

## **I. Einleitung**

### **I.1. Biologie der Honigbiene *Apis mellifera carnica* Pollm.**

Die Honigbiene gehört wie Ameisen, Hummeln und Faltenwespen zu den eusozialen, staatenbildenden Insekten. In einem Bienenvolk mit ca. 40000 bis 100000 Individuen sind das ganze Jahr über ein fertiles Weibchen (Königin, diploid) und zahlreiche infertile Weibchen (Arbeiterinnen, diploid) vorhanden. Außerdem enthält das Volk im Frühjahr und Sommer männliche Bienen (Drohnen, haploid) und für die meiste Zeit des Jahres Brut, Honig- und Pollenvorräte. Eine Bienenkönigin paart sich auf einem einzigen Paarungsflug mit mehreren Drohnen und lebt mehrere Jahre in einem Volk. Arbeiterinnen werden im Sommer vier bis sechs Wochen alt, ab dem Herbst können sie mehrere Monate als Winterbienen überleben. Die Unterschiede in der Anatomie, Physiologie und dem Verhalten der weiblichen Kasten (Königin und Arbeiterinnen) beruhen hauptsächlich auf der Spezialisierung der Königin zur Eiablage. Damit geht eine strenge Arbeitsteilung zwischen der Königin und den Arbeiterinnen einher. Die Arbeiterinnen verrichten alle anfallenden Arbeiten im Bienenstaat außer der Eiablage. Ihren ersten Lebensabschnitt (1. - 10. Lebenstag) verbringen die Jungbienen damit, als Innendienstbienen Zellen zu reinigen und die Brut zu pflegen. Nach wenigen Tagen entwickelt sich die Futtersaftdrüse im Kopf der Biene und die Biene geht zur Tätigkeit der Brutamme über. Zum Ende des ersten Lebensabschnitts fliegen die Bienen auch schon zu Orientierungsflügen aus. Im zweiten Lebensabschnitt (11. - 20. Tag) kommt es zu einer Rückentwicklung der Futtersaftdrüse, dafür zeigen die Wachsdrüsen erhöhte Aktivität. Eine herausragende Eigenschaft der Bienen ist, daß sie ihr Nestmaterial selbst erzeugen und damit eventuell auch Einfluß auf dessen Zusammensetzung nehmen können. Die Biene verrichtet nun neben dem Bau der Waben auch Aufgaben wie das Abnehmen und Einlagern von Pollen und Nektar, das Reinigen des Stockes von Unrat und das Bewachen des Stockeingangs als Wächterbiene. Im dritten Lebensabschnitt (20. Tag bis zum Tode) ist die Biene Sammlerin und bringt Nektar, Pollen, Pflanzenharze und Wasser in den Stock ein. (Free 1993, von Frisch 1993) Pflanzenharze werden mit Wabenwachs als Gemisch (Propolis) zur Abdichtung des Stockes und zur Auskleidung von Zellen verwendet (Philipp 1928, Meyer 1954, Ghisalberti 1979, Marcucci 1995).

Honigbienen haben eine erhebliche wirtschaftliche Bedeutung, nicht nur in Bezug auf die Honig- und Pollenproduktion (Nahrungsmittel), Wachs-, Propolis- und Giftproduktion (Pharmazeutika und Kosmetik), sondern vor allem in Bezug auf die Bestäubung von Pflanzen und damit den Ertrag von landwirtschaftlich genutzten Flächen. Denn die Mehrzahl unserer Kulturpflanzen wird überwiegend durch Bienen bestäubt (von Frisch 1993).



Abbildung I.1: Ursprüngliche Verbreitungsgebiete verschiedener Rassen von *Apis mellifera* (nach Ruttner 1988).

Die Versuche dieser Arbeit wurden mit der Honigbiene *Apis mellifera carnica* (Pollmann 1879) durchgeführt. Diese Honigbienenrasse gehört in der Ordnung der Hymenoptera zur Überfamilie der Apoidea (Bienen) und zur Familie der Apidae (Echte Bienen) (Brohmer 1988). Ihre Verbreitung lag ursprünglich im Oberkrain (westliches Slowenien), Kärnten (deshalb auch Kärntner Biene genannt) und der Steiermark. Darüber hinaus kam sie in Jugoslawien, Rumänien, Bulgarien, Ungarn sowie im größten Teil Österreichs vor. Inzwischen ist sie auch in der Bundesrepublik Deutschland die populärste Bienenrasse. Sie zeichnet sich durch Sanftheit, Langlebigkeit, Winterhärte und gutes Trachtverhalten aus. Die

Rasse bildet im Herbst kleine Kolonien, die mit einem minimalen Wintervorrat auskommen. Ein weiterer Vorteil ist ihre hervorragende Honigproduktion und ihr besonders gut ausgeprägter Orientierungssinn. Trotz ihrer starken Disposition zum Schwärmen aufgrund ihrer raschen Kolonieentwicklung ist diese Honigbienenrasse eine der am weitesten verbreiteten Nutzbienenrassen (Hüsing und Nitschmann 1987).

## I.2. Wabenwachse

Das Wabenwachs bildet in seiner Gesamtheit als Waben das Nest der Honigbienen. Die Waben sind senkrecht und zueinander parallel in der Bienenbeute angeordnet. Jede Wabe besteht aus mehreren tausend kleinen hexagonalen Zellen. Diese Zellen haben vielfältige Aufgaben, sie dienen zum einen zur Speicherung von Nektar und Pollen, zum anderen wächst in den Wabenzellen die Brut des Stockes heran. Dabei befindet sich das Brutnest in der Mitte einer Beute, um das Brutnest herum sind kranzförmig pollengefüllte Zellen angeordnet und in den Randteilen der Waben wird der Honig gelagert. Außerdem dienen die Zellen der Einlagerung von eingetragenen Wassertropfen zur Temperaturregelung des Stockes durch Verdunstung (von Frisch 1993, Hepburn 1986).

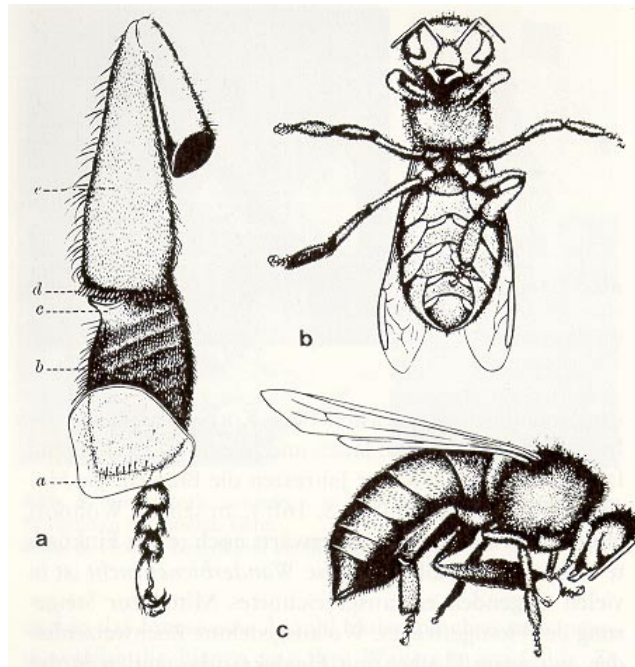


Abbildung I.2: a: Die Wachsschuppe (a) wird mit bestimmten Borsten (b) des linken Hinterbeines erfaßt; c: Pollenschieber, d: Pollenkamm, e: Tibia. b: Bauchansicht einer Arbeiterin, die gerade eine Wachsschuppe von den Wächsspiegeln entfernt. c: Die Wachsschuppe wird zu den Mundwerkzeugen geführt. (aus von Frisch 1993)

Die Honigbienen produzieren ihr Nestmaterial, das Wachs, selbst. Auf der Unterseite ihres Hinterleibs bilden sich auf den sogenannten Wachsspiegeln Wachsschuppen, die von den Bienen mit dem Bürstchen des linken Hinterbeines von den Wachsspiegeln entfernt werden und zu den Mandibeln geführt werden (Abb. I.2). Diese Wachsschuppen werden durchgekaut und danach als kleine Wachsstückchen zum Bau der hexagonalen Zellen verwendet. Dabei bilden sich Trauben von Bienen am Rand einer Wabe, die sich gerade im Bau befindet (Darchen 1962, Hepburn und Muller 1988). Innerhalb einer Bautraube herrscht eine konstante Temperatur von 35 °C, die optimale Temperatur für die Wachsproduktion und die Wachsverarbeitung (Hepburn et al. 1983, Hepburn und Muller 1988). Mit Hilfe eines Schweresinnesorgans zwischen Kopf und Thorax können die Bienen die eigene Körperstellung und die Stellung der Waben im Raum wahrnehmen (Martin und Lindauer 1966). Eine Wabe besteht aus einer Mittelwand, die gleichzeitig für die Zellen beider Seiten der Wabe als Boden dient und den darauf aufgelagerten hexagonalen Zellen. Die hexagonale Form der Zellen bietet gegenüber runden Zellen (wie z.B. bei Hummeln) eine erhebliche Materialersparnis bei gleichem Fassungsvermögen. Der Boden jeder Zelle entsteht aus drei Wachsplättchen von der Gestalt gleichseitiger Rhomben (von Frisch 1993, Abb. I.3). Die Wände sind nur etwa 0,1 mm dick und werden von den Bienen sorgfältig mit Hilfe von Chemo-Mechanorezeptoren auf der Antennenspitze mit den Mandibeln geglättet. Den Zellwänden sitzt ein verdickter Rand auf (Abb. I.3).

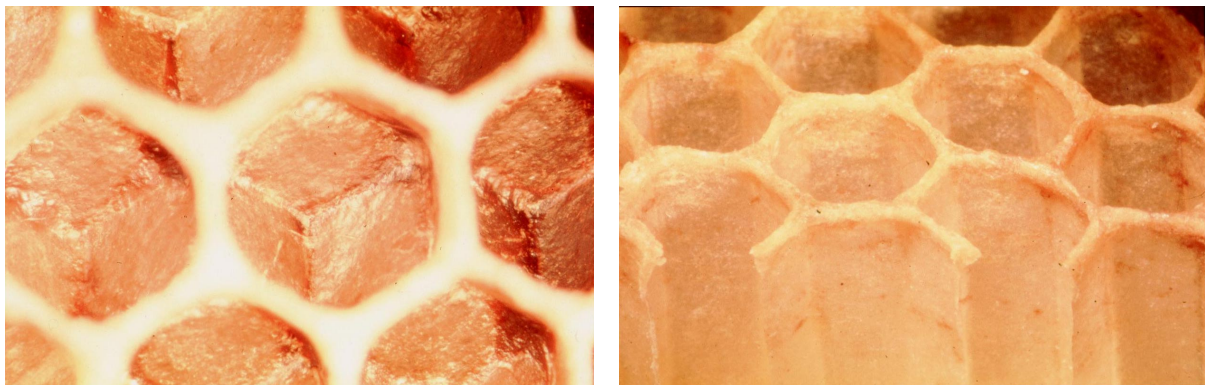


Abbildung I.3: Wabenzellen der Honigbiene *Apis mellifera carnica* Pollm.: links: Aufblick auf den Boden, rechts: Längsschnitt durch die Zellen mit dünnen Wänden und verdicktem Rand (Fotos: J. Tautz).

Die Einzelzellen sind etwas nach oben geneigt (13 °, Martin und Lindauer 1966), um ein Auslaufen des Honigs zu verhindern. Es werden Zellen verschiedener Größen von den Bienen benötigt, die Zellen für die Aufzucht der Arbeiterinnen (Durchmesser von Wand zu Wand 5,2 mm) und die der Drohnen (6,3 mm). Zusätzlich legen die Bienen bei Verlust der Königin oder zu hoher Besetzung im Stock noch Weiselzellen an, die sehr viel geräumiger sind und außerhalb des Zellverbundes entstehen.

Eine Wabe von 37 x 22,5 cm Fläche aus nur 40 g Wachs (ein Rahmen einer Bienenbeute) faßt bis zu 2 kg Honig (von Frisch 1993). Nach Nachtigall und Kresling (1992) sind die Waben der Bienen keinesfalls stabil gegenüber Druck- und Zugkräften. Die Stabilität dieser zum Teil als biologische Faltkonstruktion gebauten Waben ist wahrscheinlich durch die vertikal aufgehängte Position und durch die beiderseitige Verzahnung der Zellen durch die Mittellamelle bedingt.

Während des Durchkauens der Wachsschuppen und der weiteren Verarbeitung und Nutzung der Waben ändern sich die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Wachse (Hepburn 1986, Kurstjens et al. 1985). Die Bienen scheinen dem Wachs zusätzliche Proteine mittels des Speichels zuzusetzen, vermutlich Lipasen. Damit steigt der Anteil von Monoacylglyceriden im Wabenwachs gegenüber den Diacylglyceriden, die in den Wachsschuppen vermehrt vorliegen (Davidson und Hepburn 1986). Außerdem setzen die Bienen dem Wachs der Zellen noch andere Bestandteile zu. So werden die Brutzellen im Laufe der Nutzung mit Larvenhäutchen angereichert und Pflanzenharze (Propolis) werden zum Auskleiden der Zellen verwendet (Hepburn und Kurstjens 1988). Die Dunkelfärbung der alten Waben beruht auf Einlagerung von Pollenfarbstoffen und eventuell auch von Propolisbestandteilen (Dönhoff 1855, Vansell und Bisson 1935, Freudenstein 1961, Tischer 1962). Eine ausführliche Darstellung der Veränderung des Wachses von den Schuppen bis zu altem Wabenwachs findet sich bei Hepburn (1998). Er postuliert, daß durch die verschiedenen Änderungen die Eigenschaften des Wachses in Bezug auf Tragfähigkeit, Zusammenhalt und Verformung verbessert werden.

### **I.3. Kutikulawachse**

Die Kutikula der Insekten wird von einer einschichtigen Epidermis (Hypodermis) ausgeschieden. Ein Schnitt durch die Kutikula zeigt eine innere Prokutikula aus Chitin und Proteinen und eine äußere Epikutikula, eine wesentlich dünnere Schicht ohne Chitin. Die Prokutikula besteht aus einer inneren Endokutikula, die keine sklerotisierten Proteine enthält

weist in sich nochmals zwei Schichten auf, eine äußere und eine innere Epikutikula. Die äußere Epikutikula ist die erste Schicht bei der Bildung der Kutikula mit 10-18 nm Dicke und enthält Proteine und Lipide. Die innere Epikutikula stellt den größten Teil der Epikutikula mit einer Dicke von 0,5 – 1,0  $\mu\text{m}$  dar. Sie besteht aus einem Strukturlipid (Cuticulin), welches nach und nach sklerotisiert wird. Auf der Epikutikula befindet sich eine Lipidschicht und über dieser liegt eine Zementschicht (vermutlich aus Mucopolysacchariden), die aber meist von den darunterliegenden Lipiden durchdrungen ist (Abb. I.4, Lockey 1988).

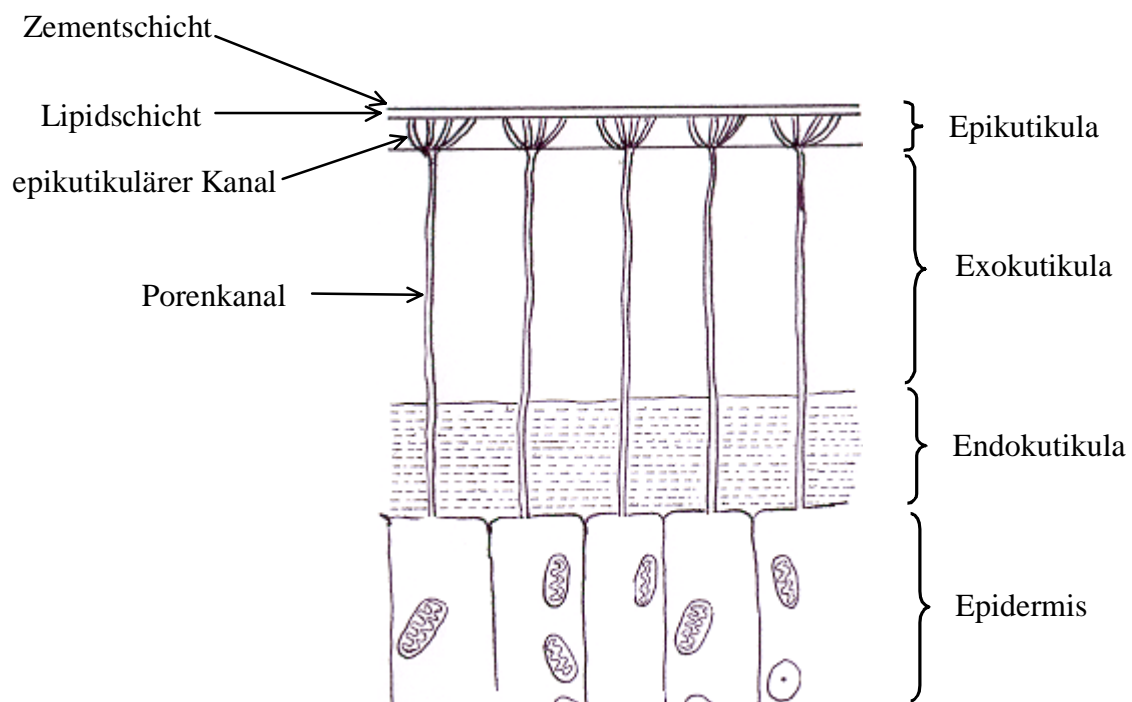


Abbildung I.4: Schematischer Aufbau der Insektenkutikula, die Epikutikula ist zur besseren Übersicht vergrößert dargestellt (nach Lockey 1988 und Hepburn 1986).

Bei den nachfolgend genannten Kutikulawachsen handelt es sich um die freien Lipide der Lipidschicht, die auf der Epikutikula aufliegt. Ein Teil der Lipide der Insektenkutikula liegen als gebundene Lipide in der Epikutikula vor. Diese Strukturlipide sind in organischen Lösungsmitteln unlöslich und können nur mit einer destruktiven Oxidation gewonnen werden (Blomquist et al. 1998).

Die Hauptaufgabe der Kutikulawachse ist es, die Transpiration von Wasser über die Kutikula einzuschränken, somit eine Austrocknung der Insekten zu verhindern und damit eine

bei denen die Lipide mittels Extraktion mit organischen Lösungsmitteln entfernt wurden, belegt. Auch kommt den Wachsen eine Rolle als Barriere für Krankheitserreger, z.B. Mikroorganismen zu. (Koidsumi 1957, Lockey 1988, Howard und Blomquist 1982, Buckner 1993, Nelson und Blomquist 1995) Die Kutikulawachsen spielen jedoch auch in der chemischen Kommunikation bei Insekten eine bedeutende Rolle. So beinhalten die Kohlenwasserstoffe der Kutikulawachse bei vielen Insekten Sexualpheromone, Territorialpheromone und Erkennungsschlüssel für Parasiten, Verwandtschaft und Nestgenossen (review von Howard und Blomquist 1982, Kapitel I.5.).

#### I.4. Produktionsorte und Synthese der Wachse

Wabenwachs und Kutikulawachs von Honigbienen bestehen hauptsächlich aus langkettigen Kohlenwasserstoffen, Estern, Fettsäuren und Alkoholen zu unterschiedlichen Anteilen (Blomquist et al. 1980, Hepburn 1986, Fröhlich et al. 2000a). Die Kutikulawachse der Bienen werden wie bei anderen Insekten in speziellen, mit der Epidermis assoziierten Zellen (Oenocyten) synthetisiert und über die Epidermis ausgeschieden. Die Synthese und Sekretion soll im folgenden ausführlicher für die Wabenwachs beschrieben werden, die Mechanismen der Wachproduktion und Ausscheidung gelten jedoch ebenso für die Kutikulawachs.

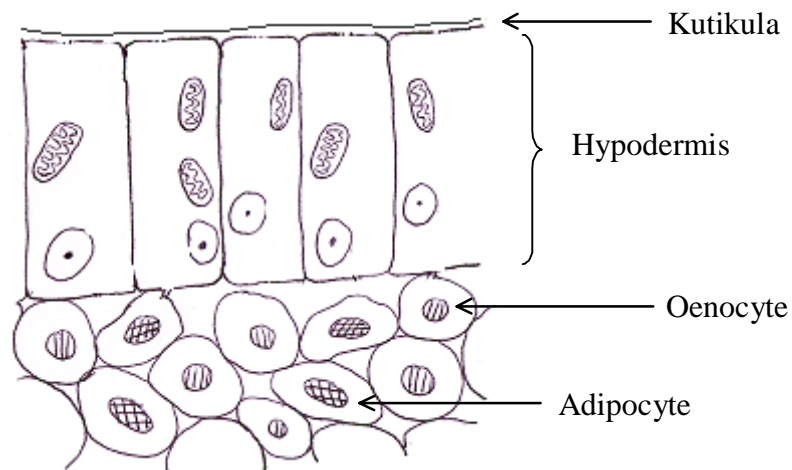


Abbildung I.5: Schematische Darstellung des Wachsdrüsenkomplexes der Honigbiene, leicht verändert nach Lockey 1988 und Hepburn 1986, (nicht maßstabsgetreu).

Die Wachdrüsen zur Produktion von Wabenwachs befinden sich ventral am Abdomen der Honigbienen. Je nach Alter der Biene ist dieser Gewebekomplex mehr oder weniger gut entwickelt. Unter der Epidermis der Wachsspiegel, auf denen sich die Wachsschuppen bilden, liegt eine Fettkörperschicht, die aus Oenocyten und Adipocyten besteht (Hepburn 1986, Lockey 1988, Abb. I.5). Zwischen den Adipocyten, Oenocyten und den epidermalen Zellen kommt es zu einem Stoffaustausch, der vermutlich durch eine teilweise Auflösung der Plasmamembran begünstigt wird (Lockey 1988). Die Oenocyten besitzen ein gut entwickeltes glattes endoplasmatisches Reticulum und sind auf den Lipidstoffwechsel spezialisiert. Die höchste Aktivität zeigen die Oenocyten des Wachdrüsenkomplexes, wenn die Wachdrüsen entwickelt sind und die Biene Wabenwachs produziert (Hepburn et al. 1991).

In den Oenocyten werden die Kohlenwasserstoffe, Fettsäuren und Ester des Waxes aus Acetat synthetisiert (Piek 1964, Hepburn 1986, Lockey 1988). Die langkettigen Kohlenwasserstoffe entstehen durch Elongation von Fettsäuren, die danach zu Kohlenwasserstoffen decarboxyliert werden (Blomquist et al. 1987, Blomquist et al. 1998, Howard und Blomquist 1982, Lockey 1980, Buckner 1993). Die Estersynthese wurde von verschiedenen Autoren beschrieben, sie ähnelt dem von Kollatukudy (1967) beschriebenen Syntheseweg für Wachsester von Broccoli. Die Monoester entstehen dabei durch eine Übertragung der Acylgruppe von Acyl-CoA auf primäre Alkohole (Blomquist und Ries 1979, Lambremont und Wykle 1979). Die Produktion von größeren Mengen von Estern ist stark mit der Entwicklung der Wachdrüsen des Abdomens korreliert, für die Kutikulawachsen des Thorax werden bevorzugt Kohlenwasserstoffe synthetisiert (Blomquist et al. 1980, Blomquist et al. 1998).

Die Adipocyten und epidermalen Zellen besitzen kein glattes endoplasmatisches Reticulum, können somit auch keine Lipidsynthese betreiben. Die Aufgabe der epidermalen Zellen ist die Ausbildung schmaler Kanäle für den Wachstransport (Hepburn 1986, Hepburn et al. 1991). Die Adipocyten dienen als Glycogenspeicher für die Wachssynthese und die Ausscheidung. Der Lipidtransport von den Oenocyten zu den epidermalen Zellen geschieht mit Hilfe von Lipophorin, einem Lipoprotein-Carrier in der Hämolymphe (Lockey 1988). Der Durchtritt der Wachse durch die Kutikula erfolgt über sogenannte Porenkanäle, die sich in der Epikutikula stark verzweigen (Abb. I.4).



## **I.5. Kommunikation im Bienenstock**

In einem Bienenstaat arbeiten Tausende von Bienen so hervorragend zusammen, daß der Staat an sich eine Art „Superorganismus“ darstellt. Um einen reibungslosen Ablauf dieses „Superorganismus“ zu gewährleisten, wird ein gut entwickeltes Kommunikationssystem benötigt, welches in der Lage ist, die Leistungen der Individuen so zu koordinieren, daß das Verhalten jeder einzelnen Biene zum Funktionieren des Staates beiträgt (Moritz und Southwick 1992, Seeley 1998). Jede einzelne Biene braucht dabei die Informationen, was zu tun ist und wie es zu tun ist. Diese Informationen erhält sie sowohl über Signale, als auch über Erkennungsschlüssel. Ein Signal ist eine Struktur bzw. ein Verhalten, welches speziell zur Weitergabe von Information entwickelt wurde, es entsteht aus einer adaptiven Modifikation des Stimulus und der Antwort. Eindeutige Signale im Bienenstock sind zum Beispiel der Schwänzeltanz und eine Vielzahl von Pheromonen. Es ist dabei zu berücksichtigen, daß eine Biene bei der Signalverarbeitung eine große Menge kontextbezogener Information einbezieht, z.B. ihren Ort im Stock, die Zeit, ihr Alter usw. Der Informationsgehalt eines Erkennungsschlüssels ist dagegen nicht durch eine natürliche Selektion entstanden. Er entsteht durch die Bildung einer Antwort auf einen schon existierenden Stimulus, z.B. die Stocktemperatur, der CO<sub>2</sub>-Gehalt der Stockluft, die chemische Zusammensetzung der Wachse. Der überwiegende Teil der Informationsquellen von Innendienstbienen besteht aus Erkennungsschlüsseln und nicht aus Signalen. Nicht immer ist eine Unterscheidung in Signal oder Erkennungsschlüssel eindeutig und es gibt Übergänge, so z.B. bei dem sogenannten Brutpheromon, welches als Signal speziell entwickelt sein könnte, oder aber als Erkennungsschlüssel aus der Zusammensetzung der Kutikula von Larven hervorgeht. (Seeley 1998)

Im folgenden wird ein Überblick über Signale und Erkennungsschlüssel im Bienenstock gegeben und die mögliche Rolle der Wachse bei den verschiedenen informationstragenden Variablen diskutiert.

*I.5.1. Signale im Bienenstock.* Im Bienenstock gibt es zwei Gruppen von Signalen, chemische Signale (Pheromone) und mechanische Signale (z.B. Tänze). Ein Pheromon ist eine chemische Substanz, die von einer exokrinen Drüse eines Tieres als Flüssigkeit produziert, als Flüssigkeit oder Dampf übertragen wird und eine physiologische Antwort oder eine Verhaltensantwort beim Empfänger auslöst. Bei der Honigbiene sind eine Vielzahl solcher Pheromone aus exokrinen Drüsen bekannt (Free 1987, Blum und Fales 1988, Abb. I.6).

Das wohl bekannteste Pheromon der Honigbienen ist die sogenannte Königinsubstanz aus der Mandibeldrüse der Königin, eine Mischung aus vielen Einzelkomponenten mit den folgenden fünf Hauptbestandteilen: 9-Keto-(E)-2-decensäure (9-ODA), zwei optische Isomere [R-(-) und S-(+)] der 9-Hydroxy-(E)-2-decensäure (-9-HDA, +9-HDA), Methyl-*p*-hydroxybenzoat (HOB) und 4-Hydroxy-3-methoxyphenylethanol (HVA) (Slessor et al. 1988, Slessor et al. 1990, Pankiw et al. 1996, Plettner et al. 1997). Dieses Pheromon zeigt ganz allgemein den Arbeiterinnen die Anwesenheit einer Königin im Stock an. In erster Linie unterdrückt es die Königinnenaufzucht, verhindert eine Entwicklung der Ovarien der Arbeiterinnen und ist für die Bildung des Hofstaates der Königin verantwortlich (Boch und Lensky 1976, Winston et al. 1991, Verheijen-Voogd 1959, Voogd 1955, Pain et al. 1962, Butler et al. 1961, Whiffler und Hepburn 1991). Auch unterdrückt es die Bereitschaft des Staates zum Schwärmen, fördert den Wabenbau, die Brutaufzucht und das Sammeln von Vorräten (Free 1987, Winston et al. 1991, Lensky und Cassier 1992).

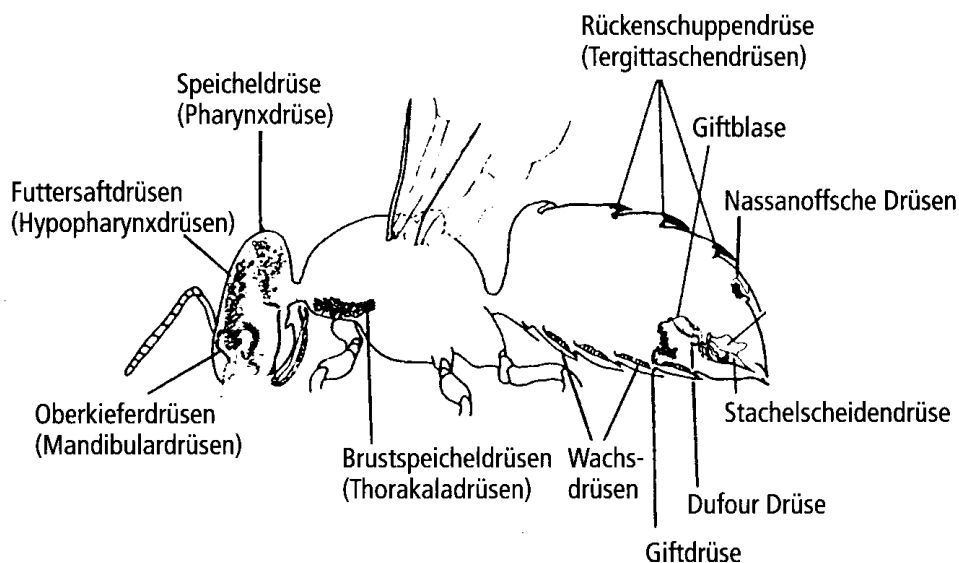


Abbildung I.6: Exokrine Drüsen der Honigbiene (aus Petersen 1997 nach Free 1987).

Die Königinsubstanz wirkt als Substanzgemisch, eine einzelne Komponente, z.B. 9-ODA ist lange nicht so wirkungsvoll wie das Gemisch (Free 1987, Slessor et al. 1988, Robinson 1996). Künstliche Königinsubstanz ist als QMP (Queen Mandibular Pheromone) im Handel erhältlich.

Es sind noch weitere Pheromone der Königin bekannt, so besitzt zum Beispiel *o*-

Wirkung auf Arbeiterinnen (Post et al. 1987, Page et al. 1988). Ein „Streßpheromon“ aus der Koschewnikow-Drüse (Stachelscheiden-Drüse) verursacht die Ballung von Arbeiterinnen (Lensky et al. 1991), ein Pheromon aus der Tarsaldrüse, welches auf das Wabenwachs aufgetragen wird, hemmt die Anlage von Weiselzellen (Lensky und Slabezki 1981). Eier, die von der Königin gelegt wurden, sind mit einem Pheromon aus der Dufourdrüse markiert und ein Pheromon aus den Tergittaschen-Drüsen ist vermutlich für die Anlockung von Arbeiterinnen verantwortlich (Seeley 1998).

Auch Arbeiterinnen besitzen ein Mandibeldrüsensekret, allerdings mit einer etwas anderen Zusammensetzung, statt 9-HDA findet sich 10-HDA bei den Arbeiterinnen (Pain et al. 1962, Robinson 1996, Plettner et al. 1996, Plettner et al. 1997). Das Alarmpheromon der Honigbienen (2-Heptanon) stammt aus dem Stachelapparat und den Mandibeldrüsen der Arbeiterinnen (Shearer und Boch 1965, Vallet et al. 1991). Für die Anlockung von Nestgenossen, z.B. im Schwarm, am Stockeingang oder an Futterquellen sondern die Bienen beim sogenannten Sterzeln ein Pheromon mit dem Hauptbestandteil Geraniol aus der Nasanov-Drüse ab (Free 1987). Ein weiteres Signal zur Orientierung für die Nestgenossen stellt das Tarsaldrüsensekret dar, mit dem die Arbeiterinnen den Stockeingang markieren. Allerdings ist nicht klar, ob diese Tarsaldrüse einfach nur Bienenwachs produziert, oder ob tatsächlich ein Pheromon daran beteiligt ist (Chauvin 1962, Butler 1969).

Es wurde auch ein Drohnenpheromon gefunden, welches die Aufzucht von weiteren Drohnen unterdrückt, wenn dieses Pheromon im Stock eine bestimmte Konzentration erreicht (Omholt 1988). Und auch die Brut (Larven und Puppen) verfügt über Pheromone. So wurde von Koeniger und Veith (1984) das Glycerid-1,3-dioleat-2-palmitat als Brutpheromon auf Puppen und Larven beschrieben, welches von den Arbeiterinnen über Kontaktchemoperzeption wahrgenommen wird und zur Erkennung von Arbeiterinnen-, Drohnen- oder Königinnenbrut dient. Ein Stimulus, welcher das Verdeckeln der Brutzellen auslöst, die Fütterung der Larven und das Sammeln von Pollen beeinflusst, wird in der Literatur als Pheromon, also als Signal beschrieben, wobei es sich dabei allerdings um Ester der Kutikulawachse von Larven handelt (LeConte et al. 1990, Trouiller et al. 1992, LeConte et al. 1994, LeConte et al. 1995, Pankiw et al. 1998). Somit könnte hier auch ein Erkennungsschlüssel anstelle eines Signals vorliegen.

Im folgenden werden noch einige mechanische Signale im Bienenstock beschrieben. Bei den Arbeiterinnen ist der Schwänzeltanz als das deutlichste mechanische Signal hervorzuheben. Der Schwänzeltanz einer Sammlerin zeigt den nachfolgenden Bienen die Richtung,

kehrt dann in einem Halbkreis zum Ausgangspunkt zurück, läuft wieder geradeaus und kehrt dann mit einem Halbkreis in die entgegengesetzte Richtung wieder zurück. Somit beschreibt sie eine Acht (Abb. I.7). Die Strecke, die sie geradeaus läuft, wird Schwänzellauf genannt, da die Biene mit dem Abdomen mit einer Frequenz von ca. 15 Hz hin und her schwänzelt. Die ganze Biene zittert während des Schwänzellaufes in sich kurzen, wiederholenden Vibrationsstößen mit einer Vibrationsfrequenz des Thorax von 250 Hz (Esch 1961, von Frisch 1993, Sandeman et al. 1996). Durch die Dauer des Schwänzellaufes und somit durch die Dauer der Vibrationen zeigt die Biene die Entfernung der Futterquelle an, die Richtung der Futterquelle wird durch die Orientierung des Schwänzellaufes im Schwerefeld verschlüsselt. Während des Tanzes wird die Biene von Nachfolgerinnen verfolgt, welche die Information dieses Tanzes aufnehmen und als Rekruten dann zur angezeigten Futterquelle ausfliegen. Inzwischen ist nachgewiesen, daß die Tänzerin bei dem sogenannten Schwänzellauf nur ihren Körper nach vorne schiebt und dabei maximal einen Schritt macht (Tautz et al. 1996), wobei sie das oben beschriebene Schwänzeln ausführt.

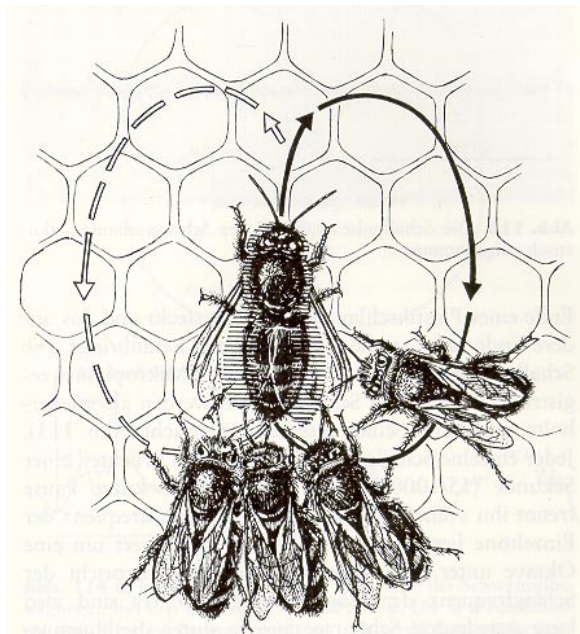


Abbildung I.7: Sammlerin (Mitte) beim Schwänzeltanz mit Nachfolgerinnen (aus von Frisch 1993).

Ein weiterer Tanz ist der Rundtanz, bei dem der Schwänzellauf entfällt, also keine Entfernungsangabe erfolgt. Durch den sogenannten Zittertanz von Sammlerinnen werden vermehrt Arbeiterinnen dazu gebracht, Nektar von gerade heimgekehrten Sammlerinnen

von Bedeutung (Kirchner 1993). Das Antennieren von Arbeiterinnen dient dazu, Futter zu erbetteln oder ganz allgemein die Aufmerksamkeit anderer Arbeiterinnen zu erlangen (Seeley 1998). Arbeiterinnen, die einer Tänzerin folgen, betteln mit einem 320-Hz-Signal nach einer Futterprobe (Michelsen et al. 1986) und junge Königinnen zeigen mit einem Quaken ihre Anwesenheit im Stock an (von Frisch 1993, Seeley 1998).

*1.5.2. Die Rolle der Bienenwachse bei der Signalübertragung.* Im Innern des Bienenstocks werden Pheromone an Oberflächen absorbiert und über Kontaktchemoperzeption wahrgenommen. Die Pheromone, z.B. die Königinsubstanz, das Pheromon der Drohnen oder das Brutpheromon, werden dabei über Bienen-Bienen-Kontakt (Kutikulawachse als Oberfläche), über das Futter oder über die Wabenwachsfläche übertragen (Free 1987).

Nach Müssbichler (1952) und Butler (1974) wirkt die Königinsubstanz im Stock nicht über die Luft, sondern durch den Kontakt der Arbeiterinnen mit der Königin. Ferguson und Free (1980) zeigten, daß die Königinsubstanz über die Antennen und über Trophallaxis zwischen Arbeiterinnen weitergegeben wird. Die Verteilung des Pheromons über die Luft spielt im Stock nur eine geringe Rolle, vielmehr wird das Pheromon auf der Königinnenkutikula und der Arbeiterinnenkutikula verteilt, um die wirksame Oberfläche zu vergrößern, von der das Pheromon an andere Nestgenossen weitergegeben wird (surface transport model von Butler et al. 1974). Dabei spielen Arbeiterinnen des Hofstaats der Königin eine Rolle als Überträger (messenger bees) des Pheromons an diejenigen Bienen, die keinen Kontakt zur Königin haben (Seeley 1979). Arbeiten von Lewis (1962) zeigten, daß ein Ölfilm auf lebenden Bienen rein passiv durch die kleinen Bewegungen der Kutikulaoberfläche verbreitet wird. Nach Naumann (1991) wird die Königinsubstanz über einen aktiven Transportmechanismus auf den Arbeiterinnen vom Kopf zum Abdomen verteilt. Diese Verteilung des Pheromons auf der Körperoberfläche, und damit auf den Kutikulawachsen, kann die Übertragungsrates der Königinsubstanz an andere Bienen steigern. Allerdings wird durch die mögliche Diffusion der Königinsubstanz in das Kutikulawachs auch die Aufnahme der Königinsubstanz in die Bienen erhöht und damit die Entfernung der Königinsubstanz aus dem Volkskreislauf begünstigt. Auch das Wabenwachs spielt als Senke und Übertragungsmedium der Königinsubstanz eine Rolle. Bei Versuchen mit tritiummarkierter 9-ODA, HVA und HOB konnte gezeigt werden, daß diese Hauptbestandteile des Pheromons von der Königin und den Arbeiterinnen auf das Wabenwachs übertragen werden und von dort von anderen Bienen wieder aufgenommen werden können. (Seeley 1979, Velthuis 1990, Naumann 1991, Naumann et al. 1991,

Das Drohnenpheromon wird auch über das Wabenwachs vermittelt, die Drohnen tragen dieses vermutlich aus den Tarsaldrüsen auf die Waben auf, wo es von den Arbeiterinnen und der Königin wahrgenommen wird (Omholt 1988). Bei der Perzeption der verschiedenen Brutpheromone dienen die Puppenoberflächen und die Kutikulawachse der Larven als Träger (Koeniger und Veith 1984, LeConte et al. 1990).

Bei den mechanischen Signalen der Honigbienen spielen die Wabenwachse eine erhebliche Rolle. Die beiden Frequenzen des Schwänzeltanzes (15 Hz Abdomenschwänzen und 250 Hz Thoraxvibration) werden durch normale Waben mit ungedeckelten Zellen verstärkt weitergegeben (Sandeman et al. 1996). Und die Tänzerin gebraucht den Tanz dazu, die entstehenden Vibrationen optimal in die Waben einzuleiten (Tautz et al. 1996). Die Nachfolgerinnen könnten somit über die Wabenvibrationen die Entfernung der angezeigten Futterquelle bestimmen. Auch die Vibrationen des Zittertanzes könnten über die Waben weitergegeben werden. Das "Bettelsignal" der Arbeiterinnen bei 320 Hz wird von anderen Bienen über die Vibrationen der Waben wahrgenommen und Königinnen nutzen die Waben zur Transmission ihres Quakens (Michelsen et al. 1986).

*1.5.3. Erkennungsschlüssel im Bienenstock und die Rolle der Wachse bei diesen Stimuli.* Die Vielzahl der Erkennungsschlüssel, die im Bienenstock eine Rolle spielen, erlaubt hier keine ausführliche Darstellung der verschiedenen Erkennungsschlüssel. Deshalb sind im folgenden nur die Beispiele genannt, die für diese Arbeit von Bedeutung sind. Einen Überblick über die Erkennungsschlüssel im Bienenvolk gibt Seeley (1998). Er unterscheidet in chemische, taktile, visuelle, temperaturabhängige und zeitabhängige Erkennungsschlüssel.

Für diese Arbeit sind die chemischen Erkennungsschlüssel von großer Bedeutung. Als solche gelten z.B. der CO<sub>2</sub>-Gehalt der Stockluft, Blüten-, Pollen- und Propolisduft auf Tänzerinnen, der Kolonieduft, welcher bei der Erkennung von Nestgenossen eine Rolle spielt, der Duft von leeren Waben, der eine erhöhte Sammelaktivität auslöst und die chemische Zusammensetzung der Bienenwachse (Seeley 1998, Rinderer 1982).

Insekten-Kutikulawachs weist Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung auf, die stark von der Kolonie und dem Verwandtschaftsgrad abhängen (Francis et al. 1985, Francis et al. 1989, Page et al. 1991, Lorenzi et al. 1997, Lahav et al. 1999). Systematische Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der Wachse könnten für die Bienen wichtige Informationen liefern: Kutikulawachse besitzen Erkennungsschlüssel im Zusammenhang mit der Nestgenossen- und Verwandtenerkennung (Breed und Stiller 1992, Getz und Smith 1986,

die Nestgenossen- und Verwandtenerkennung, die in ihrer Bedeutung die der Kutikulawachse übertreffen, erwerben die Bienen von den Wabenwachsen (Breed et al. 1995a). Die Entwicklung von individuellen Erkennungsschlüsseln innerhalb eines Bienenschwarmes geht mit der Wabenwachsproduktion Hand in Hand (Breed et al. 1998). Bei der Entstehung solcher Erkennungsschlüssel scheinen drei Faktoren beteiligt zu sein: eine genetisch determinierte Kutikulawachszusammensetzung, die Wabenwachsexposition und die Duftexposition (z.B. eingetragene Blütendüfte). In einer neueren Studie zeigte sich, daß von der Umwelt erworbene Erkennungsschlüssel (z.B. vom Nestwachs) für die Erkennung von Nestgenossinnen ausreichen; in diesem Zusammenhang sind die erblichen Erkennungsschlüssel des Kutikulawachses ohne Bedeutung. Wächterbienen nutzen zur Erkennung von Nestgenossinnen Schlüssel, welche die Bienen im Adultzustand erwerben. (Downs und Ratnieks 1999). Es wird angenommen, daß die Fähigkeit zur Unterscheidung zwischen verschiedenen Wabenwachsen die evolutive Basis für die Verwandtenerkennung war (Breed and Stiller 1992). Die Fähigkeit der Bienen, zwischen Wabenwachsen zu unterscheiden, wurde in verschiedenen Verhaltensexperimenten nachgewiesen. Im Stock bevorzugen Bienen zum Speichern von Honig und Pollen alte, gebrauchte Waben gegenüber jungen, frisch gebauten Waben (Free 1987). Bienen können zwischen Waben der eigenen Kolonie und der fremder Kolonien unterscheiden (Breed and Stiller 1992). In einem Wahlversuch (Olfaktometer) bevorzugten Bienen bekanntes Wachs gegenüber unbekanntem Wachs (Breed and Stiller 1992). Und Bienen erkennen eine bestimmte Region im Stock als ihren Tanzboden, selbst wenn dessen Lage im Stock verändert wurde (Tautz and Lindauer 1997). Die Erkennungsschlüssel, die für diese Verhaltensweisen verantwortlich sind, können einerseits Pflanzendüfte sein, die zum Wachs zugegeben werden („Duftkerzenmodell“ von Gamboa et al. 1986). Aber auch die Wachsbestandteile an sich können diese Erkennungsschlüssel enthalten.

## **I.6. Ziele und Gliederung dieser Arbeit**

Obwohl aus früheren Untersuchungen hervorgegangen war, daß die Bienenwachse bei der Kommunikation im Bienenvolk eine große Rolle spielen (Kapitel I.5.), liegen bis jetzt nur sehr wenige Untersuchungen zur genauen Funktion und Aufgabe der Wachse vor. Das Hauptziel dieser Studien war es deshalb, einen Beitrag zum besseren Verständnis der Funktionen und Aufgaben der Waben- und Kutikulawachse in der Kommunikation der Honigbienen zu leisten. Die Adsorptions- und Absorptionseigenschaften der Wachse für

der Erkennungsschlüssel in den Wachsen oder die physikalischen Eigenschaften, welche die Wachse für die Stabilität des Nestes und für die Weiterleitung von Vibrationen erfüllen müssen.

Um diesen Fragen nachgehen zu können, ist die genaue Kenntnis der chemischen Zusammensetzung und der physikalischen Eigenschaften der verschiedenen Waben- und Kutikulawachse, die im Bienenstock vorkommen, eine wichtige Voraussetzung. In der Literatur finden sich einige Untersuchungen zur chemischen Zusammensetzung von Waben- und Kutikulawachsen, die aufgrund ihrer unterschiedlichen Methoden jedoch nicht zu vergleichen sind (Kapitel II.1.). Auch gibt es zahlreiche Untersuchungen zu den physikalischen Eigenschaften von Wabenwachsen, die Kutikulawachse der Bienen wurden jedoch bis jetzt noch nicht betrachtet. Daher wurden in Kapitel II., III. und IV. dieser Arbeit Wabenwachse und Kutikulawachse von Honigbienen auf ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften hin mit Standardanalysetechniken untersucht, um Serien miteinander vergleichbarer Daten zu bekommen und damit einen Grundstock für weitere Untersuchungen zu schaffen.

Um zu prüfen, ob die mit den Analysen gefundenen chemischen Unterschiede in den Wachsen für die Honigbienen überhaupt relevant sind, wurden Verhaltensversuche mit den Bienen durchgeführt (Kapitel V.). Mit diesen Versuchen sollte gezeigt werden, ob Bienen diese Unterschiede erkennen und nutzen, z.B. als Erkennungsschlüssel in Bezug auf die Orientierung im Stock oder in Bezug auf das Erkennen von verschiedenen Kästen, Geschlechtern und Berufsgruppen. Außerdem wurde der Frage nachgegangen, in welchen Wachsbestandteilen diese Erkennungsschlüssel liegen und welche Substanzklassen die Bienen tatsächlich zur Unterscheidung von Wachsen heranziehen, denn bis jetzt ist diese Frage immer noch ungeklärt (Breed et al. 1995b, Breed et al. 1998).

Für zukünftige Untersuchungen in Bezug auf die Adsorptions- und Absorptionseigenschaften von Wachs für Pheromone und Düfte wurde im letzten Teil dieser Arbeit (Kapitel VI.) eine Methodik etabliert, mit der es möglich ist, konstante geringe Konzentrationen von mittel- bis schwerflüchtigen Substanzen in Luft zu erhalten.