

BESTUIVING DOOR MIDDEL VAN SEKSUEEL BEDROG PRINCIPES EN ECOLOGISCH/EVOLUTIONAIRE ASPECTEN

Martin W. van den HOORN

Samenvatting

Bestuiving door seksueel bedrog komt alleen bij orchideeën voor. Het heeft zich ontwikkeld in meerdere onafhankelijke geslachten. Over het algemeen zijn de bestuivers bijen of wespen. De bestuivers proberen met de bloemen te paren en tijdens deze pseudocopulatie worden de pollinia aan het insect bevestigd. De planten maken gebruik van chemische, visuele en contactuele stimuli. De chemische stimuli zijn verreweg het belangrijkste. Over de werking ervan binnen het genus *Ophrys* is de afgelopen jaren door onderzoek veel bekend geworden. Bestuivers worden aangetrokken door een mengsel van eenvoudige koolwaterstoffen in een specifieke onderlinge verhouding. Dezelfde stoffen worden in dezelfde onderlinge verhoudingen in de vrouwtjes van de bestuivers aangetroffen en dienen als feromonen. Verschillende *Ophrys*-soorten met dezelfde bestuiver gebruiken dezelfde koolwaterstoffen in dezelfde onderlinge verhouding. *Ophrys*-soorten met een andere bestuiver maken gebruik van hetzelfde mengsel, maar dan met een andere onderlinge verhouding. Stoffen die elke bloem een individueel karakter geven en een stof die bestuivers afstoot na een succesvolle bestuiving vergroten het bestuivingsucces. Bestuivers lijken binnen hun verspreidingsgebied verschillende voorkeuren te hebben ten aanzien van feromonen en deze verschillen vinden we terug in de geurpatronen van verschillende *Ophrys*-populaties. De bestuiverspecificiteit is erg groot, maar moleculair genetisch onderzoek toont aan dat ze niet voldoende is om een strikte genetische scheiding tussen nauw verwante taxa te garanderen. Voorgesteld wordt dan ook om nauw verwante, morfologisch sterk op elkaar gelijkende taxa als ondersoorten of variëteiten met een eigen bestuiver te zien. De bestuiverspecificiteit waarborgt dan het eigen karakter van de ondersoort of variëteit, maar is niet specifiek genoeg om zich geheel van de andere taxa te kunnen isoleren.

Summary

Pollination by means of sexual deception occurs only within the orchid family and has developed within several phylogenetic independent lineages. In general the pollinators are bees or wasps. The pollinators try to copulate with the flower and the pollinia are attached to the insect during this pseudocopulation. The plants use chemical, visual and tactile stimuli. The chemical stimuli are by far the most important. Recently much has been discovered about the principles of chemical stimuli by *Ophrys*. Pollinators are attracted using a blend of simple hydrocarbons in a specific relative amount. The same substances are found in pollinator females and in the same relative amounts. Different orchid species with the same pollinator use the same blend of hydrocarbons and in the same relative amounts. *Ophrys* species with a different pollinator use the same blend but with different relative amounts. Substances that give flowers an individual character and substances that repel pollinators after a successful pollination increase pollination success. Pollinators seem to show different pheromone preferences within their distribution area and these preferences are reflected in the scent patterns of different *Ophrys* populations. The relation between *Ophrys* and its pollinator is highly specific, but molecular genetic research shows that it is not sufficient to

guarantee a complete genetic separation between closely related taxa. It is proposed to consider closely related morphologically similar taxa as subspecies or varieties. The highly specific relation between pollinator and orchid guarantees the own nature of the subspecies or variety, but is not specific enough to isolate it from the other taxa.

Zusammenfassung

Bestäubung durch sexuellen Betrug kommt nur bei Orchideen vor. Sie hat sich entwickelt in mehreren unabhängigen Abstammungslinien. Im Allgemeinen sind die Bestäuber Bienen oder Wespen. Die Bestäuber versuchen, sich mit den Blumen zu paaren und während dieser Pseudokopulation werden die Pollinien an das Insekt geklebt. Die Pflanzen benutzen chemische, visuelle und kontaktuelle Stimulanzen. Die chemischen Stimulanzen sind weitaus die wichtigsten. Über die Wirkung davon innerhalb der Gattung *Ophrys* ist in den vergangenen Jahren durch Versuche viel bekannt geworden. Die Bestäuber werden angelockt vom Duft einer Mischung aus einfachen Kohlwasserstoffen (Feromonen) in einem spezifischen gegenseitigen Verhältnis. Dieselben Stoffe werden in derselben gegenseitigen Mischung in den Weibchen der Bestäuber angetroffen. Verschiedene Pflanzenarten mit demselben Bestäuber benutzen dieselben Kohlwasserstoffe in diesem selben gegenseitigen Verhältnis. *Ophrys*-Arten mit einem anderen Bestäuber benutzen eine Mischung derselben Stoffe, aber in einem etwas anderen gegenseitigen Verhältnis. Stoffe, die jeder Blüte einen individuellen Charakter geben und ein Stoff, den Bestäuber nach einer erfolgreichen Bestäubung abstoßen, vergrößern den Bestäubungserfolg. Bestäuber scheinen innerhalb ihres Verbreitungsgebietes verschiedene Vorzüge zu haben hinsichtlich Feromone, und diese Unterschiede finden wir wieder in den Duftmustern verschiedener *Ophrys*-Populationen. Die Bestäuberspezifität ist sehr groß, aber molekular genetische Versuche zeigen, dass sie nicht ausreicht, um eine strikt genetische Trennung zwischen nahe verwandten Taxa zu garantieren. Vorgestellt wird denn auch um nahe verwandte, morphologisch stark einander ähnelnde Taxa als Unterarten oder Varietäten mit einem eigenen Bestäuber zu betrachten. Die Bestäuberspezifität gewährleistet dann den eigenen Charakter der Unterart oder Varietät, aber ist nicht genügend spezifisch, um sich ganz von den anderen Taxa zu isolieren.

Inleiding

Het overgrote deel van de orchideeën is voor hun bestuiving afhankelijk van insecten. Van circa een derde van alle orchideeënsoorten wordt aangenomen dat ze hun bestuivers niet belonen in de vorm van nectar. Binnen deze misleidende soorten nemen de seksueel misleidende soorten een speciale plaats in. Deze seksueel misleidende soorten lokken insectenmannetjes met behulp van bloemen die in de ogen van die mannetjes lijken op paringsbereide vrouwtjes. De aangetrokken mannetjes proberen te paren met de bloemen en tijdens deze pseudocopulatie worden de pollinia aan het insect bevestigd.

De relatie tussen bestuiver en orchidee is heel specifiek en wordt vaak aangevoerd als argument om morfologisch sterk op elkaar gelijkende taxa¹, die elk een eigen bestuiver

¹ De in dit artikel gebuikte taxonomie is gelijk aan die in de geciteerde artikelen en komt voor de Europese soorten grotendeels overeen met de gids van Delforge uit 2001 (Delforge 2001). Conversie

hebben, als aparte soorten te beschouwen (Paulus et al. 1990a, 1990b, 1992). Bestuiving door seksueel bedrog is niet het gevolg van co-evolutie (zoals bedoeld in Janzen D.H. 1980) maar van een eenzijdige evolutie van het verkrijgen van adaptaties die deze vorm van bestuiving mogelijk maakt (Paulus et al. 1990a). Feitelijk parasiteert de plant op de instinctieve gedragspatronen van de misleide mannetjes (Vogel 1975).

Verspreiding van het fenomeen

Bestuiving door seksueel bedrog komt alleen bij orchideeën voor en heeft zich ontwikkeld in meerdere onafhankelijke geslachten (zie voor een mogelijk geval buiten de orchideeënfamilie: Rudall et al. 2002). In Europa kent alleen het genus *Ophrys* een dergelijke vorm van bestuiving. Het fenomeen is geruime tijd bekend uit Australië waar meerdere geslachten op dergelijke wijze worden bestoven. Vrij recent is bestuiving door seksueel bedrog ook ontdekt bij de Zuid-Amerikaanse geslachten *Lepanthes* (Blanco et al. 2005), *Mormolyca* (Singer et al. 2004) en *Trigonidium* (Singer et al. 2002) en bij het Zuid-Afrikaanse geslacht *Disa* (Steiner et al. 1994). Binnen de meeste geslachten die gebruik maken van dit type bestuiving is, afgezien van zelfbestuivende soorten, dit de enige vorm van bestuiving die ze kennen (Van der Cingel 2005). Het Australische geslacht *Caladenia* omvat echter zowel voedsel misleidende soorten als seksueel misleidende soorten. Het Zuid-Afrikaanse geslacht *Disa* kent een keur aan bestuivingsmechanismen (Van der Cingel 2005) en bestuiving door seksueel bedrog lijkt in dit geslacht in een actief stadium van evolutie te zijn. Er zijn duidelijke bewijzen dat mannetjeswespen zich seksueel tot de bloemen voelen aangetrokken, maar pseudocopulatie is nog niet waargenomen (Steiner et al. 1994). Over de bestuiving van de geslachten *Mormolyca*, *Lepanthes* en *Trigonidium* is verder weinig bekend, maar de bloemmorfologie van de eerste twee geslachten suggereert dat bestuiving door seksueel bedrog ook binnen deze geslachten de boventoon voert. Tabel 1 geeft een overzicht van de genera met bestuiving door seksueel bedrog.

De bestuivers

De aangetrokken bestuivers behoren over het algemeen tot de orde van de *Hymenoptera* en zijn meestal bijen of wespen (Van der Cingel 1995, 2001). De Australische soort *Leporella fimbriata* wordt bestoven door de mier *Myrmecia urens* (Peakall 1989). In 2005 is aangetoond dat de Zuid-Amerikaanse *Lepanthes glicensteinii* wordt bestoven door de vlieg *Bradysia floribunda*. Van het meer dan 800 soorten tellende genus *Lepanthes* wordt aangenomen dat bestuiving door vliegen een veel voorkomend verschijnsel is. Mogelijk is er ook een sterke mate van bestuiversspecificiteit (Blanco et al. 2005). Het genus *Ophrys* wordt grotendeels bestoven door bijen en wespen. Uitzonderingen zijn *O. blitopertha*, die wordt bestoven door de kever *Blitopertha lineolata*, en *O. holoserica*, die behalve door de bijen

naar de nomenclatuur van het Kompendium van Kreutz (Kreutz 2004) maakt de context van de aangehaalde literatuur minder duidelijk. Dit omdat de geciteerde literatuur vaak een ander taxonomisch niveau hanteert dan het Kompendium. Ook bestaat er, zeker voor de oudere literatuur, geen duidelijkheid over de juistheid van de determinaties en is een correcte conversie onmogelijk. Om deze reden staat er ook geen soortnaam bij de figuren 2 en 3. Voor *Ophrys ciliata* s.l. worden in de geraadpleegde literatuur de namen *O. speculum* en *O. vernixia* gebruikt. Voor de duidelijkheid wordt daarom de naam *O. ciliata* gehanteerd, met tussen haakjes de naam zoals ze in het geciteerde artikel is gepubliceerd.

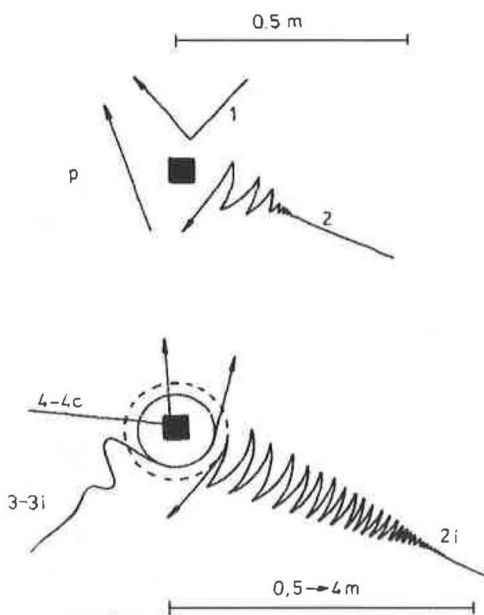
Eucera nigrescens en *E. longicornis* ook bestoven wordt door de zweefvliegen *Microdon latifrons* en *M. mutabilis* (Delforge 2001).

Stimulerende factoren

Seksueel misleidende soorten maken van meerdere mechanismen gebruik om bestuivers tot pseudocopulatie te verleiden. De belangrijkste factor is de bloemgeur. Seksueel misleidende soorten geven geurstoffen af die de bestuivers al op enige afstand kunnen waarnemen en lokken zo de bestuivers richting de bloemen. Op korte afstand gaan ook visuele aspecten een rol spelen. Kullenberg heeft experimenten uitgevoerd met *Ophrys insectifera*, waarmee hij aantoonde dat wanneer een bestuiver de orchidee niet kon ruiken, hij hem pas opmerkte vanaf een afstand van ca 20 cm. Onzichtbaar gemaakte exemplaren die wel in staat waren om geur te verspreiden werden echter al op afstanden vanaf enkele meters opgemerkt (Kullenberg 1961). In figuur 1 worden de vijf hoofdtypen van benaderingsgedrag van bestuivers weergegeven.

Subfamilie	Tribus	Ondertribus	Genus	Referentie
Orchidoideae	Diurideae	Caladeniinae	<i>Caladenia</i>	Peakall et al. 1996
		Caladeniinae	<i>Leporella</i>	Peakall et al. 1996
		Drakaeinae	<i>Arthrochilus</i>	Peakall et al. 1996
		Drakaeinae	<i>Chiloglottis</i>	Peakall et al. 1996
		Drakaeinae	<i>Drakaea</i>	Peakall et al. 1996
		Drakaeinae	<i>Paracaleana</i>	Peakall et al. 1996
		Drakaeinae	<i>Spiculaea</i>	Peakall et al. 1996
		Pterostylidinae	<i>(Pterostylis)</i>	van der Pijl et al. 1966
		Acianthinae	<i>Cryptostylis</i>	Peakall et al. 1996
		Thelymitrinae	<i>Calochilus</i>	Peakall et al. 1996
	Orchideae	Orchidinae	<i>Ophrys</i>	Paulus et al. 1990b
	Diseae	Disinae	<i>Disa</i>	Steiner et al. 1994
Epidendroideae	Maxillarieae	Maxillariinae	<i>Mormolyca</i>	Singer et al. 2004
		Maxillariinae	<i>Trigonidium</i>	Singer et al. 2002
		Telipogoninae	<i>(Tricheros)</i>	Jones 1988
	Epidendreae	Pleurothallidinae	<i>Lepanthes</i>	Blanco et al. 2005

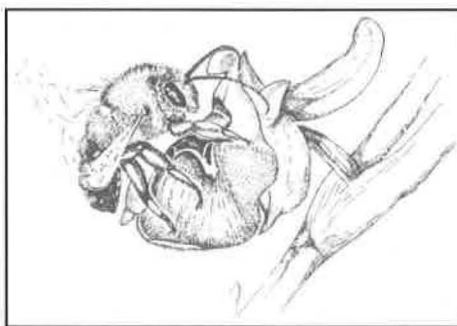
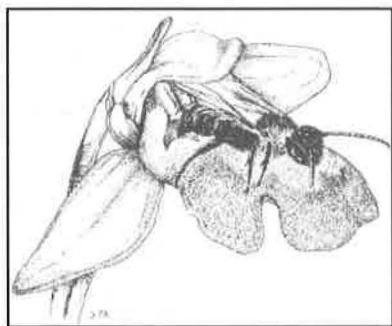
Tabel 1: Orchideeëngenera waarbinnen bestuiving door seksuele misleiding voorkomt. Indeling naar Dressler 1993. Bij de genera tussen haakjes wordt vermoed dat ze dit type bestuiving kennen, maar is dat nog niet wetenschappelijk aangetoond.



Figuur 1: De vijf hoofdtypen van benaderinggedrag van *Eucera* mannetjes op een met *Ophrys* geurstoffen behandelde dummy: p. geen reactie, 1. snelle inspectie, 2. zwevende inspectie, 3 cirkelende inspectie, 4-4c landen of een snelle inspectie zonder (4) of met (4c) zichtbare copulatiepogingen op de dummy, 2i en 3i zijn intense zwevende en cirkelende inspecties. Naar Borg-Karlson 1990.

Waarschijnlijk zijn grootte, contrast, reflectie en specifieke tekeningen de belangrijkste visuele aspecten voor bestuivers (Paulus et al. 1990b). Over het algemeen lijken seksueel misleidende soorten echter maar matig op vrouwtjes van de bestuivers. Een uitzondering is *O. ciliata* (*O. vernixia*) (Paulus et al. 1992), die als twee druppels water lijkt op de bestuiver *Campsoscolia ciliata*. Andere opvallende overeenkomsten tus-

sen bestuiver en orchidee vinden we bij *O. kotschyi* en *O. cretica*. Deze soorten hebben een opvallend zwart-wit patroon op hun lip en worden beiden bestoven door de zwart-wit ge-



Figuur 2 (links): Bestuiving waarbij de pollina op het achterlijf van de bestuiver worden afgezet. *Ophrys* uit de *fusca/lutea* groep met bestuiver *Andrena flavipes*. Overgenomen uit Borg-Karlson 1990. Figuur 3 (rechts): Bestuiving waarbij de pollina op de kop van de bestuiver worden afgezet. *Ophrys* uit de *holoserica* groep met bestuiver *Tetralonia sp.* Overgenomen uit Borg-Karlson 1990.

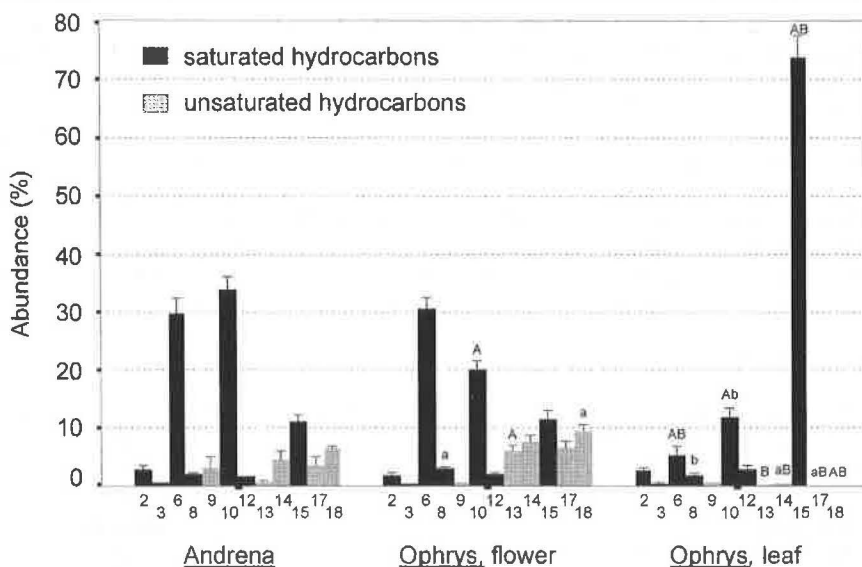
kleurde bij *Melecta tuberculata*. De soorten *O. ferrum-equinum*, *O. bertolonii* en *O. atlantica* tenslotte, worden bestoven door *Chalicodoma parietina* en hebben allemaal een opvallend blauw veld op hun lip, die grote overeenkomst vertoont met de metaalblauwe glans van de vleugels van de vrouwtjes van de bestuiver (Paulus et al. 1990b).

Het belang van contactuele stimuli met betrekking tot het vasthouden van de interesse van de bestuiver kan worden geïllustreerd aan de hand van de Australische soorten *Caladenia tentaculata* en *Cryptostylis leptochila*. In een experimentele opstelling met *Caladenia tentaculata* werden 79% van de passerende mannetjes zo aangetrokken tot de bloemen dat ze contact maakten. In slechts 7.5% leidde dit daadwerkelijk tot copulatiepogingen (Peakall et al. 1996). Bij *Cryptostylis leptochila* is de contactuele stimulatie echter zo sterk dat er tijdens de pseudocopulatie ejaculatie plaatsvindt (Van der Cingel 1995, 2001).

Primaire geurstoffen

Zoals al eerder is opgemerkt, is geur de belangrijkste factor voor het lokken van bestuivers. Al geruime tijd is bekend dat *Ophrysses* heel veel verschillende geurstoffen uitscheiden (Borg-Karlson 1990). Lang bleef echter onduidelijk welke van deze geurstoffen daadwerkelijk worden gesignaleerd door de bestuiver en welke van deze gesignaleerde stoffen verantwoordelijk zijn voor het lokken en tot pseudocopulatie verleiden van mannetjes. Geurstoffen die door de bestuiver kunnen worden opgemerkt, worden biologisch actieve stoffen genoemd. In 1999 werd ontdekt dat *O. sphegodes* 14 biologisch actieve koolwaterstoffen (alkanen en alkenen) afgeeft en wel in een constante onderlinge verhouding (Schiestl et al. 1999). Deze eenvoudige organische verbindingen werden in dezelfde onderlinge verhouding aangetroffen in de cuticula (buitenste huidlaag) van paringsbereide vrouwtjes van de bestuiver *Andrena nigroaenea*. Experimenten met kunstmatige mengsels, extracten van de lip van *O. sphegodes* en extracten van *A. nigroaenea* onderdelen, toonden overduidelijk aan dat deze koolwaterstoffen verantwoordelijk zijn voor het lokken en tot pseudocopulatie verleiden van mannetjes (Schiestl et al. 1999, 2000). Nader onderzoek toonde aan dat de alkenen het naderen tot de bloem stimuleren en dat de alkanen de copulatiepogingen stimuleren (Schiestl et al. 2000). Alkanen en alkenen blijken in de gehele plant voor te komen als onderdeel van de cuticulaire waslaag en hebben als primaire functie het voorkomen van uitdroging. De onderlinge verhouding van deze stoffen verschilt echter tussen de verschillende onderdelen van de plant en komen alleen in de bloemen in de juiste onderlinge verhoudingen voor (Schiestl et al. 2000), zie figuur 4.

Uit de vergelijking van geurstoffen van de door *A. nigroaenea* bestoven *O. fusca*, *O. sitiaca* en *O. herae* en de door *A. flavipes* bestoven *O. africana*, *O. bilunulata* en *O. israelitica* bleek dat verschillende *Ophrys*-soorten die dezelfde bestuiver hebben, ongeacht hun onderlinge fylogenetische relatie, gebruik maken van dezelfde alkanen en alkenen als geurstoffen en in (grotendeels) dezelfde onderlinge verhoudingen. Verschillen tussen soorten met dezelfde bestuiver zaten voornamelijk in de absolute hoeveelheid van de afgegeven alkanen en alkenen (Stöckl et al. 2005). Onderzoek aan de op Mallorca sympatrisch (d.i. in gemengde populaties) voorkomende *O. fusca* en *O. bilunulata* toonde aan dat een andere onderlinge verhouding van met name de alkenen (die de benadering tot



Figuur 4: Gemiddelde relatieve hoeveelheden biologisch actieve alkanen (saturated hydrocarbons) en alkenen (unsaturated hydrocarbons) in extracten van *Andrena nigroaenea*-cuticula, *Ophrys sphegodes*-bloemen en -bladeren. De nummers op de x-as zijn de verschillende koolwaterstoffen. In de vergelijking tussen *Ophrys* en *Andrena* zijn achttien biologisch actieve koolwaterstoffen ontdekt. De ontbrekende nummers zijn koolwaterstoffen die niet zowel in *Andrena* als in *Ophrys* voorkomen. De letters op de staven geven aan dat de betreffende stof significant in verhouding verschilt met het *Andrena* extract (A,a), of met het *Ophrys*-bloem extract (B,b), met als significantieniveau $P < 0.05$ (a,b) en $P < 0.001$ (A,B). Overgenomen uit Schiestl et al. 2000.

de bloem stimuleren) verantwoordelijk was voor het feit dat beide soorten elk een andere bestuiver hebben (Schiestl et al. 2002).

Naast alkanen en alkenen speelt bij de relatie tussen *Colletes cunicularius* en *O. exaltata* de stof linalool een rol als aantrekkende stof. Linalool alleen lokt maar heel zelden copulatiegedrag uit, maar lijkt te werken als aantrekkende stof met een werking over een langere afstand (Mant et al. 2005a).

Ook *O. ciliata* (*O. speculum*) geeft alkanen en alkenen af. De bestuiver *Campsoscolia ciliata* reageert hier echter niet op. In deze plant–bestuiverrelatie spelen bepaalde organische zuren een rol. Deze zuren worden zowel in plant als in de bestuiver aangetroffen (Ayasse et al. 2003). Uit keuze-experimenten blijkt dat *O. speculum*-bloemen op *C. ciliata* mannetjes een sterkere aantrekkingskracht hebben dan paringsbereide vrouwtjes.

Over biologisch actieve geurstoffen bij andere genera is weinig bekend. Over het algemeen lijken er bij de Australische soorten maar enkele geurstoffen van belang te zijn en bevatten ze vaak een zo lage concentratie aan geurstoffen dat ze niet of nauwelijks te detecteren zijn (Schiestl et al. 2003, 2004, Mant et al. 2002).

Een redelijk goed onderzocht genus is *Chiloglottis*. In dit genus blijkt er maar één stof verantwoordelijk te zijn voor het lokken en tot pseudocopulatie verleiden van bestuivers.

Deze stof was toen hij werd ontdekt nieuw voor de wetenschap en werd chiloglottone genoemd. Ook nu bleek deze stof eveneens voor te komen in de bestuiver en wel in de monddelen. De verschillende *Chiloglottis*-soorten gebruiken allemaal een andere chiloglottonevariant (Schiestl et al. 2003).

Secundaire geurstoffen

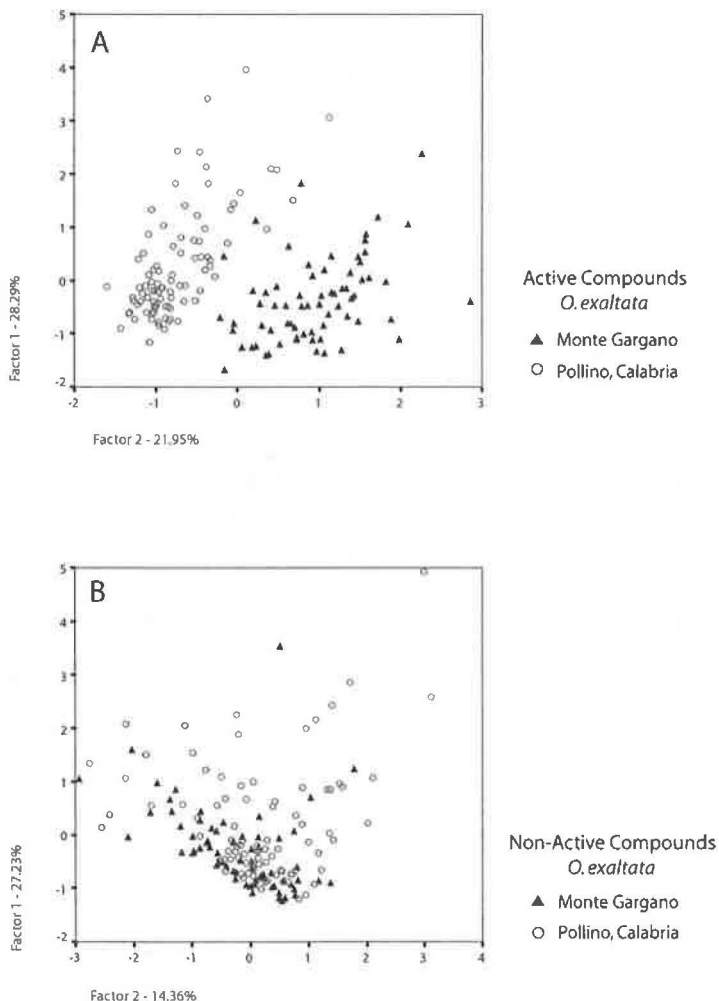
Naast geurstoffen die primair het lokken en opwekken van copulatiepogingen tot doel hebben, zijn er bij *O. sphegodes* ook nog geurstoffen ontdekt die als doel het optimaliseren van het bestuivingssucces hebben. Het blijkt dat bloemen van *O. sphegodes* een heel kleine hoeveelheid van de stof farnesyl hexanoaat afgeven. Wanneer een bloem bestoven is, neemt de afgifte van deze stof drastisch toe. Farnesyl hexanoaat wordt ook afgegeven door bevruchte *A. nigroaenea* vrouwtjes en blijkt een belangrijke functie te hebben bij de bouw van broedcellen. Bevruchte vrouwtjes zijn voor mannetjes niet meer interessant en mannetjes lijken bevruchte vrouwtjes aan de hand van farnesyl hexanoaat te kunnen herkennen. Ondanks dat de door een bestoven *O. sphegodes*-bloem afgegeven hoeveelheid farnesyl hexanoaat een factor 1000 lager ligt dan de hoeveelheid die een bevrucht *A. nigroaenea* vrouwtje afgeeft, zijn de bestoven bloemen duidelijk minder aantrekkelijk dan de niet bestoven bloemen (Schiestl et al. 2001). Wanneer een bestoven *O. sphegodes*-bloem een grotere hoeveelheid farnesyl hexanoaat zou afgeven, zou de kans bestaan dat de gehele bloeiaar niet meer interessant zou zijn voor bestuivers. De geringe afgegeven hoeveelheid zorgt voor een lok- en afstootmechanisme. De afgifte van alkanen en alkenen lokt de bestuiver. Wanneer de bestuiver de bloemen nadert zal de afgifte van farnesyl hexanoaat de bestuiver enigszins afstoten en hem zo in de richting van de nog niet bestoven bloemen dirigeren.

Het afgeven van afstotende stoffen door bestoven bloemen is echter niet het enige mechanisme dat wordt aangewend om het bestuivingssucces te vergroten. Het is een bekend verschijnsel dat in het veld slechts heel zelden bestuivers bij *Ophryssen* worden aangetroffen (Paulus et al. 1990a). Wanneer bloemen in de patrouilleerzone van bestuivers worden geplaatst worden ze echter direct bezocht. Na korte tijd blijken de bloemen niet meer interessant en worden ze veel minder frequent bezocht (Ayasse et al. 2000). Uit keuze-experimenten blijkt dat bestuivers in staat zijn om bezochte bloemen individueel te herkennen. Een al eerder bezochte bloem wordt niet graag opnieuw bezocht. Veld-experimenten toonden dat dit niet komt doordat de bestuivers de bloemen merken. Ayasse et al. ontdekten dat *O. sphegodes*-bloemen naast de al eerder genoemde stoffen ook nog biologisch actieve esters en aldehyden afgeven (Ayasse et al. 2000). De afgiftehoeveelheid en onderlinge verhoudingen van deze stoffen verschillen echter van bloem tot bloem, zelfs tussen verschillende bloemen aan dezelfde bloeiaar. Experimenten met kunstmatige mengsels maakten duidelijk dat deze stoffen een belangrijke rol spelen bij de individuele herkenning van *O. sphegodes*-bloemen.

Variabiliteit van primaire geuren

Over het algemeen gaat men ervan uit dat soorten min of meer constante eigenschappen hebben. Soorten zijn echter veel variabler dan men over het algemeen aanneemt (Mayr 1963). Recent gedetailleerd onderzoek aan het paargedrag van de bestuiver van *O. exaltata*,

Colletes cunicularius, laat zien dat er tussen de populaties van deze bestuiver een behoorlijke variabiliteit bestaat in actieve feromoonbestanddelen en gedragsvoorkeuren van mannetjes (Mant et al. 2005b). Een analyse van geurstoffen van twee populaties van *O. exaltata* uit Italië toont aan dat, wanneer er wordt gekeken naar biologisch actieve bestanddelen, er ook duidelijke verschillen bestaan in onderlinge verhoudingen van de geurstoffen tussen beide populaties (figuur 5a). Deze verschillen worden niet aangetroffen bij de niet biologisch actieve bestanddelen (figuur 5b). Kennelijk zijn deze verschillen ontstaan doordat regionale verschillen in geurvoorkeuren van *C. cunicularius* hebben geleid tot selectie van *O. exaltata* individuen die deze geur het best benaderden (Mant et al. 2005b).



Figuur 5: Visuele weergave van een statistische analyse (Principale Componenten Analyse), waarbij bloemen aan de hand van hun geurstof-samenstelling onderling worden vergeleken. In deze weergave komen bloemen met een sterk gelijkende geurstof-samenstelling vlak bij elkaar te liggen en bloemen die onderling sterk van elkaar verschillen komen ver uit elkaar te liggen. Duidelijk is te zien dat de bloemen uit Monte Gargano een andere onderlinge verhouding van biologisch actieve geurstoffen hebben dan de bloemen uit Pollino. Dit is niet het geval bij de niet biologisch actieve geurstoffen. Overgenomen uit Mant et al. 2005b.

Seksueel bedrog als mechanisme voor het promoten van kruisbestuiving

Het lijkt onlogisch dat planten die hun bestuiver niet belonen, zoals de seksueel misleidende soorten, toch succesvol kunnen zijn. Kennelijk biedt hun bedrog evolutionaire voordelen. Eén van de voordelen is het stimuleren van kruisbestuiving over een grotere afstand. Wanneer bestuivers een bloem bezoeken en daar tevergeefs mee trachten te paren verliezen ze de interesse in de plant en is de kans groot dat er met de bevestigde pollinia een relatief grote afstand wordt afgelegd voordat een tweede paringspoging wordt ondernomen. Door pollinia in niet bestoven *Caladenia tentaculata* planten te kleuren en deze later weer op te zoeken bij bestoven exemplaren, is aangetoond dat de bestuivers in staat zijn om de pollinia over een afstand van tientallen meters (tot 58 m) te transporteren. (Peakall et al. 1996). Bij *Drakea glyptodon* werd zelfs een maximale transportafstand van 132 m gemeten (Peakall 1990). Ook Widmer meldt het voorkomen van mannetjesbijen met *Ophrys*-pollina op ruime afstand van *Ophrys*-populaties (Widmer et al. 2000). Uit een onderzoek waarbij *C. cunicularius* mannetjes werden gemerkt en weer terug werden gevangen, bleek de maximale afstand tussen de merklocatie en de locatie van terugvangst 50 m te zijn. De meest voorkomende afstand tussen deze twee punten was echter slechts vijf meter. Het lijkt aannemelijk dat deze vijf meter overeenkomt met de gemiddelde patrouilleerafstand van deze bestuiver en een indicatie geeft van de afstand waarover pollen vervoerd kunnen worden (Peakall et al. 2004). Binnen het genus *Ophrys* worden echter veel verschillende bestuivers geëxploiteerd en bestaan er grote verschillen tussen het migratiegedrag van de mannetjes.

Een eigen bestuiver, een eigen soort?

De specifieke relatie tussen orchidee en bestuiver wordt vaak aangewend om morfologisch nauwelijks verschillende vormen die elk een andere bestuiver hebben als twee verschillende soorten te zien (Paulus et al. 1992). Het is echter maar zeer de vraag of dit terecht is. Veldexperimenten laten vaak zien dat er inderdaad een zeer hoge bestuiverspecificiteit is (Paulus et al 1990a, 1990b, 1992), maar kunnen niet uitsluiten dat bestuivers zich af en toe vergissen en er zo de oorzaak van zijn dat bepaalde taxa toch genetisch materiaal met andere nauw verwante taxa uitwisselen. Een in Zwitserland uitgevoerd experiment met dode vrouwtjesbijen die behandeld waren met uit Italië afkomstige geurextracten van hetzij *O. exaltata*, hetzij *O. sphegodes*, liet zien dat *O. exaltata* in Zwitserland net als in Italië *C. cunicularius* aantrekt, maar dat enkele mannetjes ook probeerden te paren met de vrouwtjes die behandeld waren met het *O. sphegodes* extract (Mant et al. 2005b).

Ook moleculair genetisch onderzoek maakt aannemelijk, dat bestuivers zich wel eens vergissen. Soliva en Widmer hebben in 2003 een DNA-onderzoek uitgevoerd naar zes verschillende *Ophrys*-soorten uit de *O. sphegodes*-groep (Soliva et al. 2003). Op vijf verschillende locaties in Zuid-Frankrijk en Italië zijn sympatrisch voorkomende en tegelijk bloeiende populaties onderzocht. Voor alle locaties en bij alle soortparen (*O. exaltata* & *O. garganica*, *O. incubacea* & *O. provincialis*, *O. garganica* & *O. incubacea*, *O. archipelagi* & *O. garganica* en *O. archipelagi* & *O. sphegodes*) concludeerden de auteurs dat er naar het zich liet aanzien wel degelijk uitwisseling van genetisch materiaal plaatsvond tussen de sympatrisch voorkomende populaties en dat de veronderstelde bestuiverspecificiteit niet voldoende is om een strikte scheiding tussen deze soorten te garanderen. Mijzelf lijkt deze

bevinding voldoende argument om binnen het genus *Ophrys* morfologisch sterk op elkaar gelijkende taxa als ondersoorten of variëteiten met een eigen bestuiver te zien. De bestuiverspecificiteit waarborgt dan het eigen karakter van de ondersoort of variëteit, maar is niet specifiek genoeg om zich geheel van de andere taxa te kunnen isoleren.

Bestuiving door seksueel bedrog, een intrigerend fenomeen

De relatie tussen plant en bestuiver is bij bestuiving door seksueel bedrog in hoge mate specifiek en de volledige afhankelijkheid van de bestuiver heeft verschillende aspecten. Pollentransport over langere afstand verkleint de kans op vergaande inteelt, maar over het algemeen is het bestuivingssucces laag. Specifieke mechanismen die *Ophrys*-bloemen een individueel karakter geven en bestoven bloemen minder aantrekkelijk maken, vergroten het succes van de bestuiving. Kennelijk compenseert de enorme hoeveelheid zaad die per bloem wordt geproduceerd het negatieve effect van de lage vruchtzetting en biedt het een evolutionair voordeel om wat minder zaadcapsules te produceren, maar wel met kwalitatief beter zaad (Schiestl 2005). Onderzoek aan *Chiloglottis trapeziformis* maakt duidelijk dat de orchideeën ook een negatief effect op hun bestuiver kunnen hebben (Wong et al. 2002). Paringbereide mannetjes van de bestuiver *Neozeleboria cryptoides* mijden actief gebieden waarin de orchideeën voorkomen. Vleugelloze vrouwtjes die zich tussen de orchideeën bevinden moeten actief migreren naar zones met een minder hoge orchideeëndichtheid, willen ze bevrucht worden. Het feit dat *Lissopimpla punctata* mannetjes zelfs ejaculeren tijdens de pseudocopulatie met *Cryptostylis leptochila* reduceert de fitness van de bestuiver. De vergaande mimicry van *O. ciliata* gecombineerd met de sterke chemische aantrekkingskracht zorgt ervoor dat de bestuiver een sterkere voorkeur heeft voor de bloemen dan voor de vrouwtjes. Dergelijke sterk ontwikkelde plant–bestuiverrelaties met een potentieel negatief effect op de bestuiver, maken de relatie extra kwetsbaar en kunnen evolutionair een doodlopende weg betekenen.

Aan de andere kant zien we bij de geslachten *Ophrys*, *Caladenia* en *Chiloglottis* dat dit bestuivingsmechanisme ook een enorme speciatie (soortvorming) teweeg kan brengen en lijken planten redelijk flexibel om op de langere termijn van bestuiver te wisselen. *Ophryssen* maken gebruik van verschillende geslachten van bestuivers en gebruiken hiervoor ook verschillende mechanismen (alkanen, alkenen, organische zuren). Het gebruik van alkanen en alkenen als feromonen lijkt een heel flexibel systeem. Het verhogen of verlagen van de afgifte van één stof zorgt voor een andere onderlinge verhouding van de geurstoffen en is in potentie genoeg om een andere bestuiver aan te trekken. Vaak wordt opgemerkt dat wanneer een orchidee door een mutatie in zijn geuremissie in staat is geweest om een nieuwe bestuiver aan te trekken, de bestuiver vooral die nakomelingen zal selecteren, die het sterkst op vrouwtjes van zijn eigen soort lijken (Paulus et al. 1992). Onduidelijk is echter tot hoever deze selectie zal gaan. De duidelijk verschillende geurpatronen tussen *O. exaltata*-populaties laten zien dat de selectiedruk sterk is en dat regionale populaties zich zelfs aanpassen aan regionale voorkeuren van bestuivers. Aan de andere kant leren bestuivers snel om niet belonende bloemen te mijden en is een zekere variatie in geurpatroon noodzakelijk om voldoende bestuivingssucces te garanderen. Hoogst waarschijnlijk geldt dit ook voor andere aspecten zoals bloemkleur, beharingspatroon en andere morfologische aspecten, zoals de grootte van de lip. Het puur op morfologische gronden afsplitsen van taxa met een ietwat andere morfologie is dan ook onterecht. Feitelijk

moet het worden omgedraaid en moet er worden gekeken welke variatie een bepaalde bestuiver nog accepteert.

Acknowledgments

I would like to thank Associate Professor Dr. Rod Peakall (School of Botany and Zoology, Australian National University, Canberra Australia) who kindly sent me some photographs of *Chiloglottis trapeziformis* and its sexually attracted pollinator, *Neozeloboria cryptoides*.

Martin W. van den Hoorn
Alterra, Centrum Ecosystemen
Postbus 47
6700 AA Wageningen.

Literatuur

- Ayasse M., Schiestl P.F., Paulus H.F., Löfstedt C., Hansson B.S., Ibarra F., Francke W. 2000. Evolution of reproductive strategies in the sexually deceptive orchid *Ophrys sphegodes*. How does flower-specific variation of odour signals influence reproductive success? *Evolution* 54(6):1995-2006.
- Ayasse M., Schiestl P.F., Paulus H.F., Ibarra F., Francke W. 2003. Pollinator attraction in a sexually deceptive orchid by means of unconventional chemicals. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270:517-522.
- Blanco M.A., Barboza G. 2005. Pseudocopulatory pollination in *Lepanthes* (Orchidaceae: Pleurothallidinae) by fungus gnats. *Ann. Bot.* 95:763-772.
- Borg-Karlson A. 1990. Chemical and ecological studies of pollination in the genus *Ophrys* (Orchidaceae). *Phytochemistry* 29:1359-1387.
- Cingel van der N. A. 1995. An atlas of orchid pollination. European orchids. Balkema Rotterdam.
- Cingel van der N. A. 2001. An Atlas of Orchid Pollination. Orchids of America, Africa, Asia and Australia. Balkema Rotterdam.
- Delforge P. 2001. Guide des orchidees d'Europe d'Afrique du Nord et du Proche-Orient. Delachaux et Niestlé, Lausanne.
- Delforge P. 1995. Orchids of Britain & Europe. HarperCollinsPublishers
- Dressler R.L. 1993. Phylogeny and Classification of the Orchid Family. Melbourne: Cambridge University Press.
- Janzen D.H. 1980. When is it coevolution? *Evolution* 34:611-612.
- Jones D.L. 1988. Native orchids of Australia. Reed, Australia.
- Kreutz C.A.J. 2004. Kompendium der Europäischen Orchideen. Kreutz Publishers, Landgraaf.
- Kullenberg B. 1961. Studies in *Ophrys* pollination. *Zool. Bidr. Upps.* 34(1):1-340.
- Mant J.G., Schiestl F.P., Peakall R., Weston P.H. 2002. A phylogenetic study of pollinator conservatism among sexually deceptive orchids. *Evolution* 56:888-898.
- Mant J., Brändli C., Vereecken N.J., Schulz C.M., Francke W., Schiestl F.P. 2005a. Cuticular hydrocarbons as sex pheromone of the bee *Colletes cunicularis* and the key



Chiloglottis trapeziformis met de seksueel aangetrokken bestuiver *Neozeloboria cryptoides*.
(Dr. Rod Peakall, Australian National University)

- to its mimicry by the sexually deceptive orchid *Ophrys exaltata*. J. Chem. Ecol. 31:1765-1787.
- Mant J., Peakall R., Schiestl F.P. 2005b. Does selection on floral odour promote differentiation among populations and species of the sexually deceptive orchid genus *Ophrys*? Evolution 59(7) 1449-1463.
- Mayr E. 1963. Animal Species and Evolution. Harvard University Press Cambridge.
- Paulus H.F., Gack, C. 1990a. Pollination of *Ophrys* (Orchidaceae) in Cyprus. Pl. Syst. Evol. 169, 177-207.
- Paulus H.F., Gack, C. 1990b. Pollinators as prepollinating isolation factors: evolution and speciation in *Ophrys* (Orchidaceae). Isr. J. Bot. 39:43-79.
- Paulus H.F., Gack, C. 1992. Signalfälschung als Bestäubungsstrategie in der mediterranen Orchideengattung *Ophrys* - Probleme der Artbildung und der Artabgrenzung. In: Eurorchis 92. Proceedings International Symposium on European Orchids, Nijmegen, The Netherlands. KNNV Utrecht. p. 72-82.
- Peakall R. 1989. The unique pollination of *Leporella fimbriata* (Orchidaceae) by pseudocopulating winged male ants *Myrmecia urens* (Formicidae). Pl. Syst. Evol. 167, 137-148.
- Peakall R. 1990. Responses of male *Zaspilothynnus trilobatus* Turner wasps and the sexually deceptive orchid it pollinates. Funct. Ecol. 4:159-167.
- Peakall R., Beattie, A.J. 1996. Ecological and genetic consequences of pollination by sexual deception in the orchid *Caladenia tentaculata*. Evolution 50(69):2207-2220.
- Peakall R., Schiestl, F.P. 2004). A mark-recapture study of male *Colletes cunicularius* bees: implications for pollination by sexual deception. Behav. Ecol. Sociobiol. 56:579-584.
- Pijl L. van der, Dodson, C.H. 1966. Orchid flowers: Their pollination and evolution. Univ. of Miami Press, Coral Gables F.L.
- Rudal P.J., Bateman R.M., Fay M.F., Eastman A. 2002. Floral anatomy of Alliaceae with particular reference to *Gilliesia*, a presumed insect mimic with strongly zygomorphic flowers. Am. J. Bot. 89:1867-1883.
- Schiestl F.P., Ayasse M., Paulus H.F., Erdmann D., Francke W. 1997). Variation of floral scent emission and postpollination changes in individual flowers of *Ophrys sphegodes* subsp. *Sphegodes*. J. Chem. Ecol. 23 no. 12 2881-2895.
- Schiestl F.P., Ayasse M., Paulus H.F., Löfstedt C., Hansson B.S., Ibarra F. Francke W. 1999. Orchid pollination by sexual swindle. Nature 399:421-422.
- Schiestl F.P., Ayasse M., Paulus H.F., Löfstedt C., Hansson B.S., Ibarra F. Francke W. 2000. Sex pheromone mimicry in the early spider orchid (*Ophrys sphegodes*): patterns of hydrocarbons as the key mechanism of pollination by sexual deception. J. Comp. Physiol. A. 186:567-574.
- Schiestl F.P., Ayasse M. 2001. Post-pollination production of a repellent compound in a sexually deceptive orchid: a new mechanism for maximizing reproductive success? Oecologia 126:531-534
- Schiestl F.P., Ayasse M. (2002). Do changes in floral odour cause speciation in sexually deceptive orchids? Plant. Syst. Evol. 234:111-119.
- Schiestl F.P., Peakall R., Mant J., Ibarra F., Schulz C., Francke S., Francke W. 2003. The chemistry of sexual deception in an orchid-wasp pollination system. Science 302:437-438.

- Schiestl F.P., Peakall, R., Mant, J. 2004. Chemical communication in the sexually deceptive orchid genus *Cryptostylis*. Bot. J. Linn. Soc. 144:199-205.
- Schiestl F.P. 2005). On the success of a swindle: pollination by deception in orchids. Naturwissenschaften 92:255-264.
- Singer R.B. 2002. The pollination mechanism in *Trigonidium obtusum* Lindl (Orchidaceae:Maxillariinae): sexual mimicry and trap-flowers. Ann. Bot. 89:157-163
- Singer F.B., Flach A., Koehler S., Marsaioli A.J., Amaral M.E. 2004. Sexual mimicry in *Mormolyca ringens* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae:Maxillariinae). Ann. Bot. 93:755-762.
- Steiner K.E., Whitehead V.B., Johnson, S.D. 1994). Floral pollinator divergence in two sexually deceptive South African orchids. Am. J. Bot. 85:1180-1193
- Stökl J., Paulus H., Dafni A., Schulz C., Francke W., Ayasse M. 2005. Pollinator attracting odour signals in sexually deceptive orchids of the *Ophrys fusca* group. Pl. Syst. Evol. 254:105-120.
- Soliva M., Kocyan A., Widmer A. 2001. Molecular phylogenetics of the sexually deceptive orchid genus *Ophrys* (Orchidaceae) based on nuclear and chloroplast DNA sequences. Molec. Phylogenet. Evol. 20(1):78-88.
- Vogel S. 1975. Mutualismus und Parasitismus in der Nutzung von Pöllerträgern. Verh. Deutsch. Zool. Ges. 1975:102-110.
- Widmer A.S., Cozzolino G., Pellegrino M., Soliva M., Dafni A. 2000. Molecular analysis of orchid pollinaria and pollinaria-remains found on insects. Mol. Ecol. 9:1911-1914.
- Wong B.B.M., Schiestl, F.P. 2002. How an orchid harms its pollinator. Proc. Soc. Lond. B 1529-1532.