

Geruchliche Ermüdung bei der Honigbiene

Hans Bittel und Hermann Martin

Arbeitsgruppe Vergleichende Verhaltensphysiologie im Fachbereich Biologie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt a. M.
Zoologisches Institut II der Julius Maximilians-Universität Würzburg

Eingegangen am 30. Oktober 1973

Olfactory Fatigue in the Honeybee

Summary. 1. The paper reports on a method that permits qualitative evaluation of changes in the olfactory efficiency of worker bees after preceding olfactory fatigue.

2. Worker bees are trained on aliphatic compounds, e.g. caprylic acid, octanal, 2-methyl-undecanal, octadecanal, or on aromatic substances such as anisaldehyde, benzylacetate and p-tolylaldehyde. Then they are exposed to an adapting odorant for 1 hour before being tested with the training odorants.

3. Cross-adaptation is found within both the group of aliphatic compounds and that of aromatic compounds. Cross-adaptation is never noticed between these two groups.

4. Following an adaptation stimulus it takes the animals 2 to 5 hours to recover.

Zusammenfassung. 1. Eine Versuchsmethode wird beschrieben, mit der die Veränderungen der Riechleistung der Bienenarbeiterin nach vorangegangener Geruchsermüdung qualitativ erfaßt werden können.

2. Bienenarbeiterinnen werden auf aliphatische (Caprylsäure, Octanal, 2-Methyl-Undecanal, Octadecanal) und aromatische (Anisaldehyd, Benzylazetat, p-Tolylaldehyd) Verbindungen dressiert, danach für 1 Std einem Adaptationsduft ausgesetzt und mit dem Dressurduft getestet.

3. Innerhalb der aliphatischen und aromatischen Stoffgruppe wurden jeweils Kreuzadaptationen gefunden, zwischen den Stoffgruppen aber nicht.

4. Die Erholungsphase nach einem adaptierenden Reiz dauert 2—5 Std.

A. Problemstellung

Olfaktorische Ermüdungseffekte werden in der Literatur mehrfach beschrieben. Die meisten dieser Befunde wurden am Menschen gewonnen (neueste Zusammenfassung der Literatur s. Engen, 1971). Elektrophysiologische Untersuchungen an den Geruchsrezeptoren der Insekten nach vorangegangener Duftadaptation liegen vor von Boeckh *et al.* (1965), Kaissling (1971) und Vareschi (1971). Neuhaus (1958) konnte mit Hilfe von Dressurversuchen am Hund zeigen, daß nach oraler Applikation eines Duftstoffes die Riechschwelle für diesen und für andere Duftstoffe spezifisch verändert wird. In den letzten Jahren gelang es Martin

(1968, 1974), durch Duftstoffinjektionen die Riechleistung der Honigbiene für Düfte mit definierter Molekülstruktur selektiv zu beeinflussen.

In der folgenden Arbeit soll geprüft werden, wie die Riechleistung der Honigbiene nach Einwirkung des „Ermüdungsduftes“ von außen über die Rezeptormembran verändert wird. Der Vorgang der Ermüdung, für den man in der Literatur auch die Bezeichnungen „fatigue“ und „adaptation“ gebraucht, wird in der Folge vereinfachend *Adaptation* genannt, ohne daß hierdurch etwas über die physiologischen Zusammenhänge vorweggenommen werden soll.

B. Material und Methode

Die Versuche wurden mit Bienen der Krainer Rasse (*Apis mellifica carnica* P.) durchgeführt.

Die individuell markierten Bienen wurden in der Regel $2\frac{1}{2}$ Std lang auf ein Duftstoff-Paraffingemisch dressiert, dessen Konzentration in allen Versuchen 1:1000 oder 1:2000 betrug, also deutlich überschwellig war (Abb. 3).

In Abb. 1 ist die Dressuranordnung im Aufriß gezeigt. Der in Paraffinöl gelöste Duftstoff (Paraffin flüssig, Fa. E. Merck AG, Darmstadt) befand sich in einer Petrischale ($d = 10$ cm), die mit einem quadratischen Messingdrahtnetz abgedeckt war, worauf das Rennersche Futtergefäß stand. Der Duftstoff konnte zwischen Rillenscheibe und Rand der Petrischale durch die Maschen des Drahtnetzes ins Freie diffundieren.

Bei einer einfachen Flugstrecke von 50 m erbrachte eine Dressurbiene während einer Dressurzeit von $2\frac{1}{2}$ Std im Mittel 30 Lernakte; damit war ein maximaler Dressurerfolg auch für synthetische Duftstoffe gewährleistet (Kriston, 1971). Zum Test wurden nur solche Bienen verwendet, die während der Dressurzeit regelmäßig am Futtergefäß erschienen waren. Täglich wurde mit einer neuen Bienenschar gearbeitet.

Die Dressuranordnung befand sich in der Mitte eines dunkelgrünen Holztisches (Länge 150 cm, Breite 25 cm), der mit einer Glasplatte abgedeckt war. Die Dressur- und Testanordnungen standen ihrerseits auf quadratischen Glasplatten von 20 cm Seitenlänge. Beim Wechsel der Anordnungen wurden ausschließlich diese Glasplatten angefaßt, um jede Verunreinigung durch fremde Duftspuren zu vermeiden. Die Bienen flogen zur Dressur- und Testanordnung, die windgeschützt und stets im Schatten stand. Ein Teil der Experimente wurde im Flugraum durchgeführt, jedoch mit Bienen, deren Beute sich im Freiland befand.

Nach beendeter Dressur wurden die Bienen in zwei gleiche Gruppen geteilt. Die eine Gruppe („Versuchsbienen“) kam 1 Std lang in das lichtundurchlässige Adaptationsgefäß (Abb. 2), das mit dem Duftstoff-Paraffinölgemisch beschickt war. Die zweite Gruppe („Kontrollbienen“) in ein identisches Gefäß, aber ohne Duftstoffgemisch. Es herrschte bei allen Adaptationen Zimmertemperatur. Der Duftstoff wurde in allen Versuchen mindestens 20 min vor Beginn der Adaptation angesetzt, so daß der Luftraum im Plastikbecher beim Einsetzen der Versuchsbienen mit Duft gesättigt war. Die Menge der eingebrachten Duftstoff-Paraffinmischung betrug 1 ml (bei einer Konzentration von 1:100; Ausnahme: Abb. 11), die freie Oberfläche für die Diffusion $11,2$ cm² und das Volumen des Adaptationsgefäßes (Plastikbecher) 500 ml. Während der Adaptation hatten die Versuchsbienen sowie die Kontrollbienen keine Gelegenheit zur Futteraufnahme. Sie hatten vor dem Wegsperrern etwa 20 sec lang am Zuckerwasser gesaugt.

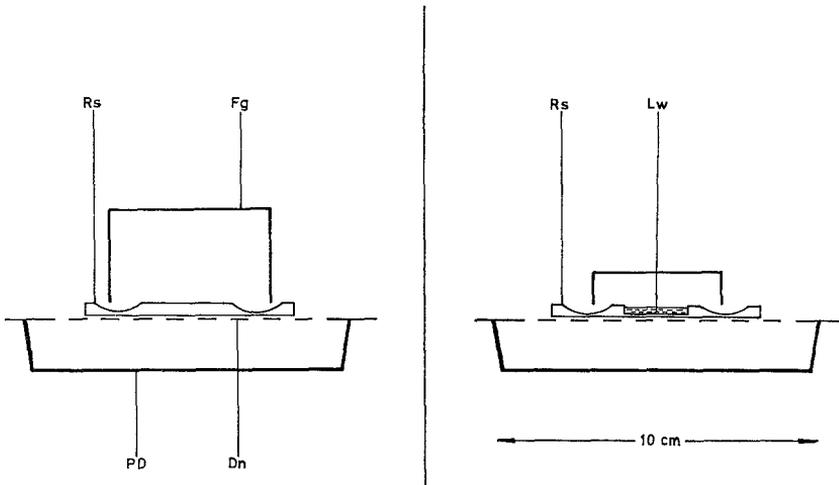


Abb. 1. Links: Dressuranordnung für alle Versuche und Testanordnung für die Abb. 3—5. *Dn* Drahtnetz aus Messing, *Fg* Futtergefäß (bei der Dressur mit Zuckerlösung, im Test leer), *PD* Petrischale aus Plexiglas, *Rs* Rillenscheibe aus Plexiglas. Rechts: Testanordnung für die Abb. 6—13. *Rs* Rillenscheibe mit zentraler Vertiefung zur Aufnahme von Leitungswasser, *Lw* Leitungswasser

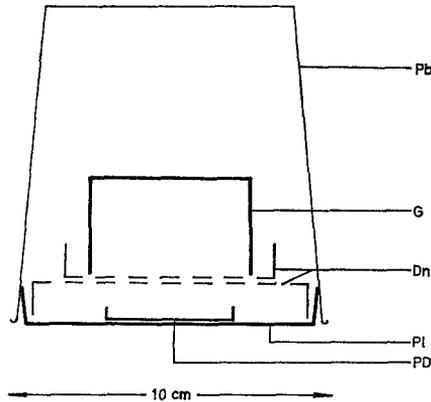


Abb. 2. Adaptationsgefäß. *Dn* Drahtnetz aus Messing, *G* Glasgefäß für Bienen, *Pb* Plastikbecher (Volumen 500 ml), *Pl* leere Petrischale, *PD* Petrischale mit Adaptationsduft

Nach Adaptationsende konnten die Tiere zum Stock bzw. Versuchsplatz zurückkehren. In alternierender Reihenfolge (Versuchsbiene — Kontrollbiene usw.) schloß sich der Test an Einzeltieren mit definierter Konzentration des „Versuchsduftes“ an, der in allen Versuchen mit dem Dressurduft qualitativ übereinstimmte. Für Alternativwahlen diente beim Test neben dem Dressurduft eine „duftlose“

Anordnung. Beide Anordnungen, auf dem Tisch im gleichen Abstand von der Plattenmitte geboten und mit leeren Futtergefäßen versehen, vertauschte ich regelmäßig.

Um im Test die Wahlfreudigkeit der Bienen durch eindeutiges Niedersetzen auf das leere Futterschälchen zu erhöhen, fanden (ab Abb. 6) Rillenscheiben Verwendung, die mit einer zentralen Vertiefung versehen waren und in der sich Leitungswasser befand. Die Bienen konnten das Wasser nicht erreichen. Der Wasserdampf jedoch diffundierte unter dem Glasgefäß durch die Rillen der Plexiglasscheibe ins Freie (Abb. 1).

Grundsätzlich wurde jede Biene, die einmal im Abfangkasten oder im Adaptationsgefäß weggesperrt war, unmittelbar vor dem eigentlichen Test noch 2—3mal beim Dressurduft mit Zuckerwasser belohnt, um einen zeitlichen Abfall der Erinnerungsleistung auszuschalten (Koltermann, 1969).

Als Entscheidungen sind alle Setzer und eindeutiges Berühren von Glasgefäß, Rillenscheibe und Drahtnetz im Bereich des Duftaustrittes gewertet (Testdauer: 5 min) worden. Die statistische Bearbeitung der Ergebnisse erfolgte nach dem χ^2 -Test (Koller, 1953, 1969), wobei die Entscheidungen der Bienen in den angegebenen Zeitspannen zusammengefaßt wurden.

Alle synthetischen Duftstoffe sind Produkte der Firma Haarmann und Reimer, Holzminden.

Reinigung der Glasgeräte: 24 Std in Chromschwefelsäure, 24 Std in fließendem Leitungswasser, 24 Std in Aqua dest. und Trocknen an der Luft bzw. in einem ausschließlich hierzu verwendeten Trockenschrank.

Messingdrahtnetze und Plexiglasrillenscheiben wurden etwa 1 Std in Prilwasser ausgekocht. Die nachfolgende Reinigung war mit der der Glasgefäße identisch. Die Messingdrahtnetze wurden zusätzlich unmittelbar vor Gebrauch auf einer elektrischen Kochplatte bis kurz vor Rotglut erhitzt.

C. Ergebnisse

Nach einer olfaktorischen Ermüdung muß man vier mögliche physiologische Zustände in Betracht ziehen. Den Versuchsbienen erscheinen:

1. Reizstärke und Qualität des Versuchsduftes unverändert (Versuchs- und Dressurduft sind gleich),
2. die Qualität des Versuchsduftes verändert,
3. Reizstärke *und* Qualität des Versuchsduftes verändert und
4. die Reizstärke des Versuchsduftes verändert.

Ist Punkt 1 erfüllt, dann muß man erwarten, daß sich die Kontroll- und Versuchsbiene prozentual gleich für den Versuchsduft entscheiden. Treffen dagegen die Punkte 2 und 3 zu, bei denen die Duftqualität verändert ist oder so empfunden wird, werden die Versuchsbienen prozentual weniger den nun „fremden“ Versuchsduft wählen (Kriston, 1971, 1973); im Extremfall werden sie sogar die „duftlose“ Anordnung bevorzugen (Repellentwirkung des „fremden“ Versuchsduftes). Im 4. Fall (Verminderung der Reizstärke bei gleicher Qualität) hatten Vorversuche ebenfalls eine Abnahme der prozentualen Entscheidungen für den Versuchsduft gezeigt.

I. Reizstärke-Reaktionskennlinie

Um für die Hauptversuche den Parameter Konzentration in Rechnung stellen zu können, wurde zunächst die Abhängigkeit der Entscheidungen für den Versuchsduft (hier immer qualitativ identisch mit dem Dressurduft) von dessen Reizstärke getestet (Reizstärke-Reaktionskennlinie für *Octanal* in Abb. 3). Die Dressurkonzentration war dabei konstant 1:1000.

Tabelle 1 zeigt einen Vergleich der Wahlentscheidungen und der zugehörigen Streuungen. Links stehen die *addierten Entscheidungen aller Bienen* für eine Duftkonzentration und die daraus resultierende *prozentuale Häufigkeit*. In der rechten Hälfte wurde für jede Biene ein *Prozentwert* errechnet und hieraus ein *Mittelwert* gebildet. Die Differenzen sind in jedem Fall signifikant ($p < 0,01$ und $p < 0,001$ bzw. $p < 0,0027$). Für die folgenden Darstellungen wurde die Methode der prozentualen Häufigkeit gewählt.

II. Qualitative Adaptationsversuche

Die Vorversuche zeigen eine Abhängigkeit der Wahlhäufigkeit von der Konzentration des Versuchsduftes.

a) Aliphatische Aldehyde

Der erste Adaptationsversuch mit *Octanal* als Dressur-, Adaptations- und Versuchsduft (Abb. 4) zeigt eine deutlich verringerte Wahlentscheidung der Versuchsbienen gegenüber den Kontrolltieren. Da Adaptations- und Versuchsduft qualitativ identisch sind, ist diese Abnahme mit einem Abfall der Reizstärke — bei konstanter Konzentration — gleichzusetzen.

Tabelle 1. Gegenüberstellung zweier Auswertungsmethoden. Dressurkonzentration konstant 1:1000 (*Octanal*). Wahl tendenz der Bienen für 3 Testkonzentrationen einmal als *prozentuale Häufigkeit* gesehen (links), zum andern als *quantitativer Mittelwert* (rechts). Erst bei einer Wahl tendenz von über 85% positiver Entscheidungen tritt ein geringer Unterschied (2,7%) zwischen den beiden Methoden auf

Testkonzentration	Positive Wahlentscheidung in % aller Wahlen			
	Einfaches Mittel aus allen Werten	<i>n</i>	Mittel aus den für jede Biene errechneten Mittelwerten \bar{x}	<i>n</i>
1:50000	65,5% ± 2,2%	502	65,4% ± 3,3%	39
		$p < 0,0027$	$p < 0,01$	
1:10000	75,1% ± 1,8%	562	76,3% ± 2,0%	33
		$p < 0,0027$	$p < 0,001$	
1:2000	85,9% ± 1,2%	805	88,6% ± 1,2%	70

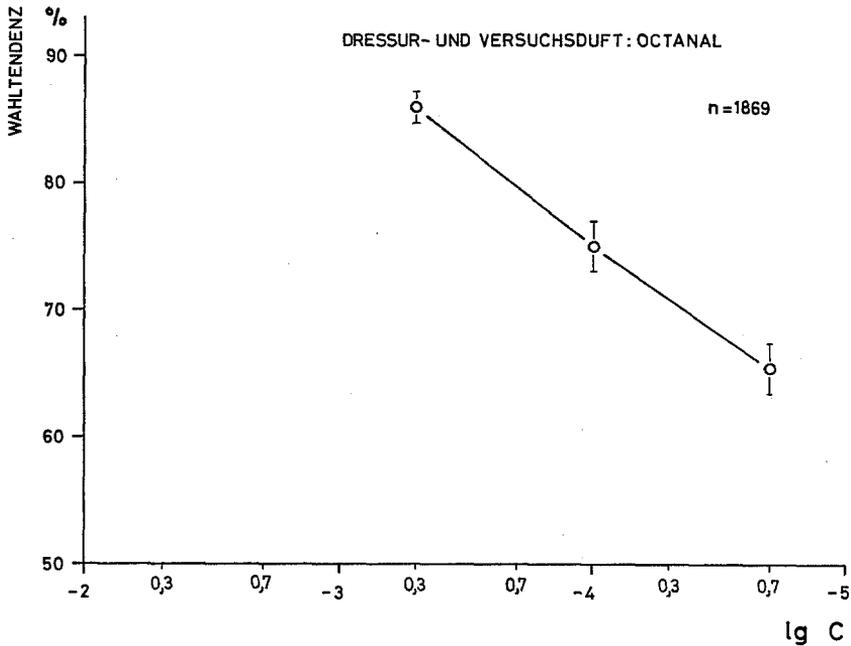


Abb. 3. Reizstärke-Reaktionskennlinie für 3 Octanalkonzentrationen. Dressurkonzentration konstant 1:1000. Abszisse: Versuchskonzentration logarithmisch. Ordinate: Wahl tendenz der Bienen für den Versuchsduft Octanal in %. Die Differenz zwischen je 2 Punkten ist mit $p < 0,0027$ signifikant

In den beiden graphischen Darstellungen der Abb. 4 und 5 wurden die Entscheidungen der Kontrollbienen im Gegensatz zu allen folgenden Versuchen durch die gestrichelte Linie als Bezugsniveau für die Versuchsbienen eingezeichnet. Die Leistung der Kontrollbienen wird etwa 4,5 Std nach Adaptationsende wieder erreicht. Der Abfall der prozentualen Entscheidungen bis 3 Std nach Ende der Adaptation gegenüber den Kontrollen ist mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,0027$ signifikant. 24—72 Std nach Adaptationsende entscheiden sich dieselben Versuchsbienen fast gleich gut wie die Kontrolltiere.

Einen ähnlichen Verlauf der Versuchskurve zeigt die Abb. 5. Bei Dressur- und Versuchsduft *Octanal* wurde nur das Molekül des Adaptationsduftes um 3 CH_2 -Gruppen und eine CH_3 -Gruppe vergrößert (2-Methyl-Undecanal-(1)). Dieses größere Duftmolekül beeinflusst also bei der Adaptation die Entscheidungen für Octanal in gleichem Sinne wie Octanal selbst. Erst 5 Std nach Adaptationsende erreichen die Versuchsbienen das Leistungsniveau der Kontrollen; es bleibt auch nach

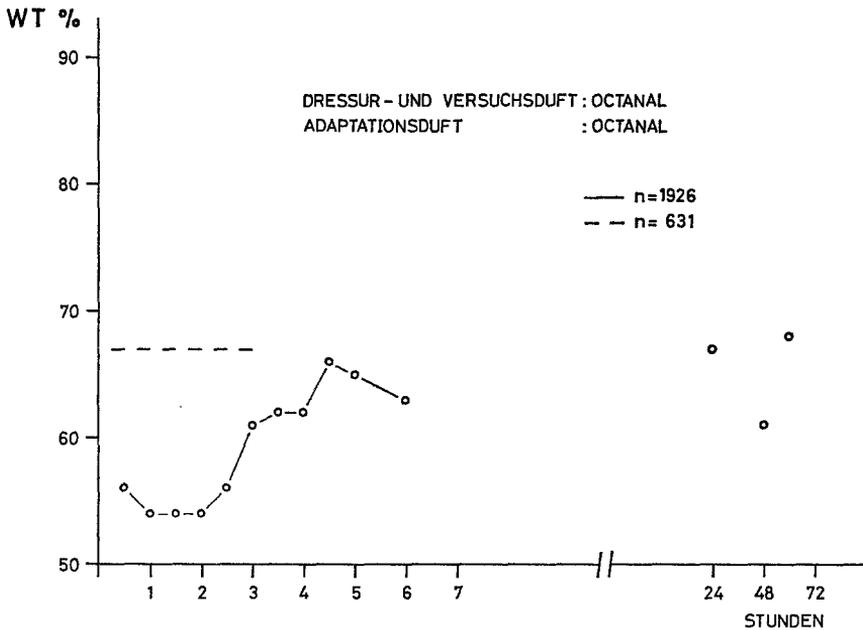


Abb. 4. Zeitlicher Verlauf der Wahltenenz für Octanal 1:50000 nach Adaptationsende. — Versuchsbienen. - - - - Kontrollbienen. Abszisse: Zeit nach Adaptationsende in Stunden. Ordinate: Wahltenenz der Bienen für den Versuchsduft in %. In dieser und den folgenden graphischen Darstellungen sind die Entscheidungen der getesteten Bienen von jeweils 1 Std zusammengefaßt und durch Ausgleichung mittels gleitender Durchschnitte eingetragen (Gebelein und Heite, 1951; Weber, 1956). Die zusammengefaßten 1 Std-Intervalle überlappten sich um jeweils 0,5 Std, wobei zufallsbedingte Schwankungen, die z.B. aus der unterschiedlichen Zahl der Entscheidungen für zwei Punkte resultieren, geglättet werden. Die statistische Bearbeitung erfolgte natürlich ohne die Überlappung der graphischen Darstellung

24 Std erhalten. Der Unterschied in den Wahlentscheidungen zwischen Kontrollniveau und Versuchsbienen bis zu 4 Std nach Ende der Adaptation ist mit $p < 0,0027$ signifikant.

Bei einer weiteren Vergrößerung des Moleküls des Adaptationsduftes auf 18 C-Atome (Octadecanal) kann noch bis 1 Std nach Adaptationsende ein signifikanter Unterschied ($p < 0,0027$) gegenüber den Kontrollen nachgewiesen werden: Dressur- und Versuchsduft ist wieder *Octanal* (Abb. 6).

Aufgrund des zuletzt beschriebenen Versuches darf man aber nicht folgern, daß bei einem Verhältnis der C-Atome in der Kohlenstoffkette der Duftmoleküle von 18:8 grundsätzlich noch eine Adaptationswirkung

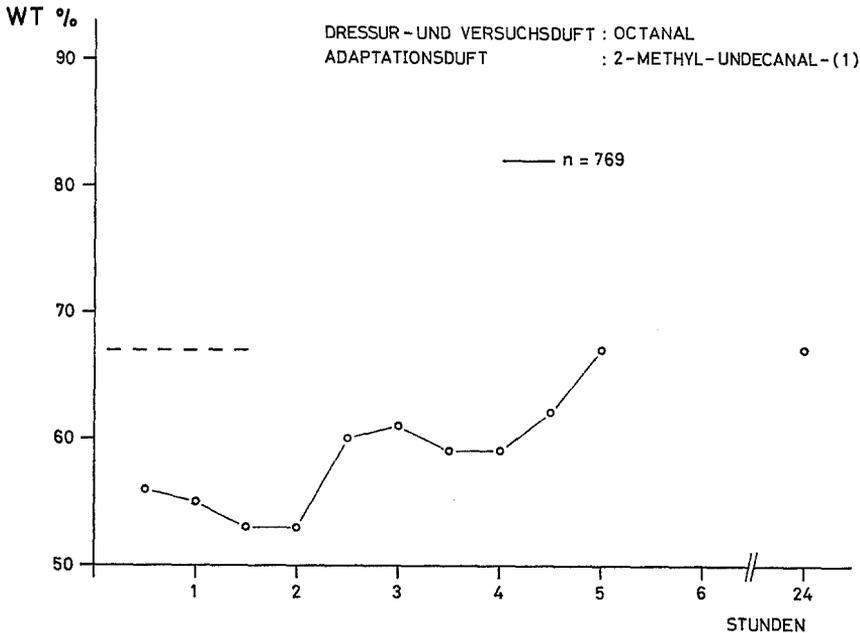


Abb. 5. Zeitlicher Verlauf der Wahltenz für Octanal 1:50000 nach Adaptationsende

auftritt. Der folgende Versuch (Abb. 7) zeigt, daß die Reihenfolge, in der Dressur-, Adaptations- und Versuchsduft geboten werden, mitentscheidend ist. Wird nämlich auf Octadecanal (C_{18}) dressiert, mit Octanal adaptiert und auf Octadecanal getestet, dann tritt keine Veränderung der Wahlentscheidungen zwischen Kontrollen und Versuchstieren auf.

Unterschiedliche Reizwirksamkeit beider Düfte für die Bienen kann als Ursache dieses Phänomens ausgeschlossen werden. Octanal wird in einer Konzentration von 1:2000 von den Kontrollbienen im Mittel mit etwa 86% positiven Entscheidungen bewertet, Octadecanal in einer Konzentration von 1:2000 mit 83,7% positiven Entscheidungen. Die Octadecanalkonzentration 1:2000 paßt sich also sehr gut in die *Reizstärke-Reaktionskurve von Octanal* ein (s. Abb. 3). Somit sind beide Düfte bei gleicher Konzentration für die Biene nahezu gleich reizwirksam. Die Ursache für die unterschiedliche Adaptationswirkung von *Octanal* und *Octadecanal* scheint in dem extremen Verhältnis der Kettenlänge zwischen den beiden Düften zu liegen (s. Diskussion).

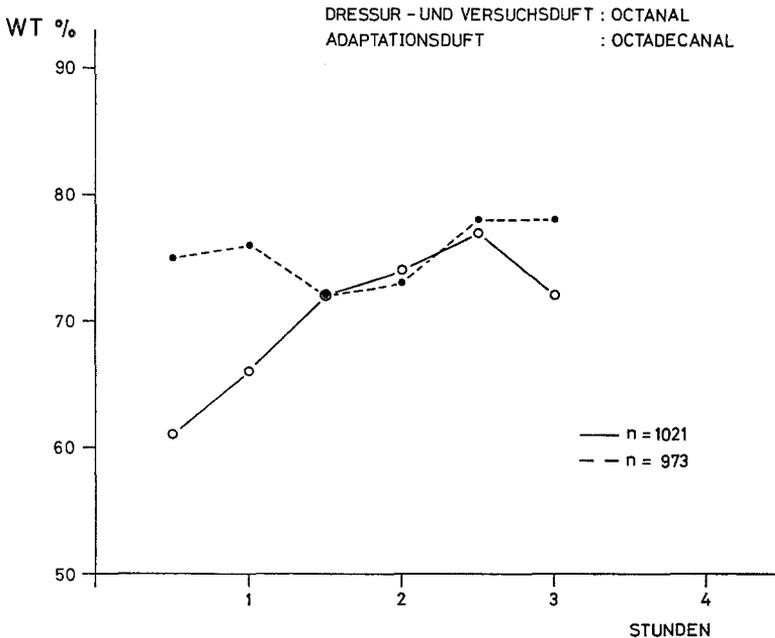


Abb. 6. Zeitlicher Verlauf der Wahltenz für Octanal 1:10000 nach Adaptationsende

b) Aldehyd- und Säuregruppe

In den vorangegangenen Untersuchungen wurde eine schrittweise Vergrößerung des Kohlenstoffgerüsts bei *gleicher funktioneller Gruppe* durchgeführt. Beim folgenden Test wird dagegen durch *Abänderung der Aldehyd- in eine Säuregruppe* ein Eingriff an der funktionellen Gruppe vorgenommen. Der restliche Molekülkörper (C_8 -Kette) bleibt unverändert. Wie aus Abb. 8 zu entnehmen ist, läßt sich bis 2 Std nach Adaptationsende ein deutlicher Abfall der Riechleistung bei den adaptierten Bienen gegenüber den zur Kontrolle weggesperrten feststellen ($p < 0,0027$) (s. Diskussion).

c) Aliphatischer Aldehyd — aromatischer Ester

Wird dagegen die Adaptation mit einer etwa gleichgroßen aromatischen Verbindung versucht (*Benzylacetat, C_9*), dann besteht zwischen Kontroll- und Versuchskurve kein signifikanter Unterschied (Abb. 9). Der Versuchsduft ist auch hier *Octanal*. Für die Kontrollkurve wurden im Mittel 85,9% und für die Versuchskurve 86,0% positive Entscheidungen ermittelt.

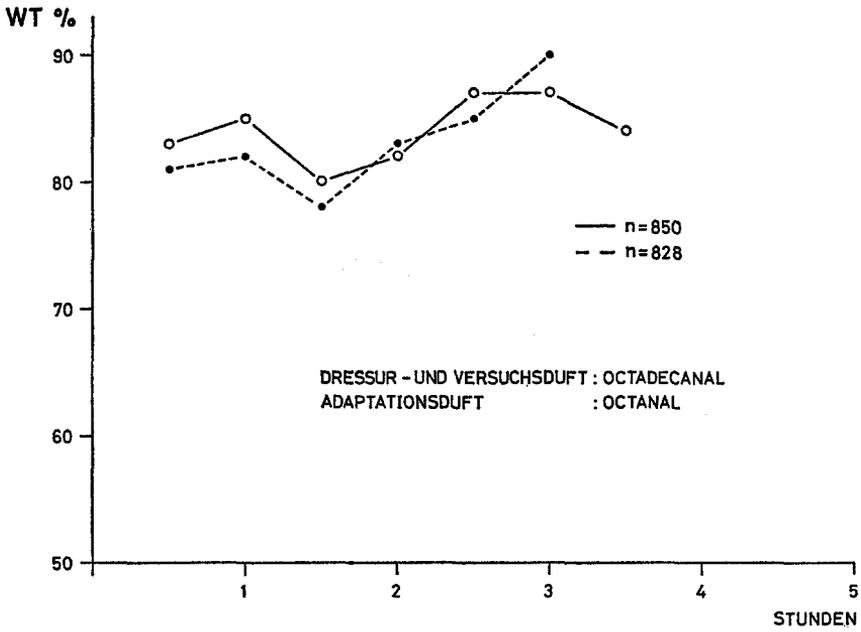


Abb. 7. Zeitlicher Verlauf der Wahltenz für Octadecanal 1:2000 nach Adaptationsende

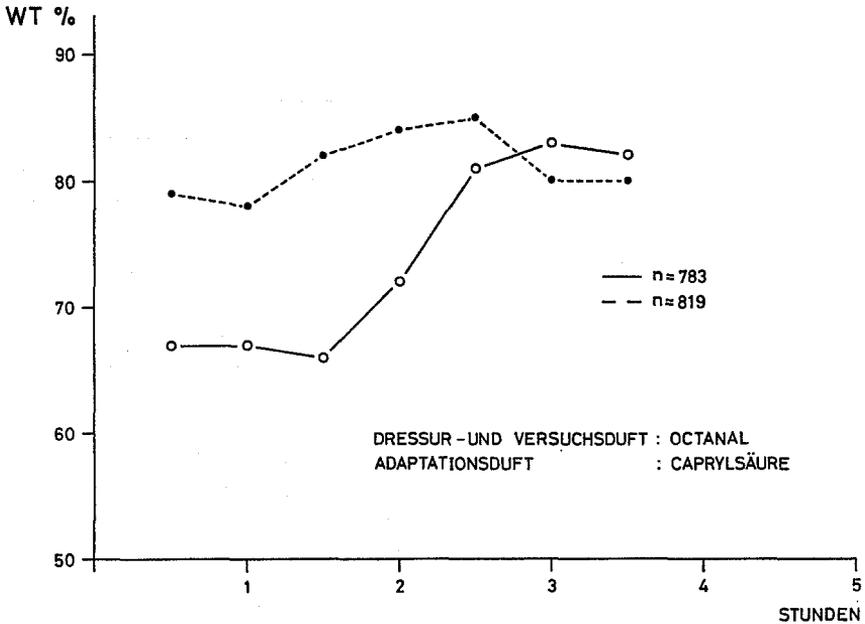


Abb. 8. Zeitlicher Verlauf der Wahltenz für Octanal 1:2000 nach Adaptationsende

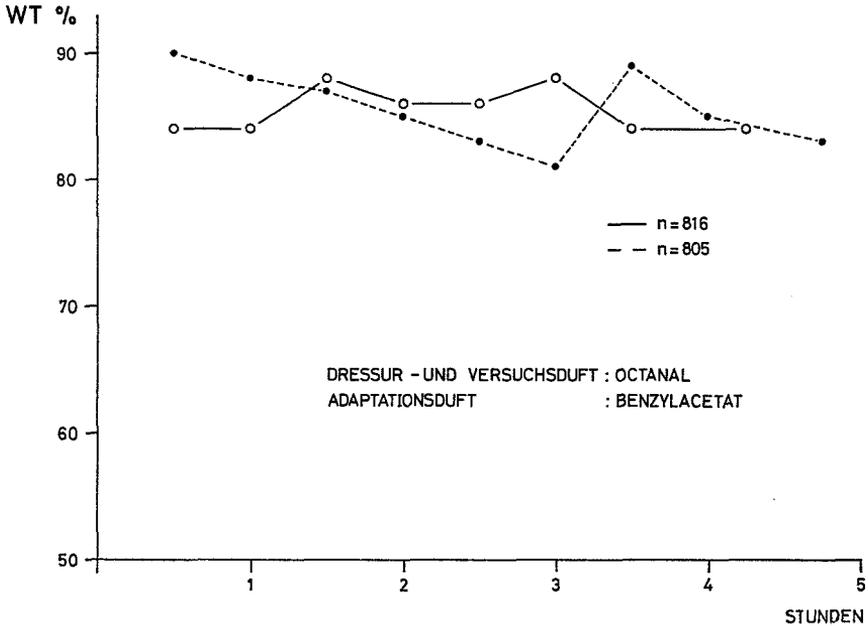


Abb. 9. Zeitlicher Verlauf der Wahltenz für Octanal 1:2000 nach Adaptationsende

Diese beiden Duftstoffe wurden in einem weiteren Versuch in umgekehrter Reihenfolge getestet. Dressiert und getestet wurde auf Benzylacetat, adaptiert mit Octanal. Wie Abb. 10 zeigt, sind beide Kurven praktisch während ihres gesamten Verlaufes identisch (Kontrollmittel 83,0%, Versuchsmittel 83,8%).

d) Aromatische Aldehyde

Die folgenden 3 Versuchsreihen wurden mit *p*-Tolylaldehyd (4-Methylbenzaldehyd) als Dressur- und Versuchsduft durchgeführt, einem aromatischen C₉-Körper.

Im ersten Versuch war eine Adaptation mit *p*-Tolylaldehyd in der gewohnten Konzentration von 1:100 geplant. Es zeigte sich aber, daß die Versuchsbienen nach Adaptationsende gegenüber den Kontrollen nur sehr träge abflogen und nicht zum Versuchsplatz zurückkehrten. Erst nach 1,5 Std erschien eine der 5 Versuchsbienen am Tisch. Sie wählte in 2 Tests ($n=29$) zu 55% den Dressurduft, konnte ihn also nicht signifikant von „duftlos“ unterscheiden. Von den übrigen Versuchsbienen kam am Versuchstag keine zurück; am folgenden Tag allerdings wieder drei. An dieser Stelle muß erwähnt werden, daß *p*-Tolyl-

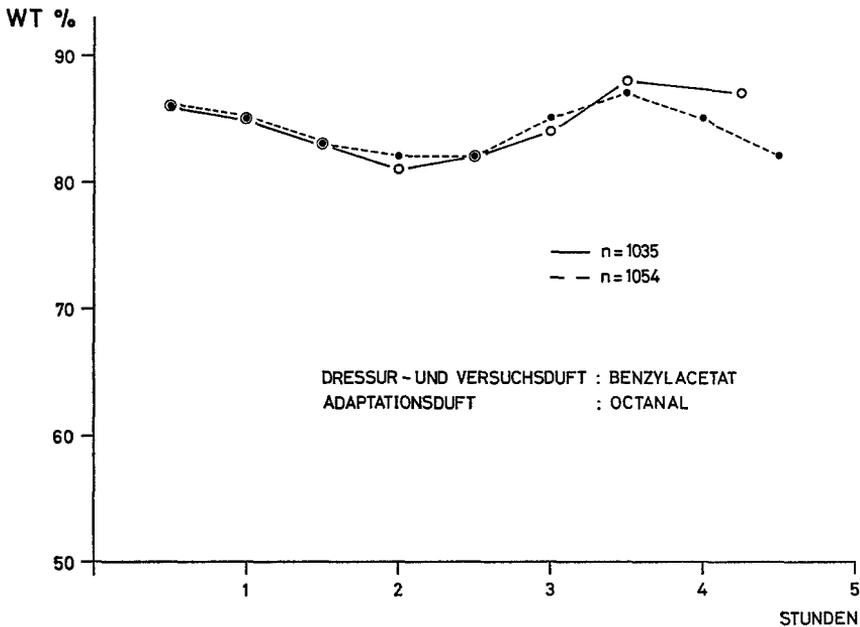


Abb. 10. Zeitlicher Verlauf der Wahlrendenz für Benzylacetat 1:1000 nach Adaptationsende

aldehyd in höherer Konzentration einen starken Juckreiz auf die menschliche Nasenschleimhaut ausübt. Da eine ähnliche störende Wirkung auf die Bienen möglich ist, wurde die Adaptationskonzentration auf 1:200 verringert. Die so behandelten Versuchsbienen kamen zügig zum Test zurück. Die positiven Wahlentscheidungen sind aber innerhalb 1 Std im Anschluß an die Adaptation um 20% ($p < 0,0027$) gegenüber den Kontrollbienen verringert (Abb. 11). Unmittelbar nach 1 Std wird wieder die Riechscharfe der Kontrollen erreicht und bleibt erhalten.

Durch p-Tolylaldehyd in der Konzentration 1:100 wird das Riechvermögen der Bienen so stark beeinflusst, daß die Bienen in ihrem Verhalten gestört sind. Dagegen kann man bei der Konzentration 1:200 eine Dauerschädigung der Tiere ausschließen.

Durch Einführung eines Sauerstoffatoms zwischen CH_3 -Gruppe und aromatischem Ring des p-Tolylaldehyds entsteht der sog. *Anisaldehyd* (4-Methoxy-benzaldehyd). Er hat die Eigenschaft, die Schleimhaut zu reizen, verloren und erlaubt eine Adaptationskonzentration von 1:100.

Abb. 12 zeigt, daß die Versuchskurve in ihrem gesamten Verlauf bis zu 3 Std nach Adaptationsende unter der Kontrollkurve liegt. Faßt man alle Daten zu je einem Mittelwert zusammen, dann sind diese mit $p < 0,0027$ signifikant verschieden. Aus der Abb. 12 kann man weiter

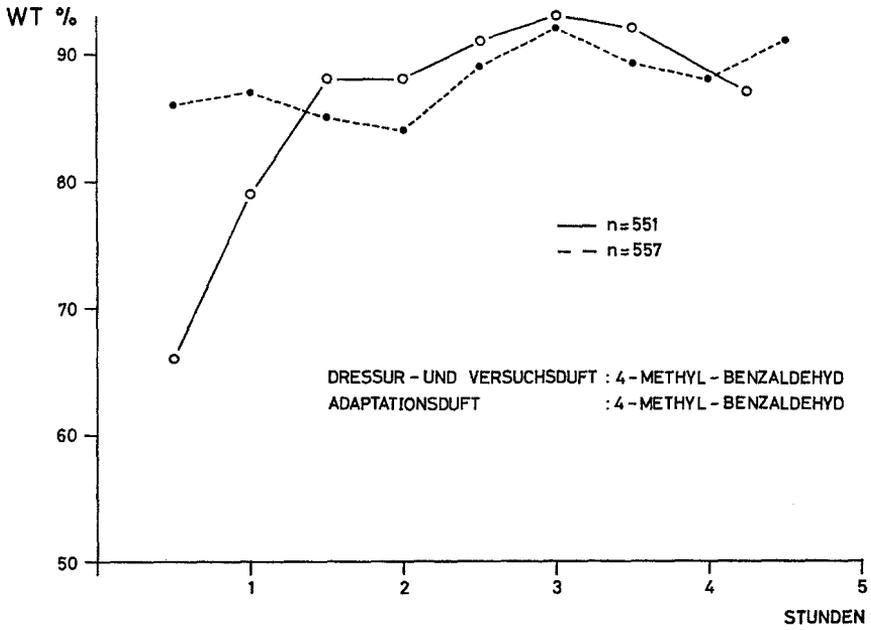


Abb. 11. Zeitlicher Verlauf der Wahl tendenz für p-Tolylaldehyd (4-Methyl-benzaldehyd) 1:25000 nach Adaptationsende

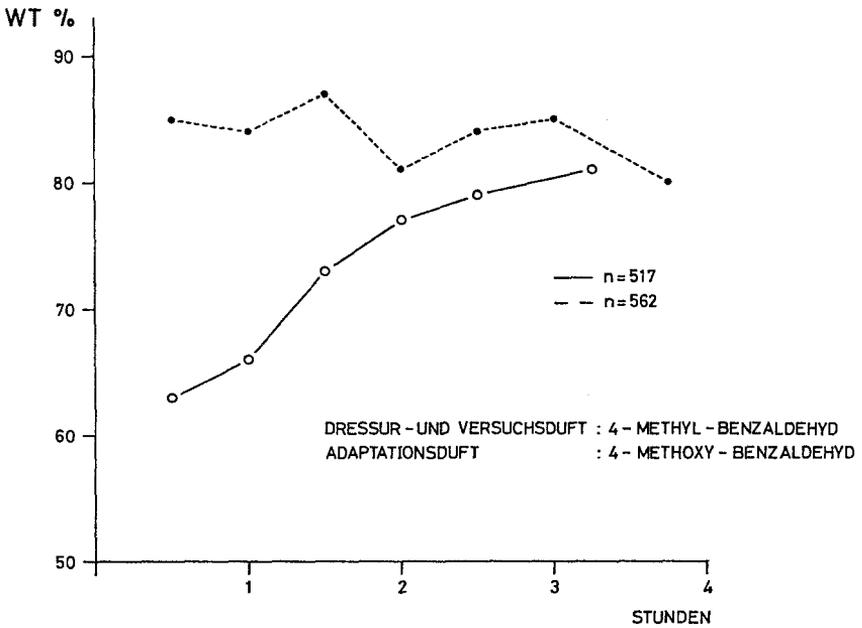


Abb. 12. Zeitlicher Verlauf der Wahl tendenz für p-Tolylaldehyd (4-Methyl-benzaldehyd) 1:25000 nach Adaptationsende

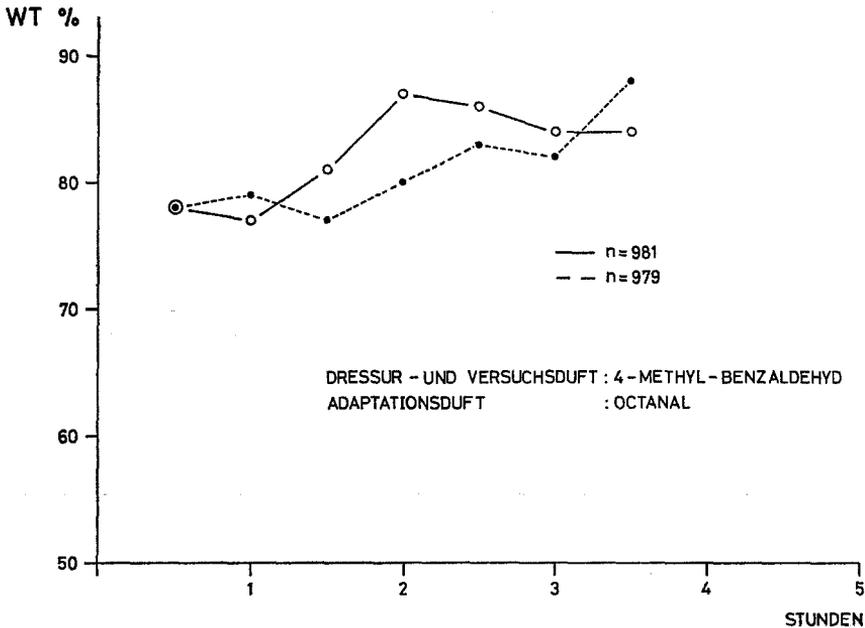


Abb. 13. Zeitlicher Verlauf der Wahltenz für *p*-Tolylaldehyd (4-Methyl-benzaldehyd) 1:10000 nach Adaptationsende

entnehmen, daß die Versuchsbienen frühestens 2 Std nach Ende der Adaptation die Leistung der Kontrollen wieder erreichen.

e) Aromatischer Aldehyd — aliphatischer Aldehyd

Keinen Einfluß auf die Wahltenz der Versuchsbienen für *p*-Tolylaldehyd hat dagegen eine Adaptation mit dem aliphatischen *Octanal* (1:100) (Abb. 13). Beide Kurven beginnen bei einem gemeinsamen Ausgangswert von 78% positive Entscheidungen. Die Mittelwerte aus Kontroll- und Versuchskurve betragen 81,7 und 82,8%. *Octanal* ist in der gleichen Konzentration wie *p*-Tolylaldehyd in bezug auf die *Reizstärke-Reaktionskurve* etwas geringer wirksam. Bei einer Konzentration von 1:10000 entfallen auf *Octanal* zwischen 75 und 76%, auf *p*-Tolylaldehyd 81,7% positive Entscheidungen.

III. Unterschiedliche Reizwirksamkeit von *p*-Tolylaldehyd in Abhängigkeit von der Jahreszeit

p-Tolylaldehyd zeigt noch eine weitere Eigentümlichkeit: in den Monaten Juli—August 1971 wurde die Testkonzentration 1:10000 von den Kontrollbienen

mit 81,7% positiven Entscheidungen gegenüber „duftlos“ gewählt; 2 Monate später (Ende September 1971) entschieden sich die Bienen des gleichen Volkes zu über 90% für diese Konzentration. Da diese Wahlintensität möglicherweise im Sättigungsplateau der *Reizstärke-Reaktionskurve* liegt (Entscheidungen sind in diesem Bereich unabhängig von der Reizstärke), wurde die Testkonzentration auf 1:25000 verringert. Die Kontrollbienen reagierten auf diese Konzentration immer noch mit 82,9% (Abb. 12) und 86,8% (Abb. 11) positiver Entscheidungen. Für andere Duftstoffe ist eine solche jahreszeitliche Abhängigkeit nicht beobachtet worden. Octanal 1:10000 wurde im Frühjahr und im Frühsommer 1971 mit 75,1% und in den Monaten September—Oktober 1971 mit 75,6% gewählt. Im Jahre 1969 entscheiden sich die Kontrollbienen für Octanal 1:50000 zu 67% und im Frühjahr 1971 (anderes Bienenvolk) zu 65,5%.

Das Problem der jahreszeitlichen Abhängigkeit der *Reizstärke-Reaktionskurve* konnte hier nur angedeutet werden. Eine Lösung muß einer gesonderten Untersuchung vorbehalten bleiben.

D. Diskussion

Adaptationsvorgänge kommen bei den meisten Sinnesorganen mit einer logarithmischen Reizintensitäts-Erregungskennlinie vor. Mit Ausnahme einiger Gleichgewichts-, Stellungs- und Thermorezeptoren gehören fast alle Sinnesorgane zu diesem Typ. Nach Burkhardt (1960) gibt es 3 Adaptationserscheinungen:

1. Zentrifugale Reizkontrolle (Pupillenreflex der Säuger).
2. Zentrifugale Erregungskontrolle (Efferenzen, die vom ZNS ausgehen und im Bereich des Rezeptors enden).
3. Periphere Empfindlichkeitsminderung durch vorherigen Konditionsreiz.

Zentrifugale Erregungskontrolle (2.) und periphere Empfindlichkeitsminderung (3.) sind von entscheidender Bedeutung bei der olfaktorischen Adaptation der Biene. Eine Beteiligung der zentrifugalen Reizkontrolle (1.) kann trotz der exponierten Lage der Geruchsrezeptoren auf der Antennengeißel und der starren sie umgebenden Cuticulastrukturen nicht vollkommen ausgeschlossen werden, sofern sich die Bienen nicht in einem diffusen Duftfeld befinden. Ist dagegen die Beweglichkeit der Antennen in einem Gradientenfeld gegeben, so besteht die Möglichkeit einer gewissen *zentrifugalen Reizkontrolle* (Martin, 1964; Kramer, 1972, mündliche Mitteilung).

Noch unbeantwortet muß die Frage nach dem *Ort* der Adaptation bleiben. Versuche, die an Säugetieren und am Menschen durchgeführt wurden, weisen darauf hin, daß dieser Prozeß mehr zentralwärts abläuft (Elsberg, 1935; Moncrieff, 1956; Bennett, 1968). Elsberg konnte beim Menschen nach halbseitiger und beidseitiger Adaptation der Riechschleimhaut nachweisen, daß auf einem höheren nervösen Niveau (möglicherweise sogar zwischen den Hemisphären) über Querverbindungen die Adaptation erfolgt. Gemäß dieser Vorstellung muß eine zentrifugale

Erregungskontrolle durch Efferenzen (2.) zumindest bei der olfaktorischen Adaptation der Säuger in Betracht gezogen werden.

Boeckh *et al.* (1965) fanden elektrophysiologisch an einzelnen Sinneszellen der Porenplatte von *Apis mellifica* (♂) nach kurzen Adaptationszeiten und hohen Adaptationskonzentrationen nur für einige Sekunden eine deutlich verringerte Impulsfrequenz des Aktionspotentials. Die Adaptationsdauer betrug bei diesen Versuchen nur Bruchteile einer Sekunde.

Die von diesen Autoren registrierte kurzzeitige Adaptationswirkung am Rezeptor nach sehr kurzen Konditionsreizen kann nicht ausschließen, daß bei einer Einwirkung des Adaptationsduftes von 1 Std auch am Rezeptor eine langzeitige Wirkung auftritt, wie sie in den vorliegenden Versuchen verhaltensphysiologisch auftrat. Kaissling (1971) bekam nach länger andauerndem Konditionsreiz von hoher Intensität (Bombykol) an den Rezeptoren von *Bombyx* (♂) ein für Stunden erniedrigtes Rezeptorpotential. Er führt dies neben einer direkten Adaptation des Rezeptorpotentials auf eine gehäufte Anlagerung von Duftmolekülen am Riechensillum zurück. Gerade diese Möglichkeit der Adsorption muß bei der Fähigkeit der Bienencuticula, Duftstoffe für lange Zeit festzuhalten (Steinhoff, 1948), in Erwägung gezogen werden. Nach Kaissling sollten die adsorbierten Duftmoleküle noch nach Wegnahme des Konditionsreizes den Rezeptor mit einem Überangebot von Molekülen absättigen und dadurch seine Empfindlichkeit vermindern. Zusätzlich kann eine zentrale Adaptation auftreten.

Die Adaptation von Rezeptor- und Aktionspotential („impulse generation“) erfolgt nach Priesner (unveröffentlicht, zitiert nach Kaissling, 1971) unabhängig voneinander. Der Ort der Rezeptoradaptation (periphere Empfindlichkeitsminderung) ist noch unbekannt (Boeckh *et al.*, 1965).

Von Insekten liegen leider keine Untersuchungen über partielle olfaktorische Adaptation — wie sie Elsberg am Menschen durchführte — und deren Einfluß auf die nicht unmittelbar vom Konditionsreiz betroffenen Rezeptoren vor.

Bei der in dieser Arbeit angewandten Adaptationsmethode muß offen gelassen werden, ob die verringerte Riechleistung der Versuchsbienen auf eine periphere Empfindlichkeitsminderung, eine zentrifugale Erregungskontrolle, eine Übersättigung durch absorbierte Duftmoleküle am Sensillum oder eine Kombination der genannten Prozesse zurückzuführen ist. Der Schwerpunkt der Fragestellung zielte auf Ermüdbarkeit und ihre Spezifität. Diese Frage kann an Hand der vorliegenden Ergebnisse bejaht werden. Nach einstündigem Aufenthalt der Bienen in einer Duftatmosphäre hoher Konzentration läßt sich eine deutliche Beeinflussung der Riechleistung dieser Tiere für einige Duftstoffe nachweisen, für andere dagegen nicht. Dies gilt generell für alle mittleren

Tabelle 2. Darstellung des Gesamtergebnisses. + Kreuzadaptation möglich, — Keine Kreuzadaptation

Konditionsreize	Dressur- und Testreize				
	Aliphatische Verbindungen		Aromatische Verbindungen		
	Octanal	Octanecanal	Benzylazetat	p-Tolylaldehyd	
Octanal	+	—	—	—	} aliphatisch
2-methyl-Undecanal	+				
Octadecanal	+				
Caprylsäure	+				
Benzylacetat	—				} aromatisch
p-Tolylaldehyd				+	
Anisaldehyd				+	

Konzentrationsbereiche, in denen sich die Kontrolltiere eindeutig positiv entscheiden. Welche Reaktionen in den Grenzbereichen Repellent- und Schwellenwertkonzentration auftreten, müssen erst weitere Experimente aufzeigen.

Bei den 7 geprüften Duftstoffen tritt nur (s. Tabelle 2) dann eine olfaktorische Ermüdung auf, wenn Konditions- und Testreiz gleichzeitig aliphatisch oder gleichzeitig aromatisch waren. *In keinem Versuch konnte eine Beeinflussung aliphatischer Versuchsdüfte durch aromatische Adaptionsdüfte und umgekehrt gefunden werden.* Die Experimente von Neuhaus (1958) am Hund und von Martin (1968, 1974) an der Biene weisen in die gleiche Richtung.

Der Einfluß unterschiedlicher *funktioneller Gruppen*, z. B. Aldehyd- und Säuregruppen (Abb. 8), ist nach unseren Befunden wesentlich kleiner als der des übrigen Molekülrestes, der in der vorliegenden Arbeit entweder aliphatisch *und* nur mit einfach gebundenen C-Atomen oder aromatisch war. Ein weiterer Hinweis für die nur untergeordnete Bedeutung der funktionellen Gruppe beim Zustandekommen der Duftqualität ist der Versuch in Abb. 13: beim Test auf den aromatischen p-Tolylaldehyd nach vorangegangener Adaptation mit dem aliphatischen Aldehyd Octanal ist keine Auswirkung auf die Versuchsdüftwahlen zu erkennen.

Ohne Wirkung bleibt auch eine Adaptation mit einem Duftstoff, der sich im Molekülbau und in der funktionellen Gruppe vom Versuchsdüft unterscheidet (s. Abb. 9 und 10). Die beiden von der Molekülstruktur vollkommen verschiedenen Duftstoffe Octanal und Benzylacetat sind nicht in der Lage, an die Stelle des jeweiligen anderen Duftes zu treten

und die Riechleistung für diesen zu verändern, obwohl sie sich im Molekulargewicht nur um 21,96 Einheiten unterscheiden (MG Benzylacetat 150,18 und MG Octanal 128,22).

Innerhalb der aliphatischen Aldehyde tritt bei „cross-adaptation“ dann noch ein Einfluß auf die Riechleistung der Bienen auf, wenn der aliphatische Rest des Adaptationsmoleküls gleich groß oder größer ist als der des Versuchsmoleküls. Bei der Aldehydreihe gilt dies noch zwischen den Duftstoffen C_8 -Aldehyd und C_{18} -Aldehyd. In dem entsprechenden Kehrversuch (Abb. 7) kann dagegen das kürzere *Octanal* im Adaptationsprozeß nicht das längere *Octadecanal* ersetzen. Es wurde nicht geprüft, bei welcher Differenz der Kettenlängen vielleicht gerade noch eine Wirkung des kürzeren Moleküls auf die Wahlen für das längere Testmolekül nachzuweisen ist. Eine Erklärung wäre, daß nach Vareschi (1971) jeweils Sinneszellen adaptieren, die verschiedenen Reaktionsgruppen zugehören, wobei ein Zelltyp Acceptoren besitzt, die sowohl *Octadecanal* als auch *Octanal* perzipieren. Hier ist vielleicht kein Ausnahmefall aufgezeigt, sondern der Hinweis gegeben, daß erst — unter Umständen — durch eine gewisse „Vorbehandlung“ der Rezeptoren die Reaktionsgruppen ihr volles Spektrum zeigen. Auch bei allen übrigen Experimenten ist das Prinzip der Reaktionsgruppen klar hervorgetreten: es adaptieren immer diejenigen Riechzelltypen, die ein bestimmtes Spektrum aufweisen.

Nach Martin (1974) besitzen diese Reaktionsgruppen ein spezifisches Enzymmuster, das mit den entsprechenden Acceptoren korrespondiert. Die Adaptation erfolgt durch eine gewisse Sättigung der entsprechenden gruppenspezifischen Geruchsenzyme. Martin konnte durch Duftinjektion in die Hämolymphe eine vollständige Sättigung erreichen und damit die Rezeptoren selektiv für die Perzeption von Duftstoffen sperren, die von „außen“ den Rezeptoren geboten wurden. Daß die Adaptation von „innen“ her erfolgt, konnte durch Injektion 1. von Duftqualitätenmischen aus mehreren Klassen und 2. von Qualitäten, die verschieden zum Dressurduft waren, gezeigt werden. Des weiteren ist das Verhalten einantenniger Bienen im Konzentrationsfeld und die Sensibilisierung der Rezeptoren 4 Tage nach der Duftinjektion hier anzuführen. Auch die Versuche mit über die Antennen gestülpten Glaskapillaren und schellakierten Geißeln schließen eine Adaptation von „außen“ her aus. Freilich, inwieweit und in welcher Quantität der Duft aus der Hämolymphe durch die Kutikula diffundiert und sozusagen auf Umwegen doch von „außen“ an die Sinneszellen gelangt, ist ungewiß.

Literatur

- Bennett, M. H.: The role of the anterior limb of the anterior commissure on olfaction. *Physiol. Behav.* **3**, 507—515 (1968); zit. nach Moulton (1971)

- Boeckh, J., Kaissling, K. E., Schneider, D.: Insect olfactory receptors. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **30**, 263—280 (1965)
- Burkhardt, D.: Die Eigenschaften und Funktionstypen der Sinnesorgane. *Ergebn. Biol.* **22**, 226—267 (1960)
- Elsberg, C. A.: The sense of smell. *Bull. Neurol. Inst. N.Y.* **4**, 479—495 (1935)
- Engen, T.: Olfactory psychophysics. In: Handbook of sensory physiology (H. Autrum, R. Jung, W. R. Loewenstein, D. M. MacKay and H. L. Teuber, eds.), vol. IV/1, p. 216—244. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971
- Gebelein, H., Heite, H. J.: Statistische Urteilsbildung. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951
- Kaissling, K. E.: Insect olfaction. In: Handbook of sensory physiology (H. Autrum, R. Jung, W. R. Loewenstein, D. M. MacKay and H. L. Teuber, eds.), vol. IV/1, p. 351—431. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971
- Koller, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Darmstadt: Steinkopff 1953
- Koller, S.: Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Darmstadt: Steinkopff 1969
- Koltermann, R.: Lern- und Vergessensprozesse bei der Honigbiene — aufgezeigt anhand von Duftprozessen. *Z. vergl. Physiol.* **63**, 310—334 (1969)
- Kriston, I.: Zum Problem des Lernverhaltens von *Apis mellifica* L. gegenüber verschiedenen Duftstoffen. *Z. vergl. Physiol.* **74**, 169—189 (1971)
- Kriston, I.: Die Bewertung von Duft- und Farbsignalen als Orientierungshilfe an der Futterquelle durch *Apis mellifica* L. *J. comp. Physiol.* **84**, 77—49 (1973)
- Martin, H.: Zur Nahorientierung der Biene im Duftfeld. Zugleich ein Nachweis für die Osmotropotaxis bei Insekten. *Z. vergl. Physiol.* **48**, 481—533 (1964)
- Martin, H.: Klassifizierung von Duftstoffklassen durch die Honigbiene. *Verh. Dtsch. Zool. Ges. (Innsbruck)*, S. 388—392 (1968)
- Martin, H.: Zur Frage der Primärprozesse am Geruchsrezeptor — Klassifizierung von Duftstoffen durch reversible Sperrung der Rezeptoren. *J. comp. Physiol.* (1974, im Druck)
- Moncrieff, R. W.: Olfactory adaptation and odor likeness. *J. Physiol. (Lond.)* **133**, 301—316 (1956)
- Neuhaus, W.: Die Veränderung der Riechschärfe des Hundes durch orale Duftstoffangaben. *Z. vergl. Physiol.* **41**, 221—241 (1958)
- Steinhoff, H.: Untersuchungen über die Haftfähigkeit von Duftstoffen am Bienenkörper. *Z. vergl. Physiol.* **31**, 38—57 (1948)
- Vareschi, E.: Duftunterscheidung bei der Honigbiene — Einzelzell-Ableitung mit Verhaltensreaktionen. *Z. vergl. Physiol.* **75**, 143—173 (1971)
- Weber, E.: Grundriß der Biologischen Statistik. Jena: Fischer 1956

Prof. Dr. H. Martin
 Zoologisches Institut II
 D-8700 Würzburg
 Röntgenring 10
 Bundesrepublik Deutschland