

Die Bedeutung von Pflanzendrüsenhaarsekreten in der Nistbiologie der Europäischen Wollbiene, *Anthidium manicatum* L.

The Function of Extrafloral Trichome Secretions in the Nesting
Biology of the European Wool-Carder Bee, *Anthidium manicatum* L.

JENNIFER KÜTTNER & THOMAS ELTZ

Zusammenfassung: Die verschiedenen Gattungen der Bauchsammelbienen (Megachilidae) haben im Laufe ihrer Evolution unterschiedliche Niststrategien entwickelt. Beim Bau ihrer Brutzellen verwenden sie oftmals extra für diesen Zweck gesammelte Pflanzenteile und/oder von Pflanzen produzierte Substanzen. Beispiele dafür sind zerkaute oder ganze Blattstückchen, Pflanzenhaare („Wolle“) oder Harz. Von einigen Pflanzenmaterialien ist bekannt, dass sie antibakterielle und/oder antifungale Wirkung haben und es wurde darüber spekuliert, ob sie von Bienen beim Nestbau verwendet werden, um sich diese schützende Wirkung für Brut und Verproviantierung zu Nutzen zu machen. In dieser Arbeit haben wir untersucht, wie sich extraflorale Drüsensekrete von Geranien (*Pelargonium*) auf Brutzellen von Wollbienen (*Anthidium manicatum*) auswirken, die die Sekrete in die Pflanzenhaare, aus denen sie ihre Brutzellen bauen, einarbeiten. In An- und Abwesenheit von Geranienpflanzen wurden von Wollbienen, die in Käfigen gehalten worden waren, über den Sommer Brutzellen mit und ohne Pflanzendrüsenhaarsekrete gewonnen. Y-Wahlversuche im Labor zeigten, dass Brutzellen mit Pflanzendrüsenhaarsekreten für parasitische Erzwespen weniger attraktiv waren als solche ohne Sekrete. Ein Schutzeffekt gegenüber parasitischen Wespen in Form eines reduzierten Befalls bestätigte sich auch in den bis zum Anfang des Winters anhaltenden Freilandexponierungen von Brutzellen an Standorten, an denen Wollbienen und Erzwespen natürlicherweise vorkommen. Einen Einfluss auf das Ausmaß von Schimmelbildung auf Brutzellen hatten die Sekrete der Pflanzendrüsenhaare dagegen nicht. Generell hatte äußerlicher Schimmelbefall von Wollbienen-Brutzellen so gut wie gar keine Mortalität der enthaltenen Brut zur Folge. Diese Ergebnisse legen nahe, dass sich die Verwendung von Pflanzendrüsenhaarsekreten bei den Wollbienen evolviert hat, weil sie den Befall durch parasitoide Wespen reduziert.

Schlüsselwörter: Parasitoide, *Anthidium*, Megachilidae, Pflanzendrüsenhaarsekrete, Nestbiologie, Insekten-Pflanzen-Interaktionen

Summary: Bees make use of plant substrates for nutritional purposes (pollen, nectar), but also for building their brood cells. Megachilidae use a diversity of plant-derived cell-building materials, including mortar made from plant leaves, fragments of plant leaves, resin, or plant hairs („wool“). The causes of using plant-derived substrates in the first place are unknown and the factors driving diversification of nesting materials are equally unclear. Here, we investigated the protective effects of *Pelargonium* extrafloral trichome secretions which females of European wool-carder bees, *Anthidium manicatum*, smear on their brood cells. By breeding bees in cages with differential *Pelargonium* supply we generated brood cells with or without trichome secretions. Brood cells with trichome secretions were less attractive to chalcidoid parasitic wasps in olfactometer tests. When exposed around semi-natural bee nesting aggregations („bee hotels“) in the field, brood cells smeared with trichome secretions suffered less mortality from wasp parasitism than those without trichome secretions. Surprisingly,

trichome secretions did not prevent the growth of mold on brood cells and larval mortality due to mold was extremely low even when brood cells were exposed to rainfall. This suggests that the application of trichome secretions has more likely evolved as a response to chalcidoid wasp parasitism.

Key words: Parasitoid, *Anthidium*, megachilid, extrafloral trichomes, nesting biology, insect-plant interactions

1. Einleitung

Unter den Stechimmen (Wespen, Bienen und Ameisen; Hymenoptera: Apocrita: Aculeata) ist Brutpflege weit verbreitet. Die Weibchen legen artspezifisch auf unterschiedliche Weise sowohl ober- als auch unterirdische Nester an. Bienennester beinhalten oder bestehen in der Regel aus Brutzellen. Eine Zelle dient dem Schutz der heranwachsenden Larve während der Entwicklung und in den meisten Fällen auch dem der Nahrung (MICHENER 2000). Die meisten Vertreter der Stechimmen betreiben Massenverproviantierung. Proviant sowie die Larve selbst sind beliebte Ressourcen für verschiedene Klektoparasiten und Parasitoide. Wenn eine Brutzelle parasitiert ist, stirbt die Larve in der Regel, was die Fitness des nistenden Weibchens verringert. Weibchen sollten daher das Risiko der Parasitierung minimieren oder zumindest reduzieren (SEIDELMANN 2006). Vermutlich haben sich u. a. zu diesem Zweck im Laufe der Evolution innerhalb der Aculeata ganz verschiedene Niststrategien entwickelt. Besonders vielgestaltig sind die Nester der Megachilidae. Diese Bienen verwenden im Habitat gesammelte Materialien zum Bau von Brutzellen und Neststrukturen. Diese Schlüsselinnovation, das Einbeziehen von fremden Materialien in den Nestbau, begünstigte eine massive Ausbreitung und einen signifikanten Diversitätsanstieg innerhalb der zweitgrößten Bienenfamilie (LITMAN et al. 2011). Die nichtparasitischen Arten der Bauchsammlerbienen leben solitär und bauen ihre Nester in oberirdischen, bereits existierenden oder selbstangelegten Hohlräumen. Die zum Bau der Brutzellen verwendeten Materialien reichen von Schlamm und kleinen Steinchen bis zu zahlreichen von Pflanzen stammenden Substraten wie Harz, Kitt aus

zerkauerten Pflanzenteilen, „zurechtgeschnittene“ Stücke von Blättern und Pflanzenwolle (WESTRICH 1989; LITMAN et al. 2011). Es konnte gezeigt werden, dass einige dieser Substrate hydrophobe Eigenschaften besitzen (MESSER 1985; MÜLLER et al. 1996) und dadurch potenziell eine antimikrobielle Funktion haben, ähnlich wie die Sekrete der Dufourschen Drüse, die viele bodennistenden Bienen benutzen, um ihre Brutzellen zu imprägnieren (CANE 1981; HEFETZ 1987; MITRA 2013). Eine Imprägnierung mit Sekreten der Dufourschen Drüse findet man in den Nestern abgeleiteter Megachilidae nicht (MICHENER 1974). Andererseits kann die weite Bandbreite an körperfremden Materialien vielleicht ebenfalls als Resultat des selektiven Drucks durch Räuber oder Parasitoide gesehen werden (s. o.) oder zumindest als ein Lösungsansatz für das Problem, das Angriffe durch Räuber oder Parasitoide darstellen. Wie dem auch sei, für die Hypothesen gibt es kaum experimentell belegte Beweise (siehe aber MESSER 1985) und die Ursache der Evolution und der Diversifizierung des Nistmaterials innerhalb der Megachilidae ist weiter unbekannt.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob die von *Anthidium manicatum* (Megachilidae: Anthidiini) beim Bau ihrer Brutzellen verwendeten Pflanzendrüsensaarsekrete (MÜLLER et al. 1996), vor allem die von Geranien (*Pelargonium* sp.), eine schützende Funktion für die Nester der Europäischen Wollbiene haben. Die in bereits existierenden Hohlräumen angelegten Nester der Wollbienen werden mit Brutzellen ausgefüllt, die hauptsächlich aus Pflanzenwolle bestehen. Diese wird von den Wollbienenweibchen mit Hilfe ihrer scharf gezähnten Mandibeln von behaarten Pflanzenteilen verschiedener Pflanzen, z. B. Wollziest (*Stachys byzantina*),

abgeschabt und zum Transport zu kleinen Wollballen geformt (MÜLLER et al. 1997; PAYNE et al. 2010). Die Pflanzenwolle wird oftmals mit pflanzlichen Drüsenhaarsekreten imprägniert. Zum Sammeln dieser Sekrete besitzen die *A. manicatum*-Weibchen an der Außenseite ihrer Tarsen spezielle Saugpolster aus verzweigten „Haaren“ (MÜLLER et al. 1996, 1997). Zu den Drüsensekretquellen gehören unter anderem Arten von *Anthirinum*, *Crepis* und *Pelargonium*. Durch Experimente wurde gezeigt, dass mit Drüsenhaarsekreten imprägnierte Pflanzenwolle stärker wasserabweisend ist (MÜLLER et al. 1996). Abgesehen davon ist nichts über die Bedeutung von Pflanzendrüsenhaarsekreten in der Nistbiologie der Europäischen Wollbiene bekannt. Zu Beginn unserer Untersuchung stellten wir fest, dass *A. manicatum* auch in Abwesenheit von Drüsensekretquellen in der Lage ist, Brutzellen zu bauen (LAMPERT et al. 2014; PASTERNAK, KÜTTNER & ELTZ, pers. Beob.). Dies ermöglichte uns, durch unterschiedliche Ausstattung unserer Zuchtkäfige, Brutzellen mit oder ohne *Pelargonium*-Sekretauflage zu generieren. Ausgehend von diesen Brutzellen überprüften wir, (1) ob nicht mit Pflanzendrüsenhaarsekreten versetzte Brutzellen in Olfaktometertests im Labor gegenüber den mit Sekret imprägnierten Brutzellen von Parasitoiden bevorzugt werden, und ob (2) imprägnierte Brutzellen im Freiland weniger stark von Parasitoiden oder Schimmel befallen sind.

Die hier dargestellten Methoden und Ergebnisse entsprechen denen der englischsprachigen Originalpublikation (ELTZ et al. 2015). Die Abbildungen wurden z. T. ergänzt und neu zusammengestellt.

2. Material und Methoden

2.1. *Anthidium manicatum*-Brutzellen

Um einen Nestbau unter kontrollierten Bedingungen zu ermöglichen – nur wenige Nester konnten bis jetzt in der Natur gefun-

den werden (PAYNE et al. 2010) –, wurden im Sommer 2013 auf der Experimentalfläche im Botanischen Garten der Ruhr-Universität Bochum vier Gaze-Flugkäfige (Maschenweite 1 mm) à 4 x 2 x 2 m aufgestellt. Die Fläche in den Flugkäfigen wurde zweireihig mit Heilziest (*Betonica officinalis*) bepflanzt, der als primäre Pollen- und Nektarquelle diente (Abb. 1). Außerdem wurden als Nistmaterialquelle drei bis fünf Blumentöpfe Wollziest (*Stachys byzantina*) pro Käfig zwischen den Heilziest gestellt. Als Nistplätze wurden gespaltene Bambus-Internodien (Länge 9 bis 27 cm, innerer Durchmesser 1,2 bis 2 cm) zur Verfügung gestellt, die mit Draht an Holzpfählen befestigt und vor Regen geschützt waren. In je zwei Käfigen wurden Blumentöpfe mit Geranien (*Pelargonium* × *zonale*) hinzu gestellt, die die Weibchen als Quelle für Pflanzendrüsenhaarsekret nutzten. Die Flugkäfige wurden je mit zwei männlichen und vier weiblichen aus dem Freiland (im Botanischen Garten Bochum und im Botanischen Garten Düsseldorf) gefangenen Wollbienen bestückt. Sie wurden mit verschiedenen Acryl-Farben (Revell GmbH & Co. KG, Bünde) am Mesosoma markiert. Nach kurzer Eingewöhnungszeit nahmen schließlich alle eingesetzten Wollbienen den jeweiligen Flugkäfig als Lebensraum an. Die Männchen zeigten deutliches Territorialverhalten an den Futterpflanzen; die Weibchen begannen mit dem Nestbau und errichteten linear angeordnete Brutzellen in den Bambusröhren. Die Weibchen, denen die Geranien zur Verfügung standen, konnten beim Sammeln der Sekrete an Knospen und Blütenstielen beobachtet werden. Die Verwendung der Geraniensekrete konnte durch die rot-orangen Pigmenteinlagerungen in der Brutzellwolle nachgewiesen werden (Abb. 1). Bambus-Internodien mit komplett fertig gestellten Nestern wurden den Käfigen entnommen. 24 einzelne Nester mit insgesamt 143 Brutzellen konnten aus den mit *Pelargonium* bestückten Nestern entnommen werden. Die beiden Käfige

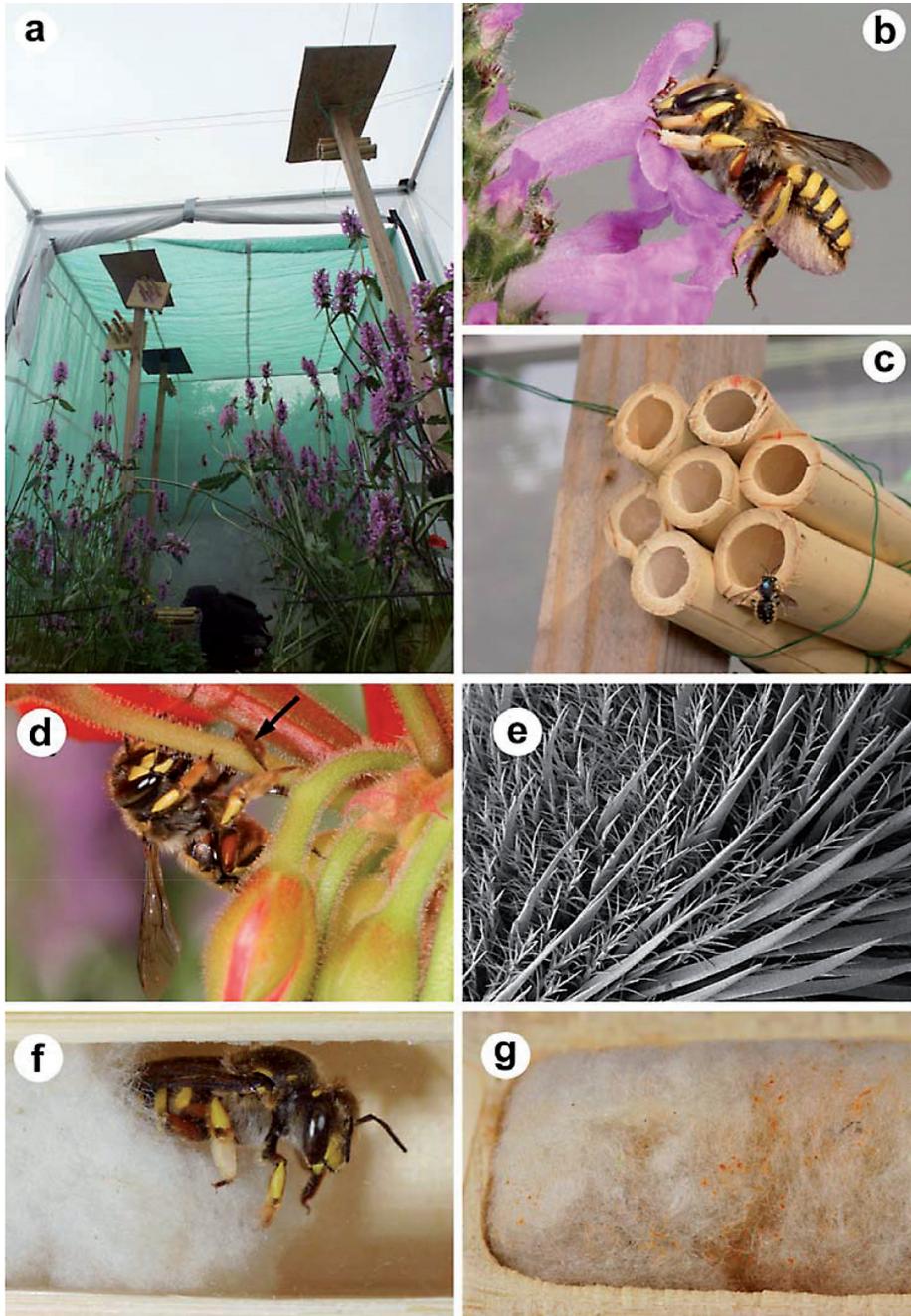


Abb. 1: a Einblick in einen der mit *Betonica officinalis* bepflanzt und mit Nisthilfen ausgestatteten Flugkäfige. b Weibchen von *Anthidium manicatum* beim Sammeln von Nektar und Pollen an einer *B. officinalis*-Blüte in einem der Flugkäfige. c Markierte Wollbiene am Eingang einer Niströhre. d Weibchen von *A. manicatum* beim Sammeln von Drüsenhaarsekreten an *Pelargonium x zonale* mit Hilfe spezialisierter Haare an den Tarsen (Pfeil). e Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme des

ohne Sekretquellen lieferten 21 Nester mit 140 Zellen. Die Verwendung von Pflanzendrüsenhaarsekreten ist für den Nestbau der Wollbienen nicht essentiell. Zellen ohne Sekrete hatten die gleiche Form und Größe wie die mit Sekret bearbeiteten Zellen. Aus den Vorjahren wissen wir auch, dass sich die Brut in nicht mit Sekret behafteten Zellen normal entwickeln kann (ELTZ, unveröffentlicht).

2.2. Wespen und Olfaktometer-Tests

In den Olfaktometertests haben wir weibliche Wespen der Art *Monodontomerus obscurus* (Torymidae) auf eine Präferenz hinsichtlich der An- bzw. Abwesenheit von Drüsenhaarsekreten der Geranie an den Brutzellen getestet. *M. obscurus* ist ein generalistischer Parasitoid der Megachilidae. Die Art befällt vor allem Mauerbienen (*Osmia* spp.) und die Luzerne-Blattschneiderbiene (*Megachile rotundata*) (RANK & GOERZEN 1981; KRUNIĆ et al. 2005; FLISZKIEWICZ et al. 2012). Aus der Literatur ist nicht bekannt, ob *Anthidium manicatum* zu den Wirten zählt, aber es ist anzunehmen, dass auch Wollbienen parasitiert werden, wenn ihre Nester zugänglich sind. Die in den Y-Wahlversuchen verwendeten Wespen stammten aus aussortierten Mauerbienenkokons (*Osmia bicornis*) der Mauerbienenzucht von Dr. Herrmann (WAB-Mauerbienenzucht, Konstanz). Die Kokons wurden bis zum Gebrauch im Kühlschrank gelagert. Je nach Bedarf wurden Kokons mit Wespenlarven in Heimchendosen überführt, in denen sie bei Raumtemperatur in

acht bis 14 Tagen bis zum Adultstadium heranreift. Die Weibchen wurden dann ein bis acht Tage nach dem Schlupf in den Tests verwendet.

Ein einfaches Y-förmiges Olfaktometer wurde in den Verhaltenstests verwendet: Mittels einer Aquarienpumpe wurde ein Luftstrom (150 ml/min) erzeugt, der dann über Silikonschlauchverbindungen (10,5 cm x 0,8 cm) in zwei Glaskammern (10,5 cm x 2,1 cm) geleitet wurde. Die aufgenommenen Düfte beider Proben bzw. der Probe und der Kontrolle wurden durch den Luftstrom durch zwei weitere Silikonschläuche (4,3 cm x 0,8 cm) in die Schenkel eines Y-Glasröhrchens (7 cm x 0,6 cm) transportiert. Das zu testende Weibchen wurde in das Y-Glasröhrchen eingesetzt, und es wurde beobachtet, welche Entscheidung es traf. Die Glaskammern und alle anschließenden Teile der Apparatur wurden nach jedem Durchgang gereinigt oder ausgetauscht. Wespen und Brutzellen wurden nur einmal verwendet. Die Probenkammern wurden wechselweise links und rechts angebracht, um auszuschließen, dass die Entscheidung auf Grund der Ausrichtung getroffen wird. In vier Versuchsreihen wurden die folgenden Probenpaarungen gegeneinander getestet: mit Pflanzendrüsenhaarsekreten imprägnierte Brutzelle vs. nicht imprägnierte Brutzelle; imprägnierte Brutzelle vs. Leerprobe; nicht imprägnierte Brutzelle vs. Leerprobe und mit Drüsenhaaren besetzte Pflanzenteile von *Pelargonium x zonale* vs. Leerprobe. Die Stichprobengröße betrug jeweils

äußeren Metatarsus eines Weibchens von *A. manicatum* mit den spezialisierten, stark verzweigten Haaren (Saugpolster = Tomentum). **f** Weibchen in einem Beobachtungsnest beim Verlassen einer (nicht imprägnierten) Brutzelle. **g** Eine mit den orangefarbenen Sekreten der Drüsenhaare von *Pelargonium* imprägnierte Brutzelle.

Fig. 1: a View into a flight cage containing rows of planted *Betonica officinalis* as well as clusters of bamboo stems as trap nests. **b** Female *Anthidium manicatum* collecting pollen and nectar at a flower of *B. officinalis*. **c** Paintmarked *A. manicatum* at the entrance of a trap nest. **d** Female *A. manicatum* collecting trichome secretions at *Pelargonium x zonale* using patches of specialized hairs (tomenta) on tarsi (arrow). **e** Scanning electron micrograph of specialized hairs on the outer surface of metatarsus of a female *A. manicatum*. **f** Female *A. manicatum* in an observation nest, leaving an uncoated brood cell. **g** Brood cell of *A. manicatum* coated with trichome secretions of *Pelargonium* (orange taint).

50 *M. obscurus*-Weibchen. Die Entscheidung galt als getroffen, wenn sich das Tier mindestens 10 s in einem der beiden Schenkel aufhielt. Hatte sich das Tier innerhalb von drei Minuten nicht für 10 s auf einer Seite befunden oder die Zeit nur am Ausgang oder zwischen den Schenkeln verbracht, wurde dies als „keine Entscheidung getroffen“ protokolliert. Mit einem Einstichproben-Chi²-Test haben wir die Nullhypothese geprüft, dass die Anzahl der Entscheidungen, die für beide Seiten des Y-Rohrs getroffen wurden, gleichverteilt waren.

2.3. Freilandexponierung der Brutzellen

Um zu überprüfen, ob die Geraniensekrete der Bienenbrut im Freiland einen Überlebensvorteil liefern, wurden 65 Brutzellpaare in gespaltenen Bambusröhrchen überführt und in einer speziellen Halterung, bestehend aus zwei PVC-Plättchen (12 cm x 5 cm x 0,3 cm), an ausgewählten Standorten in Bochum und Düsseldorf im Freiland exponiert. Der Zeitraum der Exponierung variierte leicht zwischen den Paaren; er begann zwischen Anfang August und Anfang September 2013 und endete Ende Dezember 2013 bis Anfang Januar 2014 (~ 4 Monate). 42 Paare wurden unter geschützten (überdacht innerhalb von Bienenhotels) und 23 unter ungeschützten Bedingungen exponiert (in unmittelbarer Nähe der Bienenhotels, aber nicht überdacht, an Ästen der benachbarten Vegetation oder Zäunen). Letztere waren der Witterung voll ausgesetzt, was durch Feuchtigkeit hervorgerufenen mikrobiellen Befall (z. B. Schimmel) begünstigen sollte. Die Exponierung in den Bienenhotels sollte die Chance erhöhen, dass die Brutzellen von Parasiten oder Parasitoiden gefunden werden, sie aber auch vor Wind und Regen schützen. In regelmäßigen Abständen (wöchentlich in den ersten sechs Wochen; später alle drei Wochen) wurden die exponierten Röhren geöffnet und fotografiert (Casio Exilim Pro Ex-F1), um eventuelle witterungsbedingte

Veränderungen oder eine Parasitierung zu erkennen. Parasitische Wespen, die in den Internodien gefunden wurden, wurden mit einer Pinzette abgesammelt und in 70 %iges EtOH überführt. Anzeichen von Parasitierung wie Löcher in der Brutzellwand wurden protokolliert und die Intensität des Schimmelbefalls von Bambusröhrchen und/oder Brutzelle an Hand einer Skala von 0: kein Schimmel bis 5: gesamte Oberfläche von Schimmel bedeckt bestimmt (Abb. 4a). Vor der Exponierung wurden die sich in den Bambus-Internodien befindenden Brutzell-Paare geröntgt, um die Vitalität der Wollbienen-Larven zu überprüfen und festzustellen, ob eventuell eine Parasitierung vorlag. Innerhalb des Exponierungszeitraums wurden die Zellen zusätzlich noch zwei Mal (einmal nach sechs Wochen und am Ende der Freilandbeobachtungen) geröntgt. Die Röntgenaufnahmen entstanden in der Radiologie im Universitätsklinikum Knappschaftskrankenhaus Bochum in Zusammenarbeit mit Frau Mittendorf. Die Aufnahmen wurden bei einer Einstellung des verwendeten Röntgengeräts (Siemens Multix x-ray) von 55 kV/4 mAs gemacht (Abb. 2). Nach der abschließenden Röntgenuntersuchung wurden alle Kokons aussortiert, die keine eindeutig zu erkennende Wollbienen-Larve enthielten. Die Kokons wurden später im Labor geöffnet, um die Todesursache festzustellen.

3. Ergebnisse

3.1. Olfaktorische Präferenzen der Wespen

Die Mehrheit (87,5 %) der *Monodontomerus obscurus* Weibchen trafen innerhalb von 3 min im Olfaktometer-Test eine klare Entscheidung für einen der Arme des Y-Rohrs. Die Fälle, in denen sich das Weibchen nicht entschied, wurden bei der Statistik nicht berücksichtigt, so dass der Stichprobenumfang bei den vier Versuchsanordnungen leicht unter $N = 50$ lag (Abb. 3). Die Wespen bevorzugten signifikant ($p < 0,05$; $p < 0,001$)

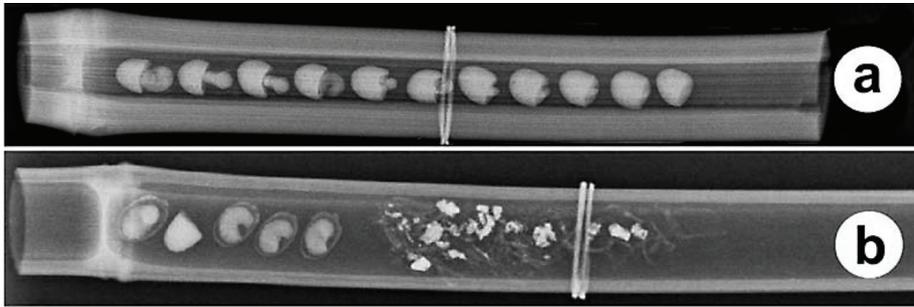


Abb. 2: **a** Entwicklungsverlauf von noch vom Pollenvorrat zehrenden Wollbienenlarven im Röntgenbild einer Niströhre (von rechts nach links entsprechend dem Bauverlauf älter werdend). **b** Röntgenbild von vier Überdauerungslarven in ihren Kokons in einer Niströhre; die zweite Brutzelle von links enthält nur den Pollenvorrat; den Brutzellen angeschlossen ist der Nestverschlussstopfen aus Erdbrockchen, Steinchen und Pflanzenteilen.

Fig. 2: **a** Radiograph of a nest of *Anthidium manicatum* in a bamboo internode, with a sequence of larvae of increasing age from right to left. **b** Radiograph of another nest containing four larvae and one cell with only the pollen provisions (second from left). Towards the opening (on the right side) the bamboo internode has been sealed by the female bee with pebbles of earth, little stones and pieces of plant material.

sowohl die imprägnierten als auch die nicht imprägnierten Brutzellen gegenüber der Leerprobe (Nicht imprägniert: $N = 45$, $X_2 = 16,20$, $p < 0,0001$; imprägniert: $N = 44$, $X_2 = 5,81$, $p < 0,05$). Wenn die Weibchen jedoch die Wahl hatten zwischen einer nicht imprägnierten Brutzelle und der imprägnierten Brutzelle, bevorzugten sie deutlich die nicht imprägnierte Variante ($N = 41$, $X_2 = 12,90$, $p < 0,0001$). Proben von *Pelargonium*-Knospen und -Blütenstielen wurden von den Wespen im Vergleich zur Leerprobe tendenziell gemieden, aber der Unterschied war nur marginal signifikant ($N = 45$, $X_2 = 3,76$, $p = 0,053$).

3.2. Schimmel und Parasitoide im Freiland

Von den 65 exponierten Brutzellpaaren gingen zehn ganz oder teilweise während des Beobachtungszeitraums verloren, was den Stichprobenumfang für die statistischen Analysen reduzierte (siehe N der einzelnen Tests). Es gab einen signifikanten Unterschied im Schimmelbefall zwischen geschützt und nicht geschützt exponierten

Brutzellpaaren (Two-Way PERMANOVA, $N = 110$, $F = 230,21$, $df = 1$, $p < 0,0001$; Abb. 4b). In geschützten Internodien war zwar immer etwas Schimmel zu finden, doch begrenzte der sich hauptsächlich auf die Wände des Bambusrohrs (Median der Intensität = 1). In ungeschützten Internodien war der Schimmel regelmäßig auch an der Brutzellwolle zu finden (Median der Intensität = 3). Dagegen war kein signifikanter Unterschied in der Intensität des Schimmelbefalls zwischen nicht-imprägnierten und imprägnierten Brutzellen festzustellen ($N = 110$, $F = 1,11$, $df = 1$, $p = 0,25$). Die Imprägnierung mit Pflanzendrüsensekreten hatte offensichtlich keine hemmende Wirkung auf die Schimmelbildung. Erwähnenswert ist, dass selbst Brutzellen mit sehr starkem Schimmelbefall (Kategorie 4 und 5) keine erhöhte Mortalität der Brut verzeichneten. Röntgenbilder (Abb. 4d) und die abschließende Präparation der auffälligen Brutzellen nach Ende des Beobachtungszeitraums zeigten, dass die Mortalität allein auf die Anwesenheit von parasitischen Wespenlarven zurückzuführen war ($N = 33$, Mortalitätsrate von 28,9 %).

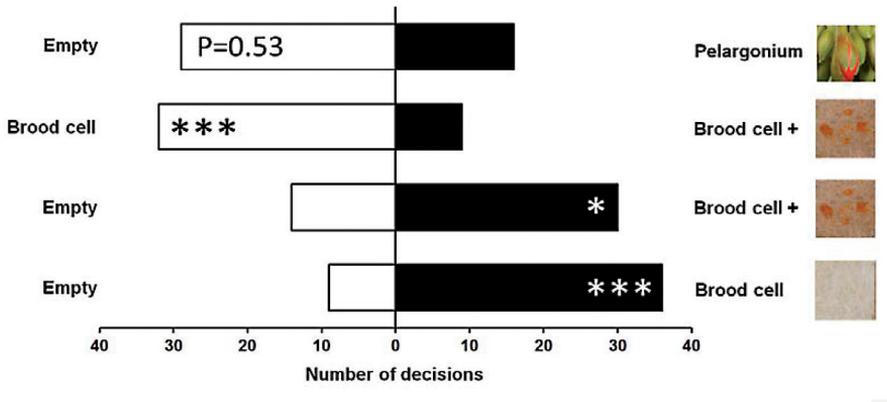


Abb. 3: Orientierung parasitischer Wespen, *Monodontomerus obscurus*, in Richtung eines, von einer *Anthidium manicatum* Brutzelle ausgehenden, olfaktorischen Stimulus mit (+) oder ohne Imprägnierung mit Pflanzendrüsensaftsekreten der Geranie, in einem Y-förmigen Olfaktometer (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$). Weitere Erklärungen s. Text .

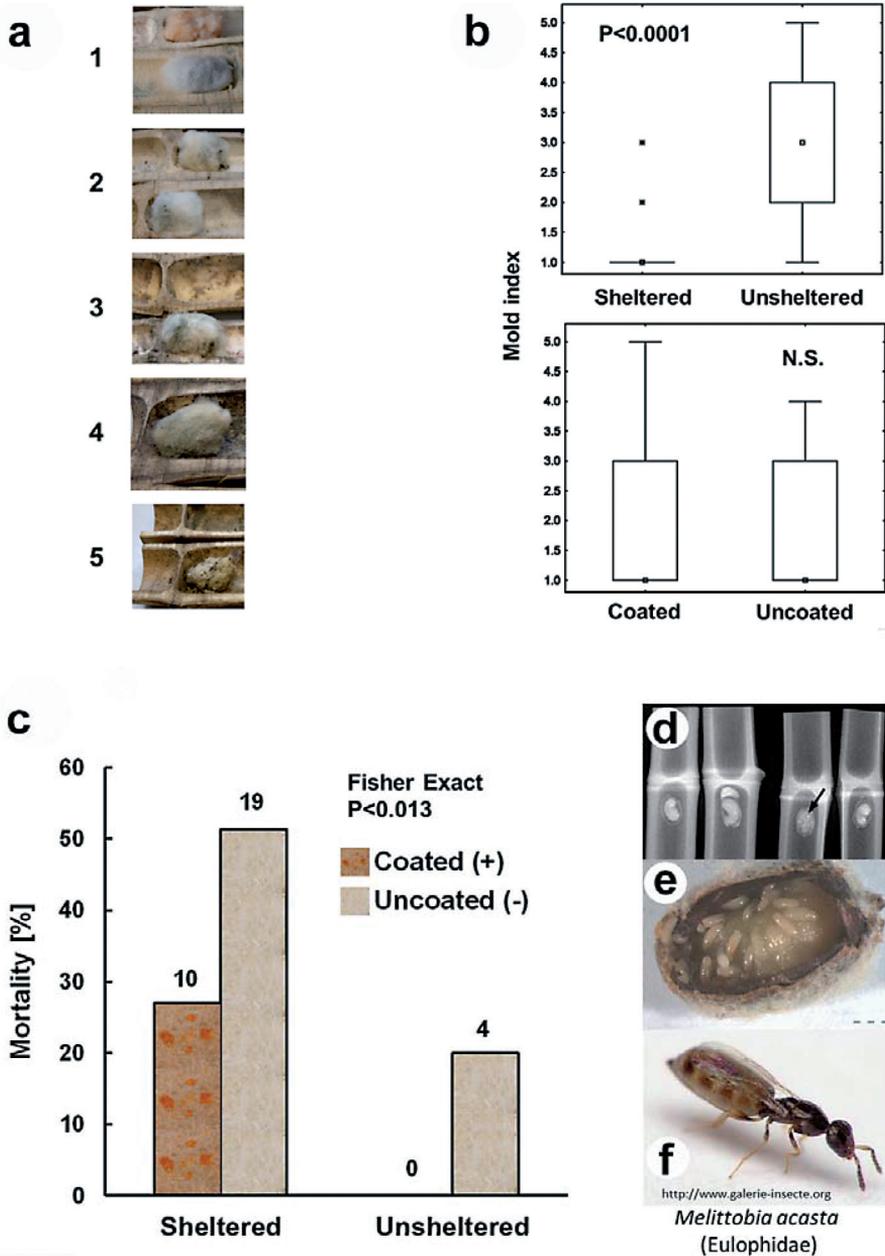
Abb. 3: Orientation of female parasitic wasps, *Monodontomerus obscurus*, towards brood cells of *Anthidium manicatum* with (+) or without coatings of *Pelargonium* trichome secretion in a Y-type olfactometer (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$). For further explanations see text.

Die durch Parasitoide verursachte Mortalität war in imprägnierten Brutzellen signifikant geringer (17,5 %) als in nicht-imprägnierten (40,4 %; Fishers Exact Test: $N = 114$, zweiseitige $p = 0,013$; siehe Abb. 4c). Ungeschützte (und massiv von Schimmel befallene) Internodien zeigten eine signifi-

kant geringere durch Parasitoide verursachte Mortalität (10 %) als geschützte (39,2 %; Fishers Exact Test: $N = 114$, zweiseitige $p = 0,001$). Die aus den befallenen Brutzellen (Abb. 4e) geschlüpften Wespen konnten als Erzwespe *Melittobia acasta* (Eulophidae, bestimmt von Stefan Schmidt, ZSM Mün-

Abb. 4: Ergebnisse des Freisetzungsexperiments. **a** Beispiele für die einzelnen Schimmelkategorien ab Schimmelwert 1 (oben). 1: Nur die Röhre von Schimmel befallen; 2: vereinzelt lokal begrenzte Schimmelbildung an der Brutzellwolle; 3: Schimmel weiter über Brutzelle verbreitet, einsetzende Verfilzung der Brutzellwolle; 4: Schimmel bedeckt fast die gesamte Brutzelle, Brutzellwolle verhärtet; 5: komplette Oberfläche der Brutzelle von Schimmel bedeckt, Volumenverlust der Wolle. **b** Schimmelbefall von vor Regen geschützten („sheltered“) und nicht geschützten sowie von mit Drüsensaftsekreten imprägnierten („coated“) und nicht imprägnierten Brutzellen. Dargestellt sind die Mediane und Quartilspannen (Box) sowie die Gesamtspanne der Datenverteilung (Whisker) ohne Extremwerte (Sterne). **c** Durch parasitoide Wespen hervorgerufene Mortalität der *Anthidium manicatum*-Larven abhängig davon, ob die Brutzellwolle mit Pflanzendrüsensaftsekreten von *Pelargonium* imprägniert war oder nicht, an geschützten oder ungeschützten Standorten. Absolute Anzahl an parasitierten Brutzellen sind über den Säulen angegeben. Siehe Text für Statistik. **d** Röntgenbild einiger Brutzellen während des Exponierungsexperiments. Drei Zellen enthalten gesunde Larven (Vorpuppenstadium), die vierte (Pfeil) war von einer *Melittobia*-Erzwespe parasitiert. **e** Von *Melittobia*-Larven (~ 30) befallene Wollbienenbrutzelle. **f** *Melittobia*-Weibchen. Modifiziert nach ELTZ et al. (2015).

Abb. 4: Results of the field exposure experiment. **a** Examples of categories of mold growing on brood cells of *Anthidium manicatum*. 1: Only the wall of the bamboo internode is covered; 2: sparse and locally restricted mold growth also on brood cell wool; 3: mold covers larger areas of the brood cell; 4: mold covers almost the entire brood cell, wool encrusted; 5: mold covers all of the cell, vol-



ume of wool reduced. **b** Mold infestation of brood cells depending on whether they were sheltered from rain or not, and whether they were coated with *Pelargonium* trichome secretions or not. Medians, quartile ranges (boxes), and data range (whiskers) without outliers (stars) are shown. **c** Mortality of *A. manicatum* larvae depending on whether their brood cell was coated with *Pelargonium* secretions or not, at sheltered and unsheltered sites. **d** Radiograph of brood cells during the exposure experiment. Three cells contain healthy larvae (prepupae), the fourth was found to be parasitized by *Melittobia* wasp larvae. **f** Female of *Melittobia* cf. *acasta*. Modified from ELTZ et al. (2015).

chen) identifiziert werden. Dabei handelt es sich um einen generalistischen Parasitoiden, der solitäre Bienen und Wespen befällt (MATTHEWS et al. 2009). Brutzellen, die von *M. acasta* parasitiert wurden, zeigten kleine, runde Punkturen in der Wollwand der Zelle, was zeigt, dass *M. acasta* sich durch die dichten Schichten aus Pflanzenwolle arbeiten kann, um die Wirtslarve zu erreichen.

4. Diskussion

In dieser Studie wurde die Funktion der von den Megachilidae verwendeten Nistbaumaterialien anhand von tatsächlichen Brutzellen untersucht. Die Olfaktometer-tests und die Freilandexponierung haben gezeigt, dass die Imprägnation von Brutzellen mit Pflanzendrüsenhaarsekreten die Wahrscheinlichkeit einer Parasitierung durch Erzwespen reduziert. Ein Schutz vor nässebedingtem Schimmel konnte für die Pflanzendrüsenhaarsekrete hingegen nicht nachgewiesen werden, obwohl dies bisher als ihre wahrscheinlichste Funktion vermutet wurde (MÜLLER et al. 1996). Parasitoide sind bei vielen Insekten eine Hauptursache für Mortalität (GODFRAY 1994), auch bei den Mitgliedern der Familie der Bauchsammlerbienen (Megachilidae) (KRUNIĆ et al. 2005). Parasitoid-vermittelte Selektion könnte möglicherweise die Evolution von Wollimprägnierung und damit verbundene morphologische Veränderungen gefördert haben.

Die von uns beobachteten schützenden Eigenschaften der Drüsenhaarsekrete können mehrere Ursachen haben. Die Olfaktometer-tests weisen daraufhin, dass Pflanzendrüsenhaarsekrete den Geruch der Brutzellen für Parasitoide weniger attraktiv machen. Da im Moment noch nicht bewiesen ist, dass die getestete Erzwespe *Monodontomerus obscurus* tatsächlich Wollbienen befällt, bleibt unklar, welche Auswirkungen dieses Ergebnis auf eine Wollbienenpopulation hätte. Es sollten weitere Tests mit *Melittobia*

acasta durchgeführt werden. Zweifelsfrei hat die Attraktivitätsminderung des von den Brutzellen ausgehenden Dufts gezeigt, dass dieser durch die Pflanzendrüsenhaarsekrete verändert wurde. Erzwespen, inklusive *Melittobia* spp., sind dafür bekannt, dass sie ihre Wirte mit Hilfe olfaktorischer Hinweise finden, die von der Larve, dem Kokon, dem Proviant oder den Ausscheidungen der Larve ausgehen (VET & DICKE 1992; SILVA-TORRES et al. 2005; CUSUMANO et al. 2010; FILELLA et al. 2011). Eine Veränderung des entsprechenden Geruchs könnte möglicherweise die Wirtsidentifizierung beeinflussen. Die Pflanzendrüsenhaarsekrete der Geranie enthalten als Hauptkomponenten Anacardinsäure-Derivate (GERHOLD et al. 1984), aber auch eine Reihe von flüchtigen Stoffen, insbesondere Sesquiterpene (ELTZ, pers. Beob.). Sowohl Sesquiterpene als auch potenzielle Zerfallsprodukte der Anacardinsäure könnten für die Geruchsveränderung und die damit verbundene Attraktivitätsminderung von imprägnierten Brutzellen im Olfaktometertest verantwortlich sein. Unsere Ergebnisse geben keinen Aufschluss darüber, ob die Inhaltsstoffe der Geraniensekrete die zur Wirtserkennung verwendeten Stimuli überdecken oder ob sie eine regelrecht abschreckende Wirkung auf die parasitischen Wespen haben. Der Fakt, dass *Monodontomerus*-Wespen imprägnierte Brutzellen nur dann nicht beachten, wenn sich in der anderen Probenkammer ein positiver Stimulus in Form einer nichtimprägnierten Zelle befand, aber nicht, wenn gegen eine Leerprobe getestet wurde, scheint mehr die Hypothese des (unvollständigen) Verschleierns des Wirtsgeruchs zu unterstützen. Die verminderte Parasitierung in den Freilandexperimenten könnte auch nichtolfaktorische Gründe haben. Die Drüsenkrete der Geranie sind zugleich klebrig und leicht giftig für Arthropoden. Die Geranie schützt sich dadurch vor herbivoren Insekten und Milben (WALTERS et al. 1989; SCHULTZ et al. 2006). Es ist möglich, dass die Klebrigkeit

der Pflanzendrüsensaarsekrete es den Erzwespen schwerer macht, bis zu dem von der Wolle umgebenen Wirtskokon vorzudringen. Es sollten Parasitierungsexperimente im Labor mit künstlich imprägnierten Brutzellen (z. B. Verwendung von synthetischer Anacardinsäure) durchgeführt werden, um den genauen Mechanismus des Schutzes vor Parasitoiden durch die Pflanzendrüsensaarsekrete aufzuklären.

Auch wenn wir keinen schützenden Effekt gegen Schimmel nachweisen konnten, schließt das nicht aus, dass es eine solche Funktion gibt. In unseren Experimenten befand sich die Wollbienenbrut bereits in einem weit fortgeschrittenen Larvenstadium, als die Zellen im Freiland exponiert wurden. Das bedeutet, dass der Pollenvorrat bereits bis auf kleine Reste von der Larve verzehrt worden war. Wenn man die Brutzellen zu einem früheren Zeitpunkt der Feuchtigkeit ausgesetzt hätte, hätte sich vielleicht Schimmel auf dem hygroskopischen Pollen bilden können, was eine Imprägnation der Brutzellen mit Drüsensaarsekreten hätte verhindern können. Dies hätte der Brut einen Überlebensvorteil geboten. Interessanterweise hatte jedoch der durch Feuchtigkeit verursachte Schimmel an den Brutzellen keinen Einfluss auf die Mortalitätsrate der Wollbienenlarven. Im Gegenteil, die Mortalitätsrate war bei den der Feuchtigkeit (und Schimmel) ausgesetzten Brutzellen sogar geringer, weil diese weniger stark parasitiert waren als die, die unter geschützten Bedingungen exponiert waren. Obwohl die verminderte Parasitierung in ungeschützt exponierten Brutzellen auch aus ihrer größeren Entfernung zu anderen Bienennestern resultieren könnte, könnte man vermuten, dass Feuchtigkeit/Schimmel zur richtigen Zeit vielleicht sogar einen Überlebensvorteil bietet, da so ein parasitenfreier Raum für die heranwachsende Brut entsteht. In jedem Fall bietet der von der Larve nach dem Verzehr des Pollenvorrats gesponnene Kokon einen ausreichenden Schutz sowohl

gegen Feuchtigkeit als auch mikrobiellen Befall. ROZEN et al. (2011) haben beschrieben, wie die Kokons der Megachilidae eine solche Barrierefunktion erfüllen, ohne ihre Luftdurchlässigkeit zu verlieren. Unsere Ergebnisse lassen einige Spekulationen in Bezug auf die Ursachen der Diversifizierung innerhalb der Megachilidae zu. LITMAN et al. (2011) haben gezeigt, dass der explosionsartige Anstieg der Diversifizierungsrate und Artenzahl innerhalb der Familie mit Veränderungen in der Nestbiologie in Zusammenhang steht, besonders mit dem Ursprung der Auskleidung von Brutzellen mit fremden, oftmals von Pflanzen stammenden Materialien. Diese fremden Materialien sollen eine ähnliche Rolle spielen wie die Sekrete der Dufourschen Drüse im Nestbau anderer Bienenfamilien (CANE 1981; HEFETZ 1987; MITRA 2013) und scheinen den Megachilidae ermöglicht zu haben, einen Lebensraum jenseits von trockenen Wüsten zu besiedeln. Schutz des feuchtigkeitsbindenden Pollens gegen mikrobiellen Befall wurde als wichtigster Evolutionsvorteil der Brutzellauskleidung mit pflanzlichen Materialien angesehen (LITMAN et al. 2011). Unsere Ergebnisse widersprechen dem zwar nicht, aber sie lassen die Vermutung zu, dass andere Vorteile, wie z. B. Schutz vor Parasitoiden, auch eine Rolle gespielt haben können. Schutz vor Parasitoiden könnte vor allem dann wichtiger geworden sein, als einige Megachilidae ihre Nester vom Boden in oberirdische Hohlräume verlagerten (PRAZ, pers. Komm.). Parasitoide können eine mächtige selektive Kraft darstellen, die vielleicht sogar die Diversifikation ihrer Wirtstaxa fördern kann, indem sie sie in feindfreie Räume drängen und dazu bringen, neue Ressourcen zu nutzen (FEDER 1995; LEPPANEN et al. 2013). Solche durch Parasitoide angetriebene Spezialisierungen lassen sich auch bei phytophagen Insekten finden, die an verschiedenen Wirtspflanzen in unterschiedlichem Maße parasitiert werden (FEDER 1995; LILL et al. 2002; SINGER &

STIREMAN 2005). Ähnlich dem Wechsel von Wirtspflanzen bei phytophagen Insekten könnte auch ein Wechsel zu anderen Nistmaterialien eine Diversifikation innerhalb der Bauchsammlerbienen gefördert haben. Artisolation könnte vielleicht sogar eine direkte Konsequenz auf eine Geruchsveränderung sein, die auf einem Wechsel der Nistbaumaterialien beruht, falls die Bienen sich in der Nähe ihrer Nistplätze paaren, was oft der Fall ist (PAXTON 2005), und Männchen diese mittels olfaktorischer Hinweise finden.

Danksagung

Diese Studie wurde von der Ruhr-Universität Bochum unterstützt. Wir danken MANFRED REIMANN und der Belegschaft des Botanischen Gartens der Ruhr-Universität Bochum für die Zurverfügungstellung von Platz, Pflanzen, Expertenwissen und für ihre Hilfe beim Aufstellen der Flugkäfige. Vielen Dank auch an GABI STRIESO und SABINE ADLER für die Erstellung der REM-Aufnahme. Unser Dank geht auch an Herrn Dr. STEFAN SCHMIDT, ZSM München, der die aus der Wollbienenbrut gezogenen Wespen bestimmte.

Literatur

- CANE, J.H. (1981): Dufour's gland secretion in the cell linings of bees (Hymenoptera: Apoidea). *Journal of Chemical Ecology* 7: 403-410.
- CUSUMANO, A., GONZÁLEZ, J.M., COLAZZA, S., & VINSON, B. (2010): Behavioral responses of the parasitoid *Melittobia digitata* to volatiles emitted by its natural and laboratory hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 136: 301-307.
- ELTZ, T., KÜTTNER, J., LUNAU, K., & TOLLRIAN, R. (2015): Plant secretions prevent wasp parasitism in nests of wool-carder bees, with implications for the diversification of nesting materials in Megachilidae. *Frontiers in Ecology and Evolution* 2: 1-7.
- FEDER, J.L. (1995): The effects of parasitoids on sympatric host races of *Rhagoletis pomonella* (Diptera, Tephritidae). *Ecology* 76: 801-813.
- FILELLA, I., BOSCH, J., LLUSIÀ, J., SECO, R., & PENUELAS, J. (2011): The role of frass and cocoon volatiles in host location by *Monodontomerus aeneus*, a parasitoid of megachilid solitary bees. *Environmental Entomology* 40: 126-131.
- FLISZKIEWICZ, M., KUSNIERCZACK, A., & SZYMAS, B. (2012): The accompanying fauna of solitarybee *Osmia bicornis* (L.) syn. *Osmia rufa* (L.) nests settled in different biotopes. *Journal of Apicultural Science* 56: 51-58.
- GERHOLD, D.L., CRAIG, R., & MUMMA, R.O. (1984): Analysis of trichome exudate from mite-resistant Geraniums. *Journal of Chemical Ecology* 10: 713-722.
- GODFRAY, H.C.J. (1994): *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press; Princeton, NJ, USA.
- HEFETZ, A. (1987): The role of Dufour's gland secretions in bees. *Physiological Entomology* 12: 243-253.
- KRUNIĆ, M., STANISAVLJEVIĆ, L., PINZAUTI, M., & FELICIONI, A. (2005): The accompanying fauna of *Osmia cornuta* and *Osmia rufa* and effective measures of protection. *Bulletin of Insectology* 58: 141-152.
- LAMPERT, K.P., PASTERNAK, V., BRAND, P., TOLLRIAN, R., LEESE, F., & ELTZ, T. (2014): 'Late' male sperm precedence in polyandrous wool-carder bees and the evolution of male resource defence in Hymenoptera. *Animal Behaviour* 90, 211-217.
- LEPPANEN, S.A., ALTENHOFER, E., LISTON, A.D., & NYMAN, T. (2013): Ecological versus phylogenetic determinants of trophic associations in a plant-leafminer-parasitoid food web. *Evolution* 67: 1493-1502.
- LILL, J.T., MARQUIS, R.J., & RICKLEFS, R.E. (2002): Host plants influence parasitism of forest caterpillars. *Nature* 417: 170-173.
- LITMAN, J.R., DANFORTH, B.N., EARDLEY, C.D., & PRAZ, C.J. (2011): Why do leafcutter bees cut leaves? New insights into the early evolution of bees. *Proceedings of the Royal Society B – Biological Science* 278: 3593-3600.
- MATTHEWS, R.W., GONZÁLEZ, J.M., MATTHEWS, J.R., & DEYRUP, L.D. (2009): Biology of the parasitoid *Melittobia* (Hymenoptera: Eulophidae). *Annual Review of Entomologie* 54: 251-266.
- MESSER, A.C. (1985): Fresh dipterocarp resins gathered by megachilid bees inhibit growth of pollen-associated fungi. *Biotropica* 17: 175-176.

- MICHENER, C.D. (1974): The social behaviour of the bees. A comparative study. Harvard University Press; Cambridge, Massachusetts.
- MICHENER, C.D. (2000): The bees of the world. The Johns Hopkins University Press; Baltimore, Maryland.
- MITRA, A. (2013): Function of the Dufour's gland in solitary and social Hymenoptera. *Journal of Hymenoptera Research* 35: 33-58.
- MÜLLER, A., TÖPFL, W., & AMIET, F. (1996): Collection of extrafloral trichome secretions for nest wool impregnation in the solitary bee *Anthidium manicatum*. *Naturwissenschaften* 83: 230-232.
- MÜLLER, A., KREBS, A., & AMIET, F. (1997): Bienen. Mitteleuropäische Gattungen, Lebensweise, Beobachtungen. Naturbuch Verlag, Augsburg, Germany, 384 pp.
- PAXTON, R.J. (2005): Male mating behaviour and mating systems of bees: an overview. *Apidologie* 36: 145-156.
- PAYNE, A., SCHILDROTH, D.A., & STARKS, P.T. (2010): Nest site selection in the European wool-carder bee, *Anthidium manicatum*, with methods for an emerging model species. *Apidologie* 42: 181-191.
- RANK, G.H., & GOERZEN, D.W. (1981): Native leafcutter bee species and associated parasites in commercial hives in Saskatchewan, Canada. *Apidologie* 12: 211-220.
- ROZEN, J.G., ROZEN, J.R., & HALL, H.G. (2011): Gas diffusion rates through cocoon walls of two bee species (Hymenoptera: Megachilidae). *Annals of the Entomological Society of America* 104: 1349-1354.
- SCHULTZ, D., OLSEN, C., COBBS, G.A., STOLOWICH, N.J., & PARROT, M.M. (2006): Bioactivity of anacardic acid against Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) larvae. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 54: 7522-7529.
- SEIDELMANN, K. (2006): Open-cell parasitism shapes maternal investment patterns in the red mason bee *Osmia rufa*. *Behavioral Ecology* 17: 839-848.
- SILVA-TORRES, C.S.A., MATTHEWS, R.W., RUBERSON, J.R., & LEWIS, W.J. (2005): Olfactory cues in host finding by *Melittobia digitata* (Hymenoptera: Eulophidae). *Annals of the Entomological Society of America* 98: 595-600.
- SINGER, M.S., & STIREMAN, J.O. (2005): The tritrophic niche concept and adaptive radiation of phytophagous insects. *Ecology Letters* 8: 1247-1255.
- VET, L.E.M., & DICKE, M. (1992): Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomologie* 37: 141-172.
- WALTERS, D.S., GROSSMAN, H., CRAIG, R., & MUMMA, R.O. (1989): *Geranium* defensive agents. 4. Chemical and morphological bases of resistance. *Journal of Chemical Ecology* 15: 357-372.
- WESTRICH, P. (1989): Die Wildbienen Baden-Württembergs, Teil 1 und Teil 2. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.

MSc Jennifer Küttner

PD Dr. Thomas Eltz

(Korrespondierender Autor)

Lehrstuhl für Evolutionsökologie und Bio-

diversität der Tiere

Ruhr-Universität Bochum,

D-44780 Bochum

E-Mail: thomas.eltz@rub.de

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Entomologie heute](#)

Jahr/Year: 2015

Band/Volume: [27](#)

Autor(en)/Author(s): Küttner Jennifer, Eltz Thomas

Artikel/Article: [Die Bedeutung von Pflanzendrüsenhaarsekreten in der Nistbiologie der Europäischen Wollbiene, *Anthidium manicatum* L. The Function of Extrafloral Trichome Secretions in the Nesting Biology of the European Wool-Carder Bee, *Anthidium manicatum* L. 89-101](#)