

Linzer biol. Beitr.	18/2	341-360	21.11.1986
---------------------	------	---------	------------

**METHODEN UND ANWENDUNGSGBIETE DER POLLENANALYSE BEI WILDBIENEN
(HYMENOPTERA, APOIDEA)**

von PAUL WESTRICH und KONRAD SCHMIDT

1. Einleitung und Begriffsdefinitionen

Im Zusammenhang mit den bestäubungsbiologischen Untersuchungen des 19. Jahrhunderts entstanden immer länger werdende Listen von Pflanzen und der sie besuchenden Insekten. KNUTH (1898-1905) faßte in seinem Handbuch der Blütenbiologie die damals vorliegenden Beobachtungen über blütenbesuchende Tiere, vor allem Käfer, Zweiflügler, Schmetterlinge und Hautflügler zusammen. Gelegentlich finden sich auch Angaben über das Verhalten von Wildbienen in den Blüten (z.B. "pollensammelnd", "nektarsaugend").

LOEW (1884:256) unterschied oligotrope und polytrope Bienenarten, je nachdem, ob sie einen "Blumentyp" oder mehrere Blumentypen bevorzugten. ROBERTSON (1925) prägte für das Pollensammeln der Bienen die Begriffe "monolectic", "oligolectic" und "polylectic". Für Blütenbesuche, bei denen nicht zwischen Nektarsaugen und Pollensammeln unterschieden wird, werden nach wie vor in der angelsächsischen Literatur die Begriffe "oligophagous" und "oligotropic" bzw. "polyphagous" und "polytropic" benutzt (u.a. BAKER und HURD 1968:403, EICKWORT und GINSBERG 1980:422f, FAEGRI und VAN DER PIJL 1979). ALFKEN (1935) sowie HAMANN und KOLLER (1956) verwenden dementsprechend die Bezeichnungen "oligotrop" und "polytrop". Von STOECKHERT (1933) werden die Begriffe "monophag" (eine Pflanzenart bevorzugend), "stenophag" (wenige Pflanzenarten bevorzugend) und "euryphag" (keine Bevorzugung) gebraucht, von HAESLER (1972), WESTRICH (1980) und KRATOCHWIL (1983, 1984) die Bezeichnungen "monanth", "stenanth" und "euryanth". Bei KRATOCHWIL sind gelegentlich

auch die Begriffe "oligophag" und "oligolektisch" bzw. "polyphag" und "polylektisch" zu finden.

Bei der Verwendung der Begriffe oligolektisch und polylektisch schließen wir uns der Definition von LINSLEY und MACSWAIN (1957) an. Danach werden die Arten als oligolektisch bezeichnet, deren sämtliche Weibchen im gesamten Verbreitungsgebiet auch beim Vorhandensein anderer Pollenquellen ausschließlich Pollen einer Pflanzenart oder nah verwandter Pflanzenarten sammeln. Die Oligolektie ist im Normalfall auf Arten einer oder mehrerer Pflanzengattungen oder auf eine Pflanzenfamilie beschränkt. Dies bedeutet aber nicht, daß alle Arten der jeweiligen Verwandtschaftskreise, auf die sich die Oligolektie bezieht, als Pollenquellen genutzt werden. Außerdem gibt es Bevorzugungen, die nicht mit den botanischen systematischen Abgrenzungen übereinstimmen (vgl. z.B. auch VOGEL 1954). (Bei einigen oligolektischen Arten scheint außerdem eine begrenzte Plastizität beim Pollensammeln zu bestehen, die allerdings nur bei einzelnen Weibchen und nur dann erkennbar ist, wenn die bevorzugte(n) Pollenquelle(n) durch natürliche oder menschliche Einwirkungen ausfallen.) Die entsprechende Spezialisierung kann folgendermaßen charakterisiert werden: "Osmia adunca ist eine streng oligolektische, auf Echium (Boraginaceae) spezialisierte Art" oder "Andrena agilissima ist eine oligolektische, auf Kreuzblütler (Brassicaceae) spezialisierte Art". Darüber hinaus kann es notwendig sein, innerhalb der jeweiligen Verwandtschaftskreise die Bevorzugungen, z.B. von Blüten eines bestimmten Blütentyps, noch genauer zu beschreiben. Arten, deren Weibchen sich beim Pollensammeln "opportunistisch" verhalten, also das jeweils vorhandene Blütenangebot in vielfältiger Weise nutzen, bezeichnen wir als polylektisch. Bei Wildbienen reicht das Spektrum von strenger Oligolektie bis hin zu ausgesprochener Polyplektie. Wenn an einem bestimmten Ort und zu einer bestimmten (Tages-)Zeit nur eine oder wenige Pflanzenarten blühen und daher das Angebot an Pollenlieferanten eingeschränkt ist, können die ♀♀ einer sonst polylektischen Art dem Beobachter lokal Oligolektie vortäuschen. Daher müssen Untersuchungen zur Oligolektie möglichst viele, über das Gesamtverbreitungsgebiet einer Art verteilte Beobachtungsorte berücksichtigen.

Streng zu trennen von der Oligolektie als einer zeitlebens bestehenden Bevorzugung bestimmter Pflanzenarten ist die sogenannte Blütenstetigkeit (= Blumenstetigkeit bei KUGLER 1970), die schon im IX. Buch

der "Historia Animalium" des ARISTOTELES von Honigbienen beschrieben wird (zit. nach FRASER 1951:22). Sie ist nach MEEUSE und MORRIS (1984:31) ein "erlerntes Verhaltensmuster". KRATOCHWIL (1984:586) bezeichnet sie als "erlernte Stenanthie". Zwischen Nektar- und Pollensammeln wird meist nicht unterschieden. Zwar kann man bei der Blütenstetigkeit der Honigbiene und wohl auch bei den Hummeln von einem erlernten Verhaltensmuster sprechen (vgl. z.B. MENZEL et al. 1974) dieses aber auch für andere mitteleuropäische Bientaxa als erwiesen anzunehmen, halten wir für verfrüht. Die Oligolektie ist also immer ein Charakteristikum einer Bienenart, während sich die Blütenstetigkeit auf einzelne Individuen bezieht. Mit unseren nachfolgend beschriebenen Untersuchungsmethoden können wir Blütenstetigkeit nur für Weibchen und nur auf der Ebene des Pollensammelns aufgrund des Pollenspektrums in der Pollenladung nachweisen. Wir verstehen daher unter der Blütenstetigkeit der Wildbienen die "Treue" zu den Blüten einer einzigen Pflanzenart während eines Pollensammelfluges.

2. Zwecke der Blütenbesuche

Blüten können von Wildbienen zu ganz verschiedenen Zwecken aufgesucht werden. Im folgenden bleiben Honigbiene (*Apis mellifera*) und Hummeln (*Bombus*, *Psithyrus*) unberücksichtigt, und alle Angaben beziehen sich auf mitteleuropäische Arten.

Zunächst muß zwischen nestbauenden Arten und Brutparasiten ("Kuckucksbienen") unterschieden werden. Der Blütenbesuch der Kuckucksbienen dient bei ♂♂ und ♀♀ ausschließlich der Eigenversorgung, in erster Linie mit Nektar. Hinweise auf das Fressen von Pollen sind uns nicht bekannt. Manche Arten werden zwar auf bestimmten Blüten regelmäßig häufiger angetroffen (z.B. *Nomada armata* auf *Knautia arvensis*), eine ausschließliche Bindung an bestimmte Pflanzenarten als Nektarlieferanten ist aber nirgends erkennbar.

Bei den nestbauenden Arten wiederum müssen ♂♂ und ♀♀ streng auseinander gehalten werden.

♂♂:

- a) ♂♂ besuchen Blüten zur Eigenversorgung mit Nektar. Bei Arten,

deren ♀♀ Pollen nur an bestimmten Pflanzen sammeln (oligolektische Arten), werden auch die ♂♂ in der Regel (aber nicht ausschließlich) an diesen Pflanzen nektarsaugend angetroffen, sofern diese Pflanzen in ihren Blüten Nektar darbieten (z.B. ♂♂ von Andrena florea fast ausschließlich an Bryonia, ♂♂ von Dasygaster hirtipes fast ausschließlich an Asteraceae). Die ♂♂ oligolektischer Arten werden aber auch oft beim Nektarbesuch in den Blüten solcher Pflanzen angetroffen, in denen die ♀♀ keinen Pollen sammeln. So können zum Beispiel die ♂♂ streng oligolektischer, auf Campanula spezialisierter Arten, auch in Geranium-Blüten Nektar saugen.

b) ♂♂ besuchen Blüten, um unbegattete ♀♀ zu finden. Bei einigen oligolektischen Arten findet die Kopula regelmäßig in den Blüten der artspezifischen Pollenquellen statt (z.B. paart sich Andrena pandellei in Campanula-Blüten). Zu beachten ist ferner, daß sich die ♂♂ dieser Arten beim Anflug häufig auf die Blütenblätter setzen ohne Nektar zu saugen.

c) ♂♂ suchen Blüten zum Übernachten oder zum Schutz bei schlechtem Wetter auf. Besonders Campanula-, Geranium-, aber auch Malva- und Cichorium-Blüten werden von den ♂♂ mehrerer Arten aus mehreren Bienen-gattungen hierfür bevorzugt (z.B. Chelostoma fuliginosum, Dufourea dentiventris, Melitta haemorrhoidalis, Rhopitoides canus).

d) Die ♂♂ von einigen Arten der Gattungen Andrena, Rophites, Anthidium, Osmia, Anthophora, Eucera und Tetralonia zeigen ein artspezifisches Territorialverhalten. Im einen Fall kontrollieren sie auf bestimmten Flugbahnen regelmäßig u.a. auch Blüten, die den ♀♀ als Nektar- und/oder Pollenquelle dienen (z.B. Anthophora acervorum, Eucera tuberculata). Im anderen Fall (Anthidium) besteht das Revier aus einer eng umgrenzten Gruppe von Blütenständen, die von den ♀♀ zum Nektar- und/oder Pollensammeln aufgesucht werden. Dieses Territorium wird vom ♂ verteidigt, bei Anthidium manicatum auch gegen artfremde Eindringlinge.

e) Orchideen der Gattung Ophrys, die weder Nektar noch Futterpollen bieten, imitieren als sogenannte Sexualtäuschblumen das Weibchen ihrer Bestäuber und veranlassen die Männchen zu einer Pseudokopulation mit der Blüte (vgl. z.B. KULLENBERG 1961).

♀♀: Bei ♀♀ muß zwischen Blütenbesuchen zur Eigenversorgung und solchen im Zusammenhang mit Brutfürsorgehandlungen unterschieden werden.

a) ♀♀ besuchen Blüten zur Eigenversorgung. Zum Nektarsaugen können von den ♀♀ oligolektischer Arten auch die Blüten solcher Pflanzenarten aufgesucht werden, in denen sie nie Pollen sammeln. Dies ist insbesondere in der Zeit vor der Verproviantierung der ersten Brutzelle zu beobachten, oder wenn die artspezifischen Pollenlieferanten noch nicht aufgeblüht sind oder zwischen den Pollenlieferanten und dem Nest weite Strecken zurückzulegen sind. Die Nektarwirte der meisten Bienenarten dürften daher austauschbar sein. Vielen undifferenziert gemachten Angaben in der Literatur zum Blütenbesuch der ♀♀ dürften solche Verhaltensweisen zugrunde liegen. Pollenfraß als Proteinquelle zur Eireifung wurde bisher nur in wenigen Fällen belegt (BATRA 1980, KÄPYLÄ 1978).

b) Bei einigen oligolektischen Arten erfolgt die Partnerfindung und Kopula beim Blütenbesuch (siehe oben bei den ♂♂).

c) Auch von den ♀♀ werden Blüten zum Schlafen, zum Schutz und zum Sonnen aufgesucht. Auch hier spielen Campanula- und Geranium-Blüten eine herausragende Rolle.

d) ♀♀ suchen Blüten zur Gewinnung von Nistbaumaterial auf: die ♀♀ mehrerer Osmia-Arten verwenden von ihnen selbst mit den Mandibeln ausgeschnittene Stücke von Blütenblättern verschiedener Pflanzen (z.B. Papaver, Malva, Helianthemum) zur Auskleidung der Brutzellen.

e) ♀♀ suchen Blüten zum Sammeln von Larvenproviant auf. Nektarsammelbesuche sind kaum von denen zur Eigenversorgung zu trennen und äußerst schwer zu quantifizieren. Der Anteil des Nektars am Larvenfutter kann selbst innerhalb einer Bienengattung (z.B. Osmia) sehr unterschiedlich sein. Das Nektarsammeln kann zugleich mit dem Pollensammeln an denselben Futterpflanzen erfolgen, seltener werden getrennte Pollen- und Nektarsammlflüge ausgeführt (z.B. Osmia fulviventris nach WESTERKAMP 1978). Pollen- und Nektarsammeln kann auch auf ein und demselben Ausflug an verschiedenen Pflanzenarten stattfinden, besonders dann, wenn die Pollenlieferanten keinen Nektar bieten (z.B. Anthidium manicatum pollensammelnd an Ononis, nektarsammelnd an Stachys, WESTRICH unpubl.). Einen interessanten Sonderfall bilden die ölsammelnden Bienen der Gattung Macropis, die das Öl bestimmter Lysimachia-Arten sammeln und mit deren Pollen mischen (VOGEL 1976). Auf der Ebene des Pollensammelns sind die einzelnen Bienenarten mehr oder weniger spezialisiert (oligolektische Arten) oder es kann ein breites Wirtspflanzenspektrum genutzt werden (polylektische Arten).

3. Methoden

Beobachtungen an einzelnen markierten Bienen im Freiland sind zwar unbedingt notwendig, aber nur solange möglich, bis die Biene aus dem Blickfeld verschwindet. In schwierigem Gelände oder wenn blühende Bäume besucht werden, ist eine Feldbeobachtung über einen längeren Zeitraum nahezu unmöglich. Die Feststellung der Oligolektie und des Pollenlieferantenspektrums einer Art ist daher nur mit Hilfe der Pollenanalyse zweifelsfrei zu klären. In der Imkerei wird die Pollenanalyse zur Feststellung der quantitativen Bedeutung der verschiedenen Trachtpflanzen (Pollenspender) schon seit über 60 Jahren genutzt (vgl. BETTS 1920), ebenso zur Herkunftsbestimmung von Honigen (z.B. ZANDER 1935). Um den landwirtschaftlichen Nutzen einzelner Wildbienenarten als Bestäuber besser abschätzen zu können, wurden in den letzten Jahren auch einige pollenanalytische Untersuchungen durchgeführt (z.B. CHAMBERS 1946, FREE und WILLIAMS 1970, CORREIA 1981, RAW 1974, TASEI 1972, 1973, 1976). Diese Methode wurde bisher jedoch nicht in breiterem Rahmen für blütenökologische Untersuchungen an Wildbienen genutzt.

3.1 Feldmethoden

3.1.1 Untersuchungsgebiet, Vegetationsaufnahme

Die in Betracht gezogene Untersuchungsfläche sollte nicht zu klein gewählt werden. Alle als Pollenquellen in Frage kommenden Pflanzenarten sowie deren Häufigkeit, Verteilung, Blütendichte und Blühzustand sind zunächst zu erfassen. Einzelne blühende Sträucher und Bäume müssen auch im weiteren Umkreis um die Kernfläche mitberücksichtigt werden. Da Nist- und Nahrungsbereich bei zahlreichen Arten nicht räumlich zusammenfallen, können zwischen ihnen z.B. Wasserflächen, Äcker oder Waldbestände liegen (z.B. Andrena vaga, eigene Beobachtung). In diesen Fällen kann der Gesamtlebensraum einer Art mehrere ganz unterschiedlich geardete Geländeausschnitte umfassen. Bei dem Salix-Spezialisten Colletes cunicularius z.B. kann eine Flugsanddüne als Nistbereich und eine mehrere hundert Meter entfernte Weichholzaue als Nahrungsbereich dienen. TEPEDINO (1983) nennt für Megachile rotundata in einem Fall eine

Entfernung von mindestens 500 m zwischen den Nestern und dem Sammelort.

3.1.2 Pollenabnahme im Gelände

Voraussetzung für eine erfolgreiche Feldarbeit ist eine intime Kenntnis der Bienen-Taxonomie und ein gründliches Literaturstudium über die Lebensweise (Nistbereich, Nistweise, bisher festgestellte Blütenbesuche). Sammelnde ♀♀, die im Gelände sicher bis auf die Art bestimmt werden können und die auch für weitere Beobachtungen zur Verfügung stehen sollen, kann der Pollen bereits am Beobachtungsort abgenommen werden ohne die Tiere zu betäuben oder zu töten. Megachiliden (z.B. Anthidium, Osmia, Megachile) streifen nach unseren Erfahrungen im Verlauf weniger Minuten den Pollen durch Putzbewegungen aus der Bauchbürste, wenn sie nach dem Fang in einen kleinen Glasbehälter (Schnappdeckelgläschen) gesetzt und dunkel gehalten werden (z.B. in der Hosentasche). Bei den übrigen Bienen gestaltet sich die Pollenabnahme oft schwieriger, da nicht alle Arten im Glasröhrchen den Pollen abstreifen. Gelegentlich verlieren sie allerdings nach geraumer Zeit einen Teil des Pollens. Notfalls nehmen wir solche Bienen in die Hand und streifen den Pollen mit Hilfe einer sauberen Insektennadel in ein Gläschen. Diese Methode läßt sich aber nur bei Tieren anwenden, die bereits reichlich Pollen gesammelt haben. Wer sich vor eventuellen Stichen schützen will, sollte einen Lederhandschuh tragen. Ruhig stellen lassen sich die Bienen auch, indem man das Gläschen einige Minuten in ein mit Eiskwürfeln gefülltes Gefäß stellt.

3.1.3 Transport gesammelter Bienen

Vielfach wird es sich nicht vermeiden lassen, die gefangenen Tiere zu töten, wenn sie sich im Gelände nicht sicher bestimmen lassen oder wenn sich der Pollen im Gelände nicht abnehmen läßt. Selbstverständlich dürfen diese Tiere zur Vermeidung einer Kontamination mit "Fremdpollen" weder lebend noch tot mit anderen Bienen, auch nicht mit Bienen derselben Art, in dasselbe Gefäß gesperrt werden. Man muß also stets genügend gründlich gereinigte, trockene Gefäße, am besten Schnappdeckelgläser, mitnehmen. Das Abtöten der Tiere sollte unmittelbar nach dem Fang erfolgen. Dies ist z.B. dann besonders wichtig, wenn die gesamte Pol-

lenladung fotografiert werden soll. Damit die Behaarung der Tiere nicht durch erbrochenen Nektar verklebt, was die Determination erschweren kann, sollten sich im Tötungsglas einige saugfähige Zellstoffstreifen befinden. Zum Töten klemmt man einen mit Essigether (Essigsäureethyl-ester) getränkten Zellstoff-Streifen zwischen den Schnappdeckel und den Gläschenrand. Dabei sollte man darauf achten, daß die Biene den ethergetränkten Zellstoff nicht berührt. Das Schnappdeckelglas wählt man also lieber etwas zu groß als zu klein (z.B. Höhe 5 cm, Weite 3 cm).

3.2. Labormethoden

3.2.1 Lichtmikroskopie

3.2.1.1 Präparate von Pollenladungen

Unter "Pollenladungen" verstehen wir den Pollen, der zur Larvenernährung in speziellen Organen (Pollenspeicher) des Thorax, der Beine oder des Abdomens gespeichert und transportiert wird. Zur Pollenaufnahme (Sammeln) dienen in der Regel andere Einrichtungen (z.B. Mandibeln, Rüssel, Kopfbehaarung), bei einigen Megachiliden (z.B. Heriades) dient die Bauchbürste gleichzeitig als Sammel- und Speicherorgan. Für die Untersuchung der Pollenladungen eignen sich außer frischen auch Sammlungstiere. Bisher hat lediglich DINGEMANS-BAKELS (1972) dies bei einigen Andrena-Arten ausprobiert. Das Alter spielt für die Qualität der Präparate kaum eine Rolle. Unser ältestes Pollen-Präparat stammt von einer im Jahre 1846 gefangenen Biene.

Entnahme des Pollens aus dem Pollenspeicher: Bevor man den Pollen entnimmt, werden Farbe und Beschaffenheit der Pollenladung (z.B. fest, locker, "feucht" bzw. verbacken, trocken) sowie deren Lage protokolliert. Sehr oft kann man schon unter dem Stereomikroskop an der Größe, der Form oder der Farbe der Pollenkörner erkennen, ob die Pollenladung mehr als eine Pollensorte enthält. Außerdem sollte unbedingt der Füllungsgrad des Pollenspeichers notiert werden. Als Maß dient dabei die Pollenladung zum Nest heimkehrender Tiere. Notiert wird ein Schätzwert, z.B. "etwa 3/4 der kompletten Pollenladung". Bei Tieren, die man nicht selbst gefangen und einzeln transportiert hat, muß immer damit gerech-

net werden, daß sie durch gemeinsamen Transport mit Fremdpollen von anderen Tieren kontaminiert sind. Die Entnahme des Pollens erfolgt unter dem Stereomikroskop mit einer Insektennadel entsprechender Stärke. Selbstverständlich müssen alle verwendeten Geräte - Nadeln, Pinzetten, Objektträger - peinlich sauber sein. Damit möglichst wenig Pollen verloren geht, legt man einen gereinigten Objektträger bzw. ein sauberes Uhrglasschälchen auf ein jeweils frisches, etwa 12 x 12 cm großes Stück Papier. Falls Pollenkörner beim Präparieren neben den Objektträger fallen, so können sie z.B. mit Hilfe einer Insektennadel auf den Objektträger gebracht werden. Außerdem ist hierdurch die größtmögliche Gewähr dafür gegeben, daß kein Pollen auf andere Präparate verschleppt wird. Trotzdem sollte vorsichtshalber die Reihenfolge, in der die Präparate angefertigt wurden, im Protokoll festgehalten werden, um gegebenenfalls einen Hinweis auf die (vermutliche) Herkunft von verschleppten Pollen zu erhalten.

Fast stets wird es genügen, zunächst nur die Pollenladung einer Körperseite bzw. nur die Hälfte des in der Bauchbürste befindlichen Pollens zu verwenden. Man hat dann noch eine Reserve, falls das Präparat mißlingt oder eine genauere, z.B. rasterelektronenmikroskopische Untersuchung notwendig wird.

Entfetten und Einbetten des Pollens: Ein Entfetten der Pollen ist nach unseren Erfahrungen nur bei Pollen mit viel Pollenkitt notwendig (z.B. Asteraceae, Fabaceae) und kaum ohne Pollenverluste durchzuführen. Vor allem während der Einarbeitungszeit sollten aber in jedem Falle vergleichsweise auch nicht entfettete Präparate untersucht werden. Zum Entfetten werden die Pollenladungen auf ein sauberes Uhrglasschälchen gebracht und unter dem Abzug mit einigen Tropfen Diethylether überschichtet. Nach kurzem "Schwenken" wird der Ether in ein Abfallgefäß abgegossen. Das Uhrglasschälchen bleibt unter dem Abzug bis der Ether restlos verdunstet ist. Der entfettete Pollen wird mit einer Insektennadel auf einen Objektträger gebracht. Zum Eindecken der Pollenpräparate verwenden wir auf 40° C erwärmte Glyzeringelatine nach Kaiser. Erwärmt wird die Glyzeringelatine in einem Wasserbad (preiswert ist z.B. ein Babyflaschenwärmer) oder in einem Wärmeschrank. Da übereinander liegende Pollenkörner nur schwer (oder gar nicht) zu identifizieren sind, müssen die Pollen in dünner Schicht aufgebracht werden.

Will man die gesamte Pollenladung größerer Bienen untersuchen, so genügt ein Objektträger nicht.

Der Objektträger wird auf ein Wärmebänkchen gelegt, wie es zum "Strecken" von Paraffinschnitten in vielen Laboratorien vorhanden ist. Man kann sich auch mit Hilfe eines Keramik-Infrarotstrahlers, eines Dimmers und einer Aluminiumplatte ein Wärmetischchen selbst bauen. Der Pollen wird mittels eines Glasstabes mit einem oder zwei Tropfen Glyzeringelatine überschichtet. Verklebte Pollenkörner lösen sich bei leichtem Umrühren mit der Insektennadel meist voneinander. Bei älteren Sammlungstieren sind die Pollenladungen gelegentlich verbacken (z.B. bei Fabaceen- oder Asteraceen-Pollen). In solchen Fällen wird der vorsichtig abgelöste Pollenklumpen in etwas mehr Glyzeringelatine mit einer Insektennadel zerdrückt. Zur Vermeidung von Luftbläschen beim Eindecken empfiehlt ZANDER (1935), auf die Unterseite des vorgewärmten Deckgläschens einen winzigen Tropfen Glyzeringelatine zu geben. Nach unseren Erfahrungen genügt es aber völlig, das Deckglas kurz auf der Wärmeplatte vorzuwärmen. Die Menge der Glyzeringelatine wird so gewählt, daß weder Luftblasen unter den Deckglasrändern zurückbleiben noch Gelatine unter dem Deckglas hervortritt. Nach dem Auflegen des Deckglases - je nach Pollenmenge 18x18 mm bis 21x26 mm groß - bleibt das Präparat auf der Wärmeplatte liegen, bis sich die Glyzeringelatine gleichmäßig unter dem Deckglas verteilt hat.

Wenn man Pollenpräparate von Sammlungstieren anfertigt, die älter als 15 Jahre sind, kann nach unseren Erfahrungen auf das Entfetten der Pollen verzichtet werden. Offenbar wird der Pollenkitt (durch Bakterien?) im Laufe der Zeit abgebaut.

3.2.1.2 Pollenpräparate vom Brutzelleninhalt und von Larvenkot

Sehr aufschlußreich ist es auch Pollenproben aus Brutzellen zu untersuchen. Wenn man die Bienen während des Nestbaus mit Farbtupfern markiert und regelmäßig, z.B. alle 1-2 Tage, am Nest beobachtet, kann man anhand der Pollenanalysen genaue Aussagen darüber machen, welche Pollenspender besucht wurden und ob und wann ein Wechsel der Wirtspflanze(n) stattgefunden hat. (Zum Markieren der Bienen können alle rasch

trocknenden Farben verwendet werden, z.B. ungiftige Modellbau-Farben oder flüssiges "Tipp-Ex". Das Aufbringen der Farbtupfer auf den Thorax oder das Abdomen erfolgt mit einem feinen Pinsel oder einem hölzernen Zahnstocher.)

Die meisten Bienenlarven geben ihren Kot erst im letzten Larvenstadium ab, wenn der Futtermittelvorrat verzehrt ist, womit sie in das sogenannte Vorpuppenstadium eintreten. Bei vielen Megachiliden wird Kot in Form kleiner Kotbällchen bereits während früherer Entwicklungsstadien ausgeschieden. In jedem Falle bleibt der Kot nach dem Schlüpfen der Imagines in den Zellen zurück und seine pollenanalytische Untersuchung kann interessante Hinweise auf die Zusammensetzung der Larvennahrung geben. Zur Untersuchung werden einzelne Kotbällchen in einem Tropfen destillierten Wassers auf einem Objektträger aufgelöst und mit einer Insektennadel verteilt. Nachdem das Wasser verdunstet ist, wird das Präparat mit Glyzeringelatine eingedeckt.

3.2.1.3 Vergleichspräparate

Eine sichere Bestimmung der von den Wildbienen gesammelten Pollen ist oft nur mit Hilfe von Vergleichspräparaten möglich. Ein "Pollenherbar", also eine Sammlung von Vergleichspräparaten, ist eine wertvolle und notwendige Ergänzung der Spezialliteratur. Zunächst genügt es, Vergleichspräparate von allen im Untersuchungsgebiet und in seiner Umgebung blühenden Pflanzen, die als Pollenquellen für Wildbienen in Frage kommen, herzustellen. Bei langfristigen Untersuchungen ist es ratsam, sich ein umfangreicheres Pollenherbar aufzubauen. Dazu werden einige frisch aufgeblühte Blüten bzw. Blütenstände artweise getrennt in unbenutzte Plastiktüten gebracht. Der Plastikbeutel wird mit einem Gummiring so verschlossen, daß ein Luftpolster die Blüten während des Transports schützt. ZANDER empfiehlt, die gesammelten Pflanzen erst im Labor erblühen zu lassen, um eine Kontamination offener Blüten im Freiland mit Fremdpollen durch Wind oder Insektenbesuch möglichst weitgehend auszuschließen. Unter dem Stereomikroskop werden einige Staubfäden mit einer spitzen Pinzette abgezapft und auf ein Uhrglasschälchen gelegt. Wenn die Staubfäden noch geschlossen sind und der Pollen durch Aufzupfen nur schwer zu gewinnen ist, so genügt es meist, die Blüten an einem

staubfreien Ort zu trocknen, um die Staubbeutel zum Aufplatzen zu bringen. Dadurch wird auch die Keimung und das Auswachsen von Pollenschläuchen vermieden. Zum Entfetten werden die Staubgefäße mit einigen Tropfen Diethylether überschichtet. Die entfetteten Pollen werden nun genau wie die Präparate von Pollenladungen der Bienen weiterbehandelt. Der Anfänger sollte zunächst von allen Blüten sowohl entfettete als auch "unbehandelte" Präparate anfertigen. Durch Vergleich der Präparate lernt man so am schnellsten, bei welchen Pflanzen(familien) auf eine Etherbehandlung verzichtet werden kann.

3.2.1.4 Umrandung der Präparate

Die Pollenvergleichspräparate können nach einigen Tagen mit einem Deckglaskitt, z.B. mit Entellan oder Nagellack zur besseren Haltbarkeit und zum Schutz vor Schimmelpilzen umrandet werden. Wenn die Präparate in einem trockenen Raum aufbewahrt werden, kann man auf die Umrandung verzichten (VORWOHL, mündl. Mitt.). Dies gilt nach unseren allerdings noch kurzfristigen Erfahrungen für Präparate von Pollenladungen oder Brutzelleninhalten ebenso.

3.2.2 Rasterelektronenmikroskopie

Der Vorzug lichtmikroskopischer pollenanalytischer Untersuchungen liegt darin, daß in relativ kurzer Zeit größere Mengen an Präparaten bearbeitet werden können. Zur Nachprüfung der Ergebnisse sind rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen hervorragend geeignet, ebenso wie zur Untersuchung der Packungsdichte der Pollenladungen in den verschiedenen Sammeleinrichtungen.

3.2.2.1 Rasterelektronenmikroskopie der Pollenladungen der Bienen

Zur Untersuchung können sowohl frisch tote als auch Sammlungstiere verschiedensten Alters verwendet werden. Körperteile mit Pollenladungen (z.B. Hinterbein, Abdomen) werden vorsichtig, wenn möglich ohne die Pollenladung zu berühren, mit Hilfe einer spitzen Pinzette unter Stereomikroskop-Beobachtung abgenommen. Auf ein Entfetten der Präparate in Ether kann in den meisten Fällen verzichtet werden. Das Entfetten kann

nämlich die Lage und Packungsdichte der Pollenkörner verändern. Wenn Verschmutzung oder dicke Pollenkittlagen die Qualität der Abbildungen beeinträchtigen, kann man immer noch versuchen durch Entfetten z.B. des zweiten Hinterbeines diesen Mangel zu beheben. Die Objekte werden mit "Leit-C" oder mit Leit-Silber auf Präparateteller geklebt. Beim Aufkleben ist darauf zu achten, daß die Präparate mit ihrer gesamten Unterseite in das Klebemittel eingebettet werden und dadurch leitenden Kontakt mit der Telleroberfläche haben. Die Beine bzw. Hinterleiber dürfen also nicht "hohl" oder auf den Haaren wie auf Stelzen liegen. Achtung! Die Lösungsmittel der Aufklebemittel kriechen in der Behaarung nach oben und können dadurch das Präparat verderben. Vor dem Aufbringen sollte das Klebemittel gründlich, z.B. mit einem hölzernen Zahnstocher durchgerührt werden. Nach dem Auftragen eines Tropfens Klebemittel auf den Präparateteller wartet man unter Stereomikroskop-Beobachtung solange, bis ein Teil des Lösungsmittels verdampft und die Paste dickflüssig geworden ist. Erst dann wird das Objekt in das Klebemittel, z.B. mit einer spitzen Uhrmacherpinzette, eingedrückt. Das Aufkleben ist Übungssache, es sollte daher mit wenig wertvollen Objekten, z.B. mit Honigbienenbeinen, geübt werden. Wenn das Objekt in der gewünschten Lage festgeklebt ist, betrachtet man die Pollenladung bei starker Vergrößerung mit dem Stereomikroskop. Wer eine ruhige Hand hat, kann nun mit einer sauberen (!), dünnen Insektennadel Staubteilchen und winzige Fusseln entfernen. Nun werden die Präparate mit Gold "besputtert" und können dann im Rasterelektronenmikroskop betrachtet werden. Zur staubfreien Aufbewahrung der Präparate können z.B. kleine, mit Styropor ausgelegte Plastiksachteln dienen, in die die Präparateteller eingesteckt werden. Bei locker gepackten Pollenladungen von Bienen, die "trocken" speichern (z.B. manche Megachiliden, einige Andrena-Arten) kommt es im Rasterelektronenmikroskop häufig zu Aufladungen der Pollenkörner. Eine Untersuchung unmittelbar nach dem "Besputtern" und eine Verringerung der Strahlspannung vermeidet oder vermindert die Aufladungsgefahr. Wenn Sammlungstiere nicht beschädigt werden sollen, oder wenn es an den Pollenladungen im Rasterelektronenmikroskop zu Aufladungen kommt, können mit einer Insektennadel von der Biene abgenommene Pollenkörner auch nach der unter 3.2.2.2 beschriebenen Methode präpariert werden.

3.2.2.2 Rasterelektronenmikroskopie der Vergleichspräparate

Um bei der Determination "gerasterter" Pollenkörner sicher zu gehen, sollten auch Pollenvergleichspräparate von den Futterpflanzen untersucht werden. Dabei gehen wir folgendermaßen vor: ein Deckglas wird mit einem Stückchen Alufolie überdeckt und dann auf einer Kartonunterlage durch Aufdrücken einer Messerschneide in etwa 5 x 7 mm große Stücke gebrochen. Die Deckglasscherben werden in Alkohol oder Aceton gereinigt und einzeln in saubere Uhrglasschälchen gelegt. Unter dem Stereomikroskop wird ein aufgeplatztes Staubgefäß oder ein anderer Blütenteil, an dem Pollenkörner hängen, mit einer spitzen Pinzette abgezapft. Nun bringt man einen Tropfen Ether auf den Deckglassplitter und taucht den Blütenteil mit den anhaftenden Pollen in den Ethertropfen. Einige Pollenkörner schwimmen im Ether herum, sinken ab und haften, wenn der Ether verdunstet ist, auf der Glasoberfläche. Mit "Leit-C" oder Leit-Silber werden die Deckglassplitter auf einen Präparateteller geklebt, wobei man darauf achtet, daß die gesamte Deckglasunterseite mit dem Aufklebemittel in Kontakt gerät. Die Weiterbehandlung erfolgt wie unter 3.2.2.1 beschrieben.

3.3 Determination und Auswertung

Für die Determination ist das Werk von ZANDER (1935) nach wie vor unentbehrlich. Auch MOORE und WEBB (1978) kann empfohlen werden. SAWYER (1981) ist durch originelle Bestimmungshilfen (Lochkarten) besonders für den Anfänger nützlich. Als neueres (noch nicht abgeschlossenes) Standardwerk gilt die von PUNT (1976) sowie PUNT und CLARKE (1980, 1981, 1984) herausgegebene Pollen-Flora. Eine sichere Determination (vor allem bis zur Art) wird aber häufig nur mit Hilfe von Vergleichspräparaten möglich. Die erzielbare Genauigkeit der qualitativen Analyse hängt außer von der Pollenmorphologie auch von der Kenntnis der Vegetation des Fundortes ab. Allein aufgrund der Pollenstruktur kann meist nur die Pflanzengattung bzw. Gattungsgruppe, manchmal sogar nur die Pflanzenfamilie festgestellt werden. Bei der Herkunftsbestimmung von Honigen ist eine prozentuale Auswertung der Pollenbeimengung mit statistischen Methoden möglich (vgl. LOUVEAUX et al. 1970). Dies ist auf die Untersuchung von Pollenladungen nicht übertragbar, da hier keine homo-

genen Pollengemische vorliegen. Prozentuale Angaben können daher nur auf quantitativen Zählungen oder auf Schätzungen beruhen. Bei gemischten Pollenladungen werden von uns Beimengungen unter 5 (geschätzten) % nicht auf Pollensammelbesuche zurückgeführt. Sofern Kontaminationen auszuschließen sind, können sie höchstens als Hinweis auf Nektarbesuche interpretiert werden.

4. Anwendungsmöglichkeiten

a) Erfassung der Pflanzenarten, die von Wildbienen zum Pollensammeln besucht werden.

b) Kontrolle der Blütenstetigkeit bei einem Pollensammelflug.

c) Feststellung des Grades der Spezialisierung (Oligolektie, Polylektie) durch Untersuchung von Pollenladungen von Tieren unterschiedlicher geographischer Herkunft, aus unterschiedlichen Lebensräumen und mit unterschiedlichem Lebensalter.

d) Klärung von und Hinweise auf taxonomische Probleme.

e) Rückschlüsse auf Veränderungen im Pollenquellenspektrum polylektischer Arten während der vergangenen Jahrzehnte durch Untersuchung von Museumsmaterial.

f) Feststellung der Pollenquelle(n) und dadurch Möglichkeiten der gezielten Suche nach Spezialisten (oligolektischen Arten), von denen nur ältere Funde vorliegen oder die aufgrund des Sammlungsmaterials als selten gelten.

g) Möglichkeiten des Artenschutzes durch Anpflanzung spezieller Pollenquellen bzw. deren Erhaltung oder Förderung durch entsprechende Landschaftspflege.

h) Hinweise auf die Verwendbarkeit einzelner Bienenarten als Bestäuber von Nutzpflanzen.

Die Pollenanalyse ermöglicht also ein breites Spektrum verschiedener Anwendungs- und Nutzungsmöglichkeiten bei blütenökologischen, taxonomischen und faunistischen Untersuchungen sowie beim Artenschutz. Da auch Sammlungstiere ausgewertet werden können, sollte die Möglichkeit, die Pollenladungen selbst zu untersuchen oder an Spezialisten zur Untersuchung zu schicken, auch von Taxonomen und Faunisten genutzt werden. Die Entfernung von Pollenladungen aus den Sammlungs- bzw. Transporteinrichtungen sollte bei Sammlungstieren grundsätzlich unterbleiben, da durch das "Säubern" ein wichtiges Dokument vernichtet wird.

Zusammenfassung

1) Die am häufigsten in der deutsch- und englischsprachigen Literatur für das Blütenbesuchverhalten von Wildbienen verwendeten Begriffe werden angeführt. Da sich vorliegende Arbeit mit dem Pollensammeln befaßt, werden die sich ausschließlich auf das Pollensammeln beziehenden Begriffe oligolektisch und polylektisch erläutert. Der Begriff Blütenstetigkeit wird von der Oligolektie abgegrenzt und ebenfalls nur auf das Pollensammeln bezogen.

2) Da Wildbienen Blüten nicht nur zum Pollensammeln besuchen, werden die verschiedenen Zwecke des Blütenbesuchs aufgelistet.

3) Zur Ermittlung der Pollenquellen und ihrer Bedeutung für bestimmte Wildbienen sind Feldstudien zwar unerläßlich, aber nur durch die Pollenanalyse können die zum Pollensammeln besuchten Pflanzen zweifelsfrei belegt werden. Durch ihre Anwendung können oligolektische Bienen sicher von polylektischen unterschieden werden. Zur Untersuchung können Pollenladungen von frisch gefangenen und von Museumsexemplaren sowie Brutzelleninhalte verwendet werden. Lichtmikroskopische und rasterelektronenmikroskopische Methoden der Pollenanalyse werden beschrieben.

4) Beispiele für Anwendungsmöglichkeiten werden gegeben.

Summary

1) The most common terms used in German and Anglo-Saxon literature to describe the flower visiting behaviour of wild bees are listed. The terms oligolectic and polylectic, that refer exclusively to the pollen collecting behaviour, are defined. The "Blütenstetigkeit" (flower con-

stancy) is compared with oligolecty and only used for pollen collecting.

2) Bees visit flowers for various different reasons. Different aspects of the flower visiting behaviour of Middle European wild bees are listed, as not all flower visits are pollen collecting visits.

3) Field studies are necessary to find out which plants are used for pollen collecting and how important they are. Pollen analysis is a valuable, sometimes the only means to discover the degree of host specificity in pollen collecting behaviour. Thus oligolectic bees can be distinguished from polylectic bees. Pollen loads of recently caught bees can be examined as well as pollen loads of old specimens in collections and contents of brood cells. Methods for the examination of the pollen loads with the light and electron microscope are described.

4) Examples are given for possibilities in using the pollen analysis.

Literatur

- ALFKEN, J.D. (1935): Die Bienen Nordwestdeutschlands als Blütenbesucher. - Abh. Nat. Ver. Bremen, 29: 193-206.
- BAKER, H.G. & P.D. HURD (1968): Intrafloral ecology. - Ann. Rev. Entomol., 13: 385-414.
- BATRA, S.W.T. (1980): Ecology, Behavior, Pheromones, Parasites and Management of the Sympatric Vernal Bees Colletes inaequalis, C. thoracicus and C. validus. - J. Kansas Ent. Soc., 53: 509-538.
- BETTS, A.D. (1920): The constancy of the pollen collecting bee. - Bee World, 2: 10-11.
- CHAMBERS, V.H. (1946): An examination of the pollen loads of Andrena: the species that visit fruit trees. - J. Animal Ecol., 15: 9-21.
- CHAMBERS, V.H. (1968): Pollens collected by species of Andrena. - Proc. R. Ent. Soc. London, Ser.A. 43: 155-160.
- CORREIA, M. Maciel de Almeida (1981): Contribution a l'étude de la biologie d'Heriades truncorum L. (Hym., Apoidea, Megachilidae) II. Aspect écologique. - Apidologie, 12: 3-30.
- DINGEMANS-BAKELS, F.N. (1972): The pollen-collecting activities of some Andrenid bees. - Zool. Meded., 47: 465-467.
- EICKWORT, G.C. & H.S. GINSBERG (1980): Foraging and mating behavior in Apoidea. - Ann. Rev. Entomol., 25: 421-446.

- FAEGRI, K. & L. VAN DER PIJL (1979): The Principles of Pollination Ecology. 3rd. Ed., Pergamon, Oxford.
- FRASER, H.M. (1951): Beekeeping in Antiquity. 2nd. ed., University of London Press, London.
- FREE, J.B. & J.H. WILLIAMS (1970): Preliminary investigations on the occupation of artificial nests by Osmia rufa L. (Hym. Megachilidae). - J. appl. Ecol., 7: 559-566.
- HAESELER, V. (1972): Anthropogene Biotope (Kahlschlag, Kiesgrube, Stadtgärten) als Refugien für Insekten, untersucht am Beispiel der Hymenoptera Aculeata. - Zool. Jb. Syst., 99: 133-212.
- HAMANN, H.H.F. & F. KOLLER (1956): Die Wildbienen der Linzer Umgebung und ihre Flugpflanzen. - Naturkundl. Jb. Stadt Linz, 1956: 327-361.
- KÄPYLÄ, M. (1978): Bionomics of five wood-nesting solitary species of bees (Hym., Megachilidae), with emphasis on flower relationships. - Biol. Research Reports Univ. Jyväskylä, 5: 1-89.
- KNUTH, P. (1898-1905): Handbuch der Blütenbiologie. W. Engelmann. Leipzig, 3 Bde.
- KRATOCHWIL, A. (1983): Zur Phänologie von Pflanzen und blütenbesuchenden Insekten (Hymenoptera, Lepidoptera, Diptera, Coleoptera) eines versauerten Halbtrockenrasens im Kaiserstuhl - ein Beitrag zur Erhaltung brachliegender Wiesen als Lizenz-Biotope gefährdeter Tierarten. Beih. Veröff. Naturschutz Landschaftspflege Bad.-Württ., 34: 57-108.
- KRATOCHWIL, A. (1984): Pflanzengesellschaften und Blütenbesucher-Gemeinschaften: biozöologische Untersuchungen in einem nicht mehr bewirtschafteten Halbtrockenrasen (Mesobrometum) im Kaiserstuhl (Südwestdeutschland). - Phytocoenologia, 11 (4): 455-669.
- KUGLER, H. (1970): Blütenökologie. 2. Aufl., G. Fischer, Stuttgart.
- KULLENBERG, B. (1961): Studies in Ophrys pollination. - Zool. Bidr. Uppsala, 34: 1-340.
- LINSLEY, E.G. & J.W. MacSWAIN (1957): The nesting habits, flower relationships, and parasites of some North American species of Diadasia. - Wasmann J. Biol., 15: 199-235.
- LOEW, E. (1884): Beobachtungen über den Blumenbesuch von Insekten an Freilandpflanzen des Botanischen Gartens zu Berlin. - Jb. königl. bot. Garten Berlin, 3: 69-118, 253-296.

- LOUVEAUX, J., A. MAURIZIO & G. VORWOHL (1970): Internationale Kommission für Bienenbotanik der I.U.B.S. Methodik der Melisso-palynologie. - *Apidologie*, 1: 193-209.
- MEEUSE, B. & S. MORRIS (1984): Blumen-Liebe. Sexualität und Entwicklung der Pflanzen. DuMont, Köln.
- MENZEL, R., J. ERBER & T. MASUHR (1974): Learning and Memory in the Honeybee. In: BROWNE (Hrsg.), *Experimental Analysis of Insect Behaviour*, 195-217. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- MOORE, P.D. & J.A. WEBB (1978): *An illustrated Guide to Pollen Analysis*. Hodder and Stoughton, London.
- PUNT, W. (Hrsg.) (1976): *The Northwest European Pollen Flora*. I. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York.
- PUNT, W. & G.C.S. CLARKE (Hrsg.) (1980): *The Northwest European Pollen Flora*. II. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York.
- PUNT, W. & G.C.S. CLARKE (Hrsg.) (1981): *The Northwest European Pollen Flora*. III. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York.
- PUNT, W. & G.C.S. CLARKE (Hrsg.) (1984): *The Northwest European Pollen Flora*. IV. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.
- RAW, A. (1974): Pollenpreferences of three Osmia species (Hymenoptera). - *Oikos*, 25: 54-60.
- ROBERTSON, C. (1925): Heterotropic bees. - *Ecology*, 6: 412-436.
- SAWYER, R.W. (1981): *Pollen identification for beekeepers*. Univ. College Cardiff Press, Cardiff.
- STOECKHERT, F.K. (1933): Die Bienen Frankens (Hym. Apid.). - *Beih. Dt. Ent. Z.*, 1932: 1-294.
- TASEI, J.- N. (1972): Observations préliminaires sur la biologie d'Osmia (Chalcosmia) coerulescens L. (Hymenoptera Megachilidae), pollinisatrice de la luzerne (Medicago sativa L.). - *Apidologie*, 3: 149-165.
- TASEI, J.- N. (1973): Le comportement de nidification chez Osmia (Osmia) cornuta Latr. et Osmia (Osmia) rufa L. (Hymenoptera Megachilidae). - *Apidologie*, 4: 195-225.
- TASEI, J.- N. (1976): Récolte des pollens et approvisionnement du nid chez Osmia coerulescens L. - *Apidologie*, 7: 277-300.

- TEPEDINO, V.J. (1983): An open-field test of Megachile rotundata as a potential pollinator in hybrid carrot seed fields. - J. apicult. Res., 22: 64-68.
- VOGEL, S. (1954): Blütenbiologische Typen als Elemente der Sippen-gliederung. - Bot. Studien, 1: 1-338.
- VOGEL, S. (1976): Lysimachia: Ölblumen der Holarktis. - Naturwissen-schaften, 63: 44-45.
- WESTERKAMP, C. (1978): Zum Pollensammeln bauchsammelnder Bienen (Hymenoptera: Megachilidae) an Compositen. - Sitz.ber. Ges. Naturforsch. Freunde Berlin, N.F. 18: 71-79.
- WESTRICH, P. (1980): Die Stechimmen (Hymenoptera Aculeata) des Tübinger Gebiets mit besonderer Berücksichtigung des Spitzbergs. - Veröff. Naturschutz Landschaftspflege Bad.-Württ., 51/52: 601-680.
- ZANDER, E. (1935): Beiträge zur Herkunftsbestimmung bei Honig. I. Pollengestaltung und Herkunftsbestimmung bei Blütenhonig mit besonderer Berücksichtigung des deutschen Trachtgebietes. Reichsfachgruppe Imker, Berlin.

Anschrift der Verfasser: Dr. Paul Westrich
Eduard-Spranger-Str. 41
D-7400 Tübingen

Prof. Dr. Konrad Schmidt
Zoologisches Institut der Universität
Kornblumenstr. 13
D-7500 Karlsruhe