

Chemische Kommunikation bei Hummeln

Manfred Ayasse*

Zusammenfassung

Sozialparasiten kommen bei vielen Arten von sozial lebenden Insekten vor, darunter auch bei Hummeln, wo sie oft als Kuckuckshummeln bezeichnet werden. Kuckuckshummelweibchen wachen im Frühjahr einige Wochen später als ihre Wirte aus dem Winterschlaf auf und suchen dann nach bereits etablierten Wirtskolonien, in denen die erste Arbeiterinnenbrut schon geschlüpft ist. Sie haben dabei sehr effiziente Strategien entwickelt, um Wirtsnester zu finden, in diese einzudringen und sich erfolgreich zu reproduzieren. Eine wichtige Rolle spielen hierbei chemische Botenstoffe.

Kuckuckshummeln erkennen ihre Wirtsnester, indem sie Duftspuren folgen, die die Wirtsarbeiterinnen im Eingangsbereich legen, wenn sie aus dem Nest ausfliegen, um Futter zu sammeln. Verhaltensexperimente zeigten, dass diese sog. Footprints artspezifisch sind und dass spezialisierte Parasitenweibchen, die in die Nester nur einer Wirtsart eindringen, ein komplexes Bouquet aller Komponenten für die Wirtsnest-Erkennung nutzen, während Generalisten mit mehreren Wirten nur einige ausgewählte unpolare Substanzen benötigen, um ihren Wirt zu erkennen. Es handelt sich dabei hauptsächlich um Kohlenwasserstoffe.

Wenn Kuckuckshummeln ein passendes Nest entdeckt haben und in dieses eindringen, töten sie meistens die Königin und benutzen Repellentien (z. B. Dodecylacetat), um angreifende Wirtsarbeiterinnen abzuwehren. Ein paar Tage nach der Invasion müssen die Parasitenweibchen die Rolle der Königin übernehmen und die Reproduktion der Arbeiterinnen kontrollieren, um die reproduktive Dominanz zu erlangen und aufrechtzuerhalten. In Verhaltensexperimenten mit frisch geschlüpften *Bombus-terrestris*-Arbeiterinnen konnten wir zeigen, dass sowohl die generalistische Kuckuckshummel *B. bohemicus* als auch der Spezialist *B. vestalis* die Eierstockentwicklung der Wirtsarbeiterinnen hemmen können, aber nur dann, wenn sie direkten körperlichen Kontakt mit den Arbeiterinnen haben. Dies deutet auf eine direkte Übertragung chemischer Signale auf die Arbeiterinnen hin.

Chemische Analysen von kutikulären Duftprofilen der Wirtsköniginnen, Arbeiterinnen und Parasitenweibchen in verschiedenen Übernahme- und Entwicklungsstadien zeigten, dass das brutaktive Parasitenweibchen das Fertilitätssignal der brütenden Wirtskönigin nachahmt und dadurch erreicht, dass die Arbeiterinnen ihm bei der Aufzucht der eigenen Brut helfen. Zusätzlich interagiert das Parasitenweibchen mit den Wirtsarbeiterinnen, was eine Veränderung von deren Duftprofilen zur Folge hat. Eine mögliche Erklärung für die Änderung der Duftstoffe ist ein Wettrüsten um die Dominanz zwischen Arbeiterinnen und Parasit. Es ist jedoch auch möglich, dass chemische Substanzen vom Parasitenweibchen auf die Arbeiterinnen aktiv durch Körperkontakt oder passiv über markiertes Nestmaterial übertragen werden.

Summary

Chemical communication in bumblebees. Social parasitism is widespread in many groups of social living hymenopteran species and has also evolved in the genus *Bombus*. Cuckoo bumblebees (subgenus *Psithyrus*) are obligate brood parasites in nests of other bumblebee species. Female cuckoo bumblebees awake from hibernation a few weeks later in spring than their hosts and search for previously established host colonies where the

* Ayasse, Manfred, Prof. Dr., Universität Ulm, Institut für Experimentelle Ökologie, Albert-Einstein-Allee 11, 89069 Ulm; manfred.ayasse@uni-ulm.de

first worker brood already emerged. They evolved remarkable strategies to find and successfully invade host colonies and to manipulate the behavior of host workers. Chemical ecology plays a key role in these interactions.

Female cuckoo bumblebees recognize their host nests by olfactory nest-marking signals, so-called footprints, mainly hydrocarbons, which host workers lay at the entrance of the colony while leaving the nest to forage. They are able to differentiate between potential hosts and non-hosts. Furthermore, generalist cuckoo bumblebees recognize their hosts upon using a subset of non-polar compounds in common to all of their hosts, while specialists recognize their hosts using the complete bouquet of chemical compounds.

After entering a host colony, parasite females release allomones, mainly dodecyl acetate, to repel attacking host workers. After nest usurpation and the killing of the host queen, the parasite female has to control worker reproduction in order to accomplish and maintain reproductive dominance and to ensure her reproductive success. We performed bioassays with callow workers of the host *Bombus terrestris* and have shown that females of the specialist *B. vestalis* as well as of the generalist *B. bohemicus* are able to suppress the development of host workers' ovaries. The control of host workers' ovarian development by cuckoo bumblebees is only possible when these host workers are under the direct influence of the parasite female, maybe due to chemical compounds transferred directly from parasite to worker.

Furthermore, we have demonstrated via chemical analyses that the parasite females adjust to the odor profiles of their host queens in order to maintain the level of fertility signaling inside the host colony although the host queen is absent. We also found that host workers as well change their odor profile after invasion of the parasite. Whether this is linked to an arms race for dominance between the parasite female and host workers or whether chemical substances are transferred from the parasite to workers has to be studied in future investigations.

Einführung

Soziale Insektenstaaten sind äußerst attraktiv für eine große Anzahl von Parasiten und Räubern (Prädatoren). Diese dringen in die Nester ihrer Wirte ein, um sich von Ressourcen wie der Brut, Pollen oder Nektar zu ernähren (Wilson 1971). Sozialparasiten leben für einige Zeit in den Wirtsnestern und benutzen die Arbeiterinnen als Sklaven bei der Aufzucht der eigenen Brut. Sie haben sehr effiziente Strategien entwickelt, um in die Nester ihrer Wirte, z. B. Ameisen, Wespen und Bienen, einzudringen und sich dort erfolgreich zu reproduzieren. Zu diesen Sozialparasiten gehören auch einige Hummelarten, deren Nesteindringstrategien und chemische Kommunikation im Folgenden näher vorgestellt werden sollen.

Hummeln

Hummeln (Hymenoptera, Apidae: *Bombus*) gehören zu der faszinierenden Gruppe der sozialen Insekten und haben erfolgreich Nischen in den gemäßigten Breiten von Europa, Asien und Nordamerika besiedelt (Benton 2006, Kearns & Thomson 2001). Williams (1998) beschreibt 239 Arten weltweit. Die höchste Artendichte liegt im asiatischen Raum vor, während in den neotropischen Regionen nur wenige Arten zu finden sind. In Europa kommen 53 Hummelarten vor, die Weideland und Gebiete mit Hecken und

lockerem Untergrund bevorzugen (Williams 1998). Alle Hummeln mit Ausnahme der sozialparasitischen Arten durchlaufen einen einjährigen Koloniezyklus (Kearns & Thomson 2001). Die Hummelkönigin erwacht aus ihrem Winterschlaf sehr zeitig im Frühjahr – meist direkt, nachdem der erste Schnee geschmolzen ist – und gründet, wenn sie einen geeigneten Neststandort gefunden hat, ihr Nest. In der ersten Zeit der Kolonieentwicklung muss die Königin alle Aufgaben selbst erledigen, die später die Arbeiterinnen für sie übernehmen. Dazu gehören das Bauen der ersten Eiheber und Larvenzellen, das Ventilieren und Füttern der Brut und die Futtersuche. Ist die erste Arbeiterinnenbrut geschlüpft, beginnt die soziale Phase der Kolonieentwicklung und es kommt zur Arbeitsteilung (Abb. 1a). Bei primitiv eusozialen Hummelstaaten ist wie bei anderen sozialen Insekten die Eiablage hauptsächlich auf die Königin beschränkt, während die Arbeiterinnen die Brutpflege und andere nicht reproduktive Aufgaben übernehmen (Benton 2006, Kearns & Thomson 2001). In der Regel ist diese Arbeitsteilung bei Hummeln jedoch begrenzt auf den Beginn des Koloniezyklus, die so genannte Gründungsphase. In dieser Phase legt die Königin befruchtete Eier, die sich zu Arbeiterinnen entwickeln. Beim so genannten »switch point« fängt die Königin an, unbefruchtete (haploide) Eier zu legen, die sich zu Männchen entwickeln. Außerdem legt sie erneut befruchtete (diploide) Eier, die sich zu neuen Königinnen entwickeln (Duchateau & Velthuis



Abb. 1. a. Wirtshummelnest von *Bombus terrestris* mit Königin (Mitte) und Arbeiterinnen bei der Brutpflege; b. *Bombus-norvegicus*-Weibchen (links) gemeinsam mit der Wirtskönigin (rechts) im Nest von *B. hypnorum*. – Fotos: Elfi Bunk (a), Bernhard O. Zimma (b).

1989). In der darauf folgenden Konkurrenzphase (»competition phase«) fangen auch die Arbeiterinnen an, unbefruchtete (haploide) Eier zu legen. In dieser Phase der Kolonieentwicklung kann man aggressives Verhalten und Oophagie unter den Arbeiterinnen und zwischen den Arbeiterinnen und der Königin beobachten (van Doorn 1988, Röseler & van Honk 1990).

In der frühen Phase des Koloniezyklus, bis die Konkurrenzphase startet, monopolisiert die Hummelkönigin die Arbeiterinnenreproduktion, um die Stabilität der Kolonie zu sichern. Bei eusozialen Insekten mit einer geringen Anzahl an Individuen wird die reproduktive Dominanz durch aggressive Interaktionen erlangt (Michener 2000). Wenn die Anzahl der Individuen steigt, wird agonistisches Verhalten durch die Königin zu allen Individuen jedoch unmöglich. Deswegen nutzt die Königin chemische Signale, um die Reproduktion zu regulieren (Fletcher & Ross 1985). Diese Dominanzsignale liegen in Form von Primerpheromonen (Königinnenkontrolle) vor, die eine Funktion bei der Unterdrückung der Ovarienentwicklung bei den Arbeiterinnen haben (Röseler et al. 1981, Röseler & van Honk 1990, van Honk et al. 1980). Auf der anderen Seite wurde ein alternativer Mechanismus von ehrlichen Fertilitätssignalen postuliert (Arbeiterinnenkontrolle), die Informationen über den Entwicklungsstand der Ovarien fertiler Individuen (Königin oder dominante Arbeiterinnen) liefern (Ayasse et al. 1995, Sramkova et al. 2008). Sramko-

va et al. (2008) konnten zeigen, dass die Mengen einiger Kohlenwasserstoffe und der Wachsester Eicosyloleat, Docosyloleat, Tetracosyloleat und Hexacosyloleat im Duftbouquet mit der Eierstockentwicklung brutaktiver *B. terrestris*-Königinnen und -Arbeiterinnen korreliert. Diese Substanzen scheinen als Fertilitätssignal zu fungieren und damit das reproduktive Potenzial der Weibchen für die anderen Individuen im Nest anzuzeigen (»ehrliches Signal«).

Am Ende der Kolonieentwicklung werden Geschlechtstiere produziert, die das Nest zur Paarung verlassen. Lediglich die begatteten Jungköniginnen überwintern danach, während der Rest der Kolonie spätestens im Herbst stirbt.

Die Kuckuckshummel, ein obligater Sozialparasit

Sozialparasitische Hummeln sind obligate Brutparasiten in Kolonien von nestgründenden Hummeln und werden oft als »Kuckuckshummeln« bezeichnet. In Europa kommen zehn Kuckuckshummelarten vor (Benton 2006). Die Weibchen dieser Sozialparasiten besitzen keine Pollensammelstrukturen (Corbiculae) an den Hinterbeinen (Benton 2006, Kearns & Thomson 2001). Dies macht sie in der Aufzucht ihrer Nachkommen gänzlich abhängig von ihren Wirtskolonien bzw. den Wirtsarbeiterinnen.

Kuckuckshummelweibchen wachen im Früh-

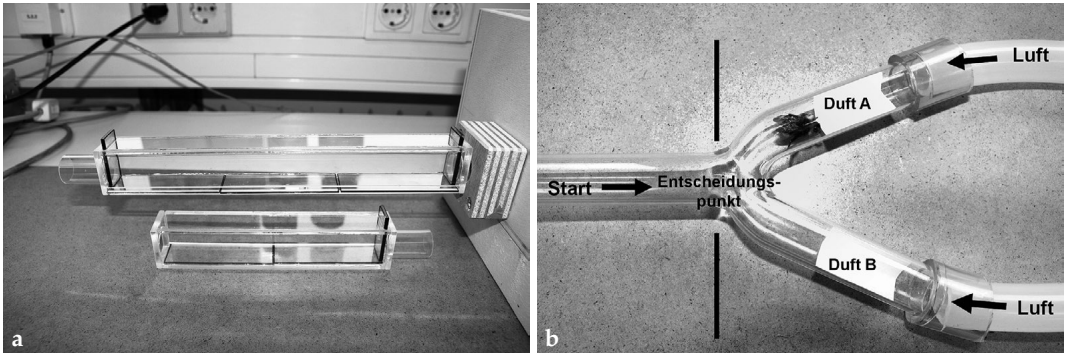


Abb. 2. Versuchsaufbau zur Untersuchung von olfaktorischen Nesteingangsmarkierungen von Hummeln. **a.** Die Wirtsarbeiterinnen verlassen das Nest (rechts) über einen Durchgang zu einem Fouragierareal und hinterlassen dabei auf der Bodenoberfläche Footprints, die für chemische Analysen und Verhaltensexperimente verwendet werden können; **b.** Biotest im Y-Rohr. – Fotos: Elfi Bunk (a), Kirsten Kindermann (b).

jahr einige Wochen später als ihre Wirte aus dem Winterschlaf auf (Benton 2006) und suchen dann nach bereits etablierten Wirtskolonien, in denen die erste Arbeiterinnenbrut schon geschlüpft ist (Kearns & Thomson 2001). Einige Kuckuckshummelarten parasitieren lediglich eine einzige Wirtsart (Spezialisten); es gibt aber auch Arten, die die Nester von verschiedenen, häufig nahe verwandten Arten parasitieren (Generalisten; Benton 2006). Zu den Spezialisten gehören z. B. *Bombus vestalis* und *B. norvegicus*, die jeweils nur eine Wirtsart (*B. terrestris* bzw. *B. hypnorum*) aufsuchen (Abb. 1b). Generalistische Arten wie z. B. *B. bohemicus* dringen in die Nester von *B. terrestris*, *B. cryptarum* und *B. lucorum* ein.

Im Leben der Kuckuckshummeln gibt es folgende wichtige Phasen:

- das Finden eines geeigneten Wirtsnestes,
- das Eindringen in das Wirtsnest, ohne dabei getötet zu werden,
- die Nestübernahme, wobei die Wirtskönigin i. d. R. getötet wird, und
- die Regulierung der Reproduktion, d. h., die Wirtsarbeiterinnen helfen bei der Aufzucht der eigenen Brut.

Wirtsnest-Erkennung

Es gibt deutliche Hinweise darauf, dass Duftstoffe der Wirte eine wichtige Rolle in der Erkennung der Wirtsnester spielen (Bunk et al. 2010, Cederberg 1983, Fisher 1983). Kuckuckshummeln erkennen ihre Wirte anhand von Duftmarkie-

rungen an den Nesteingängen (Bunk et al. 2010, Cederberg 1983, Fisher 1983, Kreuter et al. 2010). Sowohl spezialisierte als auch generalistische Parasitenweibchen können anhand dieser Nesteingangsmarkierungen zwischen ihrem Wirt und einem Nicht-Wirt unterscheiden (Bunk et al. 2010). Es handelt sich um Duftstoffe der Wirtsarbeiterinnen, die diese beim Verlassen des Nestes am Boden ausbringen, um nach der Futtersuche das eigene Nest wiederzuerkennen. Chemische Analysen haben gezeigt, dass es sich um sehr komplexe, artspezifische Gemische von Kohlenwasserstoffen und Estern handelt (Bunk et al. 2010).

Um herauszufinden, welche der Komponenten in diesen sog. Footprints eine Bedeutung bei der Nesterkennung haben, haben wir die Substanzen zunächst im Labor gesammelt. Wenn die Arbeiterinnen das Labornest über eine Plexiglasröhre verlassen (Abb. 2a), können die Footprints von dort mittels geeigneter Lösungsmittel von der Oberfläche der Röhre extrahiert werden. Die Proben wurden mittels Festphasenextraktion in polare und unpolare Fraktionen getrennt und auf ihre Attraktivität im Y-Rohr, einem sehr einfachen Verhaltenstest (Abb. 2b), untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die spezialisierte Kuckuckshummelart *B. vestalis* das komplette artspezifische Duftbouquet ihres einzigen Wirtes nutzt, um Wirtsnester zu finden, während die generalistische Art *B. bohemicus* ihre Wirte anhand der Verbindungen erkennt, die bei den drei Wirtsarten gemeinsam vorkommen (Kreuter et al. 2010).

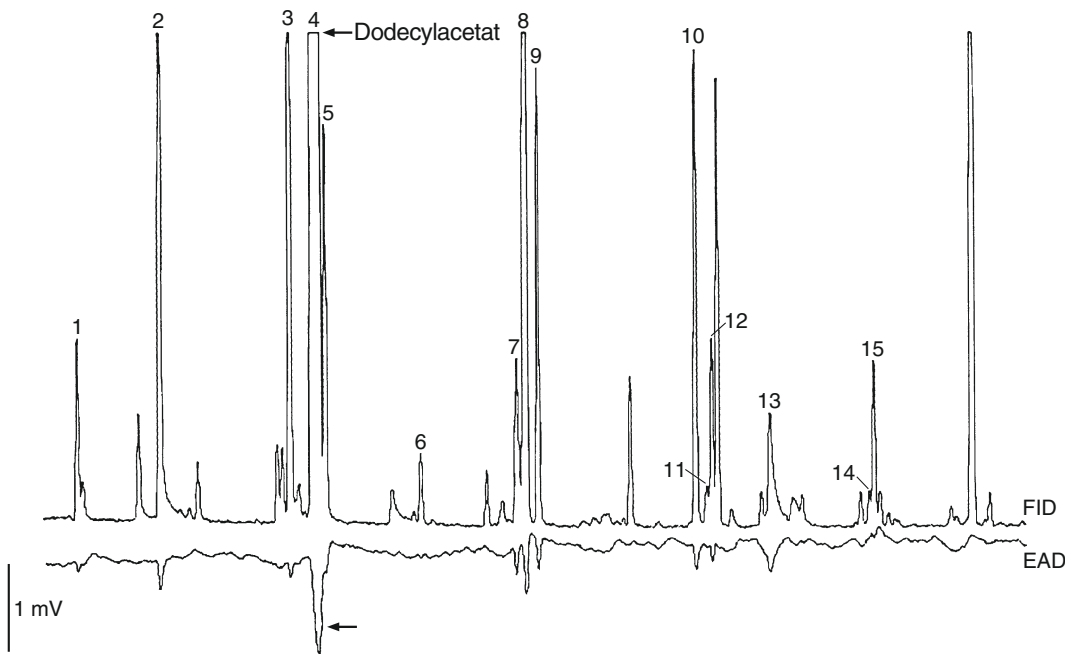


Abb. 3. Gaschromatogramm eines Drüsenextraktes von *Bombus-norvegicus*-Weibchen (oben) und Elektroantennogramm von den Antennen von Wirtsarbeiterinnen (unten). – Nach Zimma et al. (2003).

Eindringen in das Wirtsnest

Wenn Kuckuckshummelweibchen ein passendes Nest entdeckt haben, dringen sie in die Wirtskolonie ein und töten die Königin (Kearns & Thomson 2001) und einige der Wirtsarbeiterinnen. In dieser Nest-Eindringphase werden sie oft von den Wirtsarbeiterinnen attackiert und in einigen Fällen auch getötet (Benton 2006). Mehrere Studien haben gezeigt, dass Kuckuckshummeln verschiedene Invasionsstrategien entwickelt haben, um dem zu entgehen.

Bevor Weibchen von *B. norvegicus* in ein Nest der Baumhummel *B. hypnorum* eindringen, besuchen sie verschiedene Wirtskolonien der gleichen Art. Wir vermuten, dass die Weibchen die Größe der Wirtskolonie erkennen können (Zimma et al., unveröffentlicht). Kürzlich konnten wir bei einer weiteren Kuckuckshummelart, *B. vestalis*, zeigen, dass die Größe der Wirtskolonie entscheidend für die Überlebenswahrscheinlichkeit des Parasiten ist: Wenn in der Wirtskolonie erst 5 Arbeiterinnen geschlüpft sind, ist die Überlebenswahrscheinlichkeit 100 %, bei 20 Arbeiterinnen liegt sie bei etwa 30 % und bei 50 Arbeiterinnen werden

alle Parasitenweibchen beim Eindringen getötet (Sramkova & Ayasse 2009). Es ist also entscheidend für den Parasiten, eine Wirtskolonie zu finden, die nicht zu viele Arbeiterinnen aufweist, um nicht getötet zu werden, aber auch nicht zu wenige, um möglichst viele Arbeiterinnen zur Aufzucht der eigenen Brut zu nutzen.

Eine andere Strategie besteht darin, dass die Weibchen nach dem Eindringen in das Nest chemische Abwehrsubstanzen, die eine Repellentwirkung auf die Wirtsarbeiterinnen entfalten, abgeben und damit die erste Welle von angreifenden Wirtsarbeiterinnen abwehren (Zimma et al. 2003). Wie alle sozialen Insekten produzieren Hummeln sehr komplexe Mischungen von verschiedenen chemischen Substanzen. Um herauszufinden, welche Verbindungen zur Kommunikation eingesetzt werden, wird häufig die Methode der Gaschromatografie (GC) gekoppelt mit der Elektroantennografie (EAD) verwendet. Dabei werden Substanzen nach der Trennung auf der GC-Säule gleichzeitig zum GC-Detektor und auf die Insektenantenne geleitet. Für jede Substanz, für die Rezeptoren in der Antenne vorhanden sind, wird ein elektrischer Impuls aufgezeichnet (Abb. 3). Auf diese Weise

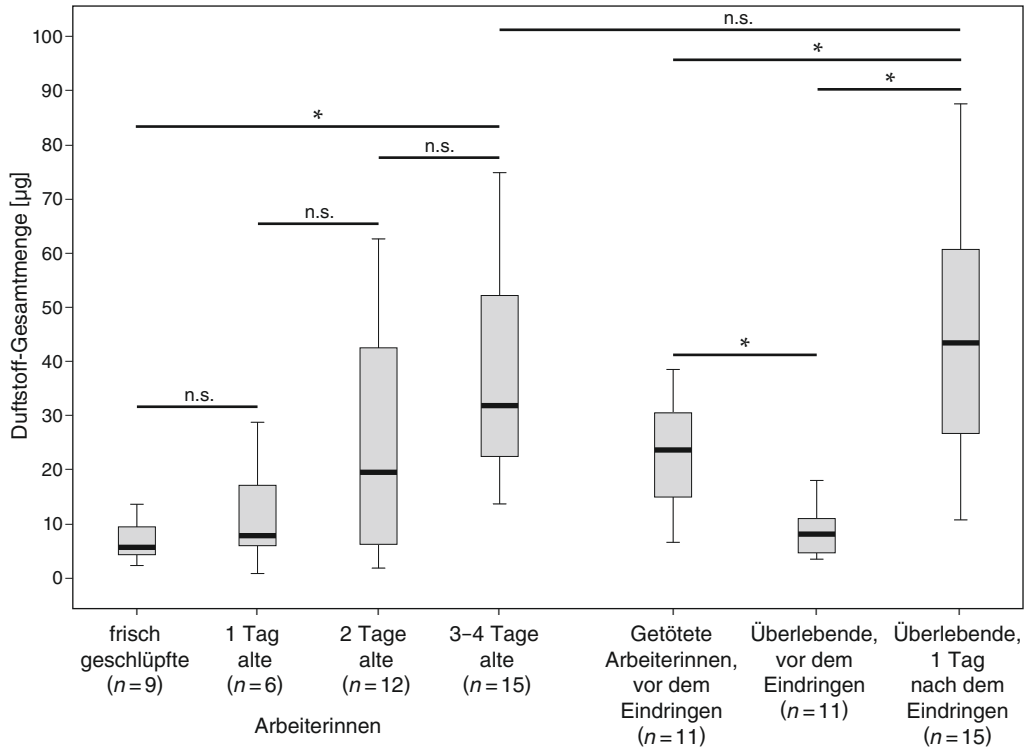


Abb. 4. Duftstoffmenge auf der Kutikulaoberfläche (in µg) verschieden alter *Bombus-terrestris*-Arbeiterinnen (links) sowie vor und nach dem Eindringen von *Bombus-vestalis*-Weibchen in das Nest (rechts); *: $p < 0,05$, n.s.: nicht signifikant, U-Test, Benjamini-Hochberg-correction. – Nach Sramkova & Ayasse (2009).

konnten wir nachweisen, dass bei *B. norvegicus* Dodecylacetat eine Schlüsselfunktion als Repellent beim Eindringen in das Wirtsnest innehat (Zimma et al. 2003; Abb. 3).

Nach dem Eindringen in das Nest tötet die Kuckuckshummel einige der Wirtsarbeiterinnen. Wir konnten zeigen, dass *B.-terrestris*-Arbeiterinnen, die älter als 2 Tage sind, zu über 50 % von *B.-vestalis*-Weibchen getötet werden, während frisch geschlüpfte Arbeiterinnen nur zu etwa 30 % getötet werden. Arbeiterinnen, die erst nach dem Eindringen der Kuckuckshummel in das Nest schlüpften, überlebten alle (Sramkova & Ayasse 2009). Der Grund hierfür ist, dass nur die älteren Arbeiterinnen diejenigen mit entwickelten Eierstöcken sind, die mit der Kuckuckshummel um die Reproduktion konkurrieren würden (s.o.: competition phase). Erkannt werden die älteren Arbeiterinnen letztlich an ihren Duftbouquets auf der Körper-, d.h. Kutikulaoberfläche. Die Duftstoffmenge nimmt mit dem Alter der

Arbeiterinnen zu (Sramkova & Ayasse 2009; Abb. 4, links) und auch die Zusammensetzung der Bouquets ändert sich. Arbeiterinnen, die nach dem Eindringen der Kuckuckshummel getötet werden, weisen größere Duftstoffmengen auf als diejenigen Arbeiterinnen, die den Angriff überlebt haben. Interessanterweise steigt nach dem Eindringen der Kuckuckshummel in das Nest die Duftstoffmenge auf der Kutikulaoberfläche der überlebenden Arbeiterinnen an (Abb. 4, rechts). Eine mögliche Erklärung für die Änderung der Duftstoffe ist ein Wetttrüben um die Dominanz zwischen Arbeiterinnen und Parasit. Es ist jedoch auch möglich, dass chemische Substanzen vom Parasitenweibchen auf die Arbeiterinnen aktiv durch Körperkontakt oder passiv über markiertes Nestmaterial übertragen werden. Zukünftige Untersuchungen sollten sich detaillierteren chemischen Analysen der Duftprofile von Arbeiterinnen widmen, um diese Hypothesen zu überprüfen.

Kontrollmechanismen zur Regulierung der Reproduktion bei Hummeln

Ist die Kuckuckshummel erfolgreich in das Wirtsnest eingedrungen, muss sie die Arbeiterinnen dazu bringen, ihr bei der Aufzucht der eigenen Nachkommen zu helfen, und sie muss die Arbeiterinnenreproduktion unterbinden sowie die Reproduktion in der Wirtskolonie so monopolisieren wie im weiselrichtigen¹ Volk die Königin. Bekannt ist, dass es bei sozialen Insekten verschiedene Kontrollmechanismen zur Regulierung der Reproduktion gibt. Bei kleinen, individuenarmen Kolonien (z. B. bei Furchenbienen) kommt es zu aggressiven Interaktionen der Königin mit den Arbeiterinnen, die zu einer Hemmung der Eierstockentwicklung führen. Bei individuenreicheren, großen Kolonien ist das nicht mehr möglich und es kommt zur pheromonalen Kontrolle der Eierstockentwicklung (z. B. bei Ameisen, Honigbienen). Hierbei werden von der Königin Primerpheromone (d.h. Pheromone, die einen längerfristigen physiologischen Effekt auslösen) und Fertilitätssignale eingesetzt. Da Primerpheromone gegen die Interessen der Arbeiterinnen wirken, wird ihr Vorkommen häufig in Frage

1 Weisel: Ameisen- oder Bienenkönigin.

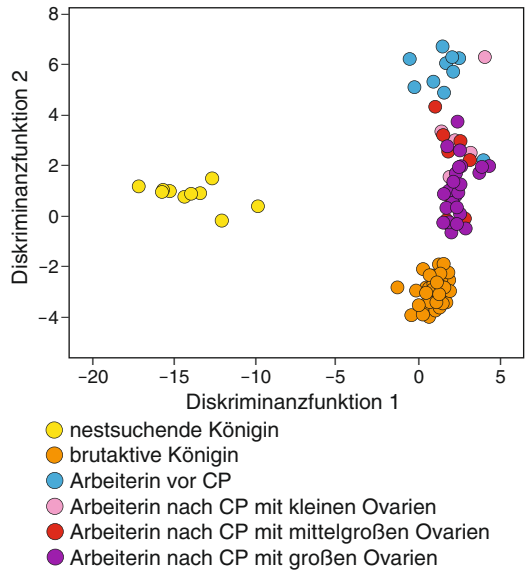


Abb. 5. Fertilitätssignale auf der Kutikulaoberfläche verschiedener *Bombus-terrestris*-Weibchen. CP: competition point (Beginn Konkurrenzphase). Diskriminanzanalyse: DF 1: χ^2 : 617,98; df: 75; $p < 0,001$; DF 2: χ^2 : 339,03; df: 56; $p < 0,001$. – Nach Sramkova et al. (2008).

gestellt (Keller & Nonacs 1993). Fertilitätssignale sind auf der Kutikulaoberfläche von Weibchen mit entwickelten Eierstöcken zu finden; meistens

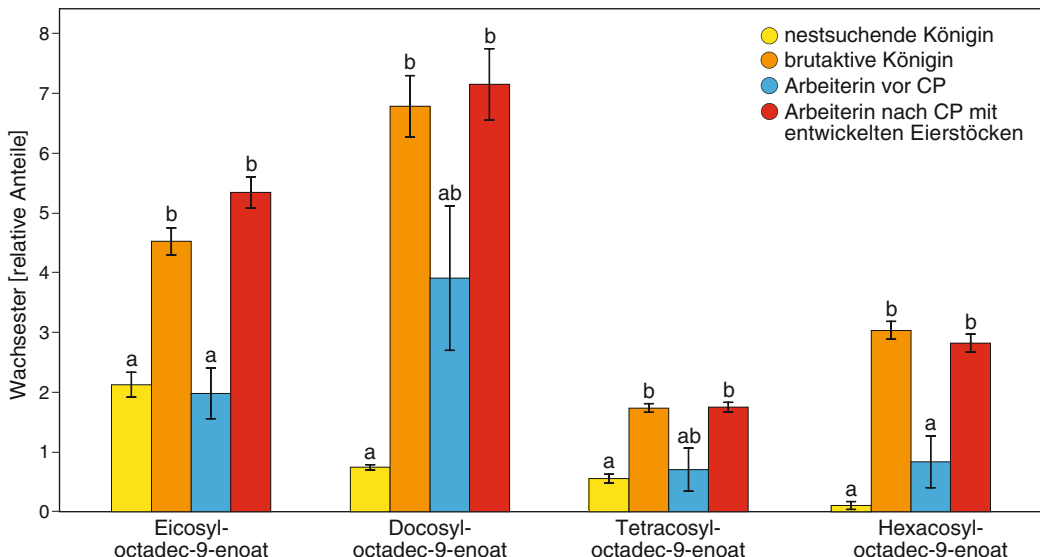


Abb. 6. Relative Anteile (Mittelwert $\pm$ SE) von Wachsestern mit Funktion als Fertilitätssignal im kutikulären Duftprofil von *Bombus-terrestris*-Königinnen und -Arbeiterinnen. CP: competition point (Beginn Konkurrenzphase). SE: Standardfehler; verschiedene Buchstaben: signifikanter Unterschied, ANOVA: $p < 0,01$, Tamhane-Test: $p < 0,05$. – Nach Sramkova et al. (2008).

handelt es sich dabei um die Königin oder um dominante Arbeiterinnen. An ihnen erkennt eine Arbeiterin, ob es Sinn macht, mit der Königin zu kooperieren und dadurch die eigene Fitness zu erhöhen. Es liegt also ein »ehrliches Signal« vor (Seeley 1985).

Es gibt Hinweise, dass bei Hummeln sowohl Primerpheromone als auch Fertilitätssignale vorkommen. Am besten untersucht ist die Erdhummel *B. terrestris*, für die schon früh gezeigt wurde, dass die Königin ein Primerpheromon besitzt, mit dem sie die Eierstockentwicklung bei Arbeiterinnen hemmen kann (van Honk et al. 1980, van Honk & Hogeweg 1981, Bloch & Hefetz 1999). Vor kurzem konnten auch einzelne Substanzen identifiziert werden, die hierbei eine Rolle spielen (van Oystaeyen et al. 2014).

Bei den Fertilitätssignalen konnte gezeigt werden, dass sich die kutikulären Duftbouquets bei sterilen und fertilen Weibchen unterscheiden (Ayasse et al. 1995, Sramkova et al. 2008). Sie bestehen hauptsächlich aus Kohlenwasserstoffen, Aldehyden und Wachsestern, und eine nestsuchende Wirtskönigin weist ein ganz anderes Duftprofil auf als die Weibchen in der sozialen Phase der Kolonieentwicklung im Nest. Das Duftbouquet der Arbeiterinnen ist dem der brutaktiven Königin umso ähnlicher, je stärker die Eierstöcke entwickelt sind (Abb. 5). Chemische Analysen haben gezeigt, dass bestimmte Wachsester nur bei Tieren mit entwickelten Eierstöcken in größeren Anteilen vorhanden sind, was auf eine Bedeutung dieser Wachsester als Fertilitätssignale hinweist (Abb. 6; Sramkova et al. 2008).

Regulierung der Arbeiterinnenreproduktion

Nun wenden wir uns wieder den Kuckuckshummelweibchen zu und stellen folgende Fragen:

1. Können Kuckuckshummelweibchen die Eierstockentwicklung von Wirtsarbeiterinnen gleich wie die Königin hemmen?
2. Ahmen Kuckuckshummeln den Kolonieduft ihrer Wirte nach (chemische Mimikry), um als Ersatzkönigin akzeptiert zu werden?

Zur Beantwortung der ersten Frage haben wir ein Verhaltensexperiment durchgeführt. In einer durch ein Doppelgitter in zwei Kompartimente geteilten Versuchsbbox wurden auf beiden Seiten jeweils drei frisch geschlüpfte Hummelarbeiterinnen mit nicht entwickelten Eierstöcken gesetzt

(Kontrolle), zusätzlich auf einer Seite (a) eine Wirtskönigin oder (b) ein Parasitenweibchen einer spezialisierten oder generalistischen Kuckuckshummelart. Die Arbeiterinnen solcher weisellosen Kleinkolonien beginnen in einem Zeitraum von 6 Tagen Eierstöcke zu entwickeln. Ist keine Königin anwesend, wird eine Arbeiterin zur Ersatzkönigin. Die Parasitenweibchen und die Königin hatten in diesem Experiment nun die Möglichkeit, die Reproduktion der Arbeiterinnen zu hemmen, entweder durch direkten Kontakt im selben Kompartiment oder mittels Pheromone, die auch durch das Gitter diffundieren sollten und im anderen Kompartiment eine Wirkung entfalten können. In diesem Fall würden sie auch die Arbeiterinnen jenseits des Gitters erreichen. Nach 6 Tagen wurde das Experiment beendet und die Eierstöcke der Arbeiterinnen analysiert. Hierbei zeigte sich, dass Arbeiterinnen, die zusammen mit der Königin in einem Kompartiment waren, signifikant kleinere Eierstöcke aufwiesen als Arbeiterinnen auf der anderen Seite des Gitters. Waren sie zusammen mit dem Parasiten im gleichen Kompartiment, so hatten die Arbeiterinnen kleinere Eierstöcke als ohne die Parasiten bzw. bei der Kontrollgruppe (nur Arbeiterinnen) (Abb. 7; Lückemeyer 2009, Kreuter et al. 2012). Das bedeutet, die Hemmung der Eierstockentwicklung von Arbeiterinnen ist nur bei direktem Kontakt mit der Wirtskönigin oder den Parasitenweibchen möglich. Während der Experimente konnten wir beobachten, dass die Parasitenweibchen häufig Körperkontakt mit den Wirtsarbeiterinnen aufnahmen. Solch eine konstante und aggressionslose Kontaktaufnahme wurde auch bei früheren Experimenten mit *B.-vestalis*-Weibchen beschrieben (van Honk et al. 1981). Unsere Ergebnisse und die Beobachtungen der früheren Studien sprechen dafür, dass physischer Kontakt ein wichtiger Faktor während der Nestübernahme durch Kuckuckshummeln ist, um chemische Signale auf die Wirtsarbeiterinnen zu übertragen.

Chemische Mimikry bei Kuckuckshummeln

Um die zweite Frage zu klären, ob Kuckuckshummeln den Kolonieduft ihrer Wirte nachahmen (chemische Mimikry), haben wir ein weiteres Experiment durchgeführt, welches zeigte, dass Parasitenweibchen (*B. vestalis*), sobald sie ein Wirtsnest riechen, noch vor dem Eindringen damit beginnen, ihr kutikuläres Duftbouquet

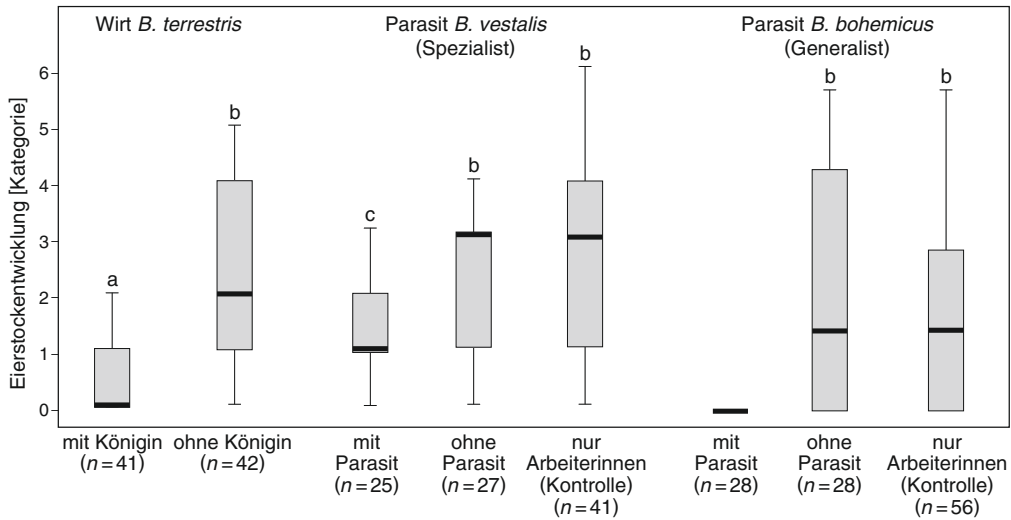


Abb. 7. Eierstockentwicklung (in 6 Kategorien) bei *Bombus-terrestris*-Arbeiterinnen in An- oder Abwesenheit einer Königin (links) und in An- oder Abwesenheit von *B.-vestalis*- (Mitte) oder *B.-bohemicus*-Weibchen (rechts); n : Anzahl der Tiere; verschiedene Buchstaben: signifikanter Unterschied $p < 0,05$, Mann-Whitney. – Nach Lückemeyer (2009), Kreuter et al. (2012).

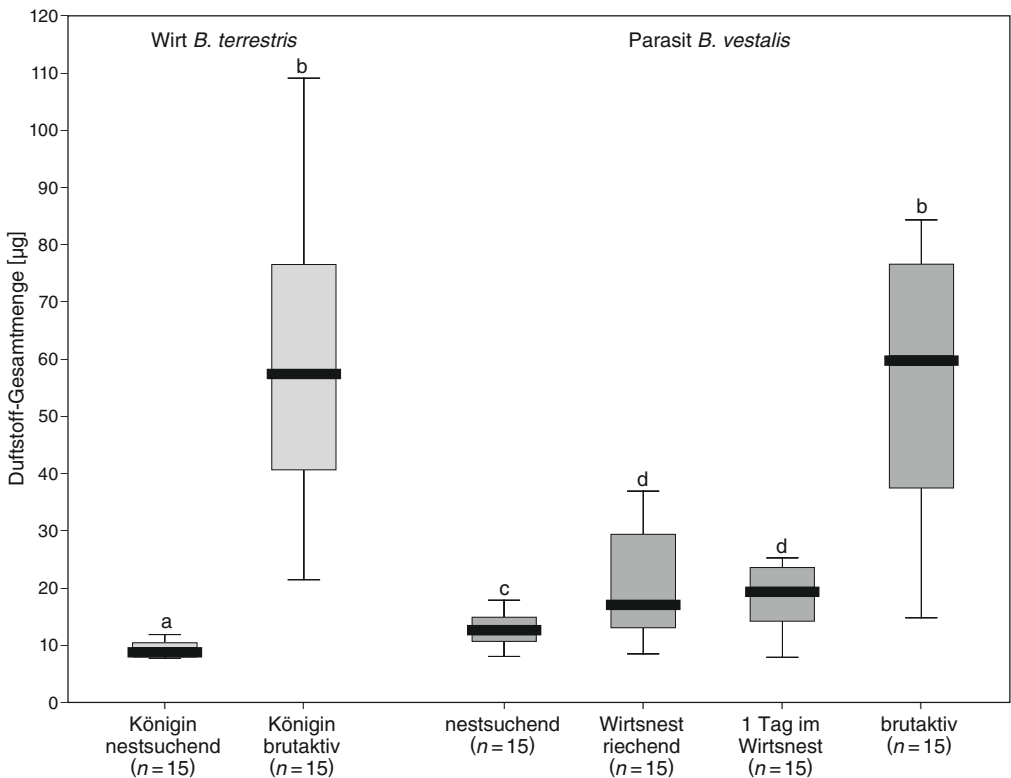


Abb. 8. Duftstoffmenge bei nestsuchenden und brutaktiven *Bombus-terrestris*-Königinnen sowie bei *B.-vestalis*-Weibchen vor und nach dem Eindringen in ein Wirtsnest von *B. terrestris*; n : Anzahl der Tiere; verschiedene Buchstaben: signifikanter Unterschied, $p < 0,05$, U-Test, Benjamini-Hochberg-correction. – Nach Lückemeyer (2009).

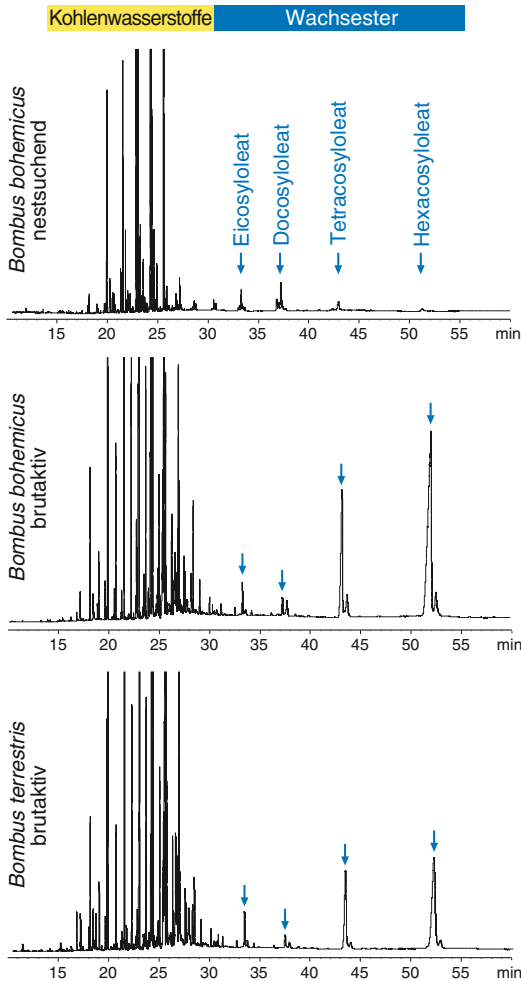


Abb. 9. Duftbouquets (gaschromatografische Auftrennung) auf der Kutikulaoberfläche von nestsuchenden und brutaktiven *Bombus-bohemicus*-Weibchen sowie brutaktiven *B.-terrestris*-Königinnen. – Nach Ayasse & Jarau (2014).

zu ändern. Sie schmieren dazu Substanzen aus abdominalen Drüsen auf ihre Kutikulaoberfläche. Brutaktive Kuckuckshummeln besitzen am Ende die gleiche Duftstoffmenge wie ihre brutaktiven Wirtsköniginnen (Abb. 8; Lückemeyer 2009).

Ein Vergleich der Duftstoffe zeigt, dass Wirt und Parasit qualitativ die gleichen Substanzen produzieren. Die Menge und die relativen Anteile bestimmter Substanzen verändern sich beim Eindringen der Kuckuckshummel in das Wirtsnest (Abb. 9; Lückemeyer 2009). Bei dem Wirt *B. terrestris* wurden vier Wachsester (Eicosyloleat, Docosyloleat, Tetracosyloleat, Hexacosyloleat)

identifiziert, die als Fertilitätssignal fungieren (Sramkova et al. 2008). Unsere chemischen Analysen zeigten, dass bei brutaktiven *B.-vestalis*-Weibchen die relativen Anteile der Wachsester ansteigen und sich das Duftbouquet brütender Parasitenweibchen demjenigen der brütenden Wirtsköniginnen angleicht (Abb. 9, 10). Parasitenweibchen betreiben daher chemische Mimikry und imitieren das Fertilitätssignal der Wirtskönigin. Das gleiche Ergebnis liegt auch für die generalistische Kuckuckshummel *B. bohemicus* vor: Nestsuchende Parasitenweibchen weisen kleinere Mengen an Wachsester auf, brutaktive große Mengen; das Duftstoffprofil von brutaktiven Parasiten- und Wirtweibchen (*B. terrestris*) ist praktisch identisch (Kreuter et al. 2012, Ayasse & Jarau 2014).

Um zu beweisen, dass diese Wachsester tatsächlich eine Rolle als Fertilitätssignale spielen, führten wir einen weiteren Biotest durch. Fünf Hummelarbeiterinnen wurden mit einem Paraffinblättchen, das mit verschiedenen Testgemischen (Duft einer Wirtskönigin bzw. eines Parasitenweibchens; synthetische Mischung der Wachsester; reines Lösungsmittel als Kontrolle) alle 12 Stunden imprägniert wurde, in eine Versuchsbox gesetzt. Ein Verhaltensmuster, nämlich das Zurückweichen, das typisch ist, wenn Arbeiterinnen mit einer Königin interagieren, wurde in signifikant höheren Frequenzen gezeigt, wenn das Paraffinplättchen entweder mit den Duftstoffen einer Kuckuckshummel oder mit den Duftstoffen einer brutaktiven Königin, aber auch mit der synthetischen Mischung der Wachsester imprägniert wurde (Abb. 11; Lückemeyer 2009).

Insgesamt zeigen diese Untersuchungen, dass Kuckuckshummeln bemerkenswerte Anpassungen evolviert haben und chemischen Botenstoffen eine herausragende Bedeutung beim Suchen und erfolgreichen Eindringen in Wirtsnester sowie bei der Regulierung der Arbeiterinnenreproduktion zukommt.

Fazit

- Kuckuckshummeln haben sehr effiziente Strategien zum Eindringen in die Wirtsnester entwickelt, bei denen die chemische Kommunikation eine wichtige Rolle spielt;
- Wirte werden an den Duftstoffen im Nest-Eingangsbereich erkannt;

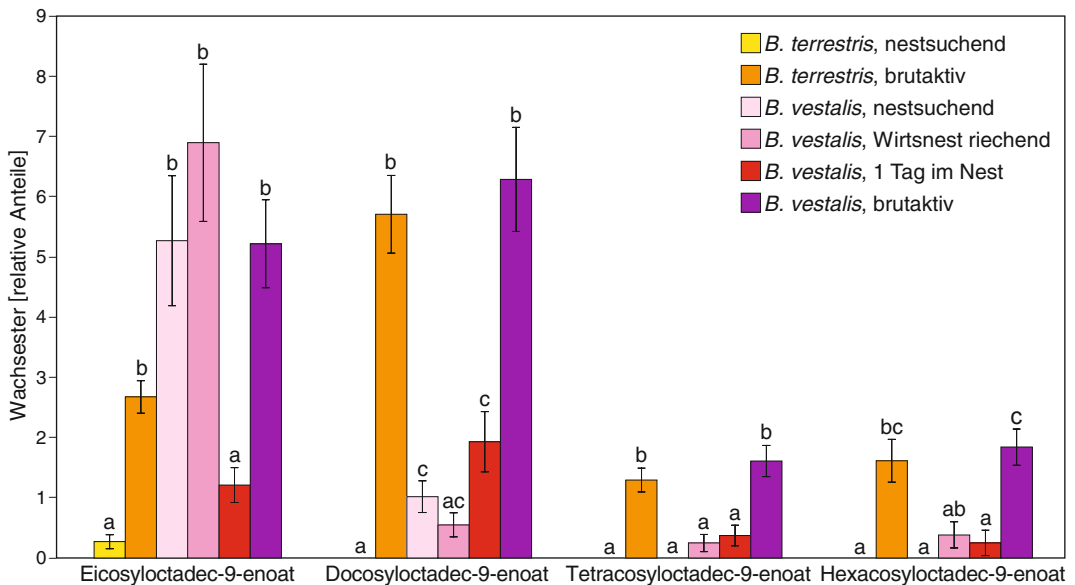


Abb. 10. Relative Anteile (Mittelwert $\pm$ SE) von Wachsestern bei *Bombus-terrestris*-Königinnen und *B.-vestalis*-Weibchen. SE: Standardfehler; verschiedene Buchstaben: signifikanter Unterschied, ANOVA, Tamhane-Test, Benjamini-Hochberg-correction: $p < 0,05$. – Nach Lückemeyer (2009).

- Repellentsubstanzen (Allomone) dienen als Waffe gegen angreifende Wirtsarbeiterinnen;
- Wirtsarbeiterinnen mit entwickelten Eierstöcken, die bei der Reproduktion konkurrieren könnten, werden erkannt und gezielt getötet;
- Camouflage und chemische Mimikry dienen als Eindringstrategie, um den Geruch der Wirtshummeln anzunehmen;
- Chemische Mimikry von Fertilitätssignalen der Königin wird eingesetzt, um die Wirtsarbeiterinnen zur Aufzucht der eigenen Brut zu benutzen.

Danksagung

Mein besonderer Dank geht an die Doktorandinnen (Kirsten Kreuter, Anna Lückemeyer und Ann-Marie Rottler) und Diplomanden (Elfriede Bunk, Thomas Marlovits, Bernhard Zimma), die die Forschungsarbeiten an Hummeln und Kuckuckshummeln enthusiastisch mitgetragen haben. Diese Forschungsarbeiten wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Österreichischen Forschungsfond mit mehreren Sachbeihilfen an M. Ayasse unterstützt.

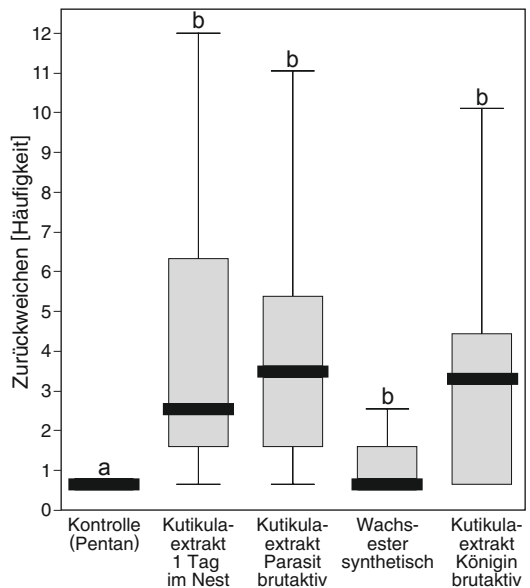


Abb. 11. Änderung im Verhaltensmuster von *Bombus-terrestris*-Arbeiterinnen (Häufigkeit des Zurückweichens) unter Einfluss von verschiedenen Testgemischen (imprägnierte Paraffinplättchen). Verschiedene Buchstaben: signifikanter Unterschied $p < 0,001$, U-Test, Benjamini-Hochberg-correction. – Nach Lückemeyer (2009).

Literatur

- Ayasse, M. & S. Jarau. 2014. Chemical Ecology of bumble bees. – *Annual Reviews of Entomology*, 59: 299–329.
- Ayasse, M., T. Marlovits, J. Tengö, T. Taghizadeh & W. Francke. 1995. Are there pheromonal dominance signals in the bumblebee *Bombus hypnorum* L. (Hymenoptera, Apidae)? – *Apidologie*, 26(3): 163–180.
- Benton, T. 2006. Bumblebees. – HarperCollins, London, 592 S.
- Bloch, G. & A. Hefetz. 1999. Regulation of reproduction by dominant workers in bumble bee (*Bombus terrestris*) queenright colonies. – *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 45(2): 125–135.
- Bunk, E., A. Sramkova & M. Ayasse. 2010. The role of trail pheromones in host nest recognition of the social parasitic bumblebees *Bombus bohemicus* and *Bombus rupestris* (Hymenoptera: Apidae). – *Chemoecology*, 20(3): 189–198.
- Cederberg, B. 1983. The role of trail pheromones in host selection by *Psithyrus rupestris* (Hymenoptera: Apidae). – *Annales Entomologici Fennici*, 49: 11–16.
- Duchateau, M. J. & H. H. W. Velthuis. 1989. Ovarian development and egg laying in workers of *Bombus terrestris*. – *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 51(3): 199–213.
- Fisher, R. M. 1983. Recognition of host nest odour by the bumble bee social parasite *Psithyrus ashtoni* (Hymenoptera: Apidae). – *Journal of the New York Entomological Society*, 91(4): 503–507.
- Fletcher, D. J. C. & K. G. Ross. 1985. Regulation of reproduction in eusocial Hymenoptera. – *Annual Review of Entomology*, 30: 319–344.
- Kearns, C. A. & J. D. Thomson. 2001. The natural history of bumblebees: A sourcebook for investigations. – University Press of Colorado, Boulder, CO, USA, 120 S.
- Keller, L. & P. Nonacs. 1993. The role of queen pheromones in social insects: queen control or queen signal? – *Animal Behaviour*, 45(4): 787–794.
- Kreuter, K., T. Robert, W. Francke & M. Ayasse. 2010. Specialist *Bombus vestalis* and generalist *Bombus bohemicus* use different odour cues to find their host *Bombus terrestris*. – *Animal Behaviour*, 80(2): 297–302.
- Kreuter, K., E. Bunk, A. Lückemeyer, T. Robert, W. Francke & M. Ayasse. 2012. How the social parasitic bumblebee *Bombus bohemicus* sneaks into power of reproduction. – *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 66(3): 475–486.
- Lückemeyer, A. 2009. The role of chemical communication in the reproductive biology of bumblebees and cuckoo bumblebees. – Dissertation, Fakultät für Naturwissenschaften, Universität Ulm, 173 S.
- Michener, C. D. 2000. The bees of the World. – John Hopkins University Press, Baltimore, MD, USA, 913 S.
- Röseler, P.-F. & C. G. J. van Honk. 1990. Castes and reproduction in bumblebees. – In: Engels, W. (ed.): Social insects: an evolutionary approach to castes and reproduction. Springer, Berlin: 147–166.
- Röseler, P.-F., I. Röseler & C. G. J. van Honk. 1981. Evidence for inhibition of corpora allata activity in workers of *Bombus terrestris* by a pheromone from the queen's mandibular glands. – *Experientia*, 37: 348–351.
- Seeley, T. D. 1985. Honeybee Ecology: A Study of Adaptation in Social Life. – Princeton University Press, Princeton, NJ, USA, 216 S.
- Sramkova, A. & M. Ayasse. 2009. Chemical ecology involved in invasion success of the cuckoo bumblebee *Psithyrus vestalis* and in survival of workers of its host *Bombus terrestris*. – *Chemoecology*, 19(1): 55–62.
- Sramkova, A., C. Schulz, R. Twele, W. Francke & M. Ayasse. 2008. Fertility signals in the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). – *Naturwissenschaften*, 95(6): 515–522.
- van Doorn, A. 1988. Reproductive dominance in bumblebees: an etho-physiological study. – Dissertation, University of Utrecht, Einwijk, NL, 92 S.
- van Honk, C. & P. Hogeweg. 1981. The ontogeny of the social structure in a captive *Bombus terrestris* colony. – *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 9(2): 111–119.
- van Honk, C. G. J., H. H. W. Velthuis, P.-F. Röseler & M. E. Malotaux. 1980. The mandibular glands of *Bombus terrestris* queens as a source of queen pheromone. – *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 28(2): 191–198.
- van Honk, C., P.-F. Röseler, H. Velthuis & M. Malotaux. 1981. The conquest of a *Bombus terrestris* colony by a *Psithyrus vestalis* female. – *Apidologie*, 12(1): 57–67.
- van Oystaeyen, A., R. C. Oliveira, L. Holman, J. S. van Zweden, C. Romero, C. A. Oi, P. d'Ettorre, M. Khaleesi, J. Billen, F. Wäckers, J. G. Millar & T. Wenseleers. 2014. Conserved class of queen pheromones stops social insect workers from reproducing. – *Science*, 343(6168): 287–290.
- Williams, P. H. 1998. An annotated checklist of bumble bees with an analysis of patterns of description (Hymenoptera: Apidae, Bombini). – *Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology*, 67(1): 79–152.
- Wilson, E. O. 1971. The insect societies. – Belknap Press, Harvard University Press, Cambridge, MA, USA, 548 S.
- Zimma, B. O., M. Ayasse, J. Tengö, F. Ibarra, C. Schulz & W. Francke. 2003. Do social parasitic bumblebees use chemical weapons? (Hymenoptera, Apidae) – *Journal of Comparative Physiology A*, 189(10): 769–775.

Diskussion

J. Heinze: Ist etwas darüber bekannt, wie die Kuckuckshummeln in der Evolution entstanden sind? Eine Möglichkeit wäre, dass intraspezifischer Parasitismus (das heißt innerhalb einer Art) zu interspezifischem (zwischen zwei Arten) geführt hat. Gibt es intraspezifischen Parasitismus bei Hummeln?

M. Ayasse: Es gibt ihn, allerdings nicht bei den Kuckuckshummeln, die in einer Untergattung der Hummeln zusammenfasst sind. Bei einigen Hummelarten kommt es jedoch vor, dass einige Königinnen sehr spät schlüpfen und dann in bereits etablierte Kolonien der gleichen Art eindringen. Dies führt zu Kämpfen zwischen dem eindringenden Weibchen und der Königin. Es gibt auch einige Arten, die fakultativ parasitisch leben; sie kommen aber eher im hohen Norden vor. Bei ihnen ist die Strategie tatsächlich so, dass die Weibchen entweder selbst eine Kolonie gründen oder in eine vorhandene eindringen, je nachdem, wie weit die Saison fortgeschritten ist.

P. Rosenkranz: Die Duftbouquets, die bei der Kommunikation eine Rolle spielen, bestehen aus 50 oder mehr Substanzen, unter denen die Wachsester eine besondere Rolle einnehmen. Lässt sich das Gesamtbouquet näher eingrenzen? Wie reduziert sich die Wirkung, wenn in einer künstlichen Mischung zum Beispiel von den Kohlenwasserstoffen nur ein Viertel oder von den Wachsestern nur ganz bestimmte Substanzen enthalten sind?

M. Ayasse: Die Biotests in der Natur durchzuführen, ist relativ aufwändig. Wir haben aber einige Verhaltensexperimente durchgeführt, auch mit anderen Substanzen als den Wachsestern. Es hat sich gezeigt, dass die Wachsester eine Schlüsselrolle spielen; die Kuckuckshummeln produzieren ja die gleichen Wachsester, die auch die Wirtskönigin produziert und die eine Bedeutung als Fertilitätssignale haben. Aber auch unter den Kohlenwasserstoffen gibt es einige Substanzen, für die kürzlich gezeigt worden ist, dass sie eine Bedeutung als Pheromone haben. Insgesamt müssen aber noch viele Einzelsubstanzen getestet werden.

E. Grill: Ich nehme an, dass es nicht nur innerhalb der Spezies ein spezifisches Duftbouquet gibt, sondern auch innerhalb einer Kolonie. Übernimmt die Kuckuckshummel auch den spezifischen Duft einer Kolonie oder dominiert sie mit ihrem Duftbouquet und gestaltet sozusagen einen neuen koloniespezifischen Duft?

M. Ayasse: Bei sozialen Insekten ist es tatsächlich so, dass innerhalb einer Art auch die Kolonien spezifische Düfte aufweisen. Es ist aber nicht vorstellbar, dass die Kuckuckshummel in der Lage wäre, Mimikry zu betreiben und ein jeweils koloniespezifisches Duftbouquet zu entwickeln. Wir wissen, dass die Kuckuckshummeln qualitativ die gleichen Substanzen (Wachsester) produzieren können wie ihre Wirte und dass sie damit ungefähr die Gesamtbouquets der Wirtshummeln nachmachen können. Aber wenn die Kuckuckshummel in die Wirtskolonie eindringt, sucht sie direkten Kontakt mit den Arbeiterinnen. Wir vermuten, dass dann eine Camouflage stattfindet, dass sie sozusagen ein »fine tuning« durchführt, um genau diesen koloniespezifischen Duft zu bekommen. Die Wachsester werden dagegen von der Kuckuckshummel selber produziert; die große Menge an Wachsestern tritt zu einem Zeitpunkt auf, an dem die Wirtskönigin schon getötet worden ist.

F. Roces: Es wurde gezeigt, dass die Überlebenswahrscheinlichkeit der Kuckuckshummeln von der Koloniegroße abhängig ist. Ist bekannt, ob bzw. wie sie die Koloniegroße abschätzen können? Oder verhalten sich die Kuckuckshummeln eher opportunistisch?

M. Ayasse: Wir haben diese Untersuchungen an der Baumhummel (*Bombus hypnorum*) durchgeführt. Sie hat den Vorteil, dass sie auch in Vogelnistkästen geht, die man öffnen und kontrollieren kann. Wir haben festgestellt, dass die Kuckuckshummel verschiedene Nester abfliegt, bevor sie in eines eindringt, aber wir wissen bislang nicht, wie sie die Nestgröße erkennt. Möglicherweise erkennt sie an der Duftkonzentration, wie groß die Kolonie ist. Vielleicht ist sie auch in der Lage, bei den kleinen Kolonien erst einmal durch die Kolonie zu gehen, was aber eine riskante Angelegenheit wäre.

K. Stetter: Wie erfolgreich sind die Kuckuckshummeln insgesamt? Wenn sie zu erfolgreich werden, würden sie ja ihre Wirte zu sehr dezimieren und irgendwann aussterben. Wie ist das Verhältnis von normalen Hummeln zu Kuckuckshummeln?

M. Ayasse: Wir haben die meisten Untersuchungen im Labor durchgeführt; es gibt nur wenige Ar-

beiten, in denen das Zusammenspiel im Freiland gemessen wurde. Es ist aber sicherlich so, dass die Kuckuckshummel nicht alle in Frage kommenden Wirtsvölker aufsucht. Darüber hinaus werden die Kuckuckshummeln bei dem Versuch, in das Wirtsnest einzudringen, teilweise getötet. Man kann also davon ausgehen, dass sich das Ganze auf einem gewissen Niveau einpendelt.