



Beitrag zur Klärung des Artstatus von *Nomada goodeniana* (Kirby, 1802) und *Nomada succincta* Panzer, 1798 (Hymenoptera, Apidae)

Contribution to the Clarification of the Species Status of *Nomada goodeniana* (Kirby, 1802) and *Nomada succincta* Panzer, 1798 (Hymenoptera, Apidae)

OLAF DIESTELHORST & KLAUS LUNAU

Zusammenfassung: Die beiden *Nomada*-Arten, *N. goodeniana* (Kirby, 1802) und *N. succincta* Panzer, 1798, lassen sich morphologisch nur anhand farblicher Merkmale unterscheiden und werden von manchen Autoren synonymisiert. Mittels eines molekularen Markers (CO1) konnten die in dieser Studie untersuchten Exemplare aus verschiedenen Regionen in Nordrhein-Westfalen und Rheinland-Pfalz eindeutig getrennt werden; auch so genannte Übergangsformen ließen sich eindeutig einer der beiden Arten zuordnen. Aufbauend auf diese Unterscheidung nach Sequenzmerkmalen gelang es, anhand von Fotos von den für die Determination wichtigen Körperpartien problematische Fälle besser zuzuordnen.

Schlüsselwörter: *Nomada goodeniana*, *Nomada succincta*, DNA, CO1, Artstatus

Summary: The two *Nomada* species, *N. goodeniana* (Kirby, 1802) and *N. succincta* Panzer, 1798, can morphologically only be distinguished by differences in their colouration. Some authors treat them as a single species and synonymise species names. In this study specimens of the two species found in different places in North Rhine-Westfalia and Rhineland-Palatinate were clearly separated using a molecular marker (CO1), including so-called transitional forms. Based on the distinction of the two species according to molecular sequence data, some important morphological distinguishing characters represented by photos were more helpful to determine problematic cases.

Key words: *Nomada goodeniana*, *Nomada succincta*, DNA, CO1, species status

1. Einleitung

Die nah verwandten Wespenbienen (Nomadinae; Anthophoridae; Hymenoptera), *Nomada goodeniana* (Kirby, 1802) und *Nomada succincta* Panzer, 1798, lassen sich nur anhand farblicher Merkmale voneinander trennen und werden von einigen Autoren synonymisiert (CELARY 1995). Zur Determination werden entweder der Schlüssel von STOECKHERT (1930) oder die illustrierten Bestimmungstabellen von SCHEUCHL (2000), welche auf dem Schlüssel von STOECKHERT basieren, benutzt. Neu ist ein Bestimmungsschlüssel von AMIET et al. 2007.

Während manche Autoren angeben, sie könnten alle untersuchten Tiere eindeutig einer der beiden Arten zuordnen (KUHLMANN 1997; SCHWARZ et al. 1996; WESTRICH 1990), hatten wir in eigenen Fängen einige Tiere, die sich mit der Bestimmungsliteratur nicht eindeutig zuordnen ließen und als so genannte Übergangsformen gelten mussten. AMIET et al. (2007) schreiben, dass sich die Weibchen der beiden Arten nicht immer eindeutig trennen lassen und in ihrer Zeichnung variieren. Um morphologisch nicht eindeutig unterscheidbare Arten voneinander abzutrennen, bietet sich eine Sequenzierung der mitochon-

drialen DNA an (FOLMER et al. 1994; HEBERT et al. 2003). Bei der Rekonstruktion einer Phylogenie verschiedener europäischer *Nomada*-Arten anhand von mitochondrialen DNA-Sequenzen (CO1) ließen sich die Schwesterarten *N. fucata* Panzer, 1798 und *N. bifasciata* Olivier, 1811 und die ebenfalls zur *bifasciata*-Gruppe (ALEXANDER & SCHWARZ 1994) gehörenden Arten *N. goodeniana* und *N. succincta* eindeutig voneinander trennen (DIESTELHORST unveröff.). Die hier berücksichtigten DNA-Sequenzen der vier Arten sind in der Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov) mit den Nummern EU678365-678368 hinterlegt.

2. Material und Methoden

Von insgesamt 14 Weibchen der Arten *Nomada goodeniana* und *Nomada succincta* von verschiedenen Fundorten in Nordrhein-Westfalen (NRW) und Rheinland-Pfalz (RLP) wurde die DNA extrahiert und ein 390 Basenpaare langes Teilstück der mitochondrialen DNA (CO1) sequenziert (Tab. 1).

Zur DNA-Gewinnung wurden Teile der Thoraxmuskulatur mit einem DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen) nach Herstellerprotokoll extrahiert. Eine PCR wurde mit den Primern (CO1 hco extA und CO1 hco

extB) von SCHULMEISTER (2003) unter den dort angegebenen Bedingungen mit einem Eppendorf Mastercycler gradient durchgeführt. Das PCR-Produkt wurde mit einem QIAquick® PCR Purification Kit (Qiagen) aufgereinigt. Die Sequenzierungen erfolgten im BMFZ der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf mit einem Applied Bio Systems 3130XL Genetic Analyzer. Das Alignment erfolgte mit dem Programm BioEdit (Version 7.0.5.3) (HALL 1999), weitere phylogenetische und molekulare Analysen wurden mit MEGA Version 3.1 (KUMAR et al. 2004) durchgeführt

Von den für die Determination wichtigen Körperpartien (Kopf, Abdomen und Beine) der untersuchten Tiere wurden mit einem Binokular (ZEISS Stemi SV 11) und einer mit einem Adapter montierten Digitalkamera (Nikon Coolpix 4500) Farbaufnahmen gemacht. Es wurden der Kopf in Frontalansicht, die Oberseite des Abdomens, die Unterseite des Abdomens, die Vorderseite der Hintertibien und die Rückseite der Hintertibien fotografiert.

Die verwendeten Tiere stammen aus der Sammlung von O. DIESTELHORST, Düsseldorf und von M. SCHINDLER, Bonn. Alle Tiere waren genadelt und getrocknet und wurden

| Exemplar | GenBank accession number | sex | Fundort | Fangdatum |
|----------------------|--------------------------|-----|-----------------|------------|
| good-A | - | ♀ | Düsseldorf NRW | 09.06.2003 |
| good-B | - | ♀ | Düsseldorf NRW | 14.04.2005 |
| good-C | - | ♀ | Bonn NRW | 20.04.2000 |
| good-D | - | ♀ | Bonn NRW | 02.04.2000 |
| good-E | - | ♀ | Bonn NRW | 02.04.2000 |
| good-F | EU678367 | ♀ | Düsseldorf NRW | 09.06.2006 |
| good-G | - | ♀ | Bonn NRW | 20.04.2000 |
| good-H | - | ♀ | Loreley RLP | 16.04.2003 |
| good-I | - | ♀ | Bonn NRW | 02.04.2000 |
| succ-J | - | ♀ | Bad Münster RLP | 14.04.2004 |
| succ-K | - | ♀ | Bad Münster RLP | 14.04.2004 |
| succ-L | - | ♀ | Bad Münster RLP | 14.04.2004 |
| succ-M | - | ♀ | Bünde NRW | 25.04.2004 |
| succ-N | EU678368 | ♀ | Düsseldorf NRW | 30.04.2004 |
| <i>N. fucata</i> | EU678366 | ♀ | Düsseldorf NRW | 30.04.2004 |
| <i>N. bifasciata</i> | EU678365 | ♀ | Bad Münster RLP | 14.04.2004 |

Tab. 1: Fund- und Registrierungsdaten der untersuchten Exemplare von *Nomada*.

Tab. 1: Collection and registration data of the examined specimens of *Nomada*.

mit dem Schlüssel von SCHEUCHL (2000) vor-determiniert. Für die Untersuchung wurden solche Tiere, die nach den Bestimmungsmerkmalen eindeutig einer der beiden Formen zugeordnet werden konnten, und so genannte Übergangsformen ausgewählt.

3. Ergebnisse

Alle Sequenzen konnten bei der Auswertung einer der beiden bereits vorhandenen Vergleichssequenzen zugeordnet werden. Acht Tiere hatten eindeutig die für *Nomada goodeniana* typische Basenabfolge, die restlichen vier Tiere unterschieden sich ebenfalls nicht in ihrer Sequenz und konnten *Nomada succincta* zugeordnet werden (Abb. 1). Beide Arten unterscheiden sich konstant an zehn Positionen in dem untersuchten Sequenzabschnitt. Alle so genannten Übergangsformen, die sich mit der Bestimmungstabelle nicht eindeutig zuordnen ließen, darunter insbesondere good-I, good-D und good-G gehörten nach Sequenzmerkmalen zu *N. goodeniana* (Abb. 2). Diejenigen Exemplare, die vorher eindeutig determiniert werden konnten, stimmten auch nach ihren Sequenzmerkmalen mit dem erwarteten Ergebnis überein.

Bei der Analyse der farblichen Merkmale wurde bei den untersuchten *N. goodeniana*-♀♀ (n = 9) eine größere Variationsbreite als bei den *N. succincta*-♀♀ (n = 5) festgestellt (s. Abb. 2, 3).

4. Diskussion

Die PCR-Analyse erbrachte keine Variabilität in der Sequenz innerhalb der beiden untersuchten Arten sowie deutliche und konstante Unterschiede zwischen den beiden Arten. Aufgrund dieses Ergebnisses konnte die Frage, *Nomada goodeniana* und *Nomada succincta* zu trennen und kritische Exemplare zuzuordnen, eindeutig gelöst werden. Die Hypothese, dass es sich bei *N. goodeniana* und *N. succincta* um zwei Biospezies (Biospezies sensu MAYR 1963) handelt, wird ebenfalls gestützt. Zur weiteren Klärung dieser Annahme könnten verhaltensbiologische Untersuchungen beitragen.

Betrachtet man die in Tabelle 2 aufgeführten und nach STOECKHERT (1930) für die Artunterscheidung relevanten Merkmale, so war besonders die Ausdehnung der Gelbfärbung von Clypeus und Wangen im Gesicht und der Unterseite des Fühlerschaftes sowie die Färbung der Beine nicht immer eindeutig einer der beiden Arten zuzuordnen. Die von STOECKHERT

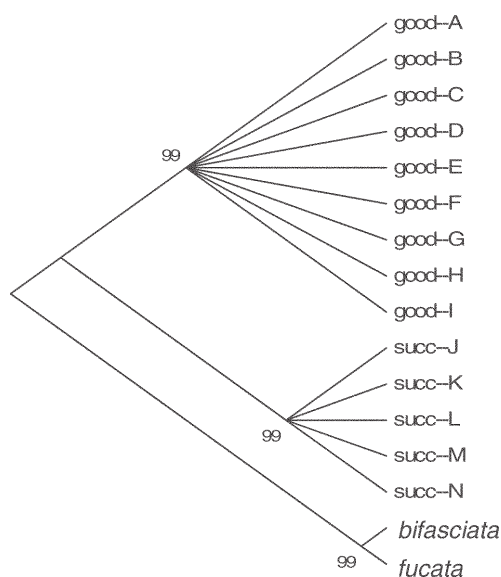


Abb. 1: Neighbour Joining Tree (390 Bp) von neun *Nomada goodeniana* ♀♀ und fünf *N. succincta* ♀♀, mit *N. bifasciata* und *N. fucata* als Außengruppe.

Fig. 1: Neighbour Joining Tree (390 Bp) of 9 *Nomada goodeniana* ♀♀ and 5 *N. succincta* ♀♀, with *N. bifasciata* and *N. fucata* as outgroup.

(1930) und SCHEUCHL (2000) angegebenen Unterschiede in der Körpergröße, nach denen *N. succincta* eher etwas kleiner (10-12 mm) und *N. goodeniana* meist größer ist (10-14 mm), wurde aufgrund der wenigen untersuchten Exemplare hier nicht berücksichtigt. Bei AMIET et al. (2007) wird bei den Weibchen beider Arten 10-13 mm als Größe angegeben.

Der Clypeus soll nach STOECKHERT (1930) bei *N. succincta* „fast immer ganz gelb“ sein, während er bei *N. goodeniana* ganz schwarz oder nur am Vorderrand gelb oder rostrot ist. AMIET et al. (2007) geben für *N. succincta* eine ausgedehnte Gelbfärbung und bei *N. goodeniana* eine rote oder gelbe Färbung nur am Vorderrand des Clypeus an. Die Möglichkeit eines vollständig schwarzen Clypeus bei *N. goodeniana* erwähnen sie nicht.

Bei den untersuchten Tieren ist der Clypeus nur bei succ-M (Abb. 3) ganz gelb; alle *N. succincta* besitzen einen deutlichen gelben Fleck auf dem Clypeus. Bei *N. goodeniana* würde man good-D (Abb. 2), aufgrund der ausgedehnten Gelbfärbung des Clypeus, nach diesem Kriterium nur schwer zuordnen können.

Das Unterscheidungsmerkmal „Wangenflecken“ beschreibt STOECKHERT (1930) als „groß und breit“ bei *N. succincta* und „wenn überhaupt vorhanden, nur klein und schmal“ bei

N. goodeniana. Alle in dieser Studie untersuchten Tiere hatten Wangenflecken; bei *N. succincta* waren sie auch immer groß und breit (Abb. 3) wie von STOECKHERT (1930) angegeben; bei *N. goodeniana* waren allerdings bei den Exemplaren good-B, good-C, good-D, good-G und good-I (Abb. 2) die Wangenflecken zumindest nicht schmal.

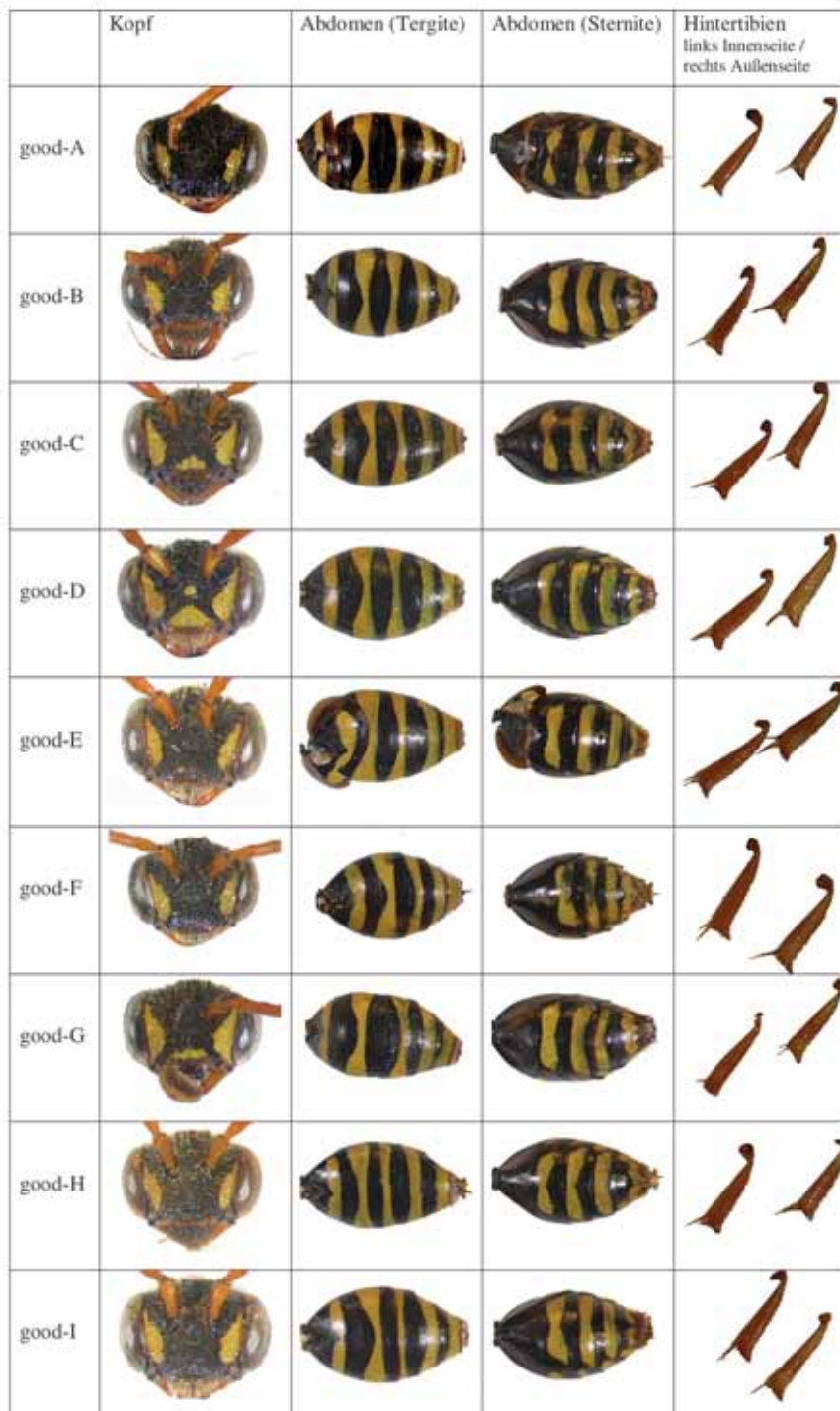
Die Färbung der Rückseite des Fühlerschaftes und der Fühlergeißel ließ bei den hier untersuchten Weibchen keine Trennung zu. Der Schaft war hinten immer schwarz und oft auch das erste und zweite Geißelglied.

Die Unterseite des Fühlerschaftes wird von STOECKHERT (1930) als ein wichtiges Kriterium zur Unterscheidung der beiden Arten angegeben (Tab. 2). Bei *N. goodeniana* soll er „unten niemals gelb“ sein. Bei dem *N. goodeniana* zugeordnetem Exemplar good-D (Abb. 2) ist er allerdings zumindest teilweise gelb und ähnlich dem *N. succincta* zugeordnetem Exemplar succ-O (Abb. 3), so dass hier Verwechslungsmöglichkeiten bestehen. Das konstanteste und bei allen hier untersuchten Tieren auftretende Unterscheidungsmerkmal war die ausgedehnte Gelbfärbung der Tergite und Sternite bei *N. succincta* oder, mit der Beschreibung von STOECKHERT (1930), die unterschiedliche Breite der gelben

Tab. 2: Merkmale zur Unterscheidung von *Nomada goodeniana* ♀♀ und *N. succincta* ♀♀ nach STOECKHERT (1930).

Tab. 2: Distinguishing characters for *Nomada goodeniana* ♀♀ and *N. succincta* ♀♀ after STOECKHERT (1930).

| | <i>Nomada goodeniana</i> | <i>Nomada succincta</i> |
|----------------|--|--|
| Größe | 10 - 14 mm | 10 - 12 mm |
| Clypeus | ganz schwarz oder nur am Vorderrand gelb oder rostrot | fast immer ganz gelb |
| Wangenflecken | wenn vorhanden, dann klein und schmal | groß und breit |
| Fühlerschaft | meist einfarbig rostrot Schaft unten niemals gelb | oben wie das 1 und 2 Geißelglied schwarz, Schaft unten oft gelb |
| Fühlergeißel | selten Schaft und die beiden ersten Geißelglieder oben verdunkelt | manchmal die Geißel in größerer Ausdehnung verdunkelt |
| Tergabinden | die gelben Binden der Terga schmaler, zuweilen sind die Binden auffallend schmal | die gelben Binden der Terga sehr breit |
| Tergit 1 | die erste Binde geteilt, sehr selten auch die Zweite | selten die erste Binde unterbrochen |
| Farbe Beine | rostrot | gelb |
| Hinterschenkel | oben nur teilweise schwarz | fast ganz schwarz |
| Vorderschenkel | nur basal unten geschwärzt | größtenteil schwarz |
| Mittelschenkel | nur basal unten geschwärzt | größtenteil schwarz |

**Abb. 2:** Vergleich der Farbzeichnungen der als *Nomada goodeniana* gruppierten Tiere.**Fig. 2:** Comparison of colour characters of the specimen classified as *Nomada goodeniana*.

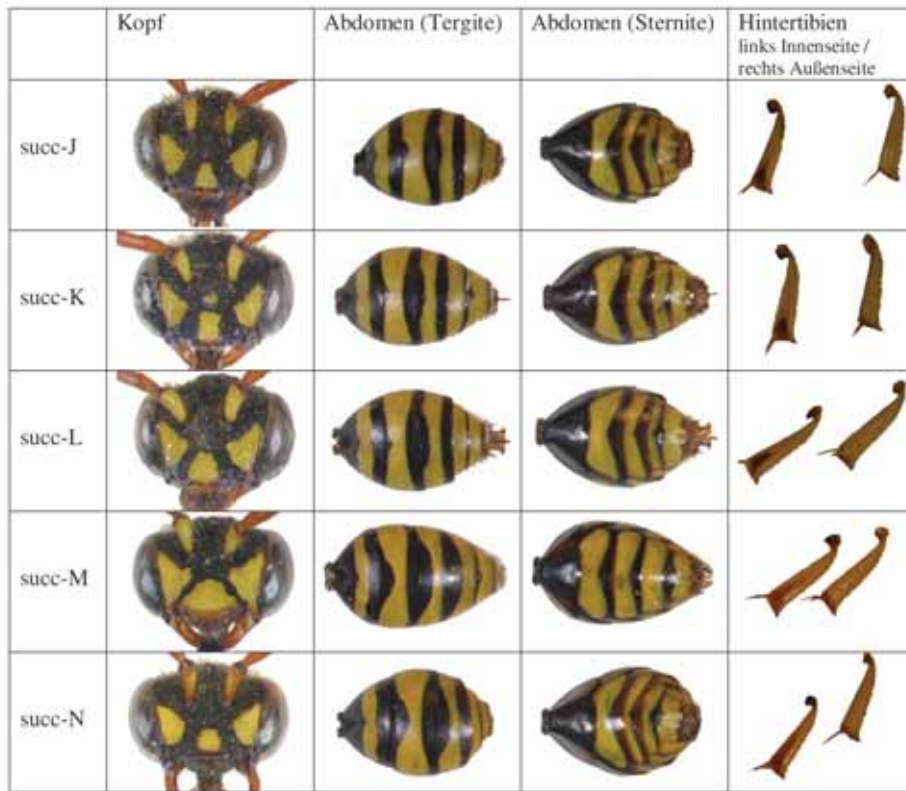


Abb. 3: Vergleich der Farbzeichnungen der als *Nomada succincta* gruppierten Tiere.

Fig. 3: Comparison of colour characters of the specimen classified as *Nomada succincta*.

Hinterleibsbinden (*N. succincta* – sehr breit, *N. goodeniana* – „schmäler“). AMIET et al. (2007) beschreiben treffend einen eher schwarzen Gesamteindruck der Tergite bei *N. goodeniana* und einen mehr gelben Gesamteindruck bei *N. succincta*. Wenn man in der Mitte der Sternite 2-5 misst, liegt der Gelbanteil bei den hier untersuchten Tieren bei *N. goodeniana* zwischen 21 und 41% und bei *N. succincta* zwischen 48 und 58%.

Die Färbung der Hinterbeine ist ebenfalls ein gutes Unterscheidungsmerkmal. Zwar waren die Hinterbeine bei *N. goodeniana* nicht komplett „rostrot“ und bei *N. succincta* nicht komplett „gelb“, wie es bei STOECKHERT (1930) steht, jedoch traten jeweils höchstens kleinere gelbe Bereiche in den bei *N. goodeniana* überwiegend roten Beinen und kleinere rote Bereiche in den

bei *N. succincta* überwiegend gelben Beinen auf. Auffallend bei *N. succincta* (Abb. 3) ist ein distal auf der Innenseite der Hintertibien liegender, länglicher und proximal spitz zulaufender rötlicher oder schwarzer Bereich, während bei *N. goodeniana* (Abb. 2) nur bei good-D eine schmale laterale Gelbfärbung an der Innenseite der sonst rötlichen Hintertibien zu erkennen ist. Dieser Längsfleck wird bei AMIET et al. (2007) als Merkmal für die ♂♂ von *N. succincta* abgebildet. Die Ausdehnung der Schwarzfärbung der Hinterschenkel unterschied sich wenig, war bei *N. succincta* jedoch umfangreicher. AMIET et al. (2007) weisen auf zitronengelbe Beine bei *N. succincta* hin, welches bei den untersuchten Tieren, was den Bereich der Gelbfärbung betrifft, bestätigt werden kann.

Die Färbung der hier untersuchten Tiere kann aufgrund der kleinen Stichprobe und des relativ kleinen beprobten Gebietes nicht als repräsentativ für das gesamte Verbreitungsgebiet der beiden Arten, die in weiten Teilen Europas vorkommen (AMIET et al. 2007; SCHEUCHL 2000), angesehen werden, jedoch zeigt sich zumindest für die hier untersuchten Weibchen, dass sich die deutlich breiteren gelben Binden bei *N. succincta* auf den Tergiten, aber besonders auch auf den Sterniten gut zur Abgrenzung der Art von *N. goodeniana* eignen. Die Färbung der Hintertibien ermöglicht ebenfalls eine gute Möglichkeit der Trennung. Die Gesichtsfärbung ist nicht in jedem Fall eindeutig und das Kriterium der Farbe der Unterseite des Schaftes („niemals gelb“ bei *N. goodeniana* nach STOECKHERT (1930)) ist für eine eindeutige Zuordnung nach den in dieser Studie erarbeiteten Ergebnissen nicht geeignet.

Danksagung

Wir danken Dr. M. SCHINDLER, Bonn für die Überlassung von mehreren *Nomada*-Exemplaren zu Sequenzierung sowie der Bereitstellung von Literatur zu dem Thema und der DFG für finanzielle Unterstützung im Rahmen des SPP-1127.

Literatur

- ALEXANDER, B., & SCHWARZ, M. (1994): A catalog of the species of *Nomada* (Hymenoptera: Apoidea) of the world. The University of Kansas Science Bulletin 55: 239-270.
- AMIET, F., HERRMANN, M., MÜLLER, A., & NEUMEYER, R. (2007): Fauna Helvetica 20, Apidae 5. Schweizerische Entomologische Gesellschaft; Neuchâtel.
- CELARY, W. (1995): Nomadini of Poland (Hymenoptera, Apoidea, Anthophoridae). Monografie Fauny Polski. 20. (Polish Academy of Sciences, Institute of Systematics and Evolution of Animals); Krakow.
- FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, R., LUTZ, R.A. & VRIJENHOEK, R. (1994): DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology 3: 294-299.
- HALL, T.A. (1999): BioEdit: a user - friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95-98.
- HEBERT, P.D.N., CYWINSKA, A., BALL, S.L., & DE WAARD, J.R. (2003): Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London B 270: 313-322.
- KUHLMANN, M. (1997): Zum taxonomischen Status von *Nomada goodeniana* (Kirby, 1802) und *Nomada succincta* Panzer, 1798 (Hymenoptera, Apidae). Entomofauna 18: 521-528.
- KUMAR, S., TAMURA, K. & NEI, M. (2004): MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. Briefings in Bioinformatics 5: 150-163.
- MAYR, E., (1963): Animal species and evolution. Harvard University Press; Cambridge.
- SCHEUCHL, E. (2000): Illustrierte Bestimmungstabellen der Wildbienen Deutschlands und Österreichs. Band 1: Anthophoridae, 2. erweiterte Auflage. Eigenverlag; Velden/Vils.
- SCHULMEISTER, S. (2003): Simultaneous analysis of basal Hymenoptera (Insecta): introducing robust-choice sensitivity analysis. Biological Journal of the Linnean Society 79: 245-275.
- SCHWARZ, M., GUSENLEITNER, F., WESTRICH, P., & DATHE, H.H. (1996): Katalog der Bienen Österreichs, Deutschlands und der Schweiz (Hymenoptera, Apidae). Entomofauna (Supplement) 8: 1-398.
- STOECKHERT, E. (1930): *Nomada* F. in: SCHMIEDEKNECHT, O. (1930): Die Hymenopteren Nord- und Mitteleuropas. 2. Auflage, S. 986-1053; Gustav Fischer; Jena.
- WESTRICH, P. (1990): Die Wildbienen Baden-Württenbergs. Spezieller Teil: Die Gattungen und Arten. Ulmer Verlag; Stuttgart.

Dipl. Biol. Olaf Diestelhorst
 Prof. Dr. Klaus Lunau
 Institut für Neurobiologie
 AG Sinnesökologie
 Heinrich-Heine Universität Düsseldorf
 Universitätsstr.1
 D-40225 Düsseldorf
 E-Mail: olaf.diestelhorst@uni-duesseldorf.de