BURGER et al. 2010a). Unabhängig ob Blütenduft der Wirtspflanze vorhanden war oder nicht, waren ausschließlich blaue und keine gelben Blüten attraktiv für *O. adunca*. Da die Petalen aller *Echium*-Arten ein Reflektionsmaximum im Blaubereich aufwiesen, könnte die Farbe der Blütenblätter ein gemeinsames Merkmal von *Echium* sein (BURGER et al. 2010b). Ein ähnliches Farbspektrum zeigte allerdings auch *A. officinalis*. Es scheint, dass blaue Blüten hoch attraktiv für *O. adunca* sind, allerdings nutzten die Bienen die Farbe der Blütenblätter nicht, um zwischen ihren Wirtspflanzen und einem *Anchusa*-Nicht-Wirt zu unterscheiden. Dies zeigt, dass das Farbspektrum der Blüten kein spezifisches Merkmal für *Echium* ist und nicht als Erkennungssignal dient, zum Auffinden der Wirtspflanzen aber eine entscheidende Rolle spielt.

Neben visuellen Signalen ist Blütenduft ein wichtiges Merkmal in der Interaktion zwischen *Echium* und *O. adunca*. Anhand der olfaktorischen Signale erkennen



Abb. 12. *Osmia adunca*-Weibchen im Anflug an eine *Echium*-Blüte.

O. adunca-Weibchen ihre Wirtspflanzen. Der Duftvergleich verschiedener *Echium*-Arten mit einer nahverwandten *Anchusa*-Art hat gezeigt, dass *Echium* ein gattungsspezifisches Bouquet besitzt, das als Erkennungssignal dienen könnte (BURGER et al. 2008; 2010b). Die identifizierten Duftstoffe sind größtenteils häufig nachgewiesene Blütenduftstoffe (KNUDSEN et al. 2006). Dazu gehören Benzenacetaldehyd oder Nonanal. Für diese Substanzen ist es zwar unwahrscheinlich, dass sie als hochspezifische Erkennungssignale dienen, allerdings können Variationen in den relativen Verhältnissen eine Vielzahl an artspezifischen Duftbouquets hervorbringen.

Durch die Verhaltensexperimente konnte aber nicht gezeigt werden, ob sich *O. adunca* am komplexen Duftbouquet oder an ein oder wenigen spezifischen Einzelsubstanzen orientiert. Unter den elektrophysiologisch aktiven Verbindungen konnte (*Z*)-3-Nonenal als eine als Blütenduftstoff unbekannt Substanz identifiziert werden (KNUDSEN et al. 2006). Diese ist möglicherweise ein wichtiges Erkennungsmerkmal für naive *O. adunca*-Weibchen. Solch eine spezifische Substanz wäre von großem Vorteil für frisch geschlüpfte Weibchen, um möglichst schnell die eigene Wirtspflanze unter einem breiten Blütenangebot zu finden. Einzelsubstanzen aus dem Duft der jeweiligen Wirtspflanzen wurden in anderen oligolektischen Arten bereits auf ihre Attraktivität überprüft. Protoanemonin wirkt anlockend auf *Chelostoma florissomne*, die auf *Ranunculus* spezialisiert ist (DOBSON U. BERGSTRÖM 2000). *Andrena vaga*, oligolektisch auf Weiden, konnte ebenfalls mit einer einzelnen Verbindung, dem 1,4-Dimethoxybenzen, angelockt werden (DÖTTERL et al. 2005). Da diese beiden Duftkomponenten aber auch in Nicht-Wirtspflanzen vorkommen können, sind für eine vollständige Erkennung vermutlich mehrere Blütenmerkmale involviert (DÖTTERL U. VERECKEN 2010). Für *O. adunca* könnte dies die blaue Blütenfarbe sein und weitere seltene Verbindungen wie (*E*)-2-Nonenal. Diese findet man zwar auch in anderen Blütenpflanzen, könnten aber in Kombination spezifisch für die Gattung *Echium* sein. In weiteren Experimenten muss nun die Bedeutung der einzelnen identifizierten Duftstoffe für *O. adunca* untersucht werden.

Zusammenfassend konnte ich zeigen, dass *O. adunca*-Weibchen sich vor allem an der blauen Blütenfarbe orientieren, um mögliche Wirtspflanzen zu finden. Entscheidend für die Erkennung von *Echium* ist allerdings der spezielle Blütenduft, der zusätzlich zu den visuellen Signalen vorhanden sein muss.

DANKSAGUNG

Herzlichen Dank an Herrn Walter Schall und die Gesellschaft für Naturkunde in Württemberg für die Unterstützung meiner Arbeit durch die Verleihung des Walter-Schall-Preises. Außerdem bedanke ich mich bei Manfred Ayasse und Stefan Dötterl für die sehr gute Betreuung.

LITERATURVERZEICHNIS

- BURGER, H., S. DÖTTERL u. M. AYASSE (2008): Importance of olfactory and visual cues of *Echium* for host-plant finding of the oligolectic bee *Osmia adunca* (Megachilidae). – Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie, 16: 163–166.
- BURGER, H., S. DÖTTERL u. M. AYASSE (2010a): Host plant finding and recognition by visual and olfactory floral cues in an oligolectic bee. – Functional Ecology. doi:10.1111/j.1365-2435.2010.01744.x
- BURGER, H., C.M. HÄBERLEIN, S. SCHULZ, M. AYASSE u. S. DÖTTERL (2010b): *Echium* and *Pontechium* specific floral cues for host-plant recognition by the oligolectic bee *Hoplitis adunca*. – South African Journal of Botany, 76: 788–795.
- DOBSON, H.E.M. u. G. BERGSTRÖM (2000): The ecology and evolution of pollen odors. – Plant Systematics & Evolution, 222: 63–87.
- DÖTTERL, S., U. FÜSSEL, A. JÜRGENS u. G. AAS (2005): 1,4-Dimethoxybenzene, a floral scent compound in willows that attracts an oligolectic bee. – Journal of Chemical Ecology, 31: 2993–2998.
- DÖTTERL, S. u. N.J. VEREECKEN (2010): The chemical ecology and evolution of bee-flower interactions: a review and perspectives. – Canadian Journal of Zoology, 88: 668–697.
- KNUDSEN, J.T., R. ERIKSSON, J. GERSHENZON, u. B. STAHL (2006): Diversity and distribution of floral scent. – Botanical Review 72: 1–120.
- MÜLLER, A., A. KREBS u. F. AMIET (1997): Bienen: Mitteleuropäische Gattung, Lebensweise, Beobachtung. 384 S.; Augsburg (Naturbuch Verlag).
- PAZ, C.J., A. MÜLLER u. S. DORN (2008): Host recognition in a pollen-specialist bee: evidence for a genetic basis. – Apidologie, 39: 547–557.
- WESTRICH, P. (1989) Die Wildbienen Baden-Württembergs. Stuttgart (Eugen Ulmer).

Anschrift der Verfasserin:

HANNAH BURGER

Institut für Experimentelle Ökologie

Universität Ulm

Albert-Einstein-Allee 11

89069 Ulm

Email: hannah.burger@uni-ulm.de