

Sag's durch die Blume: Evolution des Parfümsammelns der Prachtbienen (Euglossini)

Flowery Messages: Evolution of Perfume Collection in Orchid Bees (Euglossini)

THOMAS ELTZ

Zusammenfassung: Pflanzliche Sekundärstoffe haben vielfach unabhängig Einzug in die chemische Kommunikation von Insekten gehalten, vermutlich weil es auf Seiten der Signalempfänger Präferenzen für pflanzliche Gerüche/Inhaltsstoffe gibt. Die Männchen der neuweltlichen Prachtbienen (Apidae: Euglossini) signalisieren mit komplexen Parfüms, deren Komponenten sie von unterschiedlichen Quellen in ihrer Umwelt sammeln und in speziellen Hinterbeintaschen kombinieren. Duftquellen sind u. a. die Blüten vieler „euglossophiler“ Orchideen, die ihre Düfte speziell zur Anlockung der Prachtbienenmännchen abgeben und von diesen hochspezifisch bestäubt werden. Während die Interaktion von Seiten der Orchideen bereits recht gut verstanden ist, wirft das Duftstoffsammeln der Bienenmännchen nach wie vor zahlreiche Fragen auf. Hier stelle ich die Fortschritte bei der Erforschung der Parfümbiologie der Euglossini dar, diskutiere den evolutiven Ursprung des Parfümsammelns und bespreche wahrscheinliche Selektionsdrücke, unter denen das Parfümsammelverhalten der Männchen stand bzw. heute noch steht.

Schlüsselwörter: Duftstoff, Pheromon, Duftmarke, chemische Kommunikation, Enfleurage

Summary: Plant secondary compounds have found their way into the chemical communication systems of many insects, presumably because of pre-existing preferences for plant odors/compounds on the side of the receiver. Male neotropical orchid bees (Apidae: Euglossini) signal with environmental odors (perfumes), which they collect from flowers and other sources and accumulate in special pockets on their hind legs. Euglossophilous orchids are famous odor sources, producing scents that specifically attract males of certain orchid bee species as pollinators. Whereas the orchid/orchid bee interaction is relatively well understood from an orchid's perspective, many uncertainties remain with regard to the bees. Here I give an account of the advances that have been made during the last years in disentangling euglossine perfume biology, discuss the possible evolutionary origins of male perfume collecting, and outline selective pressures that are likely to shape perfume signals.

Key words: fragrance, pheromone, scent-marking, chemical communication, enfleurage

1. Einleitung

Gerüche sind wichtige Informationsträger bei der Kommunikation von Bienen, speziell im Rahmen der Partnerfindung und -werbung. Die relevanten Chemikalien werden gewöhnlich von unterschiedlichen exokrinen Drüsen in Kopf, Thorax (inkl. den Extremitäten) oder Abdomen produziert

und entweder von Männchen, Weibchen oder von beiden Geschlechtern freigesetzt (AYASSE et al. 2001). Eine der am weitesten verbreiteten Strategien der Partnerfindung von Bienen ist die Duftmarkierung („scent marking“), bei der männliche Bienen relativ schwerflüchtige Pheromone in ihren Balzterritorien oder an Landmarken entlang von regulären Flugstrecken deponieren, um so

die Aufmerksamkeit unverpaarter, weiblicher Artgenossen zu erregen. Duftmarkierung ist z. B. bei den mit den Prachtbienen eng verwandten Hummeln (Bombini) die Regel, deren Männchen ölige Sekrete aus ihren kopfständigen Labialdrüsen zur Markierung verwenden (GOULSON 2003). Die neotropischen Prachtbienen (Euglossini) zeigen dagegen eine zunächst nicht homolog erscheinende, höchst ungewöhnliche Form der chemischen Kommunikation: Männchen signalisieren ihre Paarungsbereitschaft mit Düften, die sie nicht selbst herstellen, sondern in ihrer Umwelt aufsammeln. Diese Düfte, die sowohl von floralen wie nicht-floralen Quellen stammen, werden zunächst in voluminösen Taschen auf den Hintertibien der Männchen eingelagert, wo sich ein komplexes Parfüm anreichert (VOGEL 1966; ELTZ et al. 2005a), das schließlich während eines charakteristischen Balzverhaltens wieder freigesetzt wird (ELTZ et al. 2005b). Das Parfümsammeln der Prachtbienenmännchen ist Grundlage des sog. Parfümblumen-Bestäubungssyndroms, dem mehrere hundert neotropische Orchideen- und andere Blütenpflanzenarten angehören. Diese sind allesamt durch Blütendüfte gekennzeichnet, die speziell die duftsuchenden Prachtbienenmännchen anlocken, ihre einzigen, obligaten und offensichtlich sehr verlässlichen Bestäuber (WILLIAMS & DODSON 1972; WILLIAMS 1982; WILLIAMS & WHITTEN 1983). Die Evolution des Parfümsammelns sowie die Evolution der Parfümsignale männlicher Prachtbienen ist Gegenstand dieses Artikels. Ich werde im Folgenden zunächst einige Grundlagen für die Interpretation des Verhaltens des Parfümsammelns besprechen, dann die möglichen Ursprünge des Parfümsammelns erörtern und zuletzt die Selektionsdrücke diskutieren, unter denen das Verhalten des Parfümsammelns heute stehen könnte. Ich greife dabei vor allem auf Arbeiten der letzten fünf Jahre zurück, die meinen früheren Übersichtsartikel (ELTZ 2003) ergänzen.

2. Grundlagen

Bis vor wenigen Jahren war ungewiss, ob die angesammelten Chemikalien der Prachtbienenmännchen überhaupt als Kommunikationssignale Verwendung finden. Alternativ zur Signalfunktion wurde vor allem eine Funktion im Rahmen der Feindabwehr diskutiert, wobei sowohl ein chemischer Schutz des parfümtragenden Männchens selbst als auch ein Schutz der Brut vor Mikroben nach erfolgter Übergabe an das Weibchen für möglich gehalten wurde (ROUBIK 1989). Für eine Übergabe der Substanzen an die Weibchen gab und gibt es nicht die geringsten Anhaltspunkte, wohl aber einige Argumente dagegen, z. B. das vollkommene Fehlen von „aufnehmenden“ Strukturen auf Seiten der Weibchen. Ein Schutz der Männchen selbst vor Beutegreifern erscheint aufgrund der toxischen Natur mancher Parfüminhaltsstoffe grundsätzlich möglich, jedoch ist ein solcher als primäre Ursache des Parfümsammelns unwahrscheinlich. Mittlerweile hat die Einschätzung, dass chemische Kommunikation die primäre Ursache des Parfümsammelns ist, empirische Unterstützung erhalten. Männchen zeigten im Rahmen ihres Balzverhaltens eine repetitive Beinbewegung, die zum Freisetzen des Parfüms aus den Hinterbeintaschen führt (ELTZ et al. 2005b), ein Vorgang, der nur im Kontext der Duftkommunikation Sinn macht. Diese Beinbewegung führten die Prachtbienenmännchen während ihres charakteristischen Schauverhaltens („display“) aus, das im Freiland ortstreu und ausdauernd (z. T. über Wochen hinweg) an vertikalen Sitzwarten („perches“) vor Paarungen ausgeführt wird (Abb. 1) (KIMSEY 1980; STERN 1991). Ein Video der Beinbewegung findet sich im Internet unter <http://www.biologie.uni-duesseldorf.de/Institute/Sinnesoekologie/Chemical-Ecology-of-Bees>. Die Duftfreisetzung erfolgt unter Zuhilfenahme spezieller Haarstrukturen an den Hinter- und Mittelbeinen männlicher Prachtbienen, die bislang keine funktionelle Erklärung hatten



Abb. 1: Männchen von *Euglossa viridissima* im Schwebflug während des Schauverhaltens an seiner Sitzwarte in einem Flugkäfig. Während der Schwebflugphasen werden immer wieder charakteristische Beinbewegungen durchgeführt (auf diesem Bild nicht zu sehen), die der Freisetzung des Parfüms aus den Hinterbeintaschen dienen. Das Tier trägt eine Farbmarkierung auf dem Abdomen.

Fig. 1: Male of *Euglossa viridissima* hovering near its perch during display. While hovering males perform repetitive leg movements (not seen here) that result in the exposure of perfumes from the hind leg pouch. The bee carries a paint mark on the metasoma.

(ELTZ et al. 2005b) und involviert zudem die sehr groß ausgebildeten Jugalkämme an den Hinterflügeln, die vermutlich dem Ventilieren oder gar dem Verspritzen des Parfüms dienen (BEMBÉ 2004). Die Parfümfreisetzung an einem Ort, den die Männchen ausschließlich zum Zweck der Partnerwerbung aufsuchen, ist ein starker, obgleich indirekter Hinweis auf eine Kommunikationsfunktion der Parfüme. Die Beinbewegungen wurden mittlerweile bei Männchen mehrerer Arten der Gattung *Euglossa* und *Eulaema*, sowie bei *Exaerete frontalis* beobachtet (T. ELTZ, pers. Beob.). Die Tatsache, dass alle Prachtbienenmännchen die speziellen Haarstrukturen besitzen, legt nahe, dass die Duftfreisetzung beim „display“ ein ursprüngliches Merkmal aller Euglossini ist.

Als Adressaten der Parfümsignale kommen in erster Linie die Weibchen in Frage, deren Interesse am männlichen Duft jedoch noch immer nicht belegt ist. Verhaltenstests mit Extrakten der Hintertibien verschiedenster Arten lockten in keinem einzigen Fall Weibchen an (T. ELTZ, unveröffentlicht; D. W. ROUBIK, pers. Mtlg.). Selbst als die Extrakte zweier *Eulaema*-Arten an natürlichen Ansitzwarten, also am Ort der Parfümfreisetzung, exponiert wurden, kamen ausschließlich andere Männchen angefliegen (ZIMMERMANN et al. 2006). Die ausbleibende Anlockung weiblicher Prachtbienen zum männlichen Parfüm lässt Zweifel an einer Lockstofffunktion der Parfüme im Paarungskontext fortbestehen, schließt eine solche jedoch in keinem Falle aus. Folgende Faktoren machen den direkten

Nachweis der Lockwirkung des Parfüms auf Weibchen grundsätzlich schwierig:

- (1) Prachtbienenweibchen paaren sich nur ein einziges Mal im Laufe ihres zwei- bis sechsmonatigen Lebens (ZIMMERMANN et al. 2009b) und haben vermutlich nur während eines kurzen Zeitfensters Interesse am männlichen Parfüm. Dieser Umstand macht Extraktversuche grundsätzlich zu einer ereignisarmen und langwierigen Angelegenheit.
- (2) Bienenweibchen reagieren im Unterschied zu anderen Insekten, z. B. männlichen Nachtfaltern, sehr kontextsensibel auf chemische Stimuli. Das bedeutet, dass ein chemisches Signal ohne seinen natürlichen visuellen und verhaltensbiologischen Kontext (das balzende Männchen) vielleicht gar nicht zu registrierbaren Annäherungen führt.

Ein ähnlich begründbarer Beweismangel besteht bei den nah verwandten Hummeln, bei denen die weithin akzeptierte Lockfunktion der Labialdrüsensekrete auf Jungköniginnen bislang ebenfalls nicht experimentell bestätigt werden konnte. Ähnlich zur Situation bei den Prachtbienen wurden bei Verhaltenstests ausschließlich Männchen angelockt, die mit Labialdrüsenextrakt imprägnierte Objekte inspizierten und in ihre Flugbahnen einbezogen (FREE 1987; KULLENBERG 1973). Wie Prachtbienenweibchen verpaaren sich die Jungköniginnen der meisten Hummelarten nur ein einziges Mal; Paarungen werden im Freiland sehr selten beobachtet. Vermutlich reagieren bei Hummeln wie Prachtbienen beide Geschlechter auf die jeweiligen männlichen Signale, wobei die weibliche Reaktion aufgrund der viel selteneren Ereignisse in beiden Gruppen bislang unbelegt geblieben ist.

3. Ursprung des Parfümsammelns

Obwohl das Duftmarkieren männlicher Hummeln und die Parfümanipulationen männlicher Prachtbienen auf den ersten Blick

kaum Ähnlichkeiten aufweisen, so gibt es doch einige strukturelle, chemische und verhaltensbiologische Gemeinsamkeiten, die auf Homologie der beiden Verhaltensweisen hindeuten. Die genauen verwandschaftlichen Beziehungen innerhalb der corbiculaten Apinae, bestehend aus Honigbienen (Apini), stachellosen Bienen (Meliponini), Hummeln (Bombini) und Prachtbienen (Euglossini), sind leider immer noch unklar. Fast jeder denkbare Stammbaum wurde im Laufe der Jahre vorgeschlagen, wobei die Euglossini ihren Platz als basale Außen- gruppe der anderen Tribus, als Schwester- gruppe der Hummeln, Schwestergruppe der Honigbienen oder als Schwestergruppe von Hummeln und Honigbienen fanden (KAWAKITA et al. 2008). Mit großer Sicherheit ist die Gruppe der corbiculaten Apinae monophyletisch. Die Schwierigkeit, den Stammbaum weiter aufzulösen, rührt u. a. daher, dass die Aufspaltung in die vier Taxa wohl innerhalb eines kurzen Zeitfensters vor vergleichsweise langer Zeit stattfand. Der Zeitpunkt dieser Radiation, und damit der Ursprung aktiven Parfümsammelns männlicher Prachtbienen, dürfte irgendwann zwischen der späten Kreidezeit (vor ~80 Mio Jahren) und dem mittleren Miozän (vor 45 Mio Jahren) liegen (ENGEL 2001; ELTZ et al. 2007).

In der Paarungsbiologie unterscheiden sich heutige Vertreter der vier Gruppen in vieler Hinsicht, weisen aber auch eine auffällige Gemeinsamkeit auf: In allen vier Gruppen suchen die Weibchen zur Paarung aktiv die Männchen auf, die sich hierfür an besonderen Orten aufhalten, die keinerlei Nahrungsressourcen beherbergen. Bei Honigbienen sind das die sog. Drohnensammelplätze („drone congregation areas“), die mitunter über Jahre hinweg Bestand haben. Auch bei stachellosen Bienen findet man Aggregationen von Männchen, die sich oft in der Nähe von Nestern bilden (SOMMEIJER & DEBRUIJN 1995; LOPEZ & KRAUS 2009). Bei Hummeln wiederum gibt es Arten, deren Männchen

individuelle Paarungsterritorien („mating territories“) besetzen, und andere, deren Männchen auf weitläufigen Schwarmbahnen patrouillieren (GOULSON 2003). Das Verhalten der Prachtbienen scheint am stärksten dem der „territorialen“ Hummeln zu ähneln, da auch hier die Männchen zunächst individuell ressourcenfreie Paarungsterritorien beziehen, in denen das oben erwähnte Schauverhalten und die Parfümfreisetzung stattfinden. Allerdings sind diese Territorien nicht selten räumlich aggregiert, z.B. auf Hügelkuppen oder im lichten Umfeld größerer Bestandslücken, so dass es regelmäßig zu Interaktionen zwischen Männchen kommt. In einer mehrmonatigen Studie mit individuell markierten Männchen beobachtete STERN (1991), dass einige Männchen über Wochen hinweg dieselben Balzterritorien aufsuchten und erfolgreich verteidigten („residents“), während andere als regelmäßige Durchzügler („transients“) auffielen, die im Untersuchungsgebiet kein Territorium etablierten und kein Schauverhalten zeigten. Es ist strittig, ob es sich bei den aggregierten Territorien der Prachtbienenmännchen um Leks (Balzarenen) handelt. Gegen obligate Leks spricht, dass die räumliche geklumpfte Anwesenheit mehrerer Territorien auch die Konsequenz einer besonders geeigneten Örtlichkeit sein könnten (siehe KIMSEY 1980). Zudem ist zu betonen, dass Männchen bestimmter Arten (*Euglossa imperialis*, *Eulaema meriana*, *E. bombiformis*) auch allein dauerhaftes Schauverhalten zeigen und Paarungen bisher sogar ausschließlich in solchen Situationen beobachtet wurden (KIMSEY 1980; ZIMMERMANN et al. 2006).

Bislang ist für keine der vier corbiculaten Biengruppen mit Sicherheit geklärt, durch welchen Mechanismus Weibchen die paarungsbereiten Männchen finden. Chemische Stimuli in Form männlicher Lockstoffe sind bei Honigbienen und stachellosen Bienen möglicherweise (LENSKY et al. 1985; SOMMEIJER & DEBRUIJN 1995), bei Hummeln und Prachtbienen wahrscheinlich involviert (s. o.). Das Duftmarkieren männlicher Hummeln ist

ein auffälliges Verhalten, das an zahlreichen territorialen und Schwarmbahnen formenden Arten beobachtet wurde. Die Männchen dieser Arten besitzen stark entwickelte Labialdrüsen, die große Mengen des Markierungsssekrets produzieren, sowie spezielle Haarbüschel am Unterrand der Mandibel, mit denen das Sekret auf bestimmte Objekte, z. B. Baumstämme, Zaunpfähle, Zweige, Blätter, Grashalme etc., aufgetragen wird. Beim Markieren geraten die Männchen oft in sehr engen Kontakt mit der Oberfläche und beschmieren sich auch selbst mit ihrem Sekret (s. GOULSON 2003).

Während des Schauverhaltens männlicher Prachtbienen findet dagegen kein deutlich erkennbares Markierungsverhalten statt. Der Kontakt zur Ansitzwarte ist minimal und beschränkt sich auf Berührungen durch die Tarsen der Vorder- und Hinterbeine, die den Körper auf größtmöglichen Abstand halten (KIMSEY 1980; STERN & DUDLEY 1991; ELTZ et al. 2003; ELTZ et al. 2005b). Die Parfümfreisetzung findet bei *Euglossa* spp. während der kurzen Schwebflugphasen des Schauverhaltens statt; es fehlt jede offensichtliche Parfümdeposition auf der Ansitzwarte. Trotzdem besitzen männliche Prachtbienen kopfständige Labialdrüsen, die an relativer Größe und Volumen denen von Hummelmännchen nicht nachstehen (Abb. 2). Das Sekret dieser Drüsen besteht überwiegend aus langkettigen Kohlenwasserstoffen, Estern, Alkoholen und Acetaten (WILLIAMS & WHITTEN 1983) und wird beim Duftstoff sammeln eingesetzt. Männchen spucken große Mengen davon auf Oberflächen, die einen für sie attraktiven Duft abgeben, wobei das ölige Sekret als Lösungs- und Trägermittel für die flüchtigen Duftstoffe dient (WHITTEN et al. 1989; WHITTEN et al. 1993; ELTZ et al. 2007; Abb. 3). Beim Sammeln gelangt also in Wirklichkeit ein leicht mit exogenem Duft angereichertes Labialdrüsensekret in die Hinterbeintaschen, dessen Sekretanteil allerdings im Laufe von Stunden bis Tagen wieder zurückgewonnen wird. Dies konnten wir mit Hilfe

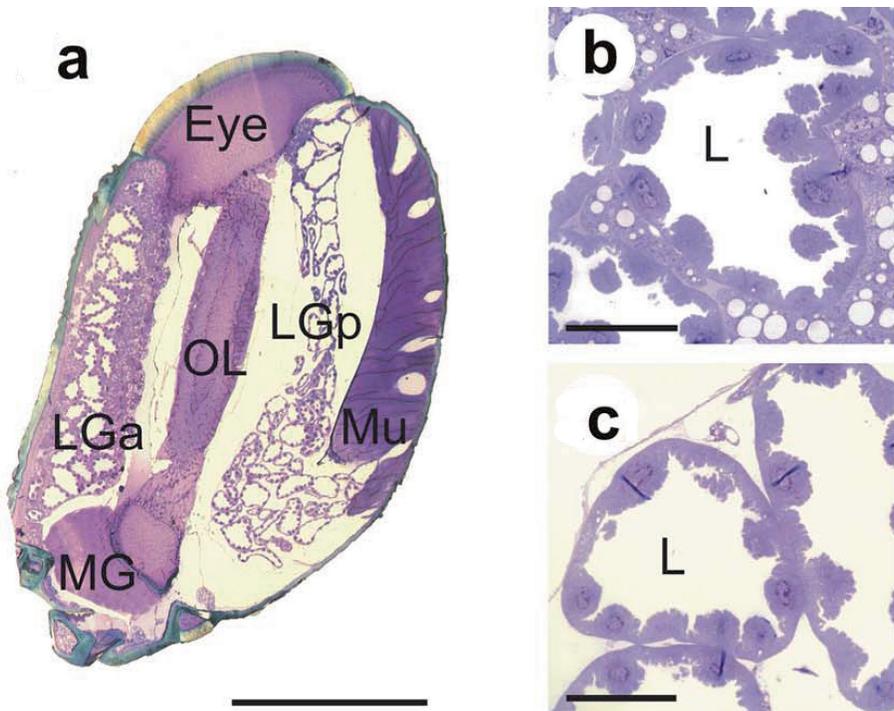


Abb. 2: Position und Struktur der kopfständigen Labialdrüsen eines Männchens von *Englossa viridissima*. (a) Sagitaler Semidünnschnitt des Kopfes. Die Drüse nimmt einen großen Teil des Raumes um das Hirn ein und ist in einen vorderen Teil (LGa) unterhalb des Clypeus und einen hinteren Teil (LGp) hinter den Augen (Eye) und optischen Loben (OL) gegliedert. LGa (b) und LGp (c) sind aus Acini aufgebaut, die von einem einschichtigen Drüsenepithel gebildet werden, und im Falle des LGa von Fettkörperzellen umgeben sind. Größenskala ist 1mm in (a) und 50 µm in (b) und (c). MG=Mandibeldrüse, Mu=Muskel; verändert aus ELTZ et al. (2007).

Fig. 2: Position in the head and structure of the cephalic labial gland of a male *Englossa viridissima*. (a) Sagital semi-thin section of head. The gland fills much of the space around the brain and is divided into an anterior part under the malar area (LGA) and a posterior part (LGp) behind the eyes and optical lobe (OL). Both parts consist of acini formed by a single layer of glandular cells (b, c), surrounded by fat body cells in the case of LGA (b). Scale bars are 1mm in (a), 50 µm in (b) and (c). MG=Mandibular gland, Mu=Muscle; modified from ELTZ et al. (2007).

deuteriummarkierter, synthetischer Komponenten zeigen, die im Käfig gehaltenen Prachtbienenmännchen (*Englossa viridissima*) direkt in die Hinterbeintaschen appliziert wurden (ELTZ et al. 2007). Alle langkettigen, den natürlichen Labialdrüsenkomponenten nachempfundenen Verbindungen (fünf verschiedene Acetate, Diacetate und Alkene mit Kettenlängen von C18 bis C23) wurden im Laufe von drei Tagen fast vollständig aus den Hinterbeintaschen entfernt und reicherten sich

im selben Zeitraum in den Labialdrüsen an, wo sie für nachfolgendes Duftstoffsammeln wieder zur Verfügung standen. Eine aromatische Parfümkomponente, das Methylsalicylat, verblieb dagegen in fast unveränderter Menge in den Hinterbeintaschen, was die hohe Selektivität des Recyclingprozesses für aliphatische Verbindungen (Fettsäurederivate) belegt. Die Rückgewinnung der Lipide aus den Hinterbeintaschen hat zwei offensichtliche Vorteile. Zum einen können so Kosten



Abb. 3: Männchen von *Euglossa viridissima* beim Sammeln synthetischer Duftstoffe auf einem Filterpapier. Man beachte die geöffneten Mandibeln, die ein Ausspucken des öligen Labialdrüsensekrets erlauben, sowie die Haarbüschel an den Vordertarsen, mit denen die Mischung aus Sekret und Duftstoff aufgenommen wird.

Fig. 3: Male *Euglossa viridissima* collecting synthetic volatiles from a filter paper. Note open mandibles that allow the bee to spit the lipid labial gland secretion onto the substrate, and tarsal hair brushes used to absorb the mixture of secretion and volatiles.

für die ständige Neusynthese der energetisch teuren Labialdrüsenkomponenten vermieden werden, zum anderen wird ein „Überlaufen“ des Duftstoffsammelbehälters vermieden und gleichzeitig das exogene Parfüm konzentriert (Abb. 4). Der genaue Mechanismus, den die Bienen für diesen Anreicherungsprozess verwenden, ist ungeklärt. Wahrscheinlich ist lediglich, dass zum Transport der Verbindungen in der Hämolymphe (vom Hinterbein in den Kopf) das Lipophorin-Transportsystem zum Einsatz kommt. Hierbei handelt es sich um einen mehrfach verwendbaren (wiederbeladbaren) Proteinkomplex, der nachweislich zum Transport lipophiler Moleküle (Glycolipide, aber auch kuticuläre Kohlenwasserstoffe) im Insektenorganismus dient (s. CHINO & DOWNER 1982). Auf welche Weise vermieden wird, dass auch nicht-aliphatische, ebenfalls lipophile Parfümkomponenten aus der Beintasche in die Hämolymphe gelangen, ist dagegen völlig unbekannt und wäre lohnender Gegenstand weiterer Untersuchungen. Die Labialdrüsen von männlichen Hummeln

und Prachtbienen zeigen neben ihrer Größe auch strukturelle und ultrastrukturelle Gemeinsamkeiten, die auf Homologie hindeuten. In beiden Biengruppen besitzen die acinös aufgebauten Drüsen auf jeder Kopfseite zwei strukturell differenzierte Loben um die Augen (ÅGREN et al. 1979; ELTZ et al. 2007). Auch bei den Sekretkomponenten gibt es zahlreiche Gemeinsamkeiten. Hummel-Labialdrüsensekrete enthalten neben langkettigen Fettsäurederivaten (Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Ethylester und Acetate) allerdings oft zusätzlich terpenoide Verbindungen, wie z. B. das All-trans-Farnesol oder 2,3-Dihydro-6-trans-Farnesol (BERGSTROM et al. 1981; BERGMAN & BERGSTROM 1997). Terpenoide Verbindungen fehlen im Labialdrüsensekret der Prachtbienenmännchen völlig; sie werden erst durch den Prozess des Duftstoffsammlens von pflanzlichen Quellen aufgenommen. Basierend auf den aufgeführten verhaltensbiologischen, strukturellen und chemischen Gemeinsamkeiten haben wir postuliert, dass das aktive Parfümsammeln

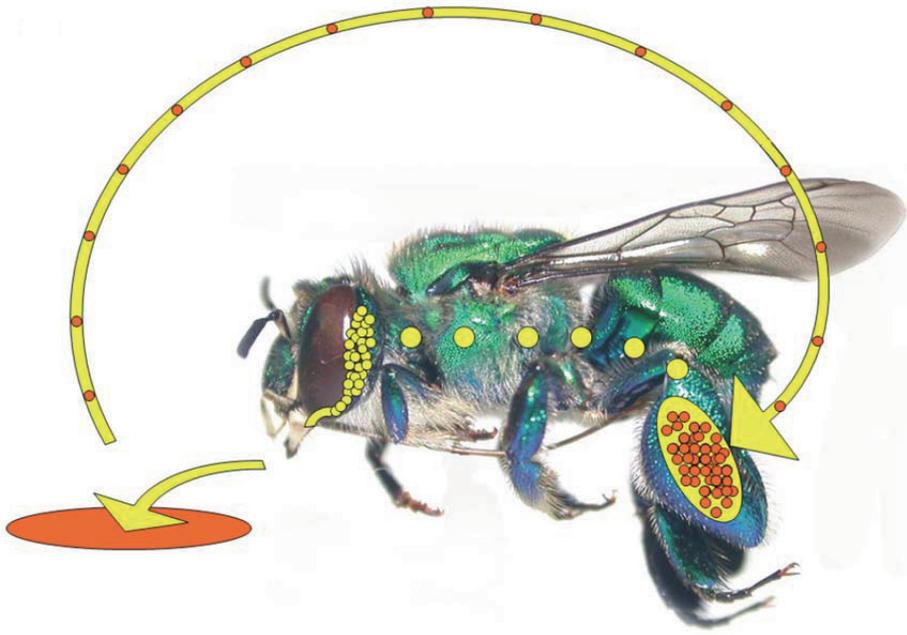


Abb. 4: Parfum-anreicherung Das schwerflüchtige Labialdrüsensekret (gelb) wird auf die duftende Oberfläche gespuckt, die flüchtigen Duftstoffe (orange) lösen sich darin und werden schließlich zusammen mit dem Sekret in die Hinterbeintaschen transferiert. Im weiteren Verlauf wird der Großteil des Sekrets wieder aus den Beintaschen sequestriert und über die Hämolymphe zurück in die Labialdrüsen transportiert, wo es für weitere Sammelvorgänge zur Verfügung steht. In den Hinterbeintaschen reichert sich in Folge ein immer konzentrierteres Parfum aus exogenen Komponenten an.

Fig. 4: Perfume making by lipid recycling. The lipid labial gland secretion (yellow) is spat onto the fragrant surface, the volatiles (orange) are dissolved and retained in the secretion, and finally transferred to the hind leg pouches. Later, the majority of labial gland lipids is sequestered from the pouch and shuttled back to the labial gland, where it is available for consecutive bouts of volatile collection. As a consequence of lipid recycling, the concentration of exogenous volatiles in the pouch is increased.

männlicher Prachtbienen ausgehend von einem gemeinsamen Vorfahren von Hummeln und Prachtbienen evolvierte, dessen Männchen pflanzliche Substrate mit einem lipoiden Sekret markierten. Aktives Parfümsammeln wäre über eine Vorstufe passiven Absorbierens pflanzlicher Gerüche von der markierten Pflanze entstanden (ELTZ et al. 2007). Man stelle sich einen gemeinsamen Vorfahren beider Bienengruppen vor, dessen Männchen Zweige oder Blätter von Pflanzenarten markierten, die reich an ätherischen Ölen waren. In einer solchen Situation wäre die Annahme pflanzlicher Gerüche durch die Bienenmännchen fast unvermeidlich, gefördert

durch einen sehr engen Kontakt zur markierten Oberfläche, wie er für heutige Hummel-männchen typisch ist. Falls der pflanzliche („terpenoide“) Geruch einen Paarungsvorteil für die „parfümierten“ Männchen vermittelte, z. B. aufgrund einer vorexistierenden Präferenz der Weibchen für Futterpflanzengerüche, dann könnte das die Evolution aktiven Sammelns pflanzlicher Gerüche initiiert haben. Das schwerflüchtige Markierungssekret aus den Labialdrüsen könnte in diesem Szenario bereits die Funktion eines Duftträgers erfüllt haben, in dessen Matrix die flüchtigeren pflanzlichen Verbindungen auf der Körperoberfläche des Männchens erhalten blie-

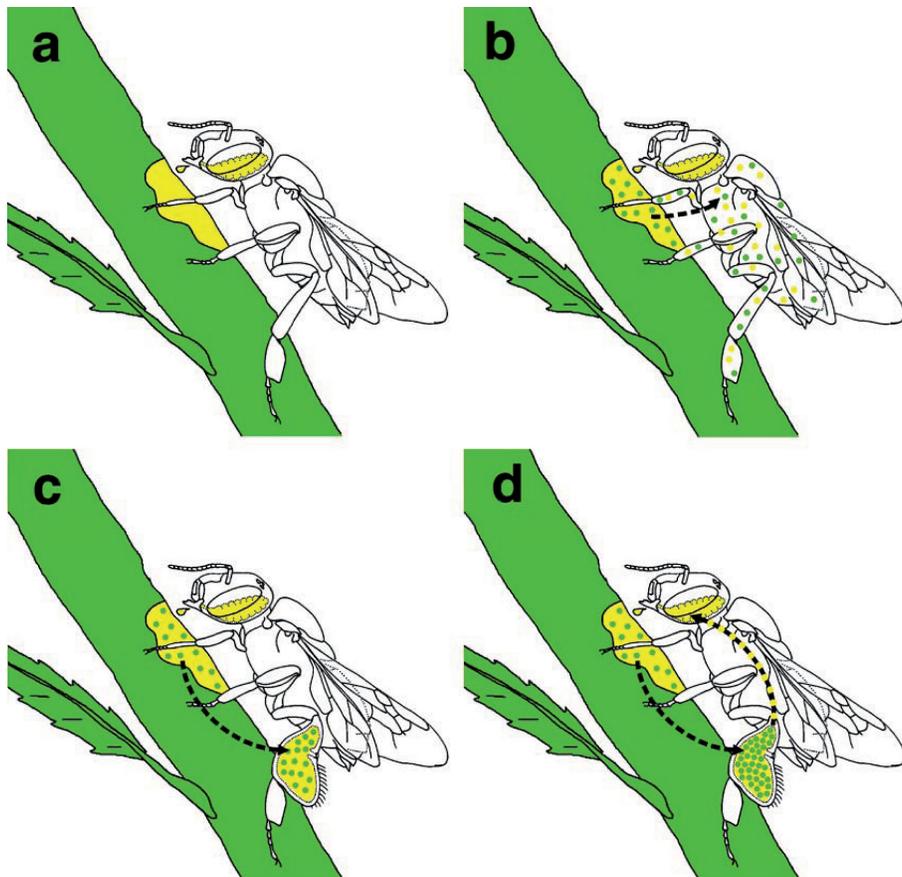


Abb. 5: Hypothetische Schritte der Evolution vom Duftmarkieren zum Parfümsammeln männlicher Prachtbienen. (a) Männlicher Vorfahr der Prachtbienen, der einen Zweig mit einem lipoiden Sekret aus der Labialdrüse (gelb) markiert. (b) Männlicher Vorfahr, der pflanzliche Düfte (grün), gelöst in sein eigenes Markierungssekret, angenommen hat. (c) Aktives Sammeln pflanzlicher Düften mit Hilfe des lipoiden Sekrets in Hinterbeintaschen. (d) Anreicherung pflanzlichen Duftes in den Beintaschen durch Rückgewinnung des Labialdrüsensekrets. Verändert aus ELTZ et al. (2007).

Fig. 5: Hypothesized evolutionary transition from scent-marking to active fragrance collection in male orchid bees. (a) Ancestral male scent-marking a twig with lipid labial-gland secretion (yellow). (b) Ancestral male after intimate contact with marked plant-surface, with plant-derived volatiles (green spots) adsorbed on cuticle (retained in labial-gland lipids). (c) Active collection of plant-derived volatiles along with labial-gland lipids in specialised hind-leg pockets. (d) Enrichment of plant-derived volatiles in leg pockets by labial gland lipid relocation and reuse.

ben. Die Evolution morphologischer Strukturen zur effizienteren Aufsammlung und Aufbewahrung der Gerüche (u. a. die Hinterbeintaschen), sowie physiologische Mechanismen zur weiteren Anreicherung eines kon-

zentrierten Parfüms (das Sekret-Recycling) sind weitere Schritte in diesem Szenario. Der evolutive Übergang vom Duftmarkieren zum Parfümsammeln ist in Abbildung 5 dargestellt.

4. Parfümevolution

Wenn man annimmt, dass die männlichen Parfüme als Duftsignale im Kontext der Paarungsbiologie zum Einsatz kommen, darf man sich darüber hinaus fragen, welche Selektionsdrücke ihre chemische Beschaffenheit beeinflussen bzw. beeinflusst haben. Zwei grundsätzlich verschiedene, aber sich nicht gegenseitig ausschließende Funktionskonzepte sind hier zu trennen:

- Die Parfüme haben Erkennungsfunktion („recognition concept“). Die männlichen Parfüme dienen der Kommunikation der Artzugehörigkeit und erlauben es dem Weibchen, einen artgleichen Paarungspartner aus der Distanz zu erkennen und aufzufinden. In diesem Fall würde die chemische Zusammensetzung der Parfüme unter natürlicher Selektion stehen, und zwar i. d. R. unter *stabilisierender* natürlicher Selektion, da jegliche Abweichung vom Artdurchschnitt die Wahrscheinlichkeit einer Erkennung durch das Weibchen verringert. Nur bei Verwechslungsgefahr mit den Signalen anderer Arten kann gerichtete Selektion zu einer Veränderung der Zusammensetzung der Parfüme führen, genauer gesagt zu einer Betonung des chemischen Kontrasts

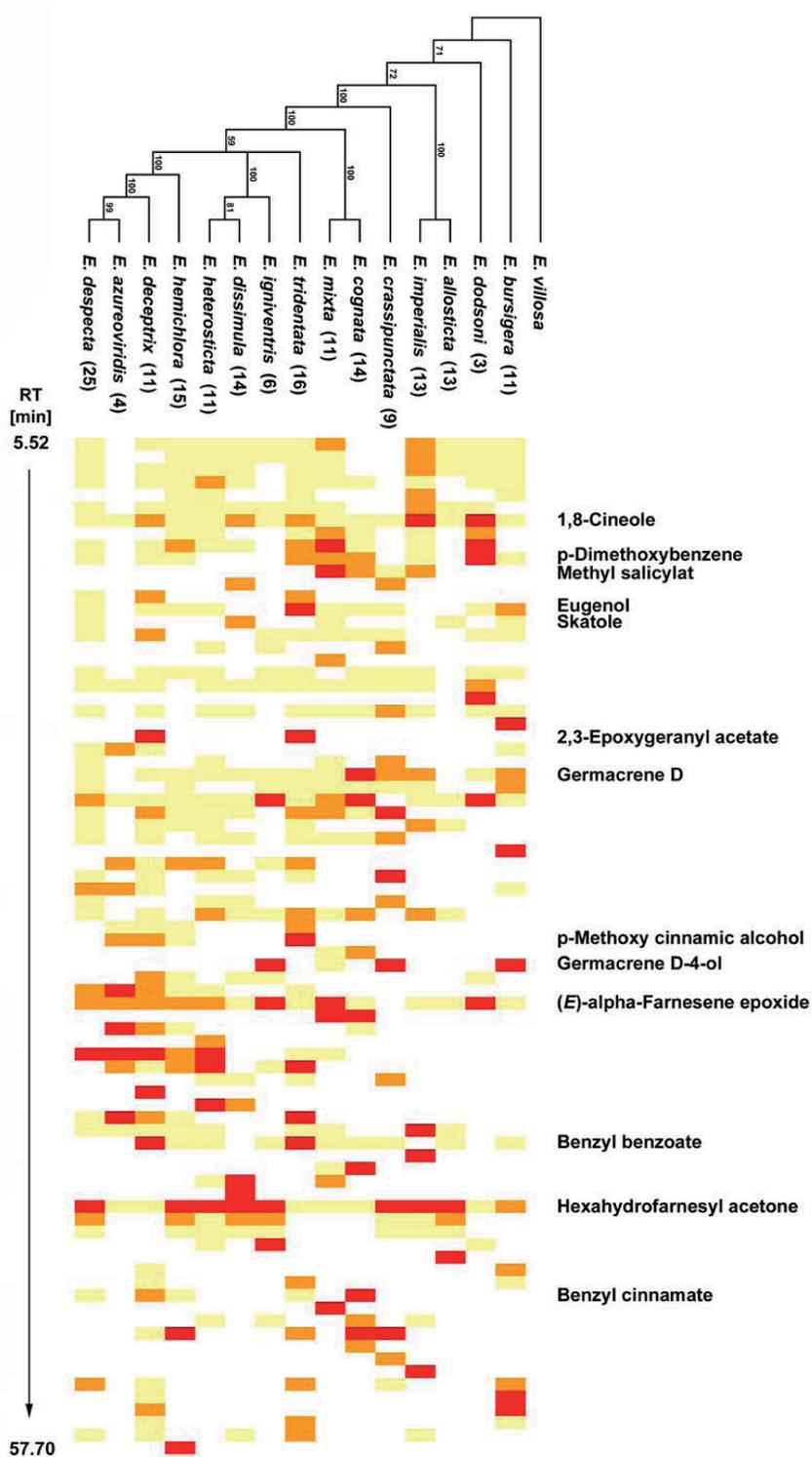
zwischen Arten. Dieser Prozess, den man „reproduktive Kontrastverschärfung“ („reproductive character displacement“) nennt, sollte vor allem zwischen nah verwandten, sympatrischen Arten vorkommen, da deren ähnliches Verhalten, Aussehen und ähnliche Habitatpräferenzen Verwechslungen wahrscheinlicher machen (ZIMMERMANN et al. 2009a).

- Die Parfüme haben individuelle Indikatorfunktion. Die männlichen Parfüme dienen der Kommunikation individueller genetischer Eignung als Paarungspartner/Vater und werden von Weibchen vor der Paarung evaluiert. Weibliche Wahl und damit sexuelle Selektion fördert besonders kostenintensive Parfümeigenschaften, da diese „ehrliche“ Signale genetischer Eignung darstellen. Quantitative (Parfümmenge), aber auch qualitative Merkmale (Besitz schwer zu sammelnder Komponenten) könnten solche unfälschbaren Eigenschaften sein (s. a. SCHEMSKE & LANDE 1984; ELTZ et al. 1999).

Wie erwähnt, sind die beiden Funktionen/Hypothesen nicht exklusiv, d. h. die männlichen Parfüme könnten sowohl unter natürlicher wie sexueller Selektion evolvieren, also Erkennungs- und Indikatorfunktion besitzen. Letztlich ist dies sogar die plausibelste und

Abb. 6: Zusammensetzung der Parfüme in den Hinterbeintaschen von Männchen von 15 sympatrischen *Englossa*-Arten aus Zentralpanama, gruppiert gemäß ihrer wahrscheinlichen Abstammung (molekulare Phylogenie, mit Bootstrap-Werten). Die Anzahl durch GC/MS untersuchter Männchen pro Art ist in Klammern angegeben, die Farbe repräsentiert die durchschnittliche relative Menge, die eine bestimmte Komponente am Gesamtparfüm der Art ausmachte (knallrot >5 %; dunkel orange 1-5 %; hell gelb <1 %). Nur die 80 am stärksten vertretenen Komponenten sind nach aufsteigender Retentionszeit auf einer DB-5 Kapillarsäule (30 m; 60-300 °C bei 3 °C/min) aufgelistet. Aus Gründen der Lesbarkeit ist nur ein Teil der Komponenten annotiert. Verändert nach ZIMMERMANN et al. (2009a).

Fig. 6: Presence of perfume compounds in hind leg extracts of 15 sympatric species of *Englossa* grouped by their phylogenetic relationships. The numbers of individual males analyzed per species are given in parentheses, and shades of grey indicate how much a compound contributed on average to the total peak area in a given species. Compounds are categorized as major (red, >5 % of total peak area), minor (orange, 1-5%) and trace (yellow, <1%) components. Only the 80 most abundant compounds are shown, ranked from top to bottom by their retention time on a DB-5 non-polar capillary column (30 m; 60 to 300 °C at 3 °C/min). Only a fraction of compounds is listed by name. Modified from ZIMMERMANN et al. (2009a).



wahrscheinlichste Möglichkeit. Die Erkennungsfunktion hat allerdings durch eine neuere Studie stärkere Unterstützung erhalten. Die Parfüme von 15 sympatrischen Arten der Gattung *Euglossa* aus Zentralpanama waren in ihrer Zusammensetzung artspezifisch, d. h. es war möglich, die allermeisten Individuen anhand der An- und Abwesenheit diagnostischer Komponenten im Parfüm sowie der relativen Proportionen häufiger Komponenten ihrer jeweiligen Art zuzuweisen (ZIMMERMANN et al. 2009a). Diese Befunde stehen in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen, die chemische Artspezifität im männlichen Parfüm für kleinere Stichproben von Arten unter Berücksichtigung geographischer Variabilität nachgewiesen hatten (ELTZ et al. 2005a; ZIMMERMANN et al. 2006). Darüber hinaus konnte dank größerer Stichproben und der Verfügbarkeit eines auf molekularen Daten beruhenden Stammbaumes der Euglossini (RAMÍREZ 2008) auch die Diversifizierung der Parfüme im phylogenetischen Kontext untersucht werden (Abb. 6). Hierbei fiel besonders auf, dass selbst sehr nah verwandte Arten sehr unterschiedliche Parfüme haben. Die Unterschiedlichkeit der Parfüme innerhalb der jüngsten Subkladen war deutlich größer als von einem Nullmodell neutraler Evolution vorhergesagt (ZIMMERMANN et al. 2009a). Dies bestätigt eine Vorhersage der Hypothese der Erkennungsfunktion und legt nahe, dass die Parfüme mancher sympatrischer Arten aufgrund bestehender Verwechslungsgefahr unter gerichteter, diversifizierender Selektion stehen.

Trotz im breitesten Sinne artspezifischer Zusammensetzung bieten die Parfüme ausreichend interindividuelle Variabilität, um potenziell als Indikator individueller, genetischer Eignung fungieren zu können. Individuen einer Art und Population unterscheiden sich immer noch deutlich in Menge und Komplexität des Parfüms, aber auch im relativen Anteil bestimmter Hauptkomponenten am Gesamtbouquet (ELTZ et al. 1999). Diese Variabilität könnte im Zusammenhang mit der Fähigkeit eines Männchens stehen, lokal

und ephemere auftretende Duftquellen zu finden, diese in Gegenwart von Konkurrenten effizient auszubeuten, potenziell giftige Komponenten zu detoxifizieren und bei all der Sammelei über Wochen und Monate hinweg am Leben zu bleiben. Trotz der grundsätzlichen Plausibilität der Indikatorhypothese hat es sich als sehr schwierig herausgestellt, Korrelationen zwischen Parfümparametern und Fitnesskomponenten bei Männchen zu finden. Der einzige Fund ist bislang ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen der Parfümmenge männlicher *Euglossa cognata* und ihrem individuellen Flügelschaden, einem nachweislichen Altersindikator der Art (ELTZ et al. 1999). Dieser Zusammenhang sollte allerdings nicht überinterpretiert werden, da er fast trivial ist. Da alle frisch geschlüpften Männchen mit leeren Hinterbeintaschen schlüpfen, enthält das Parfüm eines Männchens zwangsläufig Information über sein Alter.

Danksagung

Ich bedanke mich ganz herzlich bei KLAUS LUNAU für Freiheit und Unterstützung in vielerlei Form, bei den Mitarbeitern der AG Sinnesökologie für tatkräftige Hilfe in Labor und Verwaltung sowie bei allen Studenten für die gute Zeit und Zusammenarbeit. Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. HARTMUT GREVEN und seinen Mitarbeitern für die langjährige morphologische und histologische Expertise.

Literatur

- ÄGREN, L., CEDERBERG, B., & SVENSSON, B.G. (1979): Changes with age in ultrastructure and pheromone content of male labial glands in some bumble bee species (Hymenoptera, Apidae). *Zoon* 7: 1-14.
- AYASSE, M., PAXTON, R.J., & TENGO, J. (2001): Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 46: 31-78.
- BEMBÉ, B. (2004): Functional morphology in male euglossine bees and their ability to spray fra-

- grances (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). *Apidologie* 35: 283-291.
- BERGMAN, P., & BERGSTROM, G. (1997): Scent marking, scent origin, and species specificity in male pre-mating behavior of two Scandinavian bumblebees. *Journal of Chemical Ecology* 23: 1235-1251.
- BERGSTROM, G., SVENSSON, B.G., APPELGREN, M., & GROTH, I. (1981). Complexity of bumblebee marking pheromones: biochemical, ecological, and systematical interpretations. Pp. 175-183 in: *Biosystematics of social insects* (P.E. HOWSE & J.L. CLEMENT, eds.). Academic Press; London.
- CHINO, H., & DOWNER, R.G.H. (1982): Insect hemolymph lipophorin: A mechanism of lipid transport in insects. *Advanced Biophysics* 15: 67-92.
- ELTZ, T. (2003): Duftakkumulation bei Prachtbienen (Euglossini): Mechanismen, Muster, offene Fragen. *Verhandlungen Westdeutscher Entomologentag* 15: 11-30.
- ELTZ, T., ROUBIK, D.W., & LUNAU, K. (2005a): Experience-dependent choices ensure species-specific fragrance accumulation in male orchid bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59: 149-156.
- ELTZ, T., ROUBIK, D.W., & WHITTEN, W.M. (2003): Fragrances, male display and mating behaviour of *Euglossa hemichlora* – a flight cage experiment. *Physiological Entomology* 28: 251-260.
- ELTZ, T., SAGER, A., & LUNAU, K. (2005b): Juggling with volatiles: exposure of perfumes by displaying male orchid bees. *Journal of Comparative Physiology A* 191: 575-581.
- ELTZ, T., WHITTEN, W.M., ROUBIK, D.W., & LINSÉNMAIR, K.E. (1999): Fragrance collection, storage, and accumulation by individual male orchid bees. *Journal of Chemical Ecology* 25: 157-176.
- ELTZ, T., ZIMMERMANN, Y., HAFTMANN, J., TWELE, R., FRANCKE, W., QUEZADA-EUAN, J.J.G., et al. (2007): Enflourage, lipid recycling and the origin of perfume collection in orchid bees. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 274: 2843-2848.
- ENGEL, M.S. (2001): Monophyly and extensive extinction of advanced eusocial bees: Insights from an unexpected Eocene diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 1661-1664.
- FREE, J.B. (1987): *Pheromones of social bees*. Chapman and Hall; London.
- GOULSON, D. (2003): *Bumblebees – behavior and ecology*. Oxford University Press; Oxford.
- KAWAKITA, A., ASCHER, J.S., SOTA, T., KATO, M., & ROUBIK, D.W. (2008): Phylogenetic analysis of the corbiculate bee tribes based on 12 nuclear protein-coding genes (Hymenoptera: Apoidea: Apidae). *Apidologie* 39: 163-175.
- KIMSEY, L.S. (1980): The behaviour of male orchid bees (Apidae, Hymenoptera, Insecta) and the question of leks. *Animal Behaviour* 28: 996-1004.
- KULLENBERG, B. (1973): Field experiments with chemical sexual attractants in aculeate Hymenoptera males II. *Zoon Supplement* 1: 31-42.
- LENSKY, Y., CASSIER, P., NOTKIN, M., DELORME-JOULIE, C., & LEVINSON, M. (1985): Pheromonal activity and fine structure of the mandibular glands of honeybee drones (*Apis mellifera* L.) (Insecta, Hymenoptera, Apidae). *Journal of Insect Physiology* 31: 265-&.
- LOPEZ, J.C.G., & KRAUS, F.B. (2009): Cherchez la femme? Site choice of drone congregations in the stingless bee *Scaptotrigona mexicana*. *Animal Behaviour* 77: 1247-1252.
- RAMÍREZ, S.R. (2008). Diversification and specialization between orchid bees and their orchid hosts. Ph.D. thesis, Harvard University.
- ROUBIK, D.W. (1989): *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press; New York.
- SCHEMSKE, D.W., & LANDE, R. (1984): Fragrance collection and territorial display by male orchid bees. *Animal Behaviour* 32: 935-937.
- SOMMEIJER, M.J., & DEBRUIJN, L.L.M. (1995): Drone congregations apart from the nest in *Melipona favosa*. *Insectes Sociaux* 42: 123-127.
- STERN, D.L. (1991): Male territoriality and alternative male behaviors in the euglossine bee, *Eulaema meriana* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 64: 421-437.
- STERN, D.L., & DUDLEY, R. (1991): Wing buzzing by male orchid bees, *Eulaema meriana* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 64: 88-94.
- VOGEL, S. (1966): Parfümsammelnde Bienen als Bestäuber von Orchidaceen und *Gloxinia*. *Österreichische Botanische Zeitschrift* 113: 302-361.

- WHITTEN, W.M., YOUNG, A.M., & STERN, D.L. (1993): Nonfloral sources of chemicals that attract male euglossine bees (Apidae: Euglossini). *Journal of Chemical Ecology* 19: 3017-3027.
- WHITTEN, W.M., YOUNG, A.M., & WILLIAMS, N.H. (1989): Function of glandular secretions in fragrance collection by male euglossine bees. *Journal of Chemical Ecology* 15: 1285-1295.
- WILLIAMS, N.H. (1982). The biology of orchids and euglossine bees. Pp. 119-171 in: *Orchid biology: reviews and perspectives* (J. ARDITTI, ed.). Cornell University Press; Ithaca, NY.
- WILLIAMS, N.H., & DODSON, C.H. (1972): Selective attraction of male euglossine bees to orchid floral fragrances and its importance in long distance pollen flow. *Evolution* 26: 84-95.
- WILLIAMS, N.H., & WHITTEN, W.M. (1983): Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. *Biological Bulletin* 164: 355-395.
- ZIMMERMANN, Y., RAMÍREZ, S.R., & ELTZ, T. (2009a): Chemical niche differentiation among sympatric species of orchid bees. *Ecology* 90: 2994-3008.
- ZIMMERMANN, Y., ROUBIK, D.W., & ELTZ, T. (2006): Species-specific attraction to pheromonal analogues in orchid bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60: 833-843.
- ZIMMERMANN, Y., ROUBIK, D.W., QUEZADA-EUAN, J.J.G., PAXTON, R.J., & ELTZ, T. (2009b): Single mating in orchid bees (Euglossa, Apinae) and implications for mate choice and social evolution. *Insectes Sociaux* 56: 241-249.

PD Dr. Thomas Eltz
 AG Sinnesökologie
 Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
 Universitätsstr. 1
 D-40225 Düsseldorf

Neue Adresse:
 Ruhr-Universität Bochum
 Lehrstuhl für Evolutionsökologie und
 Biodiversität der Tiere
 Universitätsstr. 150
 D-44780 Bochum
 E-Mail: thomas.eltz@rub.de