



„Ein Repellent als Blütenduftstoff – Wahrnehmung von Nepetalacton durch die Honigbiene (*Apis mellifera*)“

Abschlussarbeit zum Erreichen des Bachelor of Science
im Studiengang:
Lehramt Gymnasium Biologie/Chemie (B.Sc.)

Eingereicht von:

Magdalena Franek

Matrikelnummer. 1173347

Magdalena.Franek@gmx.de

Bayreuth, 28. März 2014

Erstbetreuung:

Dr. Marianne Lauerer

Ökologisch – Botanischer Garten, Universität Bayreuth

Zweitbetreuung:

Prof. Dr. Stefan Dötterl

FB Organismische Biologie, Universität Salzburg

INHALTSVERZEICHNIS

1 SUMMARY	- 1 -
2 ZUSAMMENFASSUNG.....	- 2 -
3 EINLEITUNG.....	- 3 -
4 MATERIAL UND METHODEN	- 7 -
4.1 Festlegung der einzusetzenden Konzentration von <i>cis,trans</i> -Nepetalacton.....	- 7 -
4.1.1 Herstellung der Lösungen	- 7 -
4.1.2 Bestimmung der Emissionsrate der Lösungen	- 7 -
4.1.3 Chemische Analyse	- 8 -
4.1.4 Analyse der Daten	- 8 -
4.2 Messung der antennalen Reaktion (GC-EAD).....	- 9 -
4.2.1 Präparieren der Antennen.....	- 9 -
4.2.2 Elektrophysiologie	- 9 -
4.2.3 Analyse der Daten	- 9 -
4.3 Biotest.....	- 10 -
4.3.1 Training der Honigbienen	- 10 -
4.3.2 Zweiwahlversuch	- 11 -
4.3.3 Analyse der Daten	- 12 -
5 ERGEBNISSE.....	- 13 -
5.1 Wahrnehmung der Honigbienen von <i>cis,trans</i> -Nepetalacton	- 13 -
5.2 Verhalten der Honigbienen im Zweiwahlversuch.....	- 14 -
5.2.1 Zeitlicher Zusammenhang.....	- 14 -
5.1.2 Einfluss von <i>cis,trans</i> -Nepetalacton.....	- 16 -
6 DISKUSSION	- 19 -
7 LITERATURVERZEICHNIS	- 24 -
8 ANHANG.....	- 30 -
9. ERKLÄRUNG	- 34 -

1 SUMMARY

Nepetalactone, a natural product found in plants, belongs to the chemical group called monoterpenes. Many members of this class of substances are classified as typical blossom fragrances. Nepetalactone, on the other hand, has never been declared a blossom, while it was rather attributed an insect-repelling effect. It is contained in many species of the genus *Nepeta* (catmint) in large amounts. In addition, nepetalactone was also identified in flowers of the endangered Bohemian gentian (*Gentianella bohemica*). This species is endemic in the Bohemian Massif and their blossoms are sparsely frequented by insects. One of the few pollinators is, amongst others, the western honey bee (*Apis mellifera*). Up to the present, it has remained unsettled whether the small number of visitors of *G. bohemica* is linked to it acting as a repellent. Consequently, the influence of this monoterpene on the behavior of the honey bee has been investigated in this thesis

GC-EAD measurement results revealed that *Apis mellifera* senses *cis,trans*-nepetalactone. The observation of the behavior of honey bees was carried out in a bioassay. For this purpose, a two-choice-test environment was constructed inside the flight cage at the Ecological Botanical Gardens of the University of Bayreuth. Field bees of a bee colony with four to five combs served as test subjects. On the day immediately preceding the two-choice-test several of the honey bees were trained on the odor of synthetically produced *cis,trans*-nepetalactone over a defined period using sugared water. During the following two days both the “trained” and the “untrained” honey bees were given the choice between sugared water with and without monoterpene smell. Regardless of whether the honey bees had been treated with nepetalactone beforehand or had stayed naïve, none of the test subjects showed a differentiated behavior.

Based on the results presented here, it may be deduced that the monoterpene is indeed sensed by the honey bees, though it has no influence on their behavior. In addition, this thesis provides new approaches for the investigation of the biological significance of nepetalactone. Exploring the chemical properties of this monoterpene is of great relevance, so its synthesis and thus its role in *Gentianella bohemica* may be understood. The unexpected result of *cis,trans*-nepetalactone being capable of transforming into its diastereoisomer spontaneously is a promising foundation to do so.

2 ZUSAMMENFASSUNG

Nepetalacton ist ein in Pflanzen vorkommender Naturstoff, der zu der chemischen Gruppe der Monoterpene zählt. Viele Vertreter dieser Stoffklasse gelten als typische Blütenduftstoffe. Nepetalacton wurde wiederum bisher noch nie als ein Duftstoff deklariert, vielmehr wurde ihm eine Insekten abschreckende Wirkung zugesprochen. In großen Mengen ist es in vielen Arten der Gattung *Nepeta* (Katzenminze) enthalten. Auch in den Blüten des vom Aussterben bedrohten Böhmisches Fransenenzians (*Gentianella bohemica*) wurde Nepetalacton registriert. Diese Art ist endemisch im Böhmisches Massiv und ihre Blüten werden von Insekten nur wenig besucht. Zu den wenigen Blütenbestäubern zählt unter anderem die Westliche Honigbiene (*Apis mellifera*). Bisher blieb es ungeklärt, ob die niedrige Besucherzahl von *G. bohemica* mit der Wirkung von Nepetalacton als ein Repellent zusammenhängt. Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurde daher der Einfluss dieses Monoterpens auf das Verhalten der Honigbiene untersucht.

Die Daten der GC-EAD-Messung zeigten, dass *Apis mellifera cis,trans*-Nepetalacton wahrnimmt. Die Beobachtung des Verhaltens der Honigbienen erfolgte in einem Biotest. Dazu wurde ein Zweiwahlversuch in dem Flugkäfig des Ökologisch-Botanischen Gartens der Universität Bayreuth konstruiert. Als Versuchstiere dienten Flugbienen eines Volkes mit 4 bis 5 Waben. Am Tag direkt vor dem Zweiwahlversuch wurden einige der Honigbienen mithilfe des Zuckerwassers auf die Duftprobe von synthetisch hergestelltem *cis,trans*-Nepetalacton in einem festgelegten Zeitraum trainiert. An zwei darauffolgenden Versuchstagen hatten sowohl die „trainierten“ als auch die „untrainierten“ Honigbienen die Wahl zwischen dem Zuckerwasser mit und dem ohne Duftprobe des Monoterpens. Unabhängig davon, ob die Honigbienen zuvor mit Nepetalacton behandelt wurden oder naiv blieben, zeigten keine Versuchstiere ein differenziertes Verhalten.

Aus den hier aufgeführten Ergebnissen kann geschlossen werden, dass das Monoterpen zwar von den Honigbienen wahrgenommen wird, aber es keinen Einfluss auf ihr Verhalten hat. Zusätzlich liefert diese Arbeit neue Ansätze für die Untersuchung der biologischen Bedeutung von Nepetalacton. Es ist von großer Relevanz, die chemischen Eigenschaften dieses Monoterpens zu erforschen, um seine Synthese und somit seine Funktion in *Gentianella bohemica* zu verstehen. Das unerwartete Ergebnis, dass *cis,trans*-Nepetalacton sich spontan in sein Diastereoisomer umwandeln kann, bietet dazu eine gute Grundlage.