

VIII. Zusammenfassung / Abstract

Wachse von Honigbienen (*Apis mellifera carnica* Pollm.) spielen in der chemischen und vibratorischen Kommunikation im Bienenstock eine bedeutende Rolle. Bis jetzt liegen jedoch nur wenige Untersuchungen zur genauen Funktion und Aufgabe der Wachse vor. Um einen Beitrag zum besseren Verständnis der Rolle der Bienenwachse in der Kommunikation der Honigbienen leisten 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. Dazu wurden Bienenwachse mittels Gaschromatographie, Massenspektroskopie und FTIR-Spektroskopie auf ihre chemischen Bestandteile und ihr Phasenverhalten hin untersucht.

Die chemischen Analysen von Wabenwachsen unterschiedlichen Alters (Wachsschuppen, 1 Woche alt, 2-3 Jahre alt, 8-10 Jahre alt) ergaben mittels Diskriminantenfunktionsanalysen signifikante Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der verschiedenen Altersklassen. Diese Unterschiede lagen hauptsächlich in den aliphatischen Kohlenwasserstoffen (Alkane, Alkene, Alkadiene) und den ungesättigten und gesättigten Alkylestern der Wabenwachse. In dieser Studie konnte erstmals ein Alterungsprozeß des Wabenwachses beschrieben werden, der vermutlich aus zwei Teilprozessen besteht. Zum einen haben die Bienen einen direkten Einfluß auf die Alterung über lipolytische Enzyme, die sie bei der Wachsverarbeitung dem Wabenwachs zusetzen, zum anderen ist es ein spontaner physikalisch-chemischer Prozeß, der auf unterschiedlichen Flüchtigkeiten von Alkanen und Alkenen aus unterschiedlichen Kettenlängenbereichen beruht. Zwischen Wabenwachsen aus unterschiedlichen Regionen des Stockes (Tanzbodenwachs, Wachs aus der Honigzellenregion) konnten anhand der chemischen Analysen keine Unterschiede festgestellt werden.

Kutikulawachse unterschiedlicher Kasten und Geschlechter der Honigbienen konnten aufgrund der Substanzklassen der Alkane, Alkene, Alkadiene, 2-Methylalkane und der Alkylester signifikant unterschieden werden. Bei der chemischen Analyse von Kutikulawachsen verschiedener Berufsgruppen (Sammlerinnen, Innendienstbienen, Hofstaatbienen) gelang eine Diskriminierung der Wachse aufgrund der Alkadiene, ungesättigten und gesättigten Alkylester, Säuren und Alkohole. Bei Betrachtung der Doppelbindungsisomere der Alkene von Wabenwachsen unterschiedlichen Alters und von Kutikulawachsen unterschiedlicher Kasten und Geschlechter konnte kein Unterschied in der Zusammensetzung der Isomere festgestellt werden.

Die FTIR-spektroskopischen Untersuchungen der verschiedenen Wachse zeigten einen ersten Phasenübergang bei einer Temperatur von 41 °C bis 60 °C. Der zweite Phasenübergang fand zwischen 52,5 und 77,5 °C statt. Die kristallinen Endpunkte schwankten zwischen 70 und 88 °C. Die aliphatischen Kristallinitäten der Wachse bei 25 °C reichten von ca. 90 bis 100 %. Dabei zeigte sich, daß das Schmelzen der Wachse esterdominiert ist und nur die langkettigen Bestandteile des Wachses ($C_{37} - C_{54}$) zur orthorhombischen Kristallinität beitragen. In dieser Studie konnte zum ersten Mal für ein komplexes Substanzgemisch wie den Bienenwachsen eine lineare Abhängigkeit zwischen der mittleren gewichteten Kettenlänge und dem Schmelzverhalten der Wachse nachgewiesen werden. Damit wäre es denkbar, daß Bienen die physikalischen Eigenschaften des Wachses über dessen chemische Zusammensetzung beeinflussen und somit die Stabilität ihres Nestes bei unterschiedlichsten Bedingungen aufrechterhalten können.

Mit Hilfe von Verhaltensversuchen an Honigbienen wurde der Frage nachgegangen, ob die gefundenen signifikanten chemischen Unterschiede für die Honigbienen überhaupt relevant sind. Nutzen die Bienen diese Unterschiede zur Erkennung der Wachse? Und in welchen Substanzklassen liegen die Erkennungsschlüssel?

In dieser Studie wurden zum ersten Mal reine Wachse und Fraktionen von Wachsen mit einer natürlichen Verteilung der Substanzen in den Fraktionen mit Hilfe des Rüsselstreckreflex-Paradigmas getestet. Honigbienen sind in der Lage, auf Glasstäbchen aufgetragene chemisch unterschiedliche Wachse zu diskriminieren. Es konnte gezeigt werden, daß Honigbienen die Wachse anhand der polarerer und längerkettigen Bestandteile der Wachse (Alkylester, ungesättigten Alkylester, Hydroxyalkylester, Säuren und primäre Alkohole) unterscheiden. Eine Diskriminierung der Wachse aufgrund der aliphatischen Kohlenwasserstoffe, wie sie in zahlreichen Studien angenommen wird, war den Honigbienen nicht möglich. Dies ergab einen neuen und sehr interessanten Einblick in die chemische Kommunikation der Honigbienen.

Im letzten Teil der vorliegenden Arbeit wurde eine Methodik etabliert, die es erlaubt, konstante und reproduzierbare Konzentrationen von mittel- bis schwerflüchtigen Substanzen in Luft zu generieren (Dampfdruckgenerator). Diese Apparatur ermöglicht somit Sorptionsversuche mit Pheromonen und Düften für Bienenwachs, welche einen weiteren Einblick in die Rolle der Wachse als Träger für Signale in der Kommunikation der Honigbienen geben würden.

Comb and cuticular waxes of *Apis mellifera carnica* Pollm. play important roles in the communication of the honeybees inside the hive. But there is only very limited knowledge about the exact function of the waxes. The objective of this study was to contribute to a better understanding of the role of waxes in the communication of the honeybees. A prerequisite for further studies was to elucidate the chemical and physical properties of the different waxes inside the hive. For this reason, bees waxes were analysed by gas chromatography, mass spectroscopy and FTIR spectroscopy in terms of chemical composition and phase behaviour.

Based on compositional data comb waxes of various age classes (scales, 1 week old, 2-3 years old and 8-10 years old) could be significantly distinguished by discriminant function analyses based on the substance classes alkanes, alkenes, alkadienes, unsaturated and saturated alkyl esters. In this study it has been shown for the first time, that the ageing of comb wax is in part a spontaneous physicochemical process due to differential volatilities of alkanes and alkenes with different chain-length ranges. On the other hand it is directly influenced by the bees by adding lipolytic enzymes to the comb wax. No chemical differences could be found between comb waxes of different regions in the hive (dance floor, wax of the honey region).

Cuticular waxes of different castes and sexes of the honeybees could be discriminated significantly by the alkanes, alkenes, alkadienes, 2-methylalkanes and the saturated alkylesters. Analyses of cuticular waxes of bees that were engaged in different tasks (foragers, food storers and queen attenders) showed, that the chemical compositions were significantly different due to the substance classes of the alkadienes, unsaturated and saturated alkyl esters, acids and alcohols. Regarding the alkene double bond positions of various age classes of comb waxes and of cuticular waxes of different castes and sexes, no differences could be detected.

The FTIR spectroscopic analyses of comb waxes and cuticular waxes showed a first phase transition in a temperature interval from 41 °C to 60 °C. The second phase transition occurred between 52.5 and 77.5 °C. The crystalline endpoints varied between 70 °C and 88 °C. The aliphatic crystallinities at 25 °C were in the range from 90 to 100 %. It could be shown that the melting of the waxes is dominated by esters and only the long chain components of the wax (C₃₇-C₅₄) contribute to the orthorhombic crystallinity. For the first time it was possible to obtain a linear relationship between the median of chain lengths and the phase behaviour for such a complex mixture of components as the bees waxes. There is reason to believe that honeybees can modulate the chemical composition and therefore influence the physical

properties of the waxes in order to maintain the physical and mechanical properties of the nest.

By using behavioural assays it was tested whether honeybees can distinguish between different waxes and if so, on which chemical wax components such a performance is based. By differential conditioning of the proboscis extension reflex with waxes and wax fractions applied on glass rods, honeybees were able to discriminate significantly between waxes of different chemical compositions. Honeybees distinguish between the waxes using the polar and long chain components of the wax (unsaturated and saturated alkylesters, hydroxy alkylesters, acids, alcohols). A discrimination of the waxes based on the aliphatic hydrocarbons (previous research on the ability of insects to discriminate waxes was focussed on these compounds) was not possible for the bees. These data provide new and interesting insights into the chemical communication of the honeybees.

In the last part of this study, a method was established to generate constant and reproducible concentrations of medium and low volatile substances in air (vapour pressure generator). This apparatus allows sorption experiments with pheromones and scents for bees waxes. These sorption experiments could provide deeper insights into the role of waxes as carrier for signals in the communication of the honeybees.