

Bloemkleurpolymorfie en hommelveur

Sander P.J. Joosten
Tom J. de Jong
Peter G.L. Klinkhamer

TREFWOORDEN

foerageren, bestuiving, kleurafstand, frequentie-afhankelijke selectie

Entomologische Berichten 67 (1-2): 2-6

Planten produceren kleurrijke bloemen om bestuivers aan te trekken. Meestal hebben de bloemen van een soort dezelfde kleur. Bij een aantal soorten komen echter twee kleuren naast elkaar in dezelfde populatie voor. Paarse en witte bloemkleurpolymorfieën komen vaker stabiel voor dan andere kleurcombinaties. Speelt de bloemkleurveur van hommels een rol bij het al dan niet stabiel voorkomen van verschillende bloemkleuren? In experimenten vonden we dat hommels geen voorkeur hebben voor paarse bloemen boven witte of omgekeerd, maar wel een sterke voorkeur vertonen voor blauwe en gele bloemen boven witte. Voor de paars-witte combinatie gebruikten we bloemen van smeerwortel en vingerhoedskruid. Bij deze soorten komen stabiele kleurpolymorfieën voor. Voor blauw-witte en geel-witte combinaties gebruikten we respectievelijk slangenkruid en keizerskaars. Van deze soorten zijn zeldzame witte mutanten bekend, maar gekleurde en witte bloemvormen komen niet stabiel naast elkaar voor. Al deze plantensoorten worden obligaat door hommels bestoven. Onze resultaten suggereren dat kleurvoorkeur van hommels waarschijnlijk een belangrijke rol speelt bij het in stand houden of verdwijnen van bloemkleurpolymorfieën in plantenpopulaties.

Inleiding

Naast grootte en vorm is kleur een belangrijke factor in de aantrekkelijkheid van bloemen (Levin 1968, Frankie *et al.* 1976, Chittka & Menzel 1992, Galen 1996, Spaethe *et al.* 2001). Bloemkleurpolymorfie is het verschijnsel dat bij een plantensoort meerdere bloemen voorkomen die van kleur verschillen. Vaak gaat het om een gekleurde (rood, geel, blauw *et cetera*) en een witte bloem, waarbij de witte meestal ontstaat is door mutatie. Bij de soorten waarvan witte mutanten bekend zijn komen stabiele en instabiele polymorfieën voor. Bij soorten met een instabiele polymorfie verdwijnt enkele generaties na introductie de witte vorm uit de populatie. Kennelijk is hier sprake van sterke selectie tegen de witte vorm. Paars-witte tweekleurigheid komt vaker voor dan andere combinaties en paars-witte combinaties zijn ook vaker stabiel. Kennelijk is er bij deze combinatie geen sprake van gerichte selectie.

Wat leidt tot het verdwijnen van wit bij sommige kleurcombinaties, terwijl andere kleurcombinaties blijven bestaan? Een verklaring voor dit fenomeen wordt mogelijk gevonden in een kleurvoorkeur van bestuivers. Wanneer bestuivers een sterke voorkeur vertonen voor een van de kleuren, dus de bloemen van de andere kleur matig bezoeken, kan dit leiden tot een sterke afname van pollentransport en lagere zaadzetting (fitnessreductie). Een dergelijke voorkeur voor kleuren kan het resultaat zijn van frequentie-afhankelijk bezoek, waarbij in het geval van positieve frequentie-afhankelijkheid de meest voorkomende kleur verhoudingsgewijs vaker bezocht wordt (Smithson & Macnair 1996, 1997); dit leidt dan tot selectie tegen een witte mutant als deze in lage frequenties voorkomt. Daarnaast kunnen be-

stuivers een inherente voorkeur hebben voor een van de kleuren.

Bestuivende insecten hebben een andere set fotoreceptoren dan de mens. Hun bereik van golflengtes waarvoor de receptoren gevoelig zijn is ten opzichte van dat van de mens verschoven in de richting van de kortere golflengtes (Menzel 1979, Barth 1982, Menzel & Backhaus 1991). Terwijl de mens fotoreceptoren heeft met maximale gevoeligheid voor rood, groen en blauw hebben hommels fotoreceptoren met maximale gevoeligheid voor ultraviolet (UV), blauw en groen. Hommels nemen dan ook wél UV waar, maar zien veel minder goed rood (Kevan *et al.* 1996). Een voorbeeld: als blauw en wit beide UV reflecteren zien hommels respectievelijk hommels-UV-blauw en hommels-wit (groot kleurverschil). Als er geen UV-reflectie zou zijn veranderen de kleuren in hommels-blauw en hommels-blauwgroen (klein kleurverschil).

We hebben onderzocht hoe sterk de twee kleuren van verschillende bloempolymorfieën van elkaar verschillen voor hommels.

Materialen & methoden

We hebben gekeken naar de kleurvoorkeur van de natuurlijke bestuivers – aardhommel (*Bombus terrestris* (Linnaeus)) en akkerhommel (*Bombus pascuorum* (Scopoli)) – voor vier plantensoorten met in totaal drie kleurcombinaties. Twee plantensoorten hebben een stabiele en twee een instabiele kleurpolymorfie (tabel 1). De kleurvoorkeur is getoetst via hommelsbezoek in een kooi (80 x 40 x 40 cm) bedekt met fijnmazig gaas waarin telkens

één aardhommel foerageerde op tien bloemkronen in eppendorf-buisjes die waren geplaatst op twee rijen van vijf houten blokjes. De nectargift per bloem werd constant gehouden door aan elke bloem via een micropipet 5 µl honingwater toe te voegen nadat de reeds aanwezige eigen nectar en meeldraden verwijderd waren. Om frequentie-afhankelijkheid van de kleurkeuze te toetsen zijn in de kooi drie kleurverhoudingen aangeboden: 20, 50 en 80% wit. Bij iedere kleurverhouding is het fourageergedrag van vijftien naïeve mannelijke hommels geobserveerd (hommels die nog nooit een bloem bezocht of nectar gegeten hebben). Dit experiment is herhaald met kunstbloemen om eventuele invloeden van bloemvorm en bloemgrootte uit te schakelen. De kunst-

bloemen bestonden uit ronde kartonnetjes (doorsnede vijf centimeter) met kleuren, die voor het menselijk oog zo veel mogelijk overeenkwamen met de bloemkleuren. Ook hier is voor iedere verhouding van bloemkleuren het fourageergedrag van vijftien hommels onderzocht.

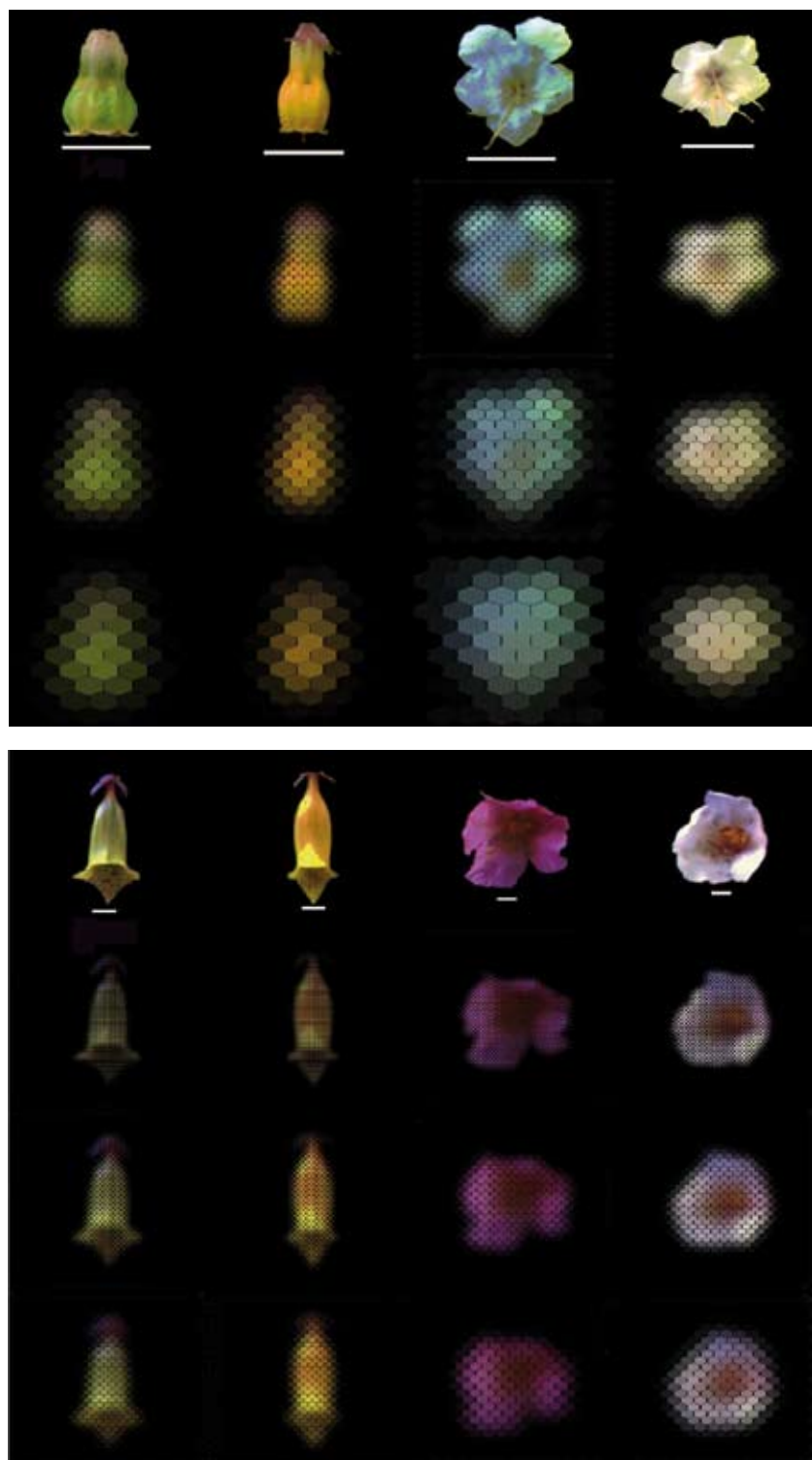
Naast kooi-experimenten zijn ook kunstmatige populaties, bestaande uit 24 planten in potten van de soorten met een stabiele polymorfie, opgezet in verschillende kleurverhoudingen. De planten stonden in zes rijen van vier met een onderlinge afstand van een meter. Deze populaties bevonden zich aan de rand van de Hortus Botanicus in Leiden, waar geen natuurlijke populaties aanwezig waren. In deze experimenten zijn 30 wilde hommels gevolgd vanaf het moment dat ze de populatie binnenvlogen totdat ze de populatie verlieten.

Om vast te stellen hoe hommels de bloemkleuren zien hebben Vorobyev *et al.* (1997) een techniek ontwikkeld waarbij digitale foto's gemaakt worden van de bloemen door vijf filters, die tezamen het gezichtsveld van hommels overlappen. Door deze foto's te combineren kan een beeld gevormd worden van bloemen zoals hommels ze zien. Omdat de mens geen UV kan waarnemen zijn de bloemen door middel van een vertaalslag zichtbaar gemaakt voor de mens. In deze vertaalslag zijn de fotoreceptoren van hommels gekoppeld aan 'valse kleuren'. Deze 'valse kleuren' zijn de primaire monitorkleuren (van een tv of computer) blauw (voor de UV-receptor van hommels), groen (voor de blauwreceptor) en rood (voor de groenreceptor). Groene kleuren in 'valse kleuren' zijn blauw voor hommels, paars (blauw en rood) in 'valse kleuren' is een mengeling van UV en groen voor hommels (Vorobyev *et al.* 1997). We hebben dezelfde procedure toegepast voor de door ons gebruikte bloemen (figuren 1-2).

Uit de digitale beelden van de bloemen is een maat voor kleurverschil geëxtraheerd. Met behulp van een model voor zicht in hommels (Receptor Noise Limited Model, Vorobyev *et al.* 2001) en gevoeligheidsfuncties voor hommelreceptoren (Peitsch *et al.* 1992) zijn 'kleurafstanden' tussen de bloemvormen berekend (tabel 1). Hommels kunnen twee kleuren onderscheiden als de kleurafstand 2.3 of meer is (Hempel de Ibarra *et al.* 2001, Vorobyev *et al.* 2001).

Resultaten

De kooi-experimenten laten zien dat hommels een sterke voorkeur hebben voor zowel blauw als geel ten opzichte van wit. Dit geldt voor de echte bloemen (figuur 3) en de kunstbloemen (resultaten niet getoond). Als we voor elke kleurverhouding het percentage bezoek aan een kleur uitzetten tegen het percentage bloemen met die kleur in de kooi dan verwachten we dat de punten op de lijn $y=x$ liggen (als hommels geen voorkeur hebben). Voor blauw en geel liggen alle punten boven de lijn, hetgeen laat zien dat hommels voor deze kleuren een voorkeur hebben boven wit. Hommels hebben daarentegen geen voorkeur bij paarse of witte bloemen. Dit geldt voor



Figuur 1. Een representatie van de bloemen van de door ons gebruikte soorten zoals ze op verschillende afstanden waargenomen worden door hommels.
A representation of the flowers of the species used in the experiments in the way they are experienced by bumblebees at different distances.

Tabel 1. Kleurcombinatie, stabiliteit, de visuele kleurafstand voor hommels en het gemiddelde percentage witte bloemen in natuurlijke populaties in Nederland van vier plantensoorten waarvan bloemkleur-polymorfismen bekend zijn.

Colour combination, stability of the colour polymorphism, visual colour distance for bumblebees and average percentage white flowers in naturally occurring populations for four species in The Netherlands.

soort	kleurcombinatie	stabiliteit	kleurafstand	% wit in natuurlijke populaties
vingerhoedskruid (<i>Digitalis purpurea</i>)	paars-wit	stabiel	5.05	± 30
smeewortel (<i>Symphytum officinale</i>)	paars-wit	stabiel	2.65	± 45
slangenkruid (<i>Echium vulgare</i>)	blauw-wit	instabiel	3.34	< 0.1
keizerskaars (<i>Verbascum phlomoides</i>)	geel-wit	instabiel	8.06	< 0.1

zowel de echte bloemen (figuur 4) als voor de kunstbloemen (resultaten niet getoond). Bij smeewortel (*Symphytum officinale*) liggen de punten bij een lage verhouding van paarse bloemen in de kooi iets onder de lijn $x=y$ en bij een hoge verhouding iets boven deze lijn. Dit duidt op positief frequentie-afhankelijk bezoek. De meest voorkomende kleur wordt verhoudingsgewijs vaker bezocht. Bij geen enkele van de verhoudingen in de kunstmatige populatie van 24 planten is een afwijking van proportioneel bezoek door hommels waargenomen (figuur 5). In deze populaties hadden hommels dus eveneens geen voorkeur voor paars of wit en ook is er geen sprake van positief frequentie-afhankelijk bezoek.

Discussie

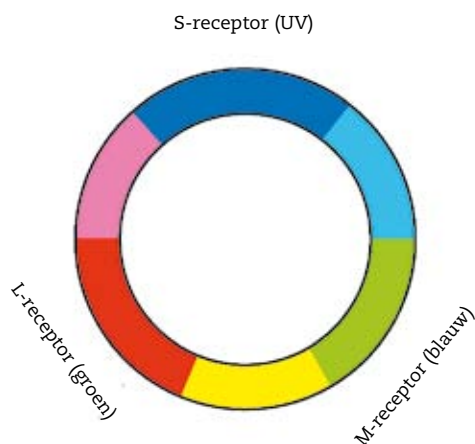
Kleurafstanden

Alle bloemkleuren zijn door hommels van elkaar te onderscheiden, omdat alle kleurafstanden groter zijn dan de grenswaarde van 2.3. Hoewel hommels dus geen voorkeur voor paars of wit hebben, kunnen ze wel degelijk onderscheid maken tussen deze kleuren. Dit werd bevestigd door leerexperimenten waarbij hommels getraind werden te foerageren op paarse of witte kartonnetjes (resultaten niet getoond). Over het algemeen geldt: hoe groter de kleurafstand, hoe makkelijker de kleuren te onderscheiden zijn (Hempel de Ibarra et al. 2001). Als het al of niet aanwezig zijn van een kleurvoorkeur te maken heeft met hoe goed hommels onderscheid kunnen maken tussen kleuren zouden we verwachten dat de afstand tussen de kleuren van slangenkruid (*Echium vulgare*) en keizerskaars (*Verbascum phlomoides*)

veel groter is dan bij smeewortel en vingerhoedskruid (*Digitalis purpurea*). Dit bleek niet het geval: de kleurafstand tussen de kleurvormen van vingerhoedskruid is voor hommels zelfs groter dan de afstand tussen de kleurvormen van slangenkruid (tabel 1). Stabiliteit van een kleurpolymorfie blijkt dus niets te maken te hebben met de grootte van het kleurverschil. Klaarblijkelijk hebben hommels een aangeboren voorkeur voor geel en blauw boven wit, maar niet voor paars boven wit of omgekeerd.

Toevalsprocessen

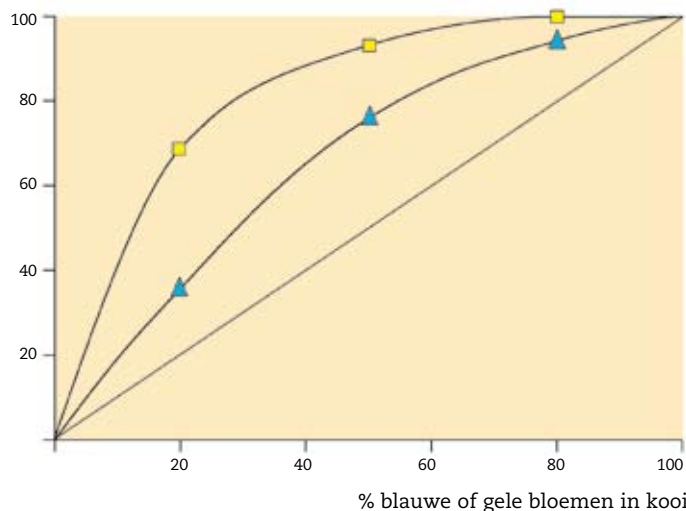
Bij de twee instabiele polymorfieën – dat wil zeggen bij slangenkruid en keizerskaars – vonden we een voorkeur voor de kleur die in natuurlijke populaties het meeste voorkomt. Omdat hommels in alle frequenties significant meer geel of blauw dan wit bezoeken, kunnen we spreken van kleurvoorkeur. Van frequentie-afhankelijk bezoek is geen sprake bij deze kleurcombinaties. Witbloeiende planten worden waarschijnlijk minder goed bestoven en kunnen om die reden verdwijnen uit natuurlijke populaties. Witte en paarse bloemen schijnen even aantrekkelijk te zijn voor hommels. Hier is dus geen sterke selectie tegen de witte variant. Dit betekent echter niet dat we daarom verwachten dat bij deze soorten alle populaties tweekleurig zijn. Door toevalsprocessen zouden eenkleurige populaties moeten ontstaan. Het zou de moeite waard zijn om populaties van smeer-



Figuur 2. Hommelreceptoren zijn gekoppeld aan 'valse kleuren'. Dit zijn de primaire monitorkleuren die overeenkomen met de menselijke fotoreceptoren. Waar de beelden blauw zijn gekleurd in 'valse kleuren' zien hommels UV, waar ze groen zien zien hommels blauw. S-, M- en L-receptor betekent korte (UV), middelste (blauwe) en lange (groene) golflengte-receptor.

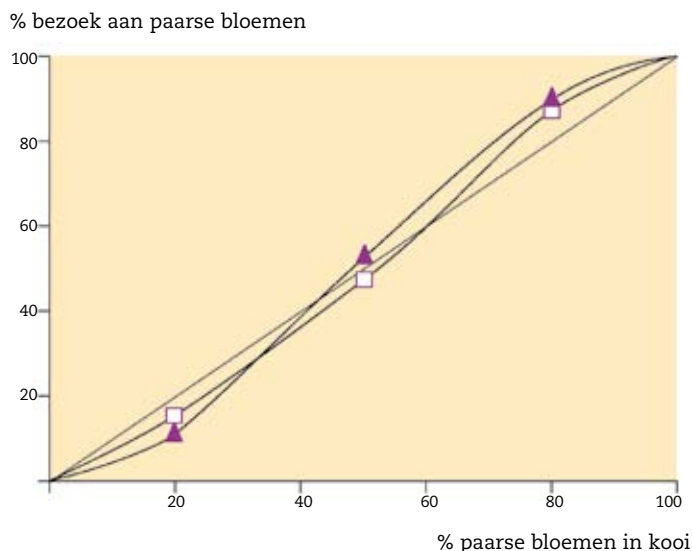
Photoreceptors of bumblebees are labelled to 'false colours'. These are the primary monitor colours coinciding with human photoreceptors. Blue in the images is UV for bumblebees, green stands for blue in bumblebee vision. S-, M- and L-receptor mean short (UV), middle (blue) and long (green) wave-length receptor.

% bezoek aan blauwe of gele bloemen



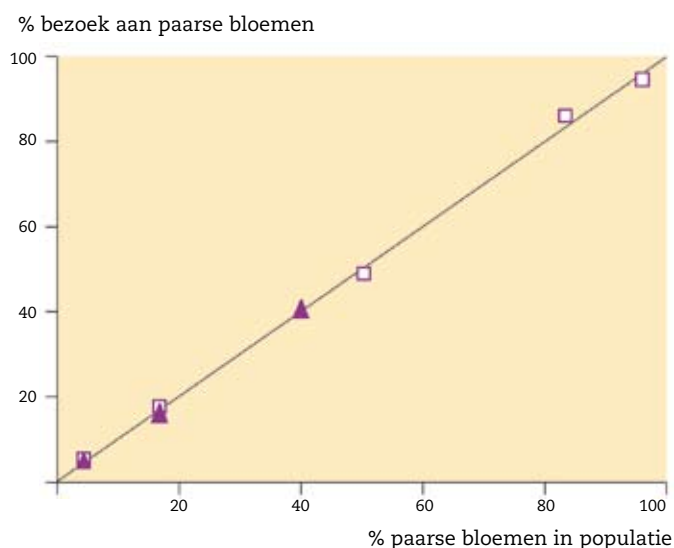
Figuur 3. Een kooiproef met gekleurde (blauwe of gele) en witte bloemen. Het percentage bezoek aan gele of blauwe bloemen als functie van het percentage gele of blauwe bloemen met in totaal tien bloemen. Bij alle verhoudingen is het percentage bezoek aan blauw of geel significant groter dan verwacht. Geel = *V. phlomoides*, blauw = *E. vulgare*. De rechte lijn geeft het verwachte percentage bezoek als hommels geen voorkeur zouden hebben.

The proportion of visits in a cage to coloured flowers (blue or yellow) as a function of the proportion of coloured flowers. There are significantly more visits than expected to coloured flowers at all frequencies. Yellow = *Verbascum phlomoides*, blue = *Echium vulgare*. The straight line indicates the expected proportion of visits if bumblebees would show no preference.



Figuur 4. Een kooiproef met paarse en witte bloemen. Het percentage bezoek aan paarse bloemen als functie van het percentage paarse bloemen met in totaal tien bloemen. Er is geen sprake van sterke voorkeur. De rechte lijn geeft het verwachte percentage bezoek als hommels geen voorkeur zouden hebben. Paars = *Symphytum officinale*, wit = *Digitalis purpurea*.

The proportion of visits in a cage to purple flowers as a function of purple flowers. Bumblebees have no strong preference. The straight line indicates the expected proportion of visits if bumblebees would show no preference. Purple = *Symphytum officinale*, white = *Digitalis purpurea*.



Figuur 5. Het percentage bezoek aan paarse bloemen als functie van het percentage paarse bloemen in een populatie met paarse en witte bloemen. Hommels hebben geen voorkeur. De rechte lijn geeft het verwachte percentage bezoek als hommels geen voorkeur zouden hebben. Paars = *Symphytum officinale*, wit = *Digitalis purpurea*.

The proportion of visits to purple flowers as a function of purple flowers in a population with both purple and white flowers. Bumblebees show no preference. The straight line indicates the expected proportion of visits if bees would show no preference. Purple = *Symphytum officinale*, white = *Digitalis purpurea*.

wortel te inventariseren en daarbij te letten op de verhouding wit- en paarsbloeiende planten. Is die verhouding willekeurig of is er sprake van een vaste verhouding? We hebben de indruk dat dit laatste het geval is. Andere processen moeten dus verantwoordelijk zijn voor de handhaving van de polymorfie. Hommelgedrag verklaart wel het verdwijnen van sommige polymorfieën, maar niet de handhaving van andere.

Dankwoord

De auteurs zijn veel dank verschuldigd aan Natalie Hempel de Ibarra van de Vrije Universiteit van Berlijn voor de kleuranalyse van de bloemen.

Akkerhommel
Bombus pasquorum.
Foto:
Arthur Sevestre



Literatuur

- Barth FG 1982. Insect and flowers: the biology of a partnership. Princeton University Press.
- Chittka L & Menzel R 1992. The evolutionary adaptation of flower colours and the insect pollinators' colour vision. *Journal of Comparative Physiology A* 171: 171-181.
- Frankie GW, Opler PA & Bawa KS 1976. Foraging behaviour of solitary bees: implications for outcrossing of a neotropical forest tree species. *The Journal of Ecology* 64: 1049-1057.
- Galen C 1996. Rates of floral evolution: adaptation to bumblebee pollination in an alpine wildflower, *Polemonium viscosum*. *Evolution* 50: 120-125.
- Hempel de Ibarra N, Giurfa M & Vorobyev M 2001. Detection of coloured patterns by honeybees through chromatic and achromatic cues. *Journal of Comparative Physiology A* 187: 215-224.
- Kevan P, Giurfa M & Chittka L 1996. Why are there so many and so few white flowers? *Trends in Plant Science* 1: 280-284.
- Levin DA 1968. The effect of corolla and outline on interspecific pollen flow in *Phlox*. *Evolution* 23: 444-455.
- Menzel R 1979. Spectral sensitivity and colour vision in invertebrates. In: *Handbook of sensory physiology* (Autrum H ed): 503-580. Volume VI/6A. Springer.
- Menzel R & Backhaus W 1991. Colour vision in insects. In: *Vision and visual dysfunction: the perception of colour* (Gouras P ed): 262-288. MacMillan Press.
- Peitsch D, Fietz A, Hertel H, de Souza J, Fix Ventura D & Menzel R 1992. The spectral input systems of hymenopteran insects and their receptor-based colour vision. *Journal of Comparative Physiology A* 170: 23-40.
- Smithson A & Macnair MR 1996. Frequency-dependent selection by pollinators: mechanisms and consequences with regard to behaviour of bumblebees *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Evolutionary Biology* 9: 571-588.
- Smithson A & Macnair MR 1997. Density-dependent and frequency-dependent selection by bumblebees *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 60: 401-417.
- Spaethe J, Tautz J & Chittka L 2001. Visual constraints in foraging bumblebees: flower size and color affect search time and flight behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 3898-3903.
- Vorobyev M, Brandt R, Peitsch D, Laughlin SB & Menzel R 2001. Colour thresholds and receptor noise: behaviour and physiology compared. *Vision Research* 41: 639-653.
- Vorobyev M, Gumbert A, Kunze J, Giurfa M & Menzel R 1997. Flowers through insect eyes. *Israel Journal of Science* 45: 93-101.

Ingekomen 24 oktober 2005, geaccepteerd 17 oktober 2006.

Summary

Flower colour polymorphism and bumblebee preference

Although flower colour morphs are known for many plant species, stable colour polymorphisms are rarely found in natural populations. Purple-white polymorphisms are most common, while for instance yellow-white combinations are almost completely absent. Can bumblebee colour preferences help to explain this pattern? We studied bumblebee preferences for flower colour in four species. For two species, *Digitalis purpurea* and *Symphytum officinale* (both purple-white), polymorphisms are frequently found, while for the other two species, *Echium vulgare* (blue-white) and *Verbascum phlomoides* (yellow-white), mutants are known but stable polymorphisms are not found.

Naive males of *Bombus terrestris* have a strong preference for blue and yellow flowers over white ones. These bumblebees do not show a preference for purple over white or *vice versa*, even though they are able to distinguish the two colour morphs. When cardboard paper flowers are used, bumblebees also prefer blue and yellow over white and they have no preference for purple over white or *vice versa*. Artificial populations of 24 plants with different frequencies of purple/white of *D. purpurea* and *S. officinale* showed no differences in number of visited flowers between both colours by free living bumblebees.

Bumblebees have a different colour vision system compared to humans. Pictures made of the flower morphs give insight in bumblebee vision. Both learning experiments and colour analysis of the flowers showed that bumblebees are able to discriminate between purple and white. The preferences found in this study help to explain why some flower colour polymorphisms are more common than others.



Sander P.J. Joosten, Tom J. de Jong & Peter G.L. Klinkhamer

Sectie Plantenecologie

Instituut voor Biologie

Universiteit Leiden

Postbus 9516

2300 RA Leiden

P.G.L.Klinkhamer@rulfsb.leidenuniv.nl