

ENZYMELEKTROPHORETISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR ARTABGRENZUNG IM *BOMBUS LUCORUM*-KOMPLEX (*APIDAE, BOMBINI*)

Adolf SCHOLL und Elsa OBRECHT

Zoologisches Institut der Universität Bern (1)

ZUSAMMENFASSUNG

Durch Enzymelektrophorese lassen sich bei *Bombus lucorum* s. lat. zwei Taxa A und B unterscheiden, die in der Mobilität der Phosphoglucomutase und der Esterase-I differieren. Die Mobilitätsdifferenzen der Enzyme lassen auf genetische Differenzen an den Enzymloci schliessen. Beide Taxa sind in der Schweiz häufig, Taxon A ist bevorzugt in alpinen Biotopen gefunden worden.

An vielen Untersuchungsstellen koexistieren die beiden Taxa, jedoch weisen die Enzymbefunde auf reproduktive Isolation. Die Männchen unterscheiden sich in der Färbung, bei den Königinnen bestehen Unterschiede in morphometrischen Befunden. Es wird geschlossen, dass die beiden Taxa artverschieden sind und es wird diskutiert, ob es sich bei einer der beiden Arten (Taxon A) um die umstrittene Art. *B. magnus* VOGT handeln könnte.

Im Hinblick auf eine morphologische Abgrenzung der Arten des *B. lucorum*-Komplexes ist von besonderem Interesse, dass bei Verwendung der Enzymelektrophorese die Artzugehörigkeit von Königinnen, Arbeiterinnen und Männchen nach den gleichen Erkennungsmerkmalen ermittelt werden kann. Damit ist auch ohne Nestfunde eine sichere Zuordnung möglich. Enzymatisch determiniertes Untersuchungsmaterial könnte sich als wertvoll erweisen für die Erkennung der differentialdiagnostisch wichtigen morphologischen Strukturen.

EINLEITUNG

Aus der westeuropäischen Hummelfauna sind mehrere Arten bekannt, die taxonomisch umstritten sind (DELMAS, 1981). Ein Beispiel, das in jüngerer Zeit vermehrt diskutiert worden ist, betrifft den *lucorum-magnus*-Komplex.

Das Hummeltaxon *magnus* wurde von VOGT (1911) als Form des *B. lucorum* aus Nordschottland und von den Orkney-Inseln beschrieben und später von KRÜGER

(1) Baltzerstrasse 3, CH-3012 Bern (Schweiz).

(1954) zu Artrang erhoben. Manche Autoren (ELFVING, 1960; ANDER, 1965) anerkennen die Art nicht, andere (REINIG, 1973; DELMAS, 1976; TKALCU, 1974) vertreten die Auffassung, dass sie zu Recht besteht, jedoch nicht klar von *B. lucorum* abgrenzbar ist. LØKEN (1973) konnte anhand morphometrischer Merkmale an skandinavischem Untersuchungsgut Königinnen von *B. lucorum* und *B. magnus* trennen, dennoch gelangt PEKKARINEN (1979) ebenfalls an skandinavischem Untersuchungsgut zu der Ansicht, das Taxon *magnus* sei conspezifisch mit *B. lucorum*.

DELMAS (1981) weist darauf hin, dass diese taxonomischen Probleme nicht allein durch morphologische Untersuchungen abgeklärt werden können. Er hält Zucht und Kreuzungsexperimente für notwendig, um festzustellen, ob genetische Unterschiede bei den hier genannten und anderen problematischen Taxa bestehen. Er regt an, auch biochemische Methoden heranzuziehen, wie die Analyse der Labialdrüsen-Sekrete bei Hummelmännchen (KULLENBERG *et al.*, 1970; BERGSTRÖM *et al.*, 1973).

Eine weitere biochemische Methode, die in der Taxonomie neuerdings oft Verwendung findet, ist die Enzym-Elektrophorese (AVISE, 1974). Aus Mobilitätsdifferenzen spezifisch dargestellter Enzyme sind Rückschlüsse auf genetische Veränderungen an den jeweiligen Genloci möglich. An früherer Stelle (OBRECHT und SCHOLL, 1981) hatten wir an 21 mitteleuropäischen Hummel- und Schmarotzerhummelarten nachgewiesen, dass jede Art durch ein spezifisches Elektrophoresemuster der Enzyme gekennzeichnet ist, das zu einer enzymatischen Artdiagnose herangezogen werden könnte. Der besondere Vorteil dieser Methode besteht nun darin, dass Königinnen, Arbeiterinnen und Männchen auf Grund des artspezifischen Elektrophoresemusters der Enzyme nach den gleichen Merkmalen bestimmt werden können. Damit besteht die Möglichkeit, die Arten biochemisch-genetisch abzugrenzen und an biochemisch determiniertem Material die differential diagnostisch brauchbaren morphologischen Merkmale zu eruieren. In der vorliegenden Untersuchung berichten wir über enzymelektrophoretische Befunde, die Hinweise auf einen Artenkomplex ergeben haben und wir stellen die Frage, ob *B. magnus* involviert sein könnte.

UNTERSUCHUNGSGUT UND METHODEN

Der Umfang des Untersuchungsgutes ist aus Tabelle 1 ersichtlich (1). Die Tiere sind bis zur elektrophoretischen Untersuchung für längstens zwei Jahre in flüssigem Stickstoff oder im Tiefkühlschrank bei $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ konserviert worden.

Ausgangsmaterial der elektrophoretischen Untersuchungen bildeten Gewebekomponenten der Flugmuskulatur und der Weichteile des Abdomens, wie an früherer Stelle (OBRECHT und SCHOLL, 1981)

(1) Es sind in diese Untersuchungen alle auf verschiedenen Exkursionen eingesammelten und als *B. lucorum* s.lat. identifizierten Individuen einbezogen worden. Kleinere Arbeiterinnen des *B. terrestris* sind morphologisch nicht sicher von *B. lucorum* unterscheidbar, wohl aber anhand des Elektrophoresemusters der Enzyme (OBRECHT und SCHOLL, 1981). Solche morphologisch nicht zweifelsfrei bestimmbar Tiere sind ebenfalls gesammelt und elektrophoretisch untersucht worden. Sofern die enzymatische Artdiagnose *B. terrestris* ergab, wurden die Tiere in Tabelle 1 nicht aufgeführt.

beschrieben. Die Gewebeentnahme erfolgte mit besonderer Sorgfalt, um das Haarkleid und äussere Strukturen für morphologische Untersuchungen möglichst unverletzt zu belassen. Die untersuchten Tiere werden zu einem späteren Zeitpunkt dem Naturhistorischen Museum Bern überwiesen.

Die elektrophoretischen Untersuchungsmethoden sind an früherer Stelle beschrieben (OBRECHT und SCHOLL, 1981). Wir haben einerseits die dort erwähnten Enzyme untersucht (Aconitase, Arginin Phosphokinase, β -Hydroxy-Butyrat Dehydrogenase, Esterase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, zwei genetisch unabhängige Isoenzyme der Hexokinase, Isocitrat Dehydrogenase, Phosphoglucose Isomerase und Phosphoglucomutase), zusätzlich sind, unter Verwendung von z.T. geringfügig modifizierten Standardmethoden (HARRIS and HOPKINSON, 1976; SCHOLL *et al.*, 1978) die folgenden Enzyme analysiert worden: Glutamat-Oxalacetat Transaminase, zwei genetisch unabhängige Isoenzyme der α -Glycerophosphat Dehydrogenase, Indophenol Oxydase, Leucin Amino-peptidase, zwei genetisch unabhängige Isoenzyme der Malat Dehydrogenase und Malat Enzym. Da sich im vorliegenden Untersuchungsgut nur bei Phosphoglucomutase und Esterase Enzymheterogenität ergeben hat, werden die anderen untersuchten Enzyme im Ergebnisteil nicht erwähnt.

Messungen an Königinnen und graphische Darstellung der Messwerte in einem Dreiecksdiagramm erfolgten nach LØKEN (1973). Es wurden wie dort gemessen: (B) « radial length » = Abstand zwischen Cubitalnerv der ersten Cubitalzelle und distalem Ende der Radialzelle, (D) Abstand zwischen rechtem Ocellus und Kopf-Hinterrand, (E) Abstand zwischen rechtem Ocellus und rechtem Komplexauge. Im Dreiecksdiagramm sind nicht die Messwerte selbst, sondern ihr prozentualer Anteil an der Summe der drei Messwerte abgetragen (s. LØKEN, 1973).

ERGEBNISSE

1. Elektrophoresebefunde

Die elektrophoretische Analyse der Hummeln hat Heterogenität der Enzyme Phosphoglucomutase und Esterase ergeben. Alle anderen im Methodenteil genannten Enzyme erwiesen sich bei den hier untersuchten Hummeln als elektrophoretisch identisch.

Die Phosphoglucomutase-Zymogramme lassen drei Enzymphänotypen erkennen. Enzymphänotyp 1 (Tabelle 1) ist gekennzeichnet durch *eine* Enzymbande (PGM-Variante 1), die eine hohe anodische Mobilität aufweist. Bei Enzymphänotyp 2 ist ebenfalls nur *eine* Enzymbande (PGM-Variante 2) zu erkennen, die jedoch eine um etwa 5 mm geringere anodische Mobilität aufweist (Abbildung 1 A). Bei Enzymphänotyp 3 (Abbildung 1 B, Hummel Nr. 3), der sehr selten beobachtet worden ist, sind *zwei* Enzymbanden nachweisbar und beide Banden haben im Vergleich zu den einbandigen Enzymphänotypen geringere Enzymaktivität, wie bei PGM-heterozygoten Tieren zu erwarten. Jedoch sind bei diesem Enzymphänotyp nicht die Varianten 1 und 2 kombiniert, sondern es tritt neben der Enzymvariante 2 eine dritte Variante auf, die nochmals eine um etwa 5 mm geringere anodische Mobilität aufweist (1).

(1) Trotz standardisierter Versuchsbedingungen lassen sich die elektrophoretischen Mobilitäten der Enzyme bei der Stärkegel-Elektrophorese nicht exakt reproduzieren. Hierfür sind schwer kontrollierbare Faktoren bei der Herstellung der Gele massgebend. Eine Zuordnung der Individuen zu den vorstehend genannten Enzymphänotypen erfolgte deshalb nicht anhand der gemessenen elektrophoretischen Mobilitäten der Phosphoglucomutasen, sondern auf Grund eines Vergleichs der Gewebehomogenate von 15-20 Tieren auf ein und demselben Gel.

TAB. 1. — Häufigkeiten der Phänotypen der Phosphoglucomutase (PGM) bei Königinnen, Arbeiterinnen und Männchen verschiedener Fundorte.

TABL. 1. — Frequencies of phosphoglucomutase (PGM) phenotypes in queens, workers and males from different sampling sites.

Fundort Sampling site	Enzymphänotyp 1 PGM-Variante 1 Enzyme phenotype 1 PGM-Variant 1			Enzymphänotyp 2 PGM-Variante 2 Enzyme phenotype 2 PGM-Variant 2			Enzymphänotyp 3 PGM-Varianten 2 + 3 Enzyme phenotype 3 PGM-Variants 2 + 3	
	♀	♀	♂	♀	♀	♂	♀	♀
<i>Schweiz</i>								
Switzerland (in Klammern : Kanton)								
Bern					6	3	1	
Meikirch (Bern)				6	27	5	1	
Gr. Scheidegg (Bern)	2	2		4	12	3		1
Le Cachot (Neuenburg)	2	4	3		15			
Zernez (Graubünden)		2	2		1	2		
Plan Mattun (Graubünden)	1	1	3		2	2		
Ofenpass (Graubünden)		4	4					
Müstair (Graubünden)	2		1			2		
Diverse (9) (Solothurn und Wallis)		3	1	3	4	5		
<i>Deutschland</i>								
Germany								
Lüneburger Heide	5			1				
Heidelberg u. Berlin					5			
<i>Frankreich (Pyrenäen)</i>								
France (Pyrenees)								
Col des Salines	3		1	1		2	1	
Diverse (2)				2				
Total Gesamt : 163	15	16	15	17	72	24	3	1
	Taxon A			Taxon B				

Die Häufigkeiten dieser drei Enzymphänotypen sind aus Tabelle 1 ersichtlich. Danach treten die Enzymphänotypen 1 und 2 bei Königinnen, Arbeiterinnen und Männchen in Aufsammlungen aus der Schweiz, aus Deutschland und Frankreich auf, an sieben Fundorten sind beide Phänotypen festgestellt worden. Der zweibandige (PGM-heterozygote) Enzymphänotyp ist nur bei Königinnen und Arbeiterinnen aufgetreten und in Untersuchungsmaterial aus der Schweiz und aus Frankreich festgestellt worden. (Bei den haploiden Männchen ist dieser Phänotyp aus genetischen Gründen nicht zu erwarten. Angesichts des relativ geringen Materialumfangs wäre er aber auch aus statistischen Gründen nicht zu erwarten.)

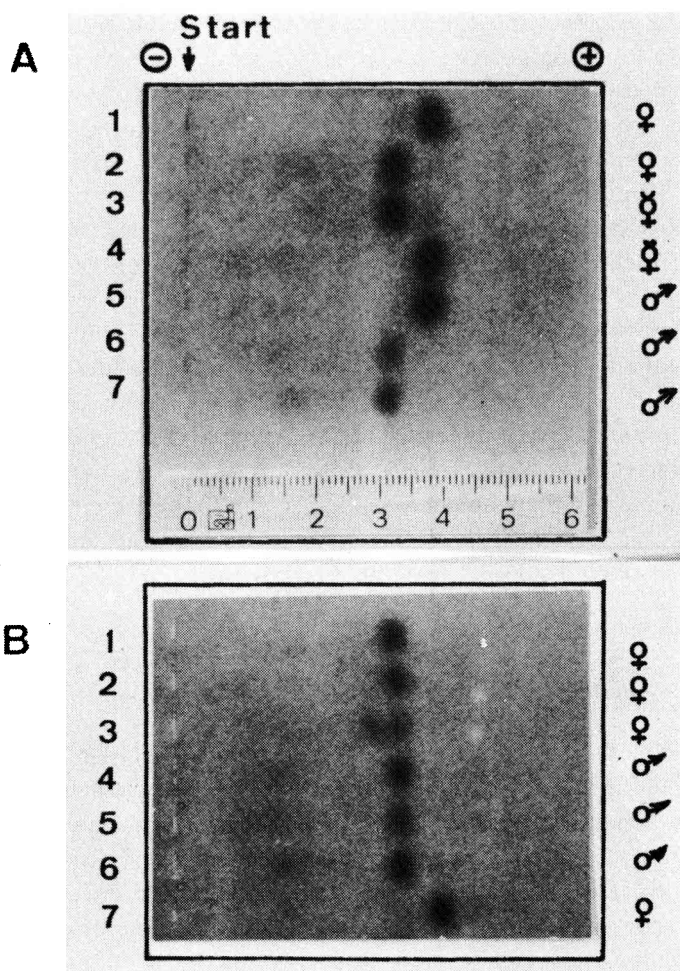


ABB. 1. — *Phosphoglucosaminase-Zymogramme von B. lucorum s. lat.*

A) Sieben Hummeln, Fundort Alp Plan Mattun, Kanton Graubünden/Schweiz, mit Enzymphänotyp 1 (Hummeln Nr. 1, 4, 5) und Enzymphänotyp 2 (Hummeln Nr. 2, 3, 6, 7).

B) Sechs Hummeln, Fundort Meikirch/Schweiz, mit Enzymphänotyp 3 (Hummel Nr. 3) und Enzymphänotyp 2 (Hummeln Nr. 1, 2, 4, 5, 6),

und eine Hummel (Nr. 7) mit Enzymphänotyp 1, Fundort Lüneburger Heide/Deutschland.

FIG. 1. — *Phosphoglucosaminase-zymogram of B. lucorum s. lat.*

A) Seven bumblebees, sampling site alp Plan Mattun, canton Graubünden/Switzerland, with enzyme phenotype 1 (bumblebee nos. 1, 4, 5) and enzyme phenotype 2 (bumblebee nos. 2, 3, 6, 7).

B) Six bumblebees, sampling site Meikirch/Switzerland, with enzyme phenotype 3 (bumblebee no. 3) and enzyme phenotype 2 (bumblebee nos. 1, 2, 4, 5, 6), and a bumblebee (no. 7) with enzyme phenotype 1, sampling site Lüneburger Heide/Germany.

Auf den Esterase-Zymogrammen ist nach kurzer Inkubationszeit der Gele eine in anodischer Richtung an Aktivität abnehmende Bandenschar zu erkennen. Die einzelnen Fraktionen erwiesen sich bei allen untersuchten Individuen als elektrophoretisch identisch. Nach mehrstündiger Inkubationszeit der Gele lässt sich jedoch im weit anodischen Bereich eine schwach färbare Enzymbande darstellen, bei der es sich offensichtlich um ein von den anderen Esterasen genetisch unabhängiges Isoenzym (Esterase-1) handelt. Diese Esterase ist in zwei alternativ auftretenden Elektrophorese-Varianten gefunden worden und es lag eine absolute Korrelation zwischen bestimmten Esterase- und Phosphoglucomutasephänotypen vor. Die Esterase-Variante mit geringerer anodischer Mobilität war stets mit dem Phosphoglucomutase-Phänotyp 1 (hohe anodische Mobilität der PGM) kombiniert, die Esterase-Variante mit höherer anodischer Mobilität dagegen mit den Phosphoglucomutase Phänotypen 2 und 3. Anhand der Mobilität dieser beiden Enzyme lassen sich somit zwei Taxa, A und B, unterscheiden. Den Phosphoglucomutase-Enzymphänotyp 3 haben wir Taxon B zugeordnet (Tabelle 1), er gibt seine Zugehörigkeit zu diesem Taxon durch die gleichartige Esterase und durch das Auftreten der PGM-Variante 2 zu erkennen.

2. Die Färbung der Männchen

Die enzymatisch analysierten Hummelmännchen weisen eine beträchtliche Variationsbreite in der Ausdehnung der Gelbfärbung auf. Wir haben die Färbung von Clypeus, Scheitel und Stirn, sowie die Färbung der dorsalen Hälfte des Thorax und der Tergite 1, 2 und 4 analysiert und unterscheiden sechs Gruppen, die in Tabelle 2 in einer Reihe zunehmender Gelbfärbung angeordnet sind. Diese Reihe beginnt mit sehr dunklen Tieren, die der Färbung des *B. terrestris* nahestehen und sich von diesem, abgesehen von Nuancen in Farbton und Intensität der Gelbfärbung, im wesentlichen dadurch unterscheiden, dass die weissen Haare des vierten Tergits auf das distale Drittel beschränkt sind. In der Reihe der hier unterschiedenen Gruppen werden schwarze Haare an Kopf, Thorax und Abdomen zunehmend durch gelbe Haare verdrängt, am Ende der Reihe stehen sehr helle, ausgedehnt gelb behaarte Individuen.

Tabelle 2 lässt erkennen, dass sich die Männchen der beiden Taxa auffallend verschieden, jedoch nicht ganz überschneidungsfrei auf die hier unterschiedenen Färbungsgruppen verteilen. Bei Taxon A herrschen dunkle Tiere vor, bei Taxon B ausgedehnt gelb behaarte Individuen.

Die Reihenfolge der Farbgruppen wurde nach dem Gesamteindruck der Färbung festgelegt. Vergleicht man die Verdrängung schwarzer durch gelbe Haare in den einzelnen Körperabschnitten, so fällt auf, dass sie nicht in allen Abschnitten parallel verläuft. Nach der Färbung des ersten Tergits müsste die Gruppe 2 hinter

TAB. 2. — Führung der Männchen der *Taxa A* und *B*.
 (Der Zusatz « + gelb » resp. « + schwarz » weist auf eingestreute gelbe resp. schwarze Haare;
 ein Zusatz in Klammern kennzeichnet, dass das genannte Merkmal nicht für alle Tiere der betreffenden Gruppe gilt.)
 TABL. 2. — The color of males of *taxa A* and *B*.
 (The addendum « + yellow » or « + black » indicates a sprinkling of yellow or black hair; an addendum in brackets
 means that the named color may not always be true in all animals in the particular group.)

Gruppe Group	1	2	3	4	5	6
Clypeus	schwarz (+ gelb)	gelb + schwarz yellow + black	gelb (+ schwarz) yellow (+ black)	gelb + schwarz yellow + black	gelb yellow	gelb yellow
Clypeus	schwarz (+ gelb)	schwarz (+ gelb) black (+ yellow)	schwarz, Flaum gelb black, yellow down	schwarz, Flaum gelb black, yellow down	schwarz, Flaum gelb black, yellow down	gelb yellow
Stirn	schwarz	schwarz	schwarz, Flaum gelb black, yellow down	schwarz, Flaum gelb black, yellow down	schwarz, Flaum gelb black, yellow down	gelb yellow
Frons	schwarz	schwarz	schwarz, Flaum gelb black, yellow down	schwarz, Flaum gelb black, yellow down	schwarz, Flaum gelb black, yellow down	gelb yellow
Scheitel	schwarz (+ gelb)	gelb + schwarz yellow + black	gelb + schwarz yellow + black	gelb + schwarz yellow + black	gelb + schwarz yellow + black	gelb + schwarz yellow + black
Vertex	schwarz (+ gelb)	schwarz (+ gelb) black (+ yellow)	schwarz (+ gelb) black (+ yellow)	schwarz (+ gelb) black (+ yellow)	schwarz (+ gelb) black (+ yellow)	schwarz (+ gelb) black (+ yellow)
Collare	gelb	gelb	breit gelb broad yellow	breit gelb broad yellow	sehr breit gelb very broad yellow	sehr breit gelb very broad yellow
Collar	gelb	gelb	breit gelb broad yellow	breit gelb broad yellow	sehr breit gelb very broad yellow	sehr breit gelb very broad yellow
Scutellum	schwarz	schwarz	schwarz	schwarz	gelb + schwarz yellow + black	ausgedehnt gelb yellow extended
Scutellum	schwarz	schwarz	schwarz	schwarz	gelb + schwarz yellow + black	ausgedehnt gelb yellow extended
Tergit 1	schwarz (+ gelb)	gelb + schwarz yellow + black	schwarz (+ gelb) black (+ yellow)	gelb yellow	gelb + schwarz yellow + black	gelb yellow
Tergite 1	schwarz (+ gelb)	gelb + schwarz yellow + black	schwarz (+ gelb) black (+ yellow)	gelb yellow	gelb + schwarz yellow + black	gelb yellow
Tergit 3	schwarz	schwarz	schwarz	schwarz	schwarz	distale Hälfte distal half
Tergite 3	schwarz	helle Endzilien black, light fringes	helle Endzilien black, light fringes	helle Endzilien black, light fringes	helle Endzilien black, light fringes	distal, half yellow
Tergit 4	schwarz	schwarz	schwarz	schwarz	distale Hälfte distal half	distale Hälfte distal half
Tergite 4	distal weiss black distal white	distal weiss black distal white	distal weiss black distal white	distal weiss black distal white	weiss black white	weissgelb distal half white-yellow
<i>Taxon A</i>						
Anzahl	13	1		1		
Number	13	1		1		
Herkunft	Schweiz	Schweiz	Schweiz	Pyrenäen	Schweiz (4)	Schweiz
Origin	Switzerland	Switzerland	Switzerland	Pyrenees	Switzerland (4)	Switzerland
<i>Taxon B</i>						
Anzahl			9		5	3
Number			9		5	3
Herkunft			Schweiz	Pyrenäen	Schweiz (4)	Schweiz
Origin			Switzerland	Pyrenees	Switzerland (4)	Switzerland

der Gruppe 3 angeordnet werden und die Gruppe 4 hinter der Gruppe 5. Die Gruppen 2 und 4 sind durch Tiere des Taxons A besetzt. Hierin deutet sich an, dass Taxa A und B zu zwei verschiedenen Variationsreihen der Färbung gehören könnten. Bemerkenswert erscheint weiterhin, dass das einzige zum Taxon A gehörige Tier aus den Pyrenäen auffallend verschieden ist von den Tieren des Taxons A aus der Schweiz.

3. Färbung der Königinnen und morphometrische Befunde

Bei sechs der dreizehn Königinnen des Taxons A greift die gelbe Färbung des Collare seitlich weit auf das Episternum über. Bei den anderen Tieren des Taxons A, mehrheitlich bei den Tieren aus schweizerischen Populationen, und bei den Königinnen des Taxons B ist dies nicht der Fall.

Messwerte, die wir an Königinnen der beiden Taxa ermittelt haben, sowie aus diesen Messwerten gebildete Quotienten sind aus Tabelle 3 ersichtlich. Die beiden Taxa unterscheiden sich in diesen Messwerten nur geringfügig. Bei Taxon A ist der Abstand des rechten Ocellus vom Kopf-Hinterrand (Messwert D) und vom rechten

TAB. 3. — Messwerte (in mm) und deren Quotienten von Königinnen
(1 = aus LØKEN, 1973; 2 = aus PEKKARINEN, 1979; 3 = aus TKALCU, 1974.)

TABL. 3. — Values (in mm) and the quotients of queens
(1 = from LØKEN, 1973; 2 = from PEKKARINEN, 1979; 3 = from TKALCU, 1974.)

Längenmasse Linear measurement	B « Radial length » Radial length	D Abstand rechter Ocellus Kopf-Hinterrand Distance right ocellus pre-occipital ridge	E Abstand rechter Ocellus rechtes Komplexauge Distance right ocellus right compound eye	N
Taxon A	4,78 ± 0,17	0,806 ± 0,056	0,797 ± 0,042	13
Taxon B	4,81 ± 0,12	0,754 ± 0,048	0,754 ± 0,036	19
<i>B. lucorum</i> 1	4,45 ± 0,14			20
<i>B. magnus</i> 1	4,69 ± 0,10			20
Quotienten	D/E	D/B	E/B	N
Taxon A	1,01 ± 0,06	0,168 ± 0,010	0,167 ± 0,009	13
Taxon B	1,00 ± 0,06	0,157 ± 0,008	0,157 ± 0,005	19
<i>B. lucorum</i> :				
Norwegen 1	1,06			
Finnland 2	1,06 ± 0,06			82
Tschechoslowakei 3	1,00			
<i>B. magnus</i> :				
Norwegen 1	1,24			
Norwegen 2	1,23 ± 0,05			10
Finnland 2	1,18 ± 0,05			18
Tschechoslowakei 3	1,11			

Komplexauge (Messwert E) im Mittel etwas grösser. Bei gleicher mittlerer Flügellänge (« radial-length », Messwert B) sind entsprechend die Quotienten D/B und E/B bei diesem Taxon höher. Angesichts der geringen Individuenzahlen erübrigt sich eine statistische Überprüfung, zumal in den beiden Taxa Tiere aus geographisch sehr weit entfernten Sammelgebieten zusammengefasst worden sind. Zum Vergleich haben wir in Tabelle 3 Werte anderer Autoren an *B. lucorum* und *B. magnus* einbezogen, die in der Diskussion besprochen werden.

In Abbildung 2 sind die Längenmasse in einem Dreiecksdiagramm dargestellt. Darin besetzen die beiden Taxa distinkte, jedoch zur Hälfte überlappende Flächen.

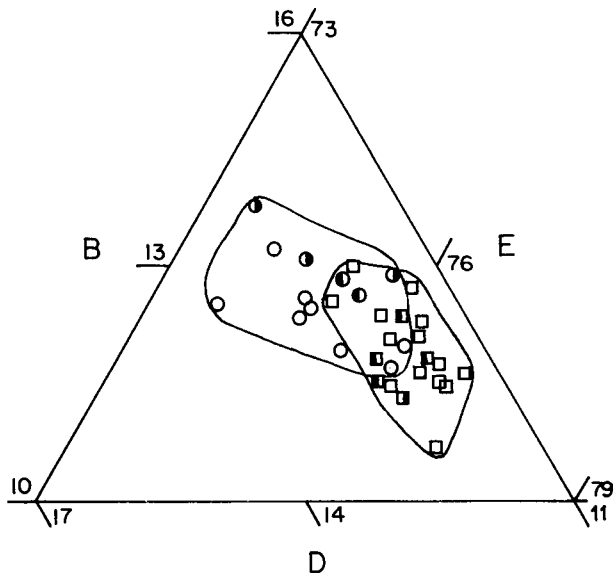


ABB. 2. — Dreiecksdiagramm des Flügelmasses « radial length » : (B), Abstand zwischen rechtem Ocellus und Kopf-Hinterrand (D) und Abstand zwischen rechtem Ocellus und rechtem Komplexauge (E) bei Königinnen der Taxa A (Kreise) und B (Quadrate), von Fundorten in der Schweiz (offene Symbole), Deutschland (Symbole links offen) und Frankreich (Symbole rechts offen).

FIG. 2. — Triangular graphing of radial length (B), distance between right ocellus and preoccipital ridge (D) and distance between right ocellus and right compound eye (E) in queens of taxa A (circles) and B (squares) from sampling sites in Switzerland (open symbols), Germany (left-open symbols) and France (right-open symbols).

DISKUSSION

Die beiden elektrophoretisch erkannten Taxa unterscheiden sich in der Mobilität von zwei Enzymen. Die Mobilitätsdifferenzen der Enzyme lassen auf

genetische Differenzen an den betreffenden Genloci schliessen. Es ist nun einerseits auffallend, dass bestimmte Esterase-Varianten stets mit bestimmten Phosphoglucomutase-Varianten korreliert sind und nicht mit diesen frei kombiniert auftreten. Dies könnte allenfalls damit erklärt werden, dass die beiden Enzymloci auf dem gleichen Chromosom in nächster Nachbarschaft lokalisiert sind. Zum anderen lassen sich aber auch keine Tiere nachweisen, bei denen gleichzeitig die beiden Elektrophoresevarianten 1 und 2 der Phosphoglucomutase oder der Esterase auftreten. Solche Phänotypen, die Heterozygotie an den Loci der hier untersuchten Enzyme kennzeichnen, wären mit grosser Häufigkeit zu erwarten, falls die nachgewiesene Enzymheterogenität tatsächlich auf genetischem Polymorphismus der untersuchten Populationen beruhen würde. Infolge des Fehlens der heterozygoten Phänotypen, aber auch weil die Elektrophorese-Varianten der beiden Enzyme nicht frei kombiniert auftreten, schliessen wir, dass die beiden Taxa zwei distinkten, genetisch differenzierten Fortpflanzungsgemeinschaften angehören.

Die beiden Taxa und ihre reproduktive Isolation sind in Untersuchungsmaterial aus der Schweiz, aus Norddeutschland und aus Südfrankreich zu erkennen. Bei den Königinnen bestehen Unterschiede in den Körperproportionen, bei den Männchen in der Färbung. Zudem gibt es Anhaltspunkte auf unterschiedliche Biotopansprüche. In Tabelle 4 ist die Höhenlage der Fundorte in der Schweiz (s.

TAB. 4. — Häufigkeit der Taxa A und B an Fundorten verschiedener Höhenlagen in der Schweiz.

TABL. 4. — Frequency of taxa A and B from sampling sites at different elevations in Switzerland.

Höhenlage Elevation	Anzahl Fundorte Number of sampling sites	Taxon A	Taxon B
-1 000 m	4	0	53
1 000-1 500 m	5	16	22
1 500-2 000 m	4	5	25
2 000-2 300 m	4	16	5
Total Gesamt : 142		37	105

Tabelle 1) berücksichtigt. Taxon A ist bevorzugt in alpinen Biotopen gefunden worden und war nicht nachweisbar an den Untersuchungsstellen im schweizerischen Mittelland. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang die Feststellung von DE BEAUMONT (1958), dass die alpinen Männchen des *B. lucorum* oft den Männchen von *B. terrestris* in der Färbung sehr ähnlich sind. Offensichtlich haben DE BEAUMONT Männchen des Taxons A vorgelegen. Unter Berücksichtigung aller vorhandenen Befunde gelangen wir zu der Auffassung, dass die beiden Taxa zwei Arten repräsentieren.

Eine der beiden Arten (Taxon B) ist ohne Zweifel identisch mit *B. lucorum* (L.). Im Dreiecksdiagramm der morphometrischen Daten ist annähernd die gleiche Fläche besetzt, wie bei *B. lucorum* in den Untersuchungen von LØKEN (1973). Der Quotient der Messwerte D und E (Tabelle 3) entspricht den Befunden von TKALCU (1974), zu den Daten von LØKEN (1973) und PEKKARINEN (1979) ergibt sich eine geringfügige Differenz.

Das an früherer Stelle (OBRECHT und SCHOLL, 1981) publizierte Enzymmuster des *B. lucorum* im Vergleich mit anderen *Bombus*- und *Psithyrus*-Arten entspricht dem Taxon B. Fünf der seinerzeit analysierten Tiere hingegen gehörten, wie sich nun herausstellt, zu der zweiten Art (Taxon A) und dementsprechend ist die Feststellung, dass bei *B. lucorum* Polymorphismus der PGM häufiger aufträte, nicht zutreffend. Es war seinerzeit nicht möglich, zu erkennen, dass unser Untersuchungsmaterial zwei Arten enthielt. Die betreffenden Tiere entstammten Proben von mehreren Fundorten, von denen jeweils nur Einzeltiere vorlagen. Erst als grössere Populationsstichproben aus alpinen Biotopen untersucht wurden, trat die zweite Art häufiger auf und Mischpopulationen erbrachten infolge des Fehlens heterozygoter Enzymphänotypen erste Hinweise, dass unser Untersuchungsmaterial zwei Arten enthalten könnte.

Viele Königinnen der zweiten Art (Taxon A) weisen in ihrer Färbung Merkmale auf, die auf *B. magnus* VOGT deuten, der als nachgewiesen gilt in allen drei Ländern, aus denen unser Untersuchungsmaterial stammt (KRÜGER, 1954). Ebenso bietet auch die dunklere Färbung der Männchen einen gewissen Hinweis auf *B. magnus*. Nach LØKEN (1973) und anderen Autoren lassen sich unter den skandinavischen Männchen des *B. lucorum*-Komplexes dunkle und helle Formen unterscheiden. KULLENBERG *et al.* (1970) sowie BERGSTRÖM *et al.* (1973) wiesen nach, dass die beiden Formen chemotaxonomisch in den Sekreten der Labialdrüsen differieren. Daraus ergibt sich, dass das skandinavische Untersuchungsgut zwei Arten enthalten könnte, die dunklere Form ist mit *B. magnus* in Verbindung gebracht worden (LØKEN, 1973). PEKKARINEN (1979) teilt diese Auffassung jedoch nicht, er erachtet *magnus* für conspezifisch mit *B. lucorum*. Auch aus den von ihm durchgeführten enzymelektrophoretischen Untersuchungen hat sich offensichtlich kein Hinweis auf zwei Arten ergeben.

Im Dreiecksdiagramm der morphometrischen Daten liegt die hier diskutierte zweite Art ausserhalb der Fläche, die LØKEN (1973) für *B. magnus* fand. Der Quotient der Messwerte D und E ist niedriger, als von verschiedenen Autoren bei *B. magnus* festgestellt (Tabelle 3). Die Unterschiede werden jedoch dadurch relativiert, dass der Quotient der Messwerte D und E allometrisch bedingt ist (PEKKARINEN, 1979). Zudem könnte die geographische Herkunft des Untersuchungsmateriales von Belang sein. Weiterhin ist zu beachten, dass der Messwert D ein problematisches Mass ist, da die Grenze des Kopf-Hinterrandes schwer festzulegen ist. Deshalb könnten Unterschiede durch die persönliche Messmethodik bedingt sein, zumal sie auch bei *B. lucorum* auftreten (Tabelle 3).

Auch wenn viele Individuen der zweiten Art Merkmale aufweisen, die auf die umstrittene Art *B. magnus* deuten, so lässt sich hier nicht beurteilen, ob es sich tatsächlich um *B. magnus* handelt, oder aber um eine neue Hummelart. Hierzu wären Vergleiche mit Typusmaterial notwendig. Trotz vieler Vorteile, die die Enzymelektrophorese als Methode systematischer Forschungen unbestritten hat (AVISE, 1974), besteht ein gewichtiger Nachteil darin, dass nur lebensfrisches oder tiefgefroren konserviertes Untersuchungsmaterial Verwendung finden kann. Aus diesen methodischen Gründen ist es deshalb nicht möglich, Typusmaterial in die biochemischen Untersuchungen einzubeziehen. Wichtige Hinweise könnte jedoch Untersuchungsmaterial von den Typuslokalitäten liefern, das uns bisher nicht zur Verfügung gestanden hat.

DANKSAGUNG

Die Untersuchungen wurden vom Schweizerischen Nationalfonds (Gesuch Nr. 364080) finanziell unterstützt. Bei der Beschaffung des Untersuchungsgutes waren uns die Herren J. FÄH, Dr. H. J. GEIGER und A. VALSANGIACOMO behilflich. Für Assistenz bei den elektrophoretischen Untersuchungen danken wir Frau L. FRAUCHIGER und Frau V. SIEGFRIED. Wir danken Frau Dr. A. LØKEN (Oslo) für die Beurteilung einiger Königinnen aus unserer Sammlung elektrophoretisch analysierter Hummeln.

*Eingegangen im Dezember 1982.
Reçu pour publication en décembre 1982.*

RÉSUMÉ

DÉLIMITATION DES ESPÈCES DU COMPLEXE *BOMBUS LUCORUM* PAR ÉLECTROPHORÈSE ENZYMATIQUE

L'électrophorèse des enzymes, chez des reines, des ouvrières et des mâles de *B. lucorum s. lat.* provenant de Suisse, du nord de l'Allemagne et des Pyrénées, a permis de reconnaître deux taxons qui se distinguent par la mobilité de la phosphoglucomutase et de l'estérase-1. Chez le Taxon A la mobilité anodique de la phosphoglucomutase est plus élevée et celle de l'estérase-1 plus faible que chez le taxon B.

Les deux taxons sont courants en Suisse, mais le taxon A se rencontre surtout dans les biotopes alpins. Dans de nombreux endroits les deux taxons coexistent mais on n'a jamais trouvé d'insectes chez lesquels les deux variantes électrophorétiques de la phosphoglucomutase ou de l'estérase-1 soient présentes simultanément (hétérozygotie aux loci enzymatiques concernés) ou chez lesquels la variante phosphoglucomutase du taxon A soit combinée avec la variante estérase-1 du taxon B ou l'inverse. On en conclut donc que les deux taxons appartiennent à deux communautés de reproduction séparées génétiquement (isolement reproductif).

Les mâles des deux taxons se différencient par la couleur; ceux du taxon A sont plus foncés, ceux du taxon B ont une large coloration jaune. Chez les reines aussi les données morphométriques varient.

Le diagramme triangulaire de la mesure alaire (B), de la distance entre l'ocelle droit et la bordure pré-occipitale (D) et la distance entre l'ocelle droit et l'œil composé (E) montre que les deux taxons occupent des aires disjointes mais qui se recouvrent largement.

Les données électrophorétiques et morphologiques prouvent donc que ces deux taxons séparables sur les plans biochimique et génétique, doivent constituer deux espèces distinctes. La discussion porte sur le fait de savoir si l'on est en présence, avec le taxon A, de *B. magnus* Vogt ou d'une nouvelle espèce de bourdon. L'électrophorèse enzymatique permet de classer les individus, qu'ils soient reines, ouvrières ou mâles, d'après les mêmes caractères d'identification. Les spécimens identifiés d'après les enzymes devraient donc présenter un intérêt particulier pour de futures études sur la délimitation morphologique des espèces appartenant au complexe *B. lucorum*.

SUMMARY

DIVIDING SPECIES OF THE *BOMBUS LUCORUM* COMPLEX BY MEANS OF ENZYME ELECTROPHORESIS

Enzyme electrophoresis of queens, workers and males of the *B. lucorum* complex from sampling sites in Switzerland, northern Germany and France (Pyrenees) reveals two taxa A and B which differ in mobility of phosphoglucumutase and esterase-I. In Switzerland taxon A has been predominantly observed in alpine habitats. At many sampling sites, however, both taxa coexist but electrophoretic data clearly indicate reproductive isolation, since no heterozygote phenotypes are found and since no individuals are observed which combine the phosphoglucumutase variant of taxon A with the esterase-I variant of taxon B or the reverse. Males of these taxa differ in coloration. Males of taxon A are darker, those of taxon B have an extensive yellow coloration.

Queens also differ in morphometric data. Triangular graphing of radial length (B), distance from lateral ocellus to preoccipital ridge (D) and distance from lateral ocellus to compound eye (E) shows that both taxa occupy well defined areas. However, these areas overlap to some extent.

It is concluded that on the basis of electrophoretic and morphological results, taxa A and B are specifically distinct. It is discussed whether in addition to *B. lucorum* (L.) (taxon B) the critical species *B. magnus* VOGT (taxon A) may be involved. Enzyme electrophoresis is useful for allowing associations of queens, workers and males without nest records, since the same characters of identification are used for both sexes. Enzymatically identified specimens may therefore be of particular value in further studies on morphological differentiation in the *B. lucorum* complex.

LITERATUR

- ANDER K., 1965. — Über die Verbreitung der Hummeln in Schweden (*Hym. Apidae*). *Opusc. ent.*, **30**, 135-139.
- AVISE J. C., 1974. — Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.*, **23**, 465-481.
- BEAUMONT J. de 1958. — Les Hyménoptères Aculéates du Parc national Suisse et des régions limitrophes. In : *Erg. wiss. Unters. schweiz. Nationalparks*, **6** (n.F.), 145-233.
- BERGSTRÖM G., KULLENBERG B., STÄLLBERG-STENHAGEN S., 1973. — Studies on natural odoriferous compounds. VII. Recognition of two forms of *Bombus lucorum* L. (*Hymenoptera Apidae*) by analysis of the volatile marking secretion from individual males. *Chemica scripta*, **4**, 174-182.
- DELMAS R., 1976. — Contribution à l'étude de la faune Française des *Bombinae* (*Hymenoptera. Apoidea, Bombidae*). *Ann. Soc. Entomol. France*, **12**, 247-290.
- DELMAS R., 1981. — Systematics and geographical variation in the *Bombinae*. In : *Biosystematics of social insects*. Systematics Association Special Volume No. 19, edited by P. E. HOWSE, J.-L. CLÉMENT, 223-229. Academic Press London/New York.

- ELFVING R., 1960. — Die Hummeln und Schmarotzerhummeln Finnlands. *Fauna fenn.*, **10**, 1-43.
- HARRIS H., HOPKINSON D.A., 1976. — *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
- KRÜGER E., 1954. — Phaenoanalytische Studien an einigen Arten der Untergattung *Terrestribombus* O. VOGT (*Hymenoptera, Bombidae*). II. Teil. *Tijdschr. Ent.*, **97**, 263-298.
- KULLENBERG B., BERGSTRÖM G., STÄLLBERG-STENHAGEN S., 1970. — Volatile components of the cephalic marking secretion of male bumble bees. *Acta Chem. Scand.*, **24**, 1481-1483.
- LØKEN A., 1973. — Studies on Scandinavian bumble bees (*Hymenoptera, Apidae*). *Norsk ent. Tidsskr.*, **20**, 1-218.
- OBRECHT E., SCHOLL A., 1981. — Enzymelektrophoretische Untersuchungen zur Analyse der Verwandtschaftsgrade zwischen Hummel- und Schmarotzerhummelarten (*Apidae, Bombini*). *Apidologie*, **12** (3), 257-268.
- PEKKARINEN A., 1979. — Morphometric, colour and enzyme variation in bumble-bees (*Hymenoptera, Apidae, Bombus*) in Fennoscandia and Denmark. *Acta Zool. Fennica*, **158**, 1-60.
- REINIG W. F., 1973. — Zur Kenntnis der Hummeln und Schmarotzerhummeln des Saarlandes und der Pfalz (*Hym., Bombidae*). *Abh. Arb. gem. tier- und pflanz. Heimatforsch. Saarland*, **4**, 3-28.
- SCHOLL A., CORZILLIUS B., VILLWOCK W., 1978. — Beitrag zur Verwandtschaftsanalyse altweltlicher Zahnkarpfen der Tribus *Aphaniini* (*Pisces, Cyprinodontidae*) mit Hilfe elektrophoretischer Untersuchungsmethoden. *Z. zool. Syst. Evolut.-forsch.*, **16**, 116-132.
- TKALCU B., 1974. — Bemerkenswerte Bienenfunde in der Tschechoslowakei (*Hymenoptera, Apoidea*). *Acta ent. bohemoslov.*, **71**, 205-208.
- VOGT O., 1911. — Studien über das Artproblem. Über das Variieren der Hummeln. II. *Sitzungsber. Ges. naturf. Freunde Berlin*. 1911, 31-74.

Addenda bei Erhalt der Korrekturfahnen

1. Rasmont veröffentlichte kürzlich eine Neubeschreibung des *B. lucocryptarum* Ball, der ebenfalls in Betracht zu ziehen ist : RAMONT P., 1981. — Redescription d'une espèce méconnue de bourdon d'Europe : *Bombus lucocryptarum* Ball, 1914 n. status (*Hymenoptera, Apidae, Bombinae*). *Bull. Ann. Soc. r. ent. Belg.* 117, 149-154.
2. Inzwischen standen uns *B. lucorum* s. lat. (5 ♂♂, 2 ♀♀) aus Souhajärvi bei Iisalmi, Finnland (leg. F. Catzeflis, Lausanne) zur Untersuchung zur Verfügung. Das Enzymmuster der Tiere entsprach dem Taxon A.