



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Untersuchungen zur Funktion komplexer Lippenmuster
der Sexuالتäuschorchidee *Ophrys heldreichii* durch
Lernversuche mit der Honigbiene

Verfasserin

Kerstin Stejskal

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag^a.rer.nat.)

Wien, 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 439

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Biologie / Zoologie

Betreuerin / Betreuer:

Dr. Johannes Spaethe

INHALTSVERZEICHNIS

ABSTRACT	- 1 -
ZUSAMMENFASSUNG	- 3 -
EINLEITUNG	- 5 -
MATERIAL UND METHODEN	- 9 -
Zeit und Ort	- 9 -
Versuchsobjekte	- 9 -
Quantifizierung der Ähnlichkeit von Blütenmustern der Sexualtäuschorchidee	
<i>Ophrys heldreichii</i>	- 9 -
Analysevorbereitungen.....	- 10 -
Vergleiche des Überlappungsgrades	- 10 -
Vergleiche der Schwarz/Weiß-Verhältnisse.....	- 11 -
Verhaltensversuche	- 11 -
Versuchsvorbereitungen	- 11 -
Versuch I.: Unterscheidung von Blütenmustern gleicher und verschiedener Pflanzenindividuen der Sexualtäuschorchidee <i>Ophrys heldreichii</i>	- 12 -
Herstellung der Stimuli	- 12 -
Versuchsaufbau	- 12 -
Versuchsreihen	- 13 -
Versuchsdurchführung	- 18 -
Analyse der Entscheidungen	- 19 -
Versuch II.: Unterscheidung der Blütenmuster in Abhängigkeit des Schwinkels	- 20 -
Versuchsaufbau	- 20 -
Versuchsstimuli	- 21 -
Versuchsdurchführung	- 21 -
Analyse der Entscheidungen	- 22 -
ERGEBNISSE	- 24 -
Quantifizierung der Ähnlichkeit von Blütenmustern der Sexualtäuschorchidee <i>Ophrys heldreichii</i>	- 24 -
Vergleiche des Überlappungsgrades	- 24 -
Vergleich der Schwarz-Weiß-Verhältnisse	- 25 -
Versuch I.: Unterscheidung von Blütenmustern gleicher und verschiedener Pflanzenindividuen der Sexualtäuschorchidee <i>Ophrys heldreichii</i>	- 27 -
Versuche mit vergrößerten Stimuli (7,5x5cm)	- 27 -
Versuche mit Stimuli in Originalgröße (1,5x1cm).....	- 28 -
Einfluss der Stimuligröße	- 30 -
Versuch II.: Unterscheidung der Blütenmuster in Abhängigkeit des Schwinkels	- 31 -
DISKUSSION	- 33 -
LITERATUR	- 37 -
DANKSAGUNG	- 41 -
LEBENS LAUF	- 42 -

ABSTRACT

Sexual deceptive orchids offer no reward for their pollinators; instead they mimic olfactory, visual and tactile signals of receptive females to attract males, mainly hymenopterans. During the so-called pseudocopulation, when a male attempts to copulate with the flower, the pollinia are transferred to its body, so that pollination can occur during a further visit on the next flower.

Almost all species of the Mediterranean orchid genus *Ophrys* are sexual deceptive. While most species show an inconspicuous, uniform colored Labellum, members of the *Ophrys-holoserica-oestrifera*-group, which are pollinated primarily by long-horned bees of the genus *Eucera* and *Tetralonia*, possess conspicuous, variable patterns. These patterns are probably no imitations of female signals, as long assumed; instead they may have been involved to achieve pollinator's learning. The patterns can prevent their return and so minimize the plant's risk of self-pollination.

However, this would require that bees, with their low visual spatial resolution, are able to detect and differentiate among the small and complex patterns.

To determine if blossoms of the same plant are actually more similar than those of various plants, as was previously assumed, the similarities of the patterns of *Ophrys heldreichii* were quantified. Furthermore, various behavior experiments with honeybees were carried out. The bees were trained with differential conditioning to distinguish between labellum patterns. The study investigated whether pattern of different plants can be discriminated better than pattern of the same inflorescence and what is the minimum visual angle at which bees are able to recognize the stimuli.

The quantification of the pattern similarity show that patterns of the same plant are indeed more similar to each other, than those of various plants, regarding to the degree of pattern overlap or the black-white-ratio. The results of the behavior experiments show, that bees are able to perceive and discriminate the different patterns of *Ophrys heldreichii*. While patterns of different plants could be quickly learned and differentiated, the bees were not, or just barely, able to discriminate between patterns of the same inflorescence, even after a long training period (up to 140 decisions). To recognize the learned images, the animals had to fly close to the stimuli which suggest, that they used a 'template-matching' strategy to solve the tasks.

These results support the hypothesis that the variable pattern of the species of the *Ophrys-holoserica-oestrifera* group are used to increase the pollinators learning-efficiency in order to avoid a return to the same plant, and thus reduce the risk of self-pollination.

ZUSAMMENFASSUNG

Sexualtäuschorchideen bieten ihren Bestäubern keine Belohnung sondern imitieren olfaktorische, visuelle und taktile Signale paarungsbereiter Weibchen, um potentielle Bestäubermännchen, hauptsächlich Hymenopteren, anzulocken. Bei der sogenannten Pseudokopulation, dem Versuch der Männchen mit der Blüte zu kopulieren, werden die Pollinien am Thorax oder Abdomen des Männchens angeheftet, sodass es bei Besuch einer weiteren Blüte zur Bestäubung kommt.

Nahezu alle Arten der mediterranen Orchideengattung *Ophrys* betreiben sexuelle Täuschung. Während die meisten ein eher unauffälliges, einheitlich gefärbtes Labellum besitzen, zeigen die Blüten der Arten der *Ophrys-holoserica-oestrifera*-Gruppe, welche vor allem von Langhornbienen der Gattung *Eucera* und *Tetralonia* bestäubt werden, auffällige, sehr variable Muster. Diese Zeichnungen auf den Labella sind vermutlich nicht, wie lange angenommen, Imitationen weiblicher Signale, sondern dienen möglicherweise als Lernerleichterung für die Bestäuber, um ein Wiederkehren und damit eine Selbstbestäubung der Pflanzen zu verhindern. Hierfür müssten die Bienen jedoch in der Lage sein mit ihrem geringen räumlichen Auflösungsvermögen die kleinen und sehr komplexen Muster zu erkennen und zu differenzieren.

Um herauszufinden, ob Blüten gleicher Pflanzen einander tatsächlich ähnlicher sind als jene verschiedener Pflanzen, wie es bisher angenommen wurde, wurden die Ähnlichkeiten der Muster auf den Labella von *Ophrys heldreichii* quantifiziert. Weiters wurden Verhaltensversuche mit Honigbienen durchgeführt, welche durch differentielle Konditionierung trainiert wurden zwischen unterschiedlichen Labellumzeichnungen zu unterscheiden. Dabei wurde untersucht, ob Muster verschiedener Pflanzenindividuen besser gelernt werden können als Muster desselben Blütenstandes und bis zu welchem Abstand zur Blüte die Tiere die Muster noch erkennen können.

Die Quantifizierung der Ähnlichkeiten ergab zwischen den Mustern derselben Pflanze tatsächlich eine größere Übereinstimmung des Überlappungsgrades und des Schwarz-Weiß-Verhältnisses als zwischen jenen verschiedener Pflanzen.

Die Verhaltensversuche zeigten, dass die Bienen in der Lage waren die variablen Blütenzeichnungen von *Ophrys heldreichii* zu erkennen und zu unterscheiden. Während Muster unterschiedlicher Pflanzen schnell gelernt und differenziert wurden, konnten die Tiere auch nach langem Training (bis zu 140 Entscheidungen) die Muster desselben Blütenstandes nicht, oder nur kaum, voneinander unterscheiden. Um die gelernten Bilder wiederzuerkennen

ZUSAMMENFASSUNG

mussten die Bienen sehr nah an die Stimuli heranfliegen, was darauf hindeuten könnte, dass sie hierfür die Strategie des „template-matchings“ anwandten.

Diese Ergebnisse stützen die Hypothese, dass die variablen Muster auf den Blüten der Arten der *Ophrys-holoserica-oestrifera*-Gruppe der Lernerleichterung der Bestäuber dienen, um ein Wiederkehren dieser zu vermeiden und so das Risiko einer Selbstbestäubung zu reduzieren.

EINLEITUNG

Entomophile Pflanzen sind für ihre Fortpflanzung auf Insekten angewiesen und bieten meist Belohnungen in Form von Nektar oder Pollen um diese anzulocken. Doch vor allem innerhalb der Orchideen haben viele Arten das Konzept der Täuschung als Bestäubungsprinzip entwickelt (Nilsson 1992). Dabei werden von den Pflanzen Signale imitiert, welche von den Bestäubern mit Belohnungen in Verbindung gebracht werden, ohne dass sie tatsächlich einen Lohn, z.B. in Form von Nektar oder Pollen, bieten (Dafni 1984; Schiestl 2005). Neben dem Vorteil des gesparten Aufwandes der Nektarproduktion (Dafni 1984) hat vor allem die Pollenpräsentation der Orchideen in Form von Pollinien zur Entwicklung von Täuschungsstrategien beigetragen (Nilsson 1992; Paulus 1988; Paulus & Gack 1990). Durch diese Polleneinheiten ist es den Pflanzen möglich, schon bei einem einzigen Besuch eines Bestäubers eine ausreichend große Menge an Pollen übertragen zu bekommen. Da die Bestäuber keine Belohnung erhalten, vermeiden diese weitere Besuche der Pflanze, wodurch die Orchidee vor Verlust von großen Pollenmengen durch Selbstbestäubung geschützt wird (Paulus 2005, 2007).

Neben dem Prinzip der Nahrungstäuschung, bei welchem durch Imitation von Signalen belohnender Blüten, wie Form, Farbe oder Duft, die Bestäuber angelockt werden (Dafni 1984; Schiestl 2005), betreiben einige Orchideenarten Sexualtäuschung, indem sie Signale paarungsbereiter Bestäuberweibchen imitieren und damit am angeborenen Auslösemechanismus der Männchen parasitieren (Paulus 1997, 2005, 2007). Bei diesem als Pseudokopulation, oder nach dem ersten Beschreiber Pouyann'sche Mimikry bezeichnetem Phänomen (Paulus 2005, 2007) werden durch die Signale Bestäubermännchen angelockt. Diese zeigen auf der Blüte Paarungsverhalten, wobei die Pollinien auf sie übertragen werden, sodass bei einem Besuch einer weiteren Blüte eine Bestäubung stattfindet (Dafni 1984; Kullenberg 1962; Paulus 1988, 1997, 2005, 2007; Pouyanne 1917; Schiestl 2005). Da die Paarungsversuche erfolglos bleiben, lässt das Interesse der Männchen nach kurzer Zeit wieder nach, wodurch die Wahrscheinlichkeit von Selbstbestäubung der Orchidee reduziert wird (Nilsson 1992; Paulus 2005, 2007; Paulus & Gack 1990).

Bei der Sexualkommunikation der Hymenopteren, welche den Sexualtäuschorchideen am häufigsten als Pollinienüberträger dienen (Paulus & Gack 1990), ist vor allem der olfaktorische Kommunikationskanal von großer Bedeutung. So ist die Zusammensetzung der Sexualpheromone sehr spezifisch, damit lediglich die Männchen der eigenen Art zur Paarung angelockt werden. Die Orchideen imitieren die reizwirksamen Substanzen und können daher

EINLEITUNG

je eine Art als Bestäuber erschließen (Ayasse et al. 2000; Schiestl 2005, Schiestl & Ayasse 2002). Diese Spezifität dient den Sexualtäuschorchideen als prägamer Isolationsmechanismus und ist auch bei der mediterranen Gattung *Ophrys* vorhanden. Bei dieser, schon lange für ihre äußerliche Insektenähnlichkeit bekannte Orchideengattung, sind hauptsächlich Vertreter verschiedener Bienenfamilien (Apoidea) Pollinienüberträger (Paulus 2007). Um von den Insekten besucht zu werden, müssen die Pflanzen mehrere paarungsauslösende Signale der Tiere imitieren (Paulus & Gack 1990, Paulus 2007). So dient der Duft der nachgeahmten Sexualpheromone zur Anlockung der Bestäubermännchen aus großer Entfernung (Schiestl et al. 2000). Befindet sich ein Männchen einmal in der Nähe der Pflanze, werden, damit es zu einem Kontakt mit der Blüte kommt, auch visuelle Signale wie Farbe und Form der Blüte (Gaskett 2011; Streinzer et al. 2009) und, damit die richtige Position zur Pollinienentnahme auf der Blüte eingenommen wird, auch taktile Signale wichtig (Paulus 1997, 2007).

Die Tatsache, dass Lernen bei Insekten in allen Aspekten des Lebens, also auch im Paarungsverhalten, verbreitet ist (Dukas 2008) könnte zahlreiche Beobachtungen erklären, bei welchen vor allem Vertreter der Langhornbienen nach den erfolglosen Paarungsversuchen nicht sofort weiterfliegen, sondern noch für einige Sekunden vor der Blüte schwirren. Dabei scheinen sie sich die Signale der Blüte genau einzuprägen, um danach zunächst diejenige Pflanze zu vermeiden die soeben besucht wurde, und später überhaupt keine *Ophrys*-Blüten mehr zu besuchen (Paulus 1988, 1997, 2005, 2007).

Betrachtet man die verschiedenen Arten der Gattung *Ophrys* so fällt eine große Varianz in Farbe und Muster der Blüten auf. Während manche ein unauffällig grünes Perianth besitzen, gibt es Arten, wie zum Beispiel *Ophrys heldreichii*, bei welchen dieses auffallend pink oder weiß gefärbt ist. Bei dieser Art wurde bereits gezeigt, dass die Attraktivität der Blüte für die Bestäuber erhöht wird, wenn das Perianth besser erkennbar ist (Spaethe et al. 2007). Dass nicht alle Arten ein so auffälliges Signal besitzen, könnte an der für die Bestäuberarten unterschiedlichen Relevanz von Farbsignalen bei der Paarungssuche liegen (Spaethe et al. 2007, 2010; Streinzer et al. 2009).

Auch die Färbungen und Zeichnungen der Labella sind bei den verschiedenen Arten unterschiedlich. Während beispielsweise das Labellum von *Ophrys speculum* auch für das menschliche Auge deutlich dem Körper eines Weibchens des Bestäubers *Dasyscolia ciliata* ähnelt, imitieren andere Arten lediglich die Grundfarbe oder zeigen ein Muster welches kaum dem Aussehen des Weibchens entspricht (Paulus 2007).

Die Arten der *Ophrys-holoserica-oestrifera* Gruppe besitzen ein helles, auffälliges Muster auf dem Labellum, welches lange als Imitation von Flügeln oder Zeichnungen der Weibchen zu Erhöhung der Attraktivität der Blüte für die Männchen interpretiert wurde (Paulus 2007). Versuche mit *Ophrys heldreichii* und ihrem Bestäuber *Eucera berlandi* zeigten jedoch, dass dieses Muster keinen Einfluss auf die Wahl von blütennaiven Männchen hat und somit vermutlich keine Imitationen der Weibchen darstellt (Streinzer et al. 2010). Diese Ergebnisse und die Tatsache, dass zumindest für das menschliche Auge die Muster unterschiedlicher Pflanzenindividuen von *Ophrys heldreichii* sehr variabel sind, jene von Blüten desselben Blütenstandes sich jedoch sehr stark ähneln (Paulus 2007), lassen vermuten, dass den Bestäubern durch die Zeichnungen am Labellum das Wiedererkennen der Blüte vereinfacht wird, damit diese nicht zur selben Blüte zurückkehren und so eine Selbstbestäubung verhindert wird.

Hierzu müssten die Bienen allerdings in der Lage sein, die kleinen Muster der Blüten mit dem relativ geringen räumlichen Auflösungsvermögen ihrer Komplexaugen (Land 1997) zu erkennen und zu lernen.

Während man zu Beginn des 20. Jahrhunderts davon ausging, dass Bienen nicht in der Lage sind ein Quadrat von einem Dreieck zu unterscheiden (von Frisch 1915), weiß man heute durch zahlreiche Versuche deutlich mehr über die Wahrnehmung der Bienen.

Prinzipiell limitiert die Dichte der Photorezeptoren und die Kontrastempfindlichkeit der Komplexaugen das räumliche Auflösungsvermögen. So können zwei Objekte nur dann als getrennt wahrgenommen werden, wenn ihr Intensitätsunterschied hoch genug ist und sie für zwei benachbarte Ommatidien sichtbar sind. Bei der Honigbiene ergibt sich daher ein minimales Limit der räumlichen Auflösung von $2,8^\circ$ in vertikaler, und $5,6^\circ$ in horizontaler Richtung (Lehrer & Bischof 1995).

Da Bienen farbempfindliche Rezeptoren besitzen, spielt auch der chromatische Farbkontrast, ebenso wie der achromatische Grünkontrast eine wichtige Rolle in der visuellen Wahrnehmung der Bienen (Giurfa et al. 1997; Lehrer & Bischof 1995). So ist der visuelle Winkel (=Sehwinkel), unter dem eine Blüte erkannt werden kann, durch diese beiden Faktoren bestimmt (Dyer et al. 2008; Giurfa et al. 1997; Spaethe et al. 2007).

Viele Untersuchungen beschäftigten sich in den letzten Jahren mit dem Mustererkennungsvermögen der Honigbiene (u.a. Giger & Srinivasan 1995; Giurfa et al. 1999). Kürzlich zeigten Versuche, dass Bienen trotz ihres geringen räumlichen Auflösungsvermögens in der Lage sind, Bilder komplexer, natürlicher Szenen und sogar Fotos von menschlichen Gesichtern zu differenzieren und zu lernen (Dyer et al. 2005, 2008).

EINLEITUNG

In dieser Arbeit soll die Ähnlichkeit der Zeichnungen auf den Labella der Sexualtäuschorchidee *Ophrys heldreichii* quantifiziert werden, da bisher nur auf Grund von subjektiven Bewertungen angenommen wurde, dass Muster derselben Blüten einander deutlich ähnlicher sind als jene von verschiedenen Pflanzen. Weiters soll untersucht werden, ob die Zeichnungen auf den Labella tatsächlich als Lernerleichterung für ihre Bestäuber dienen können. Dazu musste getestet werden ob Bienen überhaupt im Stande sind die Muster auf den Blüten mit ihren Komplexaugen zu erkennen und aufzulösen. Auch stellte sich die Frage, ob die Muster unterschiedlicher Pflanzen besser unterschieden werden können als jene desselben Blütenstandes, denn nur so könnten sie zur Vermeidung von Selbstbestäubung beitragen.

MATERIAL UND METHODEN

Zeit und Ort

Die Versuche wurden im Zeitraum von 25. Juni 2010 bis 22. Oktober 2010 auf der Dachterrasse des Biozentrums der Universität Wien am Department für Evolutionsbiologie (Althanstraße 14, 1090 Wien) durchgeführt.

Versuchsobjekte

Als Vertreter der Sexualtäuschorchideen wurde *Ophrys heldreichii* SCHLECHTER (Orchidaceae) aus der *Ophrys holoserica-oestrifera* Gruppe gewählt. Diese Art, mit besonders auffälligem und variablem Muster auf dem Labellum, hat die Männchen der Langhornbiene *Eucera (Synhalonia) berlandi* DUSMET (Apoidea, Apidae, Eucerini) als spezifischen Bestäuber. Da diese Bienenart nur im Mittelmeerraum vorkommt und die Männchen nur während eines kurzen Zeitraums von wenigen Wochen fliegen, wurde die westliche Honigbiene (*Apis mellifera* L.) als Versuchstier ausgesucht. Diese wird für die Forschung sehr häufig verwendet, da Eigenschaften wie Blütenstetigkeit (Free 1963; Waser 1986) und hohes Lernvermögen (Dafni et al. 1997; Giurfa & Lehrer 2001; Tautz 2007) sie zu einem geeigneten Versuchstier machen. Zwar handelt es sich bei *A. mellifera* um einen Vertreter einer anderen Bienengattung als bei *Eucera berlandi*, jedoch kann man auf Grund des ähnlichen visuellen Systems (Briscoe & Chittka 2001) beider Arten von Versuchen mit der Honigbiene zumindest teilweise auf das Wahrnehmungs- und Lernvermögen der Langhornbienen schließen.

Quantifizierung der Ähnlichkeit von Blütenmustern der Sexualtäuschorchidee *Ophrys heldreichii*

Vergleicht man die Labellummuster von Blüten der Sexualtäuschorchidee *Ophrys heldreichii*, so zeigt sich eine, zumindest für das menschliche Auge, größere Ähnlichkeit innerhalb eines Blütenstandes, als zwischen den Mustern verschiedener Pflanzenindividuen (Paulus 2007).

Um diese unterschiedlichen Ähnlichkeiten zu quantifizieren wurden Fotos von Blüten einer *Ophrys heldreichii* Population auf Kreta, bestehend aus 16 Pflanzenindividuen mit jeweils drei bis vier Blüten, analysiert.

Analysevorbereitungen

Für die Auswertung wurde lediglich das Muster auf dem Labellum der Pflanze herangezogen. Dazu wurde im Programm CorelDRAW X3 eine Ellipse mit den Maßen 2,50 x 3,75cm möglichst so über das Muster gelegt, dass das gesamte Labellum abgedeckt wurde. Weiters wurden die Konturen der Blütenzeichnung nachgezogen und die hellen Bereiche des Musters weiß, die dunklen schwarz gefüllt. Das so entstandene, ellipsenförmige Abbild der Labellumzeichnung (Abb. 1) wurde als Bild gespeichert und im Programm ImageJ 14.0 in schwarz-weiß konvertiert um die vorhandenen Graustufen an den Übergängen zu entfernen. Anschließend wurde das Ergebnis als Text gespeichert und im Programm Microsoft Excel 2007 weiterbearbeitet. Dabei wurde allen weißen Pixeln die Zahl 1 und allen schwarzen die Zahl 0 zugeordnet. Diese Tabellen bildeten die Grundlage der Analyse der Ähnlichkeiten der Blütenmuster. Dazu wurden zwei verschiedene Methoden ausgewählt:



Abbildung 1: Beispiel eines Labellummusters einer *Ophrys heldreichii* Blüte vor (links) und nach der Bearbeitung (rechts).

Vergleiche des Überlappungsgrades

Bei dieser Methode wurde untersucht an wie vielen Pixeln sich zwei miteinander verglichene Muster unterscheiden. Dazu wurden 16 nach dem Zufallsprinzip ausgewählte Vergleichspaare von verschiedenen Pflanzen und 16 Paare des jeweils selben Blütenstandes gebildet. Anschließend wurde ermittelt an wie vielen Positionen sich die Pixelfarbe in den beiden zu vergleichenden Mustern unterscheidet.

Um festzustellen, ob Muster von Blüten desselben Blütenstandes einen signifikant geringeren Unterschied in der Überlappung, und damit eine größere Ähnlichkeit aufweisen als Muster verschiedener Pflanzenindividuen, wurde mit dem Programm SPSS 14.0 ein Zweistichproben-t-Test durchgeführt. P-Werte über 0,05 wurden als nicht signifikant betrachtet.

Vergleiche der Schwarz/Weiß-Verhältnisse

Ausgehend von der Pixelgesamtzahl des ovalen Musters, welches durch Abzug der Pixelzahl des Bildrandes von der Pixelzahl des gesamten Bildes errechnet wurde, konnte das Verhältnis der weißen zu schwarzen Pixeln ermittelt werden. Anschließend wurde dieses Verhältnis von 16 zufällig ausgewählten Blütenpaaren verschiedener Pflanzen, mit jenen von 16 Blütenpaaren des jeweils selben Pflanzenindividuums verglichen, indem die prozentuellen Übereinstimmungen in den Schwarz/Weiß-Verhältnissen berechnet wurden.

Um zu testen, ob diese Übereinstimmungen bei Blüten unterschiedlicher Pflanzen signifikant geringer sind als bei jenen innerhalb eines Blütenstandes wurde mit dem Programm SPSS 14.0 ein Zweistichproben-t-Test durchgeführt. Auch hier wurden p-Werte über 0,05 als nicht signifikant betrachtet.

Verhaltensversuche

Versuchsvorbereitungen

Um die Verhaltensversuche durchführen zu können, wurden Honigbienensammlerinnen zunächst vom institutseigenen Stock auf eine Futterstation (=Feeder) mit Zuckerwasser trainiert. Dazu wurden am Stockeingang kleine Plättchen mit Zuckerwasser platziert, welche mit den daraus trinkenden Tieren zum Feeder getragen wurden. Sobald sich einige Bienen den Ort des Feeders eingeprägt hatten und wiederholt zum Trinken kamen, wurde dieser in Richtung des Versuchsplatzes bewegt. Dieser Transfer erfolgte in kleinen Schritten, damit die Tiere weiterhin zum Futter fanden und weitere Sammlerinnen rekrutieren konnten. Zu Beginn musste die Konzentration der Zuckerlösung hoch angesetzt werden, da das Blütenangebot im Juni sehr groß war. Im Laufe der nächsten zwei Wochen konnte jedoch die Konzentration von 1mol/l auf 0,1mol/l reduziert werden, da genug Tiere regelmäßig zum Feeder kamen. Von dort aus konnten individuelle Tiere für die verschiedenen Versuchsabläufe wegtrainiert werden.

Versuch I.: Unterscheidung von Blütenmustern gleicher und verschiedener Pflanzenindividuen der Sexualtäusorchidee *Ophrys heldreichii*

Herstellung der Stimuli

Um das Unterscheidungsvermögen der Bienen von Blütenmustern untersuchen zu können, wurden wie bei der Quantifizierung der Ähnlichkeiten lediglich die Zeichnungen des Labellum als Stimuli geboten, damit andere Blütenbestandteile bei den Lernexperimenten keine Rolle spielen konnten. Um auch einen Einfluss der Farbwahrnehmung auszuschließen, wurden die Muster in schwarz-weiß präsentiert (Abb. 1). Aus einer Reihe an Blütenfotos einer Population wurden sechs Bilder von Blüten verschiedener Pflanzenindividuen und vier Bilder von verschiedenen Blüten desselben Blütenstandes zufällig ausgewählt.

Die fertig bearbeiteten Muster wurden auf graue, gleichmäßig reflektierende Papierkarten mit den Maßen 8 x 4cm gedruckt und mit matten Folientaschen (LGI, 54 x 86mm, 125mic) laminiert, um Spiegelungen im Tageslicht zu vermeiden und die Kärtchen säubern zu können.

Versuchsaufbau

Damit die Position der Muster variiert werden konnte, wurde, ähnlich wie bei den Versuchen von Dyer et al. 2005 und 2008, eine senkrechte Drehscheibe mit einem Durchmesser von 60cm zur Präsentation der Stimuli verwendet. So konnten die Bienen den Anflugwinkel und den Punkt, an dem sie sich für einen der Stimuli entscheiden, frei wählen, was den Vorteil hatte, dass sie nicht durch den Versuchsaufbau gezwungen wurden die Entscheidungen schon aus größerer Entfernung zu treffen (Efler & Ronacher 2000).

An der Drehscheibe befanden sich kleine Haken, sodass Hängescheibchen mit kleinen Landeplattformen in verschiedenen Positionen platziert werden konnten. Die laminierten Muster wurden mit doppelseitigem Klebeband auf den Hängescheibchen befestigt. (Abb. 2).



Abbildung 2: Versuchsaufbau bei Versuch I. Die Stimuli wurden auf einer senkrechten Drehscheibe präsentiert.

Versuchsreihen

Da es das Ziel dieser Experimente war, zu untersuchen ob die Tiere Blütenmuster verschiedener Pflanzenindividuen besser unterscheiden können als jene von gleichen Pflanzen, und ob die Größe der Stimuli eine Rolle spielt, wurden vier unterschiedliche Versuchsreihen durchgeführt. Vor Beginn der Untersuchungen wurde in Versuch 1 und 2 nach dem Zufallsprinzip ein Muster, welches zukünftig als belohnendes Objekt diente, als Target festgelegt, die übrigen Muster wurden nicht belohnt (= Distraktoren) und bekamen eine Distraktornummer zugewiesen. Jeweils ein Muster wurde während des Trainings nicht verwendet sondern erst am Ende des Versuches in einem Transfertest als neuer Distraktor präsentiert, um zu prüfen, ob die Bienen das Target auch von einem bisher nicht gelernten Distraktor unterscheiden können.

In Versuch 3 und 4 entsprachen die Muster, abgesehen von ihrer Größe, jenen von Versuch 1 und 2, sodass Target und Distraktoren gleich blieben.

Es ergaben sich somit folgende vier Versuchsreihen:

Versuch 1: Vergrößerte Muster unterschiedlicher Pflanzen

Die Muster dieser Versuchsreihe stammen von sechs unterschiedlichen Pflanzenindividuen und sind für das menschliche Auge leicht zu unterscheiden. Da andere Studien bereits zeigten, dass eine Stimuligröße von etwa 7,5 x 5cm gut für Lernexperimente mit Honigbienen geeignet ist (Dyer et al. 2005, 2008), wurden die Muster auf diese, dem Fünffachen der Originalgröße entsprechenden Maße, vergrößert (Abb. 3).

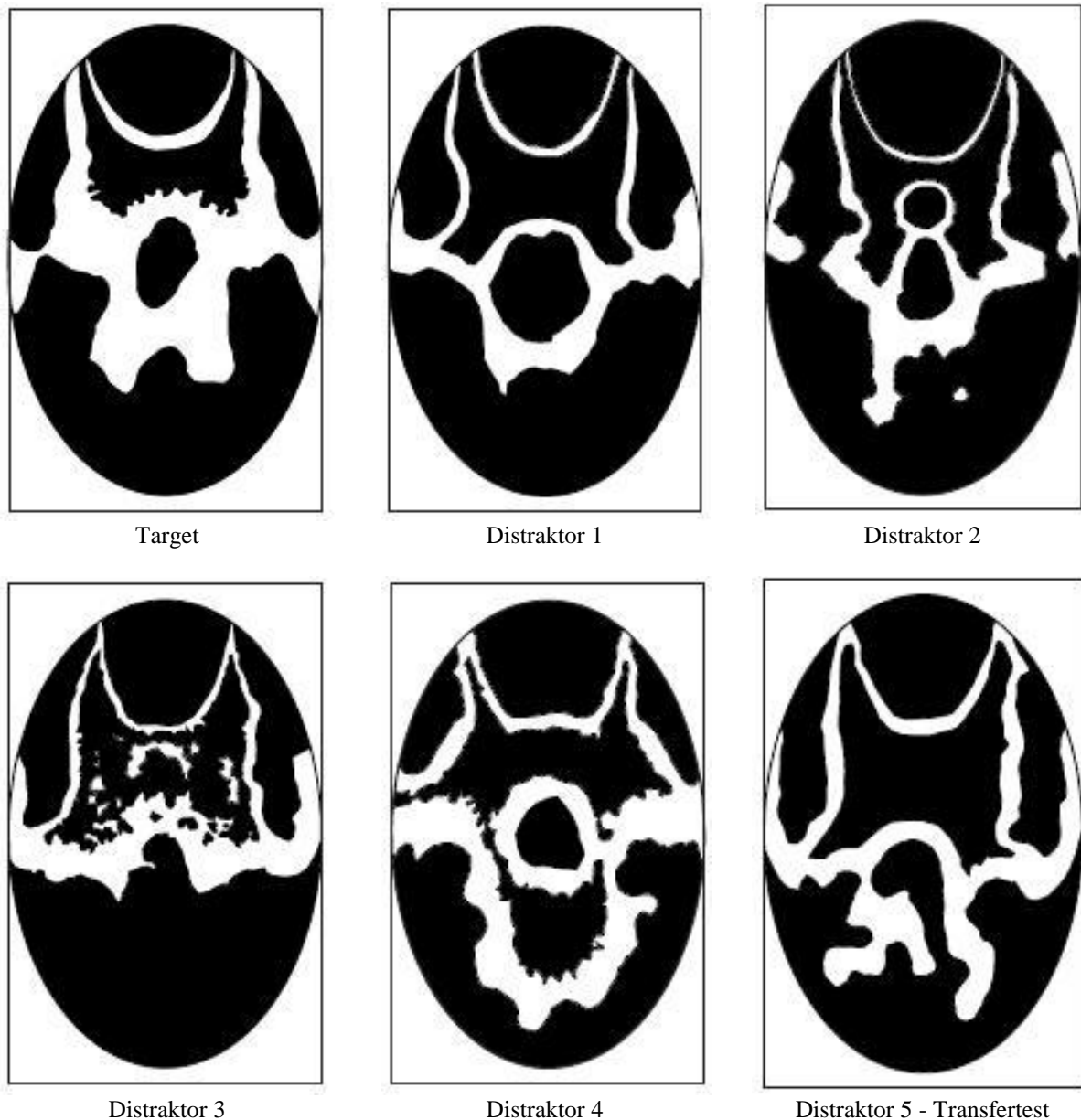
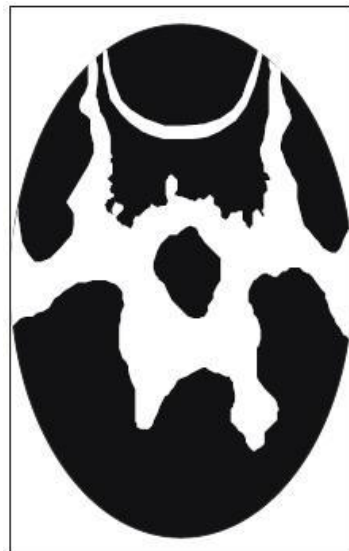


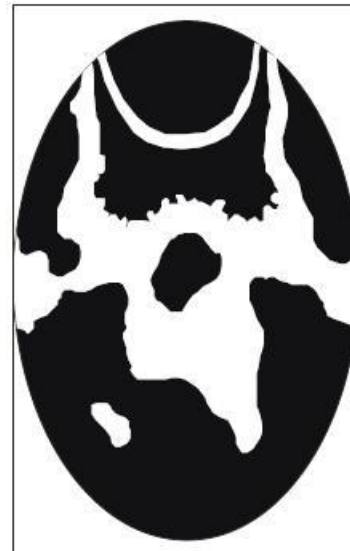
Abbildung 3: Stimuli bei Versuch 1 – Vergrößerte Muster unterschiedlicher Pflanzen.

Versuch 2: Vergrößerte Muster der gleichen Pflanze

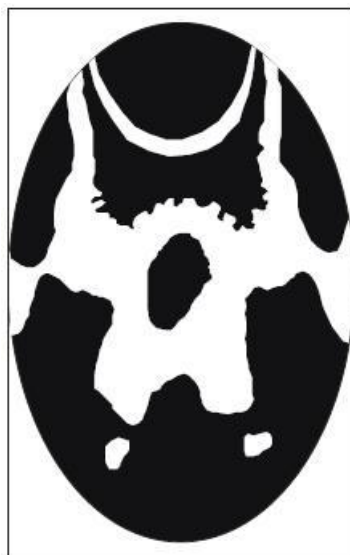
Die Muster dieser Versuchsreihe stammen von vier Blüten desselben Pflanzenindividuums und sind einander, zumindest für das menschliche Auge, sehr ähnlich. Auch diese Bilder wurden auf 7,5 x 5cm vergrößert (Abb. 4).



Target



Distraktor 1



Distraktor 2



Distraktor 3 - Transfertest

Abbildung 4: Stimuli bei Versuch 2 - Vergrößerte Muster der gleichen Pflanze.

Versuch 3: Muster unterschiedlicher Pflanzen in Originalgröße

Die Muster dieser Versuchsreihe entsprechen jenen von Versuch 1, stammen also von sechs unterschiedlichen Pflanzenindividuen, und sind für das menschliche Auge leicht zu unterscheiden. Es wurde jedoch die Originalgröße (1,5 x 1cm) der Blütenmuster gewählt. Die Stimuli wurden am unteren Rand der Kärtchen angebracht, sodass sie für die Tiere von der Landeplattform aus gut sichtbar waren (Abb. 5).

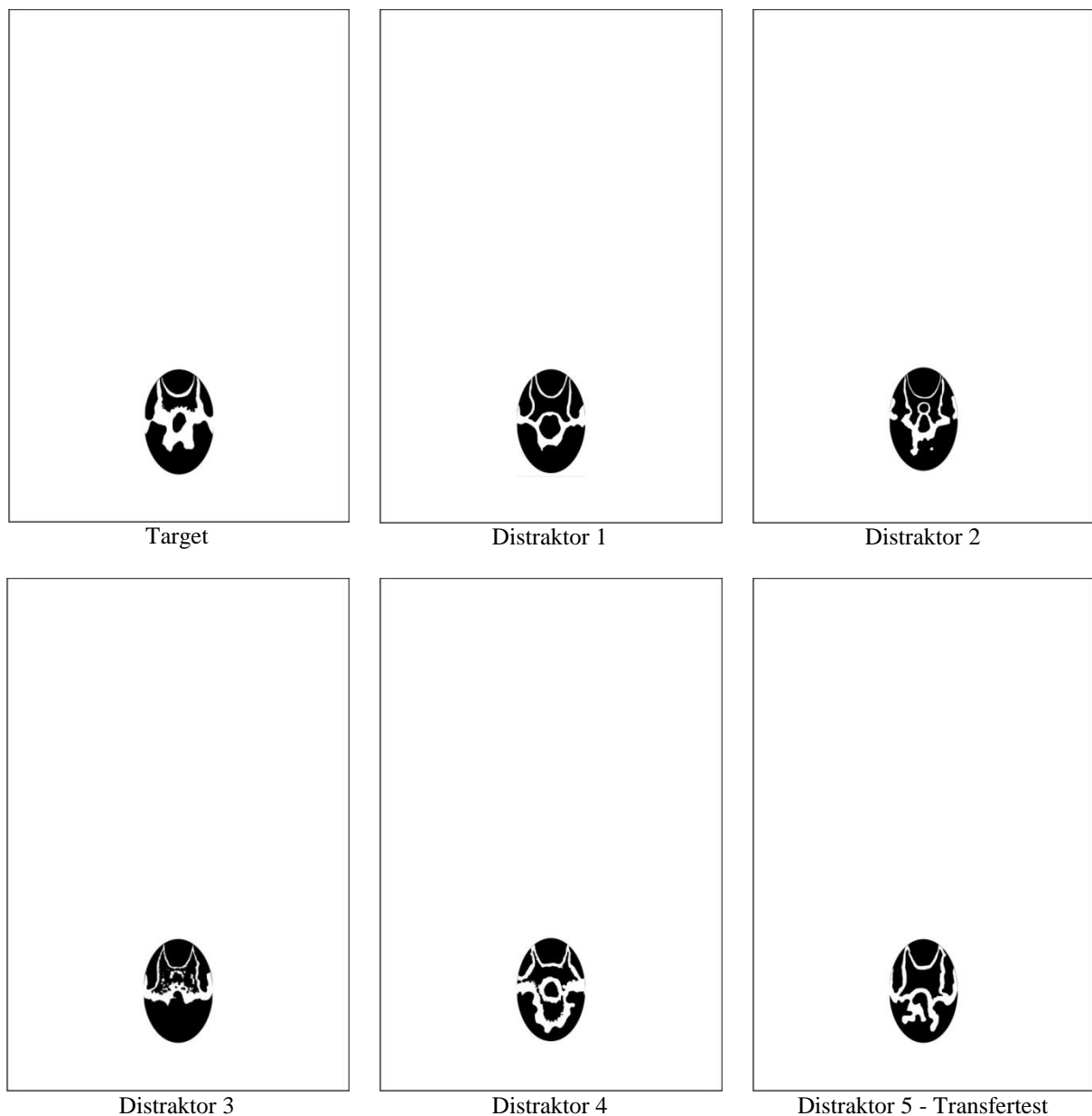


Abbildung 5: Stimuli bei Versuch 3 - Muster unterschiedlicher Pflanzen in Originalgröße

Versuch 4: Muster der gleichen Pflanze in Originalgröße

Die Muster dieser Versuchsreihe entsprechen jenen von Versuch 2, stammen also von vier Blüten desselben Pflanzenindividuums und sind einander, zumindest für das menschliche Auge, sehr ähnlich. Es wurde jedoch die Originalgröße (1,5 x 1cm) der Blütenmuster gewählt. Die Stimuli wurden am unteren Rand der Kärtchen angebracht, sodass sie für die Tiere von der Landeplattform aus gut sichtbar waren (Abb. 6).

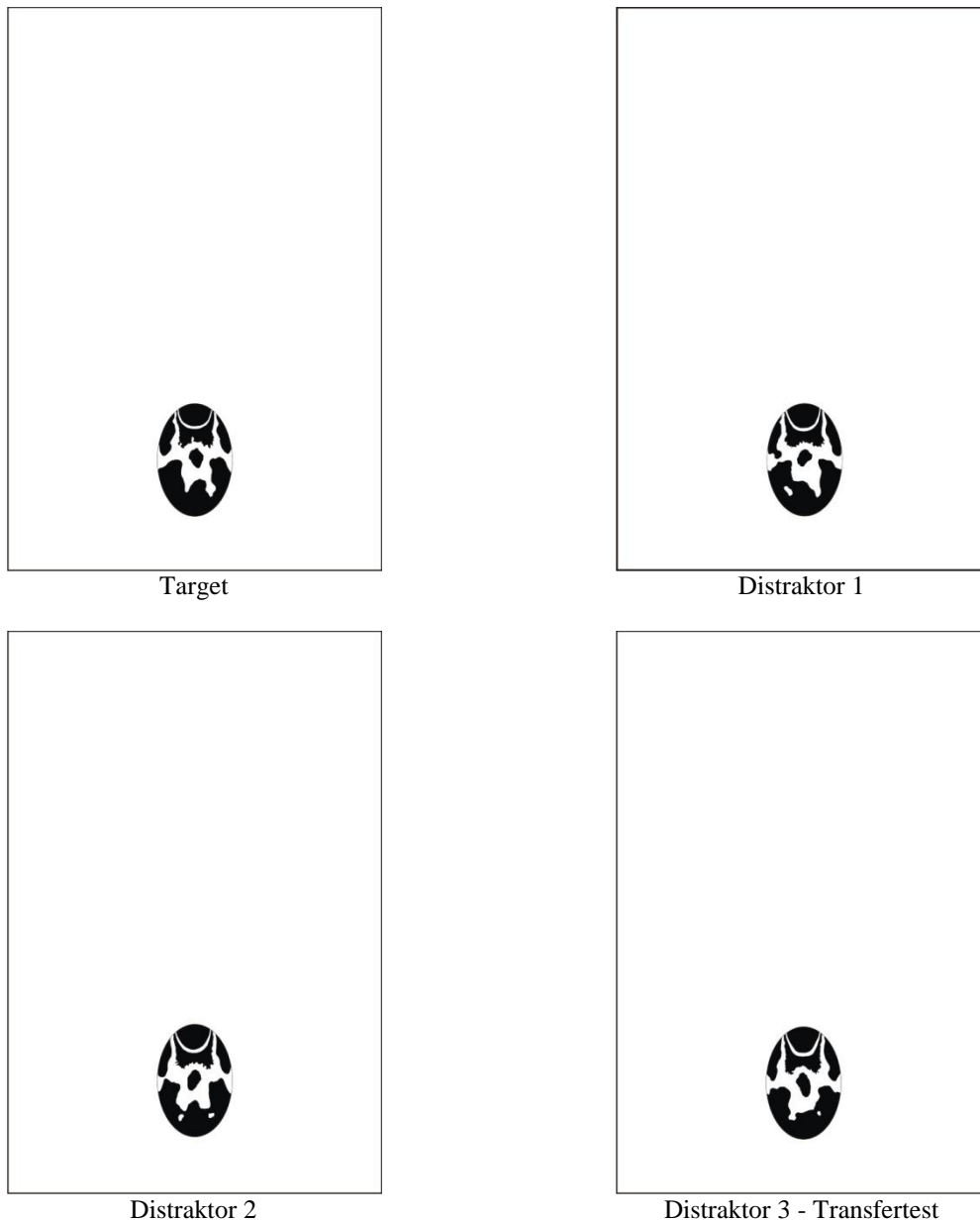


Abbildung 6: Stimuli bei Versuch 4 – Muster der gleichen Pflanze in Originalgröße.

Versuchsdurchführung

Andressur – absolute Konditionierung

Die Andressur erfolgte durch absolute Konditionierung, bei welcher der Biene nur ein belohnendes Target präsentiert wurde. Da Bienen Nahrungsquellen mit Duft aus den Tarsendrüsen markieren können (Eltz 2006), wurden zur Vermeidung von olfaktorischen Einflüssen die Landeplättchen zuvor mit einer auswechselbaren transparenten Klebefolie überzogen. Danach wurde eine Biene mit einem Stab vom Feeder (0,1mol/L Zuckerkonzentration) zum Versuchstisch gebracht und auf die Landeplattform des Hängescheibchens mit dem Target gesetzt, auf dem sich 1-molares Zuckerwasser (ZW) befand (Abb. 7). Nachdem die Biene genug ZW



Abbildung 7: Belohnung mit ZW auf der Landeplattform des Targets.

aufgenommen hatte, konnte sie sich beim Wegfliegen die Umgebung und damit auch das Muster des Targets einprägen. Kam die Biene nach einiger Zeit erneut und schaffte es auf der Plattform zu landen, durfte sie nochmals bis zur Sättigung ZW trinken und wurde dabei mit einem Lackstift markiert, um sie von anderen Sammlerinnen, die ihr eventuell zur Drehscheibe folgten, unterscheiden zu können. Ab nun wurde nach jedem Sammelflug, also sobald die Biene zum Stock zurückflog, die Folie auf dem Landeplättchen erneuert.

Bei der nächsten Wiederkehr wurden nur noch 10µl ZW auf der Landebahn angeboten. Nachdem die Biene den Tropfen aufgenommen hatte, wurde sie mit weiteren 10µl auf einen Stab gelockt, und damit einen Meter von der Drehscheibe entfernt. Währenddessen konnte durch Drehen der Scheibe die Position des Targets verändert werden, sodass die Biene beim nächsten Anflug vom Stab bemerkte, dass sich die Belohnung nicht immer an derselben Stelle befand. Nach drei solchen Anflügen wurde eine größere Menge Zuckerlösung geboten, sodass die Biene satt wurde und zurück zum Stock flog. Auf diese Weise konnte sichergestellt werden, dass jede Biene gleich viele Landungen machte, auch wenn sie unterschiedlich viel ZW für die Sättigung benötigten. Diese Prozedur wurde für einen weiteren Sammelflug wiederholt.

Nach dieser achtmaligen absoluten Konditionierungssequenz wurde die Andressur beendet und es konnte mit dem eigentlichen Training begonnen werden.

Training – differentielle Konditionierung

Beim nächsten Anflug wurden bereits zwei Targets und zwei zufällig ausgewählte Distraktoren auf der Drehscheibe präsentiert. Die Landungen auf den Targets wurden weiterhin mit 10µl ZW belohnt, die Landungen auf den Distraktoren zur Motivationssteigerung mit einem Tropfen 0,12%iger Chininlösung bestraft (Chittka et al. 2003). Nach jeder Target-Landung wurde die Biene mit dem Stock wieder entfernt und die Position der Stimuli verändert. Nach jedem kompletten Sammelflug wurden zwei neue Distraktoren gewählt, und die Landeplättchen mit neuem Klebeband überzogen.

Das Training wurde für 140 Entscheidungen fortgesetzt.

Test

Nach dem Training wurde ein unbelohnter Test mit 20 Entscheidungen durchgeführt, bei dem weder Zuckerwasser noch Chinin geboten wurden, um olfaktorische Einflüsse auszuschließen. Anschließend folgte eine Belohnungsphase um die Motivation der Bienen aufrecht zu halten.

Transfertest

Zum Schluss wurden in einem ebenfalls unbelohnten Transfertest die bisher nicht verwendeten Distraktoren (Distraktor 5 bei Versuch 1 und 3 bzw. Distraktor 3 bei Versuch 2 und 4) zusammen mit dem Target präsentiert, um zu prüfen, ob die Tiere auch in einer neuen Situation das Target erkennen können (vgl. Dyer et al. 2005, 2008; Efler & Ronacher 2000; Giger & Srinivasan 1995). Auch hier wurden 20 Entscheidungen notiert.

Analyse der Entscheidungen

Bei den Entscheidungen der Bienen wurde zwischen Landungen (engl. Land) und Ablehnungen (engl. Abort) unterschieden. Eine Entscheidung galt als Abort, wenn die Biene bis 5cm an das Bild flog, es dabei betrachtete, oft sogar kurz davor schwebte und danach gezielt wieder weg flog, ohne die Landebahn oder das Muster zu berühren. Als Landung wurde eine Entscheidung gewertet, sobald eine Landebahn oder ein Bild berührt wurde.

Bei der Auswertung wurden Landung auf dem Target (target land) und Ablehnung des Distraktors (distractor abort) als korrekte, Ablehnung des Targets (target abort) und Landung auf dem Distraktor (distractor land) als falsche Entscheidung gezählt.

Die statistischen Analysen erfolgten mit dem Programm SPSS 14.0. Um auszuwerten, ob sich die richtigen Entscheidungen der Bienen für das Target von einer Zufallsentscheidung unterschieden, wurden Einstichproben-t-Tests durchgeführt. Die Auswirkungen der Größe der

Stimuli wurden mittels eines Zweistichproben-t-Tests untersucht. P-Werte über 0,05 wurden als nicht signifikant betrachtet.

Versuch II.: Unterscheidung der Blütenmuster in Abhängigkeit des Schwinkels

Nachdem in Versuch I. untersucht wurde, ob ein Unterschied im Unterscheidungsvermögen der Bienen zwischen den Mustern gleicher und verschiedener Pflanzen besteht, sollte in diesem Versuch getestet werden, welche Rolle der Abstand zum Stimuli, bzw. der Winkel, unter dem das Muster betrachtet wird, bei der Erkennung spielt. Oder anders gefragt, wie nahe müssen sich die Bienen den Mustern nähern, um diese unterscheiden zu können.

Dazu wurde eine Y-Arena angefertigt, in welcher der Abstand der Muster zum Entscheidungspunkt der Biene schrittweise vergrößert werden konnte (Vgl. Giurfa et al. 1997).

Versuchsaufbau

Die Y- Arena bestand aus einem 11 x 8cm großen Eingangsbereich, in den die Biene durch ein 5cm langes Rohr mit 2cm Durchmesser gelangte, und zwei im 90°-Winkel zueinander stehenden, 7cm breiten Armen mit 40cm Länge. In jedem der Arme befand sich eine Halterung, an der die bereits in Versuch I.

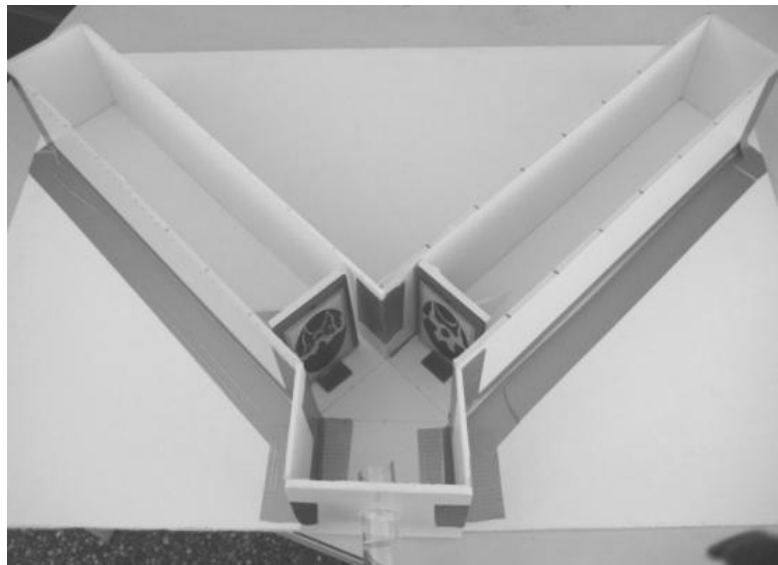


Abbildung 8: Versuchsaufbau zu Versuch II.

verwendeten Hängescheibchen mit den Mustern befestigt werden konnten. Entlang der Seitenwände der Arme wurde eine Skala aufgezeichnet, um die Entfernungen zur Entscheidungslinie am Armeingang messen zu können (Abb.8). Die gesamte Konstruktion wurde von einer Plexiglasplatte abgedeckt, um das Verhalten der Bienen beobachten zu können.

Versuchsstimuli

Als Stimuli wurden bei diesem Versuch dieselben sechs vergrößerten Blütenmuster unterschiedlicher Pflanzen von *Ophrys heldreichii*, die auch in der ersten Versuchsreihe von Versuch I. verwendet wurden, herangezogen (Abb. 3). Auch die Auswahl des Targets und der Distraktornummern blieben gleich. Nachdem erste Vorversuche zeigten, dass die Bienen schon bei einer geringen Entfernung von nur 5cm, was einem visuellen Winkel von 53° entspricht, nicht in der Lage waren die Lippenmuster zu unterscheiden, wurde ein weiterer Vorversuch durchgeführt um auszuschließen, dass der verwendete Versuchsaufbau ein Lernen der Bienen verhindert. Dazu wurden zwei weitere, sehr leicht zu unterscheidende Distraktoren in Form eines schwarzen X und eines schwarzen Kreuzes (Abb. 9) gegen das Target der Blütenmuster getestet.

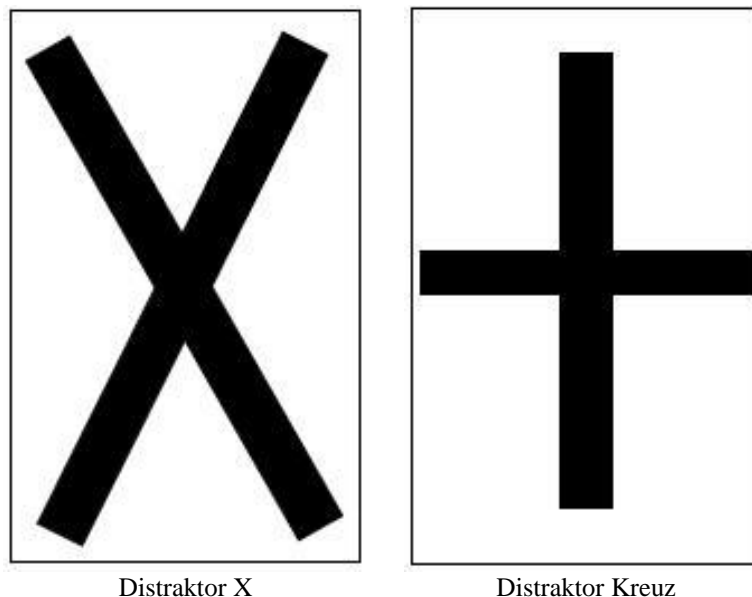


Abbildung 9: Zusätzliche Distraktoren bei Versuch II.

Versuchsdurchführung

Andressur – absolute Konditionierung

Zu Beginn musste den Bienen beigebracht werden, in die Y-Arena zu fliegen. Dazu wurde eine Biene am Feeder auf ein mit Zuckerwasser (1mol/l) gefülltes Plättchen gelockt und mit diesem an den Anfang des Eingangsröhrchens der Arena gesetzt. Beim Rückflug zum Stock prägte sich die Biene den Versuchsort ein. Bei der Wiederkehr wurde sie mit einem Lackstift markiert und das Plättchen mit Zuckerwasser weiter in das Röhrchen geschoben. Dieser Vorgang wurde solange wiederholt bis das Tier gezielt durch das Röhrchen krabbelte, um in das Innere der Arena zu gelangen. In der Regel reichten hierfür drei Anflüge. Im Inneren

MATERIAL UND METHODEN

wurde zunächst für die absolute Konditionierung nur das Target aus Versuch I. an der Gabelung der beiden Y-Arme präsentiert. Auf der Landeplattform, die auch in diesem Versuch zur Vermeidung von Duftmarkierungen mit einem Klebeband überzogen wurde, wurden 10µl Zuckerwasser zur Belohnung angeboten. Hatte die Biene diese aufgenommen, wurde sie mit Hilfe eines Stabes, auf dem sich ebenfalls 10µl Zuckerlösung befanden, aus der Arena entfernt, sodass sie von außen einen neuen Anflug starten konnte. Dieser Ablauf wurde für sechs Anflüge wiederholt, wobei nach jedem Sammelflug, d.h. wenn die Biene zurück in den Stock flog, das Klebeband auf der Landebahn ausgetauscht wurde.

Differentielle Konditionierung mit X und Kreuz als Distraktoren

Nach Beendigung der Andressur wurde den Tieren ein Target und das X bzw. das Kreuz jeweils 5cm hinter der Entscheidungslinie präsentiert. Das Target wurde weiterhin mit 10µl Zuckerwasser belohnt, und um die Motivation zu steigern die Distraktoren mit 0,12%iger Chininlösung bestraft (Chittka et al. 2003). Die Position, d.h. welcher Stimulus links und welcher rechts positioniert wurde, und der Distraktortyp wurden nach dem Zufallsprinzip gewählt. Dabei wurde darauf geachtet, dass diese nicht mehr als zwei Anflüge in Folge gleich blieben. Nach jeder Landung am Target wurde die Biene wieder mit dem Stab aus der Arena genommen, sodass sie einen neuen Anflug starten konnte. Diese Distraktoren wurden für 40 Entscheidungen verwendet.

Differentielle Konditionierung mit Blütenmuster als Distraktoren

Im nächsten Schritt wurden das Kreuz und das X durch die Blütenmuster-Distraktoren ersetzt und der Versuch wie bisher für weitere 60 Entscheidungen fortgesetzt.

Analyse der Entscheidungen

Die Auswertung der Bienenentscheidungen erfolgte auf zwei unterschiedlichen Wegen.

Bei der ersten Methode wurden wie in Versuch I. Landungen am Target (target land) und Ablehnungen des Distraktors (distractor abort) als korrekte, Ablehnungen des Targets (target abort) und Landungen am Distraktor (distractor land) als falsche Entscheidungen gewertet. Eine Entscheidung galt als Ablehnung (Abort) wenn die Biene näher als 5cm an das Muster heranflog und dann wieder aus dem Y-Arm herausflog ohne dabei die Landeplattform bzw. das Bild zu berühren. Als Landung wurde das Verhalten der Biene gezählt sobald die Landebahn oder das Bild berührt wurden.

Die zweite Methode unterschied nur zwischen zwei Möglichkeiten. Sobald die Biene den Eingang eines Y-Armes, und damit die Entscheidungslinie, passierte, wurde dies als

Entscheidung gewertet, unabhängig davon ob danach ein Abort oder eine Landung folgte. Flüge in den Arm mit dem Target wurden als korrekt, Flüge in jenen mit Distraktor als falsch gewertet (Vgl. Giurfa et al. 1997).

Die statistische Analyse erfolgte mit dem Programm SPSS 14.0. Um auszuwerten, ob sich die richtigen Entscheidungen der Bienen für das Target von einer Zufallswahl unterschieden, wurden Einstichproben-t-Tests durchgeführt. P-Werte über 0,05 wurden als nicht signifikant betrachtet.

ERGEBNISSE

Quantifizierung der Ähnlichkeit von Blütenmustern der Sexualtäusorchidee *Ophrys heldreichii*

Die Pixelzahl der erzeugten Bilder betrug 131128. Von dieser wurden 28053 Pixel des Randes (siehe z.B. Abb. 3) abgezogen, sodass sich eine Gesamtpixelanzahl von 103075 pro Blütenmuster ergab.

Vergleiche des Überlappungsgrades

Beim Vergleich zweier Muster verschiedener Pflanzenindividuen waren durchschnittlich 29929 ± 3009 Pixel, das entspricht $29 \pm 2,9\%$ (\pm s.d.), nicht identisch (Tab. 1). Bei den Mustern desselben Blütenstandes betrug der Unterschied im Mittel lediglich 20707 ± 5432 Pixel bzw. $20,1 \pm 5,3\%$ (Tab. 2). Die Zeichnungen auf den Labella von Blüten der gleichen Pflanze waren demnach signifikant ähnlicher als jene von unterschiedlichen Pflanzen ($t=-5,930$; $df=30$; $p<0,001$).

Tabelle 1: Vergleiche des Überlappungsgrades von Mustern unterschiedlicher Pflanzen.

Vergleichspaar	Anzahl unterschiedlicher Pixel	Unterschied in %
1-3 / 4-2	28962	28,1
2-3 / 13-3	28794	27,9
3-3 / 7-2	31389	30,5
4-4 / 10-1	33346	32,4
5-2 / 16-1	33011	32,0
6-4 / 3-1	35940	34,9
7-1 / 4-1	28401	27,6
8-3 / 11-1	26983	26,2
9-3 / 5-1	27952	27,1
10-3 / 15-1	26797	26,0
11-2 / 15-2	27810	27,0
12-3 / 15-4	34849	33,8
13-4 / 6-3	26123	25,3
14-3 / 5-3	27578	26,8
15-3 / 11-4	30728	29,8
16-3 / 13-2	30207	29,3
Mittelwert	29929	29,0
s.d.	3009	2,9

Tabelle 2: Vergleiche des Überlappungsgrades von Mustern derselben Pflanze.

Vergleichspaar	Anzahl unterschiedlicher Pixel	Unterschied in %
1-2 / 1-3	18836	18,3
2-2 / 2-3	22634	22,0
3-1 / 3-4	14581	14,1
4-2 / 4-4	16966	16,5
5-1 / 5-4	27282	26,5
6-1 / 6-2	23573	22,9
7-3 / 7-2	23105	22,4
8-2 / 8-1	24416	23,7
9-1 / 9-3	14299	13,9
10-1 / 10-4	17274	16,8
11-1 / 11-2	30577	29,7
12-2 / 12-4	28195	27,4
13-1 / 13-4	15771	15,3
14-2 / 14-3	13079	12,7
15-1 / 15-4	17010	16,5
16-1 / 16-3	23715	23,0
Mittelwert	20707	20,1
s.d.	5424	5,3

Vergleich der Schwarz-Weiß-Verhältnisse

Beim Vergleich von Blüten verschiedener Pflanzenindividuen betrug die durchschnittliche Übereinstimmung der Schwarz-Weiß-Verhältnisse lediglich $65,8 \pm 20,5\%$ (\pm s.d.) (Tab. 3). Bei Blüten derselben Pflanze stimmten hingegen im Mittel $87,5 \pm 6,1\%$ der Schwarz-Weiß-Verhältnisse überein (Tab. 4). Damit zeigte auch diese Analyse­methode eine signifikant größere Ähnlichkeit der Labellummuster bei Blüten der gleichen Pflanze als bei jenen von unterschiedlichen Blütenständen ($t=4,048$; $df=30$; $p<0,001$).

ERGEBNISSE

Tabelle 3: Vergleiche der Schwarz-Weiß-Verhältnisse von Mustern unterschiedlicher Pflanzen.

Vergleichspaar	Übereinstimmung im S/W – Verhältnis in %
1-3 / 4-2	91,7
2-3 / 13-3	89,1
3-3 / 7-2	61,2
4-4 / 10-1	50,2
5-2 / 16-1	46,3
6-4 / 3-1	58,4
7-1 / 4-1	62,0
8-3 / 11-1	91,2
9-3/ 5-1	82,8
10-3 / 15-1	61,8
11-2 / 15-2	45,8
12-3 / 15-4	48,8
13-4 / 6-3	93,8
14-3 / 5-3	90,3
15-3/ 11-4	40,2
16-3/13-2	39,0
Mittelwert	65,8
s.d.	20,5

Tabelle 4: Vergleiche der Schwarz-Weiß-Verhältnisse von Mustern derselben Pflanze.

Vergleichspaar	Übereinstimmung im S/W – Verhältnis in %
1-2 / 1-3	83,6
2-2 / 2-3	75,0
3-1 / 3-4	93,8
4-2 / 4-4	85,7
5-1 / 5-4	89,7
6-1 / 6-2	86,4
7-3 / 7-2	94,4
8-2 / 8-1	87,3
9-1 / 9-3	90,1
10-1 / 10-4	96,0
11-1 / 11-2	81,9
12-2 / 12-4	90,4
13-1 / 13-4	85,9
14-2 /14-3	95,6
15-1 / 15-4	77,8
16-1 / 16-3	85,7
Mittelwert	87,5
s.d.	6,1

Versuch I: Unterscheidung von Blütenmustern gleicher und verschiedener Pflanzenindividuen der Sexaltäusorchidee *Ophrys heldreichii*.

Versuche mit vergrößerten Stimuli (7,5 x 5cm)

Das Differenzierungsvermögen der Bienen bei vergrößerten Blütenmustern wurde mit je acht Individuen pro Versuchsreihe getestet.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Entscheidungen der Bienen für das Target nach der ersten absoluten Konditionierungsphase bei den ersten zehn Entscheidungen im Training im Mittel sowohl bei den Mustern unterschiedlicher Pflanzen ($44,7 \pm 7,4\%$ (\pm S.E.)), als auch bei jenen desselben Blütenstandes ($40 \pm 3,3\%$), signifikant unter 50% lagen ($t = -2,376$; $n=8$; $p=0,049$ bei Versuch 1 und $t = -3,055$; $n=8$; $p=0,018$ bei Versuch 2, Abb. 10), d.h. dass der Distraktor häufiger gewählt wurde als das belohnte Target.

Bei Versuch 1, bei welchem die Muster von unterschiedlichen Pflanzenindividuen stammten, lernten die Bienen allerdings im Laufe des Trainings das Target von den Distraktoren zu differenzieren (Abb.10). So betrug die Performance nach 50 Entscheidungen bereits $66,3 \pm 4,6\%$. Die Zahl richtiger Landungen bzw. Aborts war nach 90 Entscheidungen am höchsten ($83,8 \pm 3,8\%$).

Der Durchschnitt der richtigen Entscheidungen der Bienen während des nicht belohnten Tests betrug $77,5 \pm 2,5\%$. Diese Test-Performance unterschied sich signifikant vom Zufall ($t=11$; $n=8$; $p<0,001$).

Auch während des Transfertests wählten die Bienen durchschnittlich zu $72,5 \pm 3\%$ richtig. Diese Fähigkeit der Bienen, auch in einer neuen Situation mit einem vorher noch nie präsentierten Distraktor richtig zu entscheiden, unterschied sich ebenfalls signifikant von einer Zufallswahl ($t=7,5$; $n=8$; $p<0,001$).

Bei Versuch 2 mit Blütenmustern des gleichen Blütenstandes waren die Bienen auch bei fortschreitender differentieller Konditionierung im Training kaum in der Lage das Target von den Distraktoren zu differenzieren (Abb.10).

Die Performance im unbelohnten Test lag bei diesem Versuch bei $50,6 \pm 1,8\%$ und unterschied sich nicht signifikant vom Zufall ($t=0,357$; $n=8$; $p=0,732$).

Auch im Transfertest wichen die Reaktionen der Bienen mit durchschnittlich $51,3 \pm 1,8\%$ richtigen Entscheidungen nicht von einer Zufallswahl ab ($t=0,683$; $n=8$; $p=0,516$).

ERGEBNISSE

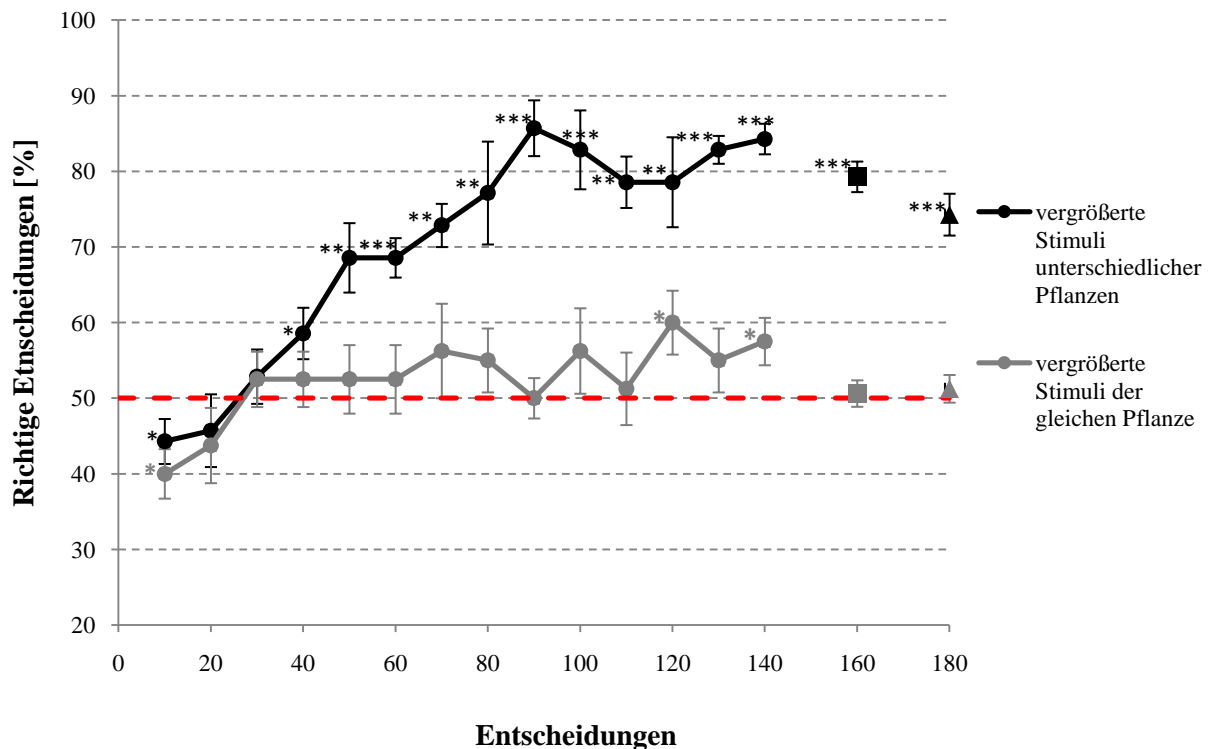


Abbildung 10: Durchschnittliche Performance (\pm Standardfehler) der Bienen im Verlauf der Versuche 1 und 2. Durchgehende Linien zeigen den Verlauf der Lernkurve der Bienen während des Trainings, Quadrate richtige Entscheidungen während des nicht belohnten Tests und Dreiecke die Performance während des Transfertestes. Die Resultate von Versuch 1 mit vergrößerten Stimuli unterschiedlicher Pflanzen sind in schwarz, jene von Versuch 2 mit vergrößerten Stimuli der gleichen Pflanze in grau dargestellt. Die Sterne markieren die statistische Abweichung von zufälligen Entscheidungen (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Versuche mit Stimuli in Originalgröße (1,5 x 1cm)

Die beiden Versuche mit Blütenmuster in Originalgröße wurden ebenfalls mit je acht Bienen durchgeführt.

Ähnlich wie bei Versuch 1 und 2 konnten die Bienen zu Beginn des Trainings mit den kleinen Stimuli das Target nicht von den Distraktoren unterscheiden. Die Performance lag bei Versuch 3 in den ersten 10 Trainingsentscheidungen bei $42,5 \pm 4,5\%$ (\pm S.E.), bei Versuch 4 bei $42,5 \pm 2,5\%$, wobei sich die Performance von Versuch 4 signifikant vom Zufall unterschied ($t = -3,000$; $n = 8$; $p = 0,020$), d.h. auch hier wurden die Distraktoren zu Beginn häufiger gewählt. Im fortschreitenden Training von Versuch 3 lernten die Tiere die Muster unterschiedlicher Pflanzen zu differenzieren (Abb. 11). Nach 50 Reaktionen wurden bereits $62,5 \pm 3,2\%$ richtige

Entscheidungen getroffen, was signifikant von der Zufallsrate abwich ($t=2,546$; $n=8$; $p=0,038$).

Während des unbelohnten Tests bei Versuch 3 reagierten die Bienen im Mittel zu $81,9\pm 1,6\%$ mit korrekten Landungen bzw. Aborts. Auch diese Performance unterschied sich signifikant vom Zufall ($t=19,682$; $n=8$; $p<0,001$).

Während des Transfertests trafen die Bienen durchschnittlich zu $76,3\pm 1,8\%$ richtige Entscheidungen. Diese Fähigkeit der Bienen, auch in einer neuen Situation mit einem vorher noch nie präsentierten Distraktor richtig zu reagieren, wich ebenfalls signifikant vom Zufall ab ($t=14,346$; $n=8$; $p<0,001$).

Bei Versuch 4 mit Mustern von Blüten desselben Blütenstandes konnten die Bienen während des gesamten Trainings kaum das Target von den Distraktoren unterscheiden (Abb. 11).

Im unbelohnten Test zeigten die Tiere durchschnittlich $51,9\pm 1,6\%$ richtige Entscheidungen. Diese Performance unterschied sich nicht von einer Zufallswahl ($t=1,158$; $n=8$; $p=0,285$).

Die Reaktionen im Transfertest mit neuen Distraktoren lagen mit $51,9\pm 1,9\%$ korrekten Landungen bzw. Aborts ebenfalls im Zufallsbereich ($t=1,000$; $n=8$; $p=0,351$).

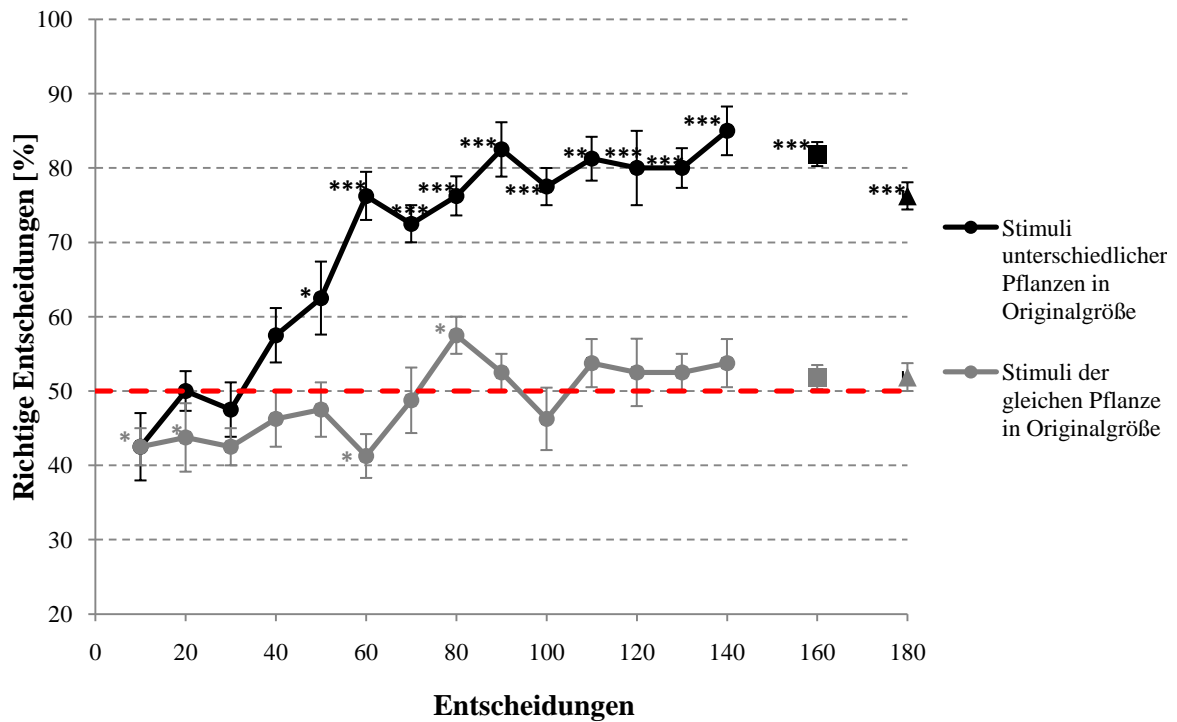


Abbildung 11: Durchschnittliche Performance (\pm Standardfehler) der Bienen im Verlauf der Versuche 3 und 4. Durchgehende Linien zeigen den Verlauf der Lernkurve der Bienen während des Trainings, Quadrate richtige Entscheidungen während des nicht belohnten Tests und Dreiecke die Performance während des Transfertestes. Die Resultate von Versuch 3 mit kleinen Stimuli unterschiedlicher Pflanzen sind in schwarz, jene von Versuch 4 mit kleinen Stimuli der gleichen Pflanze in grau dargestellt. Die Sterne markieren die statistische Abweichung von zufälligen Entscheidungen (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Einfluss der Stimuligröße

Vergleicht man die Wahlhäufigkeit der Bienen beim unbelohnten Test der beiden Versuche mit Blüten verschiedener Pflanzen so konnte kein signifikanter Einfluss der Stimuligröße auf die Lernfähigkeit der Bienen erkannt werden ($t = -1,469$; $df = 14$; $p = 0,164$). Auch bei Vergleichen der richtigen Entscheidungen in den Versuchen 2 und 4 mit Mustern desselben Pflanzenindividuums wurden keine Auswirkungen der Größe der gebotenen Zeichnungen festgestellt ($t = -0,524$; $df = 14$; $p = 0,609$) (Abb. 12).

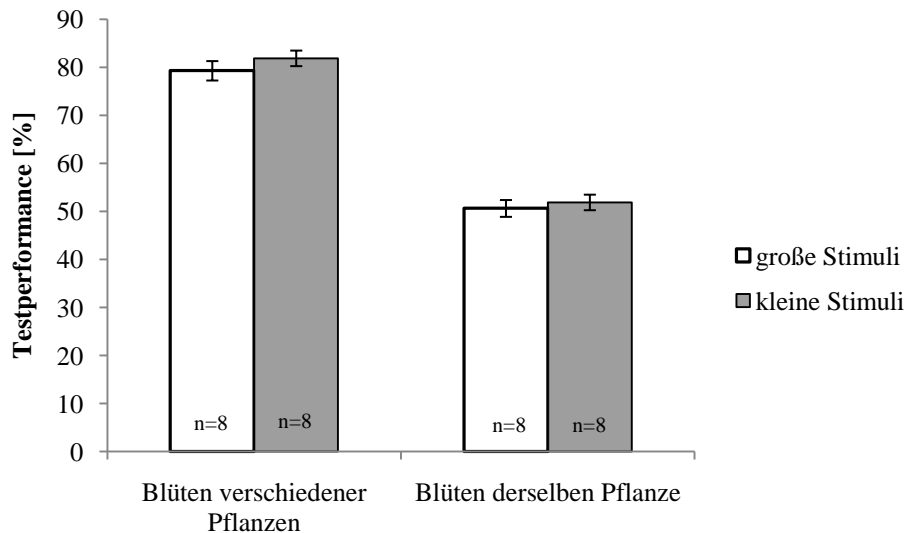


Abbildung 12: Einfluss der Stimuligröße auf die Testperformance. Dargestellt sind die durchschnittlichen richtigen Entscheidungen \pm Standardfehler während der unbelohnten Tests. Es ist zu erkennen, dass Blüten verschiedener Pflanzen besser gelernt wurden als jene derselben Pflanze. Die Größe der gebotenen Stimuli hatte jedoch keinen Einfluss auf die Performance.

Versuch II: Unterscheidung der Blütenmuster in Abhängigkeit des Schwinkels

Auf Grund des früh einsetzenden Winterwetters konnten die Experimente in der Y-Arena mit lediglich sechs Individuen durchgeführt werden.

Bei den Versuchen zeigte sich bei beiden Auswertungsmethoden zu Beginn der differentiellen Konditionierung mit dem Lippenmuster aus Versuch I. als Target und einem X bzw. Kreuz als Distraktoren kein Unterschied in der Performance, da kein Abort vorkam. In beiden Fällen wurden nach zehn Reaktionen durchschnittlich $60 \pm 5,8\%$ (\pm S.E.) richtige Entscheidungen getroffen. Dieses Ergebnis unterschied sich nicht signifikant von zufälligen Reaktionen ($t=1,732$; $n=6$; $p=0,144$). Im Laufe des weiteren Trainings lernten die Bienen auch aus Entfernungen von mindestens 5cm die beiden Distraktoren von dem Target zu differenzieren (Abb.13). So zeigte sich, dass die Tiere nach 40 Entscheidungen sowohl bei der Wertung der Landungen und Aborte (Auswertungsmethode 1) zu $80 \pm 2,6\%$ die richtigen Entscheidungen trafen, als auch bei Wertung der Reaktionen an der Entscheidungslinie (Methode 2) in $78,3 \pm 1,7\%$ der Fälle richtig wählten. Beide Ergebnisse waren signifikant verschieden von einer Zufallswahl ($t=11,619$; $n=6$; $p<0,001$ bei Auswertungsmethode 1 und $t=17$; $n=6$; und $p<0,001$ bei Methode 2).

Nachdem nach 40 Entscheidungen mit X bzw. Kreuz als Distraktoren zu den *Ophrys*-Mustern aus Versuch I. gewechselt wurde, sank die Performance der Tiere wieder deutlich ab. Betrachtet man die Auswertungsmethode 1 und zählt alle Reaktionen, d.h. Landungen und

ERGEBNISSE

Aborts, so lässt sich aber schon nach wenigen Anflügen eine steigende Lernkurve erkennen (Abb. 13). Bereits nach 20 Entscheidungen mit den neuen Distraktoren wählten die Bienen signifikant häufiger das Target, bzw. lehnten den Distraktor ab, als es bei zufälligen Reaktionen erwartet wird ($65 \pm 2,2\%$; $t=6,708$; $n=6$; $p=0,001$). Auch nach 60 Entscheidungen zwischen den verschiedenen *Ophrys*-Mustern unterschied sich die Performance der Tiere mit $75 \pm 2,2\%$ signifikant vom Zufall ($t=11,180$; $n=6$; $p<0,001$, Abb.13).

Wertet man jedoch nur jene Reaktionen, die vor der Entscheidungslinie getroffen wurden, so waren die Tiere auch nach mehreren Anflügen nicht in der Lage das Target von den anderen Blütenmustern zu unterscheiden (Abb. 13). Nach 20 Reaktionen zeigten die Bienen lediglich eine Performance von $50 \pm 3,7\%$, welche damit einer Zufallswahl entsprach. Am Ende des Versuches, nach 60 Entscheidungen mit den *Ophrys*-Distraktoren, entschieden sich die Tiere nur noch in $41,7 \pm 3,1\%$ der Fälle für das Target, was sogar signifikant unter der Zufallsperformance lag ($t=-2,712$; $n=6$; $p=0,042$).

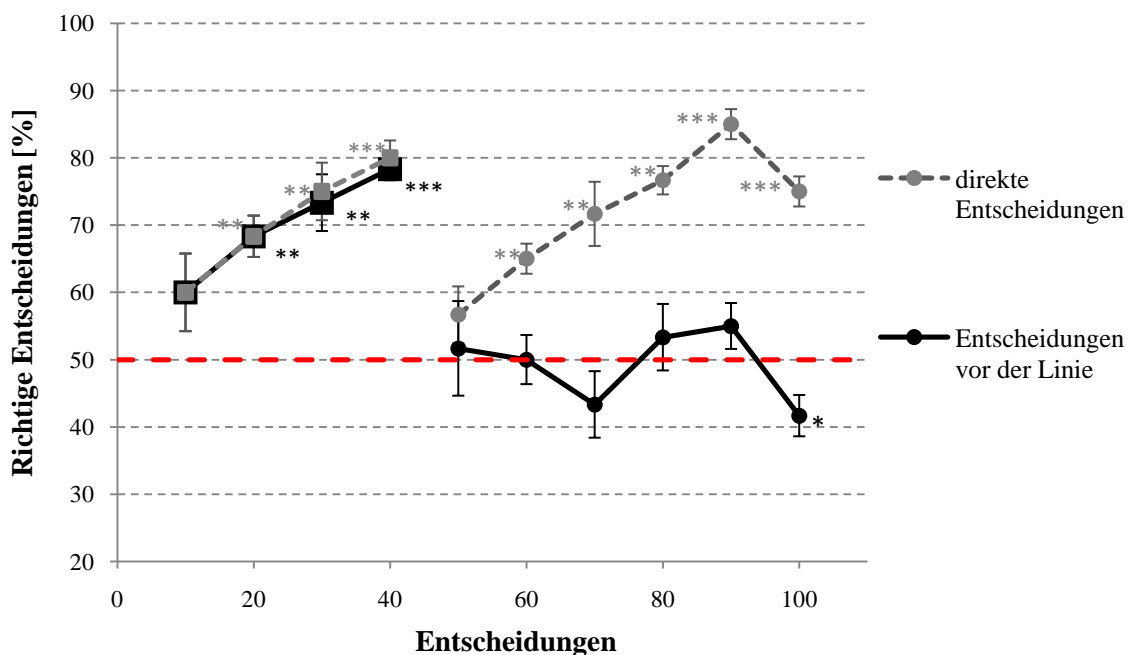


Abbildung 13: Durchschnittliche Performance (\pm Standardfehler) der Bienen bei Versuch II in der Y-Arena. Während der ersten 40 Entscheidungen wurden ein X und ein Kreuz als Distraktor verwendet. Bei den folgenden 60 Entscheidungen dienten die *Ophrys*-Muster verschiedener Pflanzen als Störfaktoren. Die Resultate der Wertung direkter Reaktionen mit Landung und Abort sind in grau, die Ergebnisse bei Wertung der Reaktionen vor der Entscheidungslinie in schwarz dargestellt. Die Sterne markieren die statistische Abweichung der Performance von Zufall (* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$).

DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war es, die Ähnlichkeiten der Zeichnungen auf den Labella der Blüten von *Ophrys heldreichii* zu quantifizieren und zu testen, ob Bienen im Stande sind die Muster zu erkennen und voneinander zu unterscheiden, was der Verhinderung von Selbstbestäubung der Pflanzen dienen könnte.

Die Analysen der Lippenmuster konnten sowohl beim Vergleich der Schwarz-Weiß-Verhältnisse als auch beim Vergleich des Überlappungsgrades zeigen, dass zwischen Blüten desselben Blütenstandes tatsächlich eine signifikant größere Ähnlichkeit besteht als zwischen jenen unterschiedlicher Pflanzenindividuen.

Die Ergebnisse der Verhaltensversuche zeigen, dass die Bienen in der Lage sind Muster von Blüten unterschiedlicher Pflanzen innerhalb weniger Anflüge zu lernen und zu differenzieren, während die Tiere auch nach 140 Entscheidungen Muster desselben Blütenstandes nicht, oder nur kaum, voneinander unterscheiden konnten. Diese Resultate ergaben sich sowohl bei Präsentation von Stimuli in Originalgröße, als auch bei um das Fünffache vergrößerten Bildern. Es konnte daher kein signifikanter Einfluss der Stimuligröße auf das Lernverhalten der Bienen gefunden werden.

Die Performances in den unbelohnten Tests entsprachen in etwa jener in den letzten Trainingseinheiten, was drauf hindeutet, dass olfaktorische Einflüsse weitgehend ausgeschlossen werden konnten, und die Tiere die Stimuli nur anhand visueller Merkmale gelernt haben.

Die Tatsache, dass das Target bei den Versuchen mit Blütenmuster unterschiedlicher Pflanzen auch während des Transfertests von den neuen Distraktoren differenziert werden konnte, zeigt, dass die Tiere in der Lage sind entsprechende Informationen aus dem Targetstimulus zu filtern, um diesen auch in neuen Situationen mit neuen Distraktoren zu erkennen.

Während der Versuche konnte beobachtet werden, dass die Bienen oft vor den Bildern schwebten und sie scheinbar genau betrachteten bevor sie Entscheidungen trafen. Dieses Verhalten ähnelt bereits beschriebenen Beobachtungen von Langhornbienen, welche nach erfolglosen Paarungsversuchen auf den Orchideenblüten vor diesen schwebten und dabei versuchten, sich die Zeichnung des Labellums und die Zusammensetzung des Duftes der Pflanze einzuprägen, um nicht noch einmal auf die Täuschung hereinzufallen (Paulus 1988, 2005, 2007).

Diese Resultate und Beobachtungen unterstützen die Vermutung, dass die Zeichnungen auf den Labella der Pflanzen den Bienen als Lernerleichterung dienen um ein Wiederkehren und damit eine Selbstbestäubung zu verhindern (Nilsson 1992; Paulus 2007; Streinzer et al. 2010).

DISKUSSION

Die Experimente zur Untersuchung des kleinsten visuellen Winkels, unter dem die Bienen die Muster noch unterscheiden können zeigten, dass die Tiere zwar in der Lage waren einfache Stimuli wie ein Kreuz oder ein X unter einem Winkel von 53° von dem Target zu unterscheiden, bei Austausch der Distraktoren gegen weitere *Ophrys*-Muster jedoch näher an die Stimuli heranfliegen mussten, um zwischen ihnen zu differenzieren.

Auch bei Dyer et al. (2005, 2008) schwebten die Tiere sehr knapp vor den Bildern, um diese zu erkennen. Dyer et al. beschreiben, dass die Bienen bei ihren Versuchen mit achromatischen Bildern menschlicher Gesichter (2005) die Stimuli durchschnittlich unter einem Winkel von 64° betrachteten, und bei ihren Versuchen mit Landschaftsfotos als Stimuli (2008) die Tiere im Mittel einen Winkel von 74° wählten.

Dieses Verhalten lässt vermuten, dass sie bei den unterschiedlichen Distraktoren verschiedene Strategien verwenden um die Muster zu erkennen und zu lernen.

Das Verhalten bei der Unterscheidung des Targets von den einfachen Distraktoren, dem Kreuz und dem X, könnte durch die Parameter-Hypothese (‘feature‘ oder ‘parameter-hypothesis‘) erklärt werden. Bei dieser wird angenommen, dass Bienen bestimmte Parameter, wie Größe, Kontrast, Konturen usw. eines Objektes lernen, und dass die Wiedererkennung auf einem Vergleich dieser gelernten Faktoren mit der aktuellen Umgebung der Tiere beruht (Giger & Srinivasan 1995; Giurfa et al. 1996; Ronacher 1998). Der Unterschied zwischen den Distraktoren und dem *Ophrys*-Muster ist in diesen Parametern groß, und könnte daher von der Biene auch aus einer größeren Entfernung erkannt werden.

Die zweite Hypothese zur Erklärung der Mechanismen der Mustererkennung der Bienen ist die Vorlagen-Hypothese (‘template-hypothesis‘). Diese vermutet, dass die Bienen retinotop Koordinaten der gelernten Muster als Vorlage speichern und die Bilder wiedererkennen, wenn das aktuelle Bild mit der gelernten Vorlage übereinstimmt (Efler & Ronacher 2000; Gould 1985; Heisenberg 1995). Dazu müssen die Tiere die gleiche Position einnehmen wie beim Erlernen der Stimuli, sodass die gespeicherten Koordinaten mit dem realen Bild zusammenpassen. Dieser Prozess wird als ‘retinotopic matching‘ bezeichnet (Efler & Ronacher 2000; Heisenberg 1995) und könnte eine Erklärung für das Verhalten der Bienen im Versuch mit den *Ophrys*-Distraktoren darstellen. So ist es möglich, dass die Tiere durch die große Ähnlichkeit der Muster bezüglich der Parameter wie Größe, Kontrast usw. auf die Strategie des ‘retinotopic matchings‘ zurückgreifen mussten, und dadurch die Stimuli nur bei Betrachtung aus geringer Entfernung wieder erkannt werden konnten.

Dieses Wechseln zwischen den Strategien konnte auch schon in früheren Studien gezeigt werden und es scheint, als könnten Bienen je nach Anforderung der Aufgaben einen

Mechanismus zur Mustererkennung wählen (Heisenberg 1995; Giger & Srinivasan 1995). Die beiden Taktiken schließen einander also nicht gegenseitig aus (Dafni 1997), aber vor allem in Situationen, in welchen viele verschiedene Muster gelernt werden müssen, kann die Methode das gesamte Bild zu speichern problematisch werden, da die Kapazität des Insektengehirnes limitiert ist (Giger & Srinivasan 1995).

Obwohl, wie bereits erwähnt, kein signifikanter Unterschied in der Lernfähigkeit der Bienen von vergrößerten Mustern und jenen in Originalgröße gefunden wurde, ist es wahrscheinlich, dass die beiden Größen auf unterschiedliche Weise gelernt wurden. Da die Tiere bei beiden Versuchen sehr nah an die Stimuli heranflogen, um sie wiederzuerkennen, ist es möglich, dass die kleinen Muster zwar komplett, bei den großen jedoch nur ein Ausschnitt gelernt wurde.

Betrachtet man die Lernkurve in den Versuchsreihen von Versuch I., so fällt auf, dass die Performance zu Beginn des Trainings signifikant unter dem Zufallsbereich lag, was verwunderlich scheint, da am Anfang der differentiellen Konditionierung erwartet wurde, dass die Tiere zufällig reagieren. Diese trafen jedoch häufiger falsche Entscheidungen als richtige. Diese Auffälligkeit kann dadurch erklärt werden, dass die Bienen noch nicht wahrgenommen hatten, dass ihnen mehrere Stimuli präsentiert wurden. Entschieden sie sich zu Beginn zufällig für einen Distraktor flogen sie diesen mehrmals hintereinander an bevor sie probierten, auf den anderen Stimuli zu landen. Da dabei jede Landung am Distraktor als Entscheidung gewertet wurde, wurden während der ersten Anflüge deutlich mehr falsche Reaktionen gezählt.

Die Fähigkeit der Bienen, die Muster der Sexuالتäuschorchidee *Ophrys heldreichii* aufzulösen, und das Ergebnis, dass die Lippenzeichnungen von verschiedenen Pflanzen unterschieden werden können, jene desselben Blütenstandes jedoch nicht, stellt für die Orchidee einen großen Vorteil dar. Während man früher dachte, dass sexuelle Täuschung nur dazu dient angeborenes Verhalten zu aktivieren (Gaskett 2011), nimmt man heute an, dass Täuschung das Lernen der Bestäuber stimuliert und so ihr Verhalten ändert (Schiestl 2005; Jersákova et al. 2006; Spaethe et al. 2007). Prägen sich die Bestäubermännchen den Duft und das Muster der Blüte ein, um nicht noch einmal auf die Täuschung hereinzufallen, vermeidet die Pflanze damit erfolgreich eine Selbstbestäubung und kann somit den Verlust der großen Pollenmengen in den Pollinien verhindern (Paulus 2007).

DISKUSSION

Die Ergebnisse der Versuche lassen vermuten, dass die Varianz in den Blütenmustern verschiedener Pflanzenindividuen Fremdbestäubung fördert, da die Bienen nach einem erfolglosen Paarungsversuch eine andere Blüte nicht als Schwindel erkennen, erneut auf die Täuschung hereinfliegen und es so zu einer Bestäubung kommt.

Ayasse et al. (2000) zeigten, dass Bestäuber den Duft einer individuellen Blüte von *Ophrys sphegodes* lernen und diese daraufhin vermeiden, während sie andere Blüten weiterhin besuchen, da sich die Zusammensetzungen des Duftes minimal unterscheiden. Eine Erklärung für diese Varianz stellt möglicherweise die ‚negative frequency-dependent selection‘ dar. Diese ist eine Folge des Lernens und späteren Vermeidens der Bestäuber von bereits besuchten Blüten (Schiestl 2005) und könnte auch einen Einfluss auf die Unterschiede in den Zeichnungen der Labellummuster von *Ophrys heldreichii* haben, da einander ähnliche Zeichnungen wahrscheinlich eher vermieden werden.

Die Tatsache, dass nicht alle *Ophrys* Arten ein derartiges Muster besitzen, obwohl dies offenbar eine Lernerleichterung für die Bestäuber darstellt, könnte an der für die verschiedenen Bestäuberarten unterschiedlichen Relevanz von visuellen Signalen bei der Partnersuche liegen. Auch bei den unterschiedlichen Färbungen des Perianths wird dieser Zusammenhang vermutet (Spaethe et al. 2007, 2010; Streinzer et al. 2009).

Zusammenfassend stützen die Ergebnisse dieser Arbeit die Hypothese, dass die Funktion der komplexen Muster auf den Labella der *Ophrys heldreichii* Blüten darin besteht, den Bestäubern eine Lernerleichterung zu bieten, dadurch das Risiko einer Selbstbestäubung zu reduzieren und, durch die Variabilität zwischen verschiedenen Pflanzen, die Wahrscheinlichkeit einer Fremdbestäubung zu erhöhen.

LITERATUR

- AYASSE M, SCHIESTL FP, PAULUS HF, LÖFSTEDT C, HANSSON B, IBARRA F, FRANCKE W (2000) Evolution of reproductive strategies in the sexually deceptive orchid *Ophrys sphegodes*: How does flower-specific variation of odor signals influence reproductive success? *Evolution* 54: 1995-2006.
- BRISCOE AD, CHITTKA L (2001) The evolution of color vision in insects. *Ann. Rev. Entomol.* 46: 471-510.
- CHITTKA L, DYER AG, BOCK F, DORNHAUS A (2003) Bees trade off foraging speed for accuracy. *Nature* 424, 388.
- DAFNI A (1984) Mimicry and deception in pollination. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 259-78.
- DAFNI A, LEHRER M, KEVAN PG (1997) Spatial flower parameters and insect spatial vision. *Biol. Rev.* 72: 239-282.
- DUKAS R (2008) Evolutionary biology of insect learning. *Annual Review of Entomology* 53: 145–160.
- DYER AG, NEUMEYER C, CHITTKA L (2005) Honeybee (*Apis mellifera*) vision can discriminate between and recognise images of human faces. *J. Exp. Biol.* 208: 4709-4714.
- DYER AG, ROSA MGP, RESER DH (2008) Honeybees can recognise images of complex natural scenes for use as potential landmarks. *J. Exp. Biol.* 211: 1180-1186.
- EFLER D & RONACHER B (2000) Evidence against a retinotopic-template matching in honeybees' pattern recognition. *Vis. Res.* 40: 3391-3403.
- ELTZ T (2006) Tracing Pollinator Footprints on Natural Flowers. *J. Chem. Ecol.* 32: 907-915.
- FREE JB (1963) The flower constancy of honeybees. *J. Anim. Ecol.* 32: 119-131 .
- VON FRISCH K (1915) Der Farbensinn und Formensinn der Bienen. *Zool. Jb. Abt. allg. Zool. Physiol.* 35, 1-182.
- GASKET AC (2011) Orchid pollination by sexual deception: pollinator perspectives. *Biol. Rev.* (2011), 86, pp. 33–75.
- GIGER AD & SRINIVASAN M (1995) Pattern recognition in honeybees: eidetic imagery and orientation discrimination. *J. Comp. Physiol. A* 176, 791-795.
- GIURFA M, EICHMANN B, MENZEL R (1996) Symmetry perception in an insect. *Nature* 382: 458-461.

LITERATUR

- GIURFA M, HAMMER M, STACH S, STOLLHOFF N, MÜLLER-DEISIG N, MIZYRYCKI C (1999) Pattern learning by honeybees: conditioning procedure and recognition strategy. *Anim. Behav.* 57: 315-324.
- GIURFA M & LEHRER M (2001) Honeybee vision and floral displays: from detection to close-up recognition. In: *Cognitive Ecology of Pollination* (ed. L. Chittka and J. D. Thomson), pp. 61-82. Cambridge: Cambridge University Press.
- GIURFA M, VOROBYEV M, BRANDT R, POSNER B, MENZEL R (1997) Discrimination of colored stimuli by honeybees: alternative use of achromatic and chromatic signals. *J. Comp. Physiol. A* 180: 235-244.
- GOULD JL (1985) How bees remember flower shapes. *Science* 227: 1492-1494.
- HEISENBERG M (1995) Pattern recognition in insects. *Current Opinion in Neurobiology*, 5:475-481
- JERSÁKOVA J, JOHNSON SD, KINDLMANN PP (2006) Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biological Reviews* **81**, 219–235.
- KULLENBERG B (1961) Studies in *Ophrys* pollination. *Zool. Bidr. Uppsala* 34: 1-340.
- LAND MF (1997) Visual acuity in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 42:147-177.
- LEHRER M & BISCHOF S (1995) Detection of model flowers by honeybees: the role of chromatic and achromatic contrast. *Naturwissenschaften* 82: 145-147.
- NILSSON LA (1992) Orchid pollination biology. *Trends Ecol. Evol.* 7: 255-259.
- PAULUS HF (1988) Co-evolution and unilateral adaptations in flower-pollinator systems. Pollinators as pacemakers in the evolution of flowers (Co-Evolution und einseitige Anpassungen in Blüten-Bestäubersystemen: Bestäuber als Schrittmacher in der Blüten evolution). *Verh. Deutsch. Zool. Ges.* 81: 25-46.
- PAULUS HF (1997) Signale in der Bestäuberanlockung: Weibchenimmitation als Bestäubungsprinzip bei der mediterranen Orchideengattung *Ophrys*. *Verh. Zool.- Bot. Ges. Österreich* 134: 133-176.
- PAULUS HF (2005) Zur Bestäubungsbiologie der Orchideen – In *Arbeitskreise Heimische Orchideen* (Ed.), Die Orchideen Deutschlands: 98-140, Uhlstädt- Kirchhasel (Germany).
- PAULUS HF (2007) Wie Insekten-Männchen von Orchideenblüten getäuscht werden Bestäubungstricks und Evolution in der mediterranen Rangwurzgattung *Ophrys*. *Denisia* 20: 255-294.
- PAULUS HF & GACK C (1990) Pollinators as prepollinating isolation factors: Evolution and speciation in *Ophrys* (Orchidaceae). *Israel J. Bot.* 39: 43-79.

- PEITSCH D, FIETZ A, HERTEL H, DE SOUZA J, FIX VENTURA D, MENZEL R (1992) The spectral input systems of hymenopteran insects and their receptor-based colour vision. *J. Comp. Physiol. A* 170: 23-40.
- POUYANNE A (1917) La fecundation des *Ophrys* par les insectes. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Noire* 8: 6-7.
- RONACHER B (1998) How do bees learn and recognize visual patterns? *Biol. Cybern.* 79, 477-485.
- SCHIESTL FP (2005) On the success of a swindle: pollination by deception in orchids. *Naturwissenschaften* 92: 255-264.
- SCHIESTL FP & AYASSE M (2002) Do changes in floral odor cause sympatric speciation in sexually deceptive orchids? *Pl. Syst. Evol.* 234: 111–119.
- SCHIESTL FP, AYASSE M, PAULUS HF, LÖFSTEDT C, HANSSON BS, IBARRA F & FRANCKE W (2000) Sex pheromone mimicry in the early spider orchid (*Ophrys sphegodes*): patterns of hydrocarbons as the key mechanism for pollination by sexual deception. *J. Comp. Physiol. A* 186: 567–574.
- SPAETHE J, MOSER WH, PAULUS HF (2007) Increase of pollinator attraction by means of a visual signal in the sexually deceptive orchid, *Ophrys heldreichii* (Orchidaceae). *Pl. Syst. Evol.* 264: 31-40.
- SPAETHE J, STREINZER M, PAULUS HF (2010) Why sexually deceptive orchids have coloured flowers. *CIB* 3(2): 1-3.
- STREINZER M, ELLIS T, PAULUS HF, SPAETHE J (2010) Visual discrimination between two sexually deceptive *Ophrys* species by a bee pollinator. *Arthropod-Plant Interactions* 4: 141-148
- STREINZER M, PAULUS HF, SPAETHE J (2009) Floral colour signal increases shortrange detectability of a sexually deceptive orchid to its bee pollinator. *J. Exp. Biol.* 212: 1365-1370.
- TAUTZ J (2007) *Phänomen Honigbiene*. Elsevier GmbH, München
- WASER NM (1986) Flower Constancy: Definition, Cause, and Measurement. *The American Naturalist*, Vol. 127, No.5. Seite 593-603.

DANKSAGUNG

Mein Dank gilt

- **Dr. Johannes Spaethe** für den mit diesem spannenden Thema ermöglichten Einblick in die Wissenschaft und die gute Betreuung trotz großer Entfernung,
- **Prof. Hannes Paulus** für die Erlaubnis im Department für Evolutionsbiologie arbeiten zu dürfen,
- **Dr. Adrian Dyer** für die Anregungen und Ratschläge per E-Mail,
- **Mag. Martin Streinzer** für die Fotos und die Hilfe bei der Auswertung,
- **Mag. Linde Morawetz** für etliche Tipps im Umgang mit Bienen,
- **Kathi Hischenhuber** für den gemeinsamen Weg durch die Diplomarbeitszeit,
- **Nicole, Sarah, Gerald und Martin** für die nette Gesellschaft während des Versuchsalltags,
- meiner **Familie** und meinen **Freunden**, weil ich mich immer auf sie verlassen kann.

LEBENS LAUF

Name:	Kerstin Stejskal
Geburtsort:	2340 Mödling
Geburtsdatum:	23. Juni 1987
Staatsangehörigkeit:	Österreich
Familienstand:	ledig

Schulbildung:	
1993 - 1997	Volksschule Wiener Neudorf
1997- 2005	Bundesrealgymnasium Untere Bachgasse 8, in Mödling
9. Juni 2005	Reifeprüfung mit biologisch-chemischem Schwerpunkt

Studium:	
WS 2005 – WS 2010	Studium der Biologie / Zoologie an der Universität Wien

Berufserfahrung:	
seit September 2004	Angestellte in der Zooabteilung des Dehner Gartencenters
WS 2010	Tutorin im Kurs „Baupläne der Tiere 1“ an der Universität Wien

Wiener Neudorf, 16.02.2011