

---

## Themenkreis B: Biodiversität

---

### BSL 8 Analyse der Bestäubernetzwerke im Kümmel (*Carum carvi*) mittels DNA-Barcoding



*Analysis of pollination networks in caraway (Carum carvi) via DNA-Barcoding*

Isabel C. Kilian Salas<sup>1,2,3</sup>, Andrée Hamm<sup>1</sup>, Ximo Mengual<sup>2</sup>, Ralph Peters<sup>2</sup>, J. Wolfgang Wägele<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Professur Agrarökologie und Organischer Landbau, Universität Bonn, Auf dem Hügel 6, 53121 Bonn

<sup>2</sup>Forschungsmuseum Alexander König, Adenauerallee 140, 53113 Bonn

<sup>3</sup>i.kilian@gmx.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.008

#### Zusammenfassung

Die Insektenbestäubung gehört zu den essenziellen Ökosystemdienstleistungen für uns Menschen. Über 75% der Anbaupflanzen und 87,5% der Wildpflanzen sind direkt von dieser Form der Bestäubung abhängig. Die meisten Bestäuber in der Landwirtschaft in Deutschland stammen aus den Ordnungen der Brachycera („echte Fliegen“) und Hymenoptera (Hautflügler). Da allerdings seit Jahren ein drastischer Rückgang auch der bestäubenden Insekten zu beobachten ist, wird seit längerem intensiv daran gearbeitet Strategien zu entwickeln, um diese Entwicklung entgegen zu wirken. So werden z. B. im vorliegenden Projekt mit Hilfe der Methode des DNA-Barcoding die potenziellen Bestäuber des Kümmels (*Carum Carvi*) identifiziert, um dann mittels Metabarcoding festzustellen, welche weiteren Pflanzenarten im Bestäubernetzwerk des Kümmels eine Rolle spielen. Dafür wurde während der Vegetationsperioden 2016 und 2017 auf zwei Flächen ( je eine mit bzw. ohne Blühstreifen) Hymenoptera und Brachycera gesammelt. Insgesamt wurden an 14 Sammeltagen im Jahr 2016 konnten 1055 Individuen erfasst. Erste Ergebnisse der morphologischen und genetischen Bestimmung zeigen, dass insgesamt 54 Fliegen- und 43 Hymenopterenarten auf den Kümmelflächen vorkommen. Basierend auf diesen und auf den Ergebnissen des Metabarcoding der Pollenproben werden nun die Bestäubernetzwerke analysiert, auch um Empfehlungen für einen nachhaltigen Schutz und eine nachhaltige Nutzung der Bestäuber formulieren zu können.

**Stichwörter:** Bestäuber, Kümmel, Ökosystemdienstleistung, DNA-Barcoding, GBOL

#### Abstract

Insect pollination is one of the most important ecosystem services provided to humans. Over 75% of crops and 87,5% of wild plants are directly dependend from this type of pollination. The two biggest insect pollination groups in German agroecosystems are the Brachycera (“true flies“) and Hymenoptera. However, a decline trend in agricultural biodiversity has been observed in the past years, which is why the need for sustainable conservation strategies for pollination services is more needed than ever before. Therefore, via DNA-Barcoding the potential pollinators of caraway (*Carum carvi*) will be identified. Additionally, other plants that might be important in the pollination network of caraway will be identified via Metabarcoding pollen samples. Therefore, Hymenoptera and Brachycera samples were collected during the vegetations periods of 2016 and 2017 on two areas (one with and one without flowering strips) with a hand net on three different day intervals. Overall, on 14 sampling days of each year pollinators were collected, and in 2016 in total 1055 specimens were compiled. First preliminary results of morphological and genetic analysis suggest that around 54 fly and 43 Hymenoptera species are present in the caraway before, during and after the blooming. Further aims are to combine these results with the one of the metabarcoding, build up the pollinator network of caraway, and based on this information generate future recommendations for a sustainable management of pollination services.

**Key words:** pollinators, caraway, ecosystem service, DNA-Barcoding, GBOL

## Einleitung

Mehr als 52% der Fläche Deutschlands werden derzeit durch konventionelle oder ökologische Landwirtschaft genutzt. Während manche Nutzpflanzen wie Kartoffeln oder Getreide selbst- oder windbestäubt sind, hängen über 75% der meistproduzierten Anbau- und 87,5% der Wildpflanzen von der Bestäubung durch Insekten ab (Kleijn et al. 2015; Ollerton et al. 2011; Ricketts et al. 2008). Die Bestäubung gehört daher zu den essenziellen Ökosystemdienstleistungen und leistete z.B. im Jahr 2005 mit mehr als 153 Milliarden Euro einen enormen Beitrag zur Weltwirtschaft und zur Sicherung der Ernährung der Menschheit (Gallai et al., 2009; Potts et al., 2010).

Zu den wichtigsten und größten Gruppen bestäubender Insekten gehören im mitteleuropäischen Raum die Fliegen (Diptera, Brachycera) und die Hautflügler (Hymenoptera) (Ssymank et al. 2008). Zu den bekanntesten Hautflüglern gehört auch die Honigbiene (*Apis mellifera*), welche mit knapp 800.000 Kolonien in Deutschland den Hauptteil der Bestäubung in der Landwirtschaft übernimmt. Aber auch viele andere Arten wie die über 560 Wildbienenarten, zu denen auch die Hummeln gehören (NABU), leisten hierbei einen wichtigen Beitrag. Darüber hinaus ist davon auszugehen, dass auch zahlreiche, oftmals sehr kleine, blütenbesuchende Arten, wie Erzwespen oder andere parasitische Wespen ebenfalls potenzielle Bestäuber sind. In welchem Umfang sie diese Rolle übernehmen und welche Bedeutung sie damit in der Landwirtschaft spielen, ist jedoch bisher noch weitestgehend unbekannt. Von den 150 Familien der Fliegen, wurden bereits aus 71 Familien schon blütenbesuchende Vertreter identifiziert. Die bekannteste und wichtigste Bestäuberfamilie innerhalb dieser Ordnung sind die Schwebfliegen mit über 470 Arten allein in Deutschland. Nach den Bienen gehören die Arten dieser Familie zu den wichtigsten Bestäubern für viele Nutzpflanzen (Apfel, Erdbeere, Kirsche, usw.) (Ssymank et al., 2009). Alle Studien über die Rolle der Fliegen als Bestäuber in der Landwirtschaft haben bis jetzt gezeigt, dass die Anzahl der als Bestäuber in Frage kommenden Arten unterschätzt wurde oder deren Rolle in der Landwirtschaft überhaupt noch kaum erforscht ist (Ssymank et al., 2008).

Die Bestäubung als Ökosystemleistung gilt, verursacht durch den Rückgang von bestäubenden Insekten, jedoch seit mehreren Jahren als gefährdet (Potts et al. 2010). Hauptverursacher für diesen Verlust sind im Wesentlichen die Intensivierung der Landwirtschaft und der damit verbundene erhöhte Einsatz von Pflanzenschutzmitteln und der Rückgang an Blütenpflanzen. Das Ergebnis sind strukturlose, verarmte und ausgeräumte Kulturlandschaften in weiten Teilen Deutschlands. Bereits über 52% der Wildbienen werden daher in einer der Gefährdungskategorien der Roten Liste geführt. Grund hierfür ist neben dem Verlust der Nahrungsressourcen vor allem auch der Verlust von Nistplätzen (Westrich et al. 2008). Ähnliches gilt auch für die Schwebfliegen von denen mindestens 30% der Arten in der Roten Liste geführt werden (Ssymank et al., 2011).

Der Kümmel (*Carum carvi*) - ein Doldenblütler (*Apiaceae*) - ist einer der weitverbreitetsten Arzneipflanzen in Deutschland und ist bekannt für seine wohltuenden Wirkungen im menschlichen Körper. Wie bei vielen anderen Doldenblütlern spielt die Windbestäubung der Blüten eine wichtige Rolle, aber nichtsdestotrotz wurde schon nachgewiesen, dass Insektenbestäubung die Erträge durchaus um 10-20% steigern kann (Bouwmeester & Smid 1995). Ziel des vorgestellten Projektes ist es daher, die häufigsten Blütenbesucher und potentiellen Bestäuber des Kümmels hierzulande mittels der Methode des DNA-Barcoding („genetischer Fingerabdruck“) zu identifizieren, um auf der Basis der Ergebnisse ein effektives Bestäubungsmanagement entwickeln zu können. Dies ist die erste Studie die mittels dieser Methode die Bestäubernetzwerke in der Landwirtschaft und in diesem Fall des Kümmels beschreiben will.

## Material und Methoden

Die Erfassung der Insekten erfolgte während der Vegetationsperioden in 2016 und 2017. Dabei wurden sowohl Kümmelflächen ohne als auch mit Blühstreifen beprobt. Letzteres erfolgte, um zu

überprüfen, welchen Einfluss Blühstreifen auf die Diversität von bestäubenden Insekten in der Landwirtschaft haben (Behrens 2009). Beide Flächen befinden sich am Versuchs Campus Klein Altendorf der Universität Bonn.

Hierbei wurden einzelne Individuen der Brachycera und Hymenoptera (mit Ausnahme der Honigbiene) mit einem Handkescher entlang eines 50m-langen Transekts für 30 min während dreier Tagesintervalle (10-12, 12-14, 14-16 Uhr) gesammelt und zunächst bei minus 20°C zwischengelagert. Anschließend wurden die einzelnen Tiere im Labor mit einem linsengroßen Glycerinstückchen abgetupft, um anhaftende Pollen untersuchen zu können. Die Tiere und der Pollen werden dabei nicht nur morphologisch bestimmt, sondern auch mittels DNA-Barcoding bzw. DNA-Metabarcoding identifiziert. Dabei sollen neben den potenziellen Bestäuberarten auch die von den Insekten als Nahrungsquelle genutzten Pflanzenarten ermittelt werden. DNA-Metabarcoding - das Analysieren von Mischproben Anhand von Next Generation Sequencing (NGS)- ist eine Methode, die sich im Hinblick auf Bestäubernetzwerke als erfolgreich etabliert hat und in vielen Studien schon genutzt wurde (Lucas et al., 2018; Pornon et al., 2017).

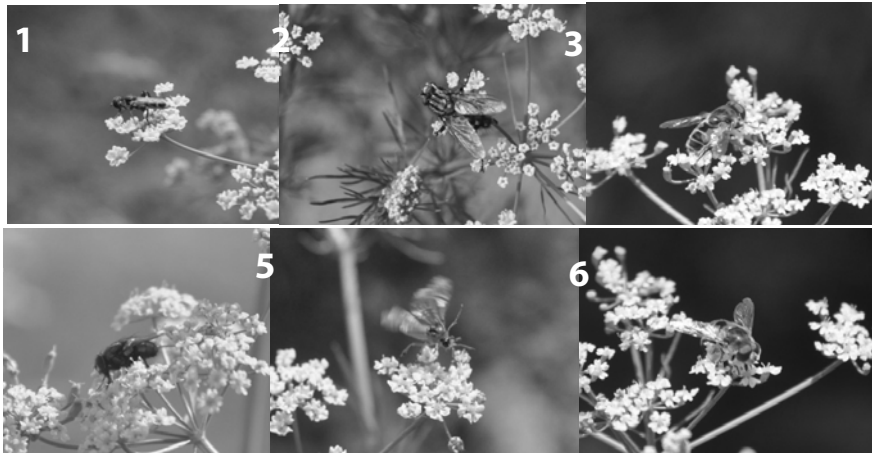
DNA-Barcoding ist eine etablierte Methode, die sich in den letzten Jahren als globaler Standard zur schnellen und zuverlässigen genetischen Artidentifizierung entwickelt hat. Anhand eines kurzen Markergens ist es damit möglich, auch besonders schwierig zu identifizierende Arten oder artenreiche Gruppen zu bestimmen. Für dieses Projekt wird u.a. die Referenzdatenbank von „German Barcode of Life“ (GBOL) benutzt ([www.bolgermany.de](http://www.bolgermany.de)). Das GBOL-Projekt hat das Ziel, die Artenvielfalt aller deutschen Tiere, Pilze und Pflanzen anhand ihres DNA-Barcodes zu erfassen. Es handelt sich um das größte DNA-Barcoding Vorhaben in Europa und es ist gelungen innerhalb der ersten Projektphase über 30% der aus Deutschland bekannten Arten zu erfassen (Wägele, 2016). Erreicht wurden diese Ziele durch ein deutschlandweites Netzwerk aus 23 Institutionen, die sich mit Biodiversitätsforschung beschäftigen und ehrenamtlichen Taxonomen. In das Teilprojekt "Bestäuber in der Landwirtschaft" sind im Wesentlichen drei Einrichtungen involviert:

- 1) Professur Agrarökologie und Organischer Landbau (AOL) der Universität Bonn
- 2) Zoologisches Forschungsmuseum Alexander König (ZFMK) in Bonn
- 3) TIEM (Team Integrierte Umweltüberwachung GbR) der Justus Liebig Universität Gießen (JLU)

### **Vorläufige Ergebnisse und die die geplanten nächsten Schritte**

Im Laufe des Jahres 2016 wurden 1055 Proben an 14 Sammeltagen gesichert, davon gehören 190 Individuen zur Ordnung der Hymenoptera und 865 zur Unterordnung der Brachycera. Die Ergebnisse des DNA-Barcoding der ersten 147 Individuen haben ergeben, dass mindestens 43 Hautflüglerarten aus jeweils 11 Familien nicht nur Blütenbesucher sind, sondern auch höchst wahrscheinlich beim Pollentransfer im komplexen Bestäubernetzwerk des Kümmels eine Rolle spielen. Darüber hinaus gehören 356 Fliegenindividuen mindestens 54 Fliegenarten an, die entweder mit DNA-Barcoding oder morphologisch charakterisiert werden konnten. Diese Ergebnisse werden durch die detaillierten Analyse der Pollenproben präzisiert, wobei die zu erwartende Diversität höher liegt, da durch DNA- Barcoding auch kryptische Arten zu erkennen sind.

Die ca. 1500 Proben aus dem Jahre 2017 befinden sich derzeit noch im Prozess der Aufarbeitung.



**Abb.4:** Potenzielle Bestäuber des Kümmel (*Carum Carvi*) aus der Unterordnung der Brachycera und der Ordnung der Hymenoptera. (1) *Syrirta pipiens* (Syrphidae), (2) Sarcophagidae, (3) *Eristalis* sp. (Syrphidae) (4) Calliphoridae (5) *Athalia* sp. (Tenthredinidae) und (6) *Eristalis tenax* (Syrphidae). ©Isabel Kilian

## Literaturverzeichnis

- Bouwmeester, H. J., & Smid, H. G. (1995). Seed yield in caraway (*Carum carvi*). 1. Role of pollination. *The Journal of Agricultural Science*, 124(02), 235. <https://doi.org/10.1017/S0021859600072907>
- Gallai, N., Salles, J.-M., Settele, J., & Vaissière, B. E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68(3), 810–821. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2008.06.014>
- Hamm, A., & Ssymank, A. (2009). Caring for Pollinators: Safeguarding agrobiodiversity and wild plant diversity. Retrieved July 20, 2018, from <https://www.bfn.de/fileadmin/MDb/documents/service/Skript250.pdf>
- Kleijn, D., Winfree, R., Bartomeus, I., Carvalheiro, L. G., Henry, M., Isaacs, R., ... Potts, S. G. (2015). Delivery of crop pollination services is an insufficient argument for wild pollinator conservation. *Nature Communications*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms8414>
- Lucas, A., Bodger, O., Brosi, B. J., Ford, C. R., Forman, D. W., Greig, C., de Vere, N. (2018). Floral resource partitioning by individuals within generalised hoverfly pollination networks revealed by DNA metabarcoding. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23103-0>
- Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(3), 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Pornon, A., Andalo, C., Burrus, M., & Escaravage, N. (2017). DNA metabarcoding data unveils invisible pollination networks. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16785-5>
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. E. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>
- Ricketts, T. H., Regetz, J., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., Bogdanski, A., Viana, B. F. (2008). Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? *Ecology Letters*, 11(5), 499–515. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01157.x>
- Ssymank, A., Doczkal, D., Rennwald, K., & Dziock, F. (2011). Rote Liste und Gesamtartenliste der Schwebfliegen (Diptera: Syrphidae) Deutschlands.
- Ssymank, A., Kearns, C. A., Pape, T., & Thompson, F. C. (2008). Pollinating flies (Diptera): a major contribution to plant diversity and agricultural production. *Biodiversity*, 9(1–2), 86–89.
- Wägele, J. W. (2016). DNA-Barcoding ermöglicht den universellen und effizienten Zugang zu Artenwissen. *Biologie in Unserer Zeit*, 46(5), 267–267. <https://doi.org/10.1002/biuz.201690078>
- Westrich, P., Frommer, U., Mandery, K., Riemann, H., Ruhnke, H., Saure, C., & Voith, J. (2008). Rote Liste der Bienen Deutschlands (Hymenoptera, Apidae)(4. Fassung, Dezember 2007). *Eucera*, 1(3), 33–87.