



PHÉROMONES ET COMPORTEMENT CHEZ QUELQUES HYMÉNOPTÈRES 1

Janine Pain

► To cite this version:

Janine Pain. PHÉROMONES ET COMPORTEMENT CHEZ QUELQUES HYMÉNOPTÈRES 1. *Apidologie*, 1971, 2 (4), pp.319-355. <hal-00890317>

HAL Id: hal-00890317

<https://hal.science/hal-00890317v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

PHÉROMONES ET COMPORTEMENT CHEZ QUELQUES HYMÉNOPTÈRES ¹

Janine PAIN

*Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux, I.N.R.A.,
91 - Bures-sur-Yvette*

INTRODUCTION

Que désigne-t-on exactement par le terme de Phéromone ² ? La définition donnée par les chercheurs allemands (KARLSON, BUTENANDT, 1959 ; KARLSON, LUSCHER, 1959) est la suivante : les phéromones sont des substances sécrétées par un individu mais à l'extérieur de celui-ci. Reçues par un deuxième individu de la même espèce, elles provoquent chez ce dernier une réaction définie qui modifie le comportement ou la physiologie de l'individu récepteur.

C'est le terme généralement adopté depuis cette date. Cependant elles ont été désignées par d'autres termes tels que ceux d'ectohormones (BETHE, 1932), de parahormones (KULLENBERG, 1952), d'exohormones (HRDY, NOVAK, 1960), de télérgones (KIRSCHENBLATT, 1968).

Étant donné que les phéromones sont sécrétées par des glandes et que leurs propriétés consistent soit à stimuler ou inhiber un comportement, soit à enrayer

1. Cette mise au point a été présentée sous une forme quelque peu différente lors des Journées annuelles d'Endocrinologie et de Nutrition, sous la direction du Professeur H.-P. KLOTZ (Symposium International sur les Hormones et le Comportement, Octobre 1970). Elle a été complétée en ce qui concerne le genre *Apis* dans toute la mesure du possible en tenant compte des publications reçues au cours du premier trimestre 1971.

2. Le terme de « phéromone » tend actuellement à s'imposer devant celui de « phéromone » qui a toujours été utilisé jusqu'ici par l'auteur. Tout en acceptant de s'aligner sur l'usage, l'auteur maintient son opinion quand au caractère erroné, du point de vue linguistique, du terme « phéromone » (Voir à ce sujet PAIN, 1968.)

un processus physiologique, ces phénomènes correspondent exactement à la définition des hormones. Mais ce sont des hormones d'un type spécial parce qu'elles sont véhiculées non par le sang dans un organisme mais par des individus dans un groupe social.

Ce sont des substances messagères entre les individus. Elles leur permettent de communiquer grâce à un code de stimuli chimiques.

Cette définition exclut les substances attractives alimentaires (les phagostimulants), les substances attractives d'origine végétale, les attractifs de synthèse.

Les phéromones telles qu'elles viennent d'être définies ont été signalées dans tous les ordres d'Insectes. Deux tendances paraissent se dégager quant à leur classification. Ainsi, KARLSON (1960) considère d'une part les phéromones agissant par olfaction et celles agissant par ingestion. Parmi les premières, il range les substances attractives sexuelles, les parfums de marquage et les substances d'alarme. Parmi les secondes, il range les substances phéromonales identifiées chez les abeilles et les termites, inhibitrices de la production de sexués de remplacement.

Les Américains, WILSON (1963), REGNIER et LAW (1968) distinguent les phéromones de déclenchement (Releaser pheromones) et les phéromones d'amorçage (Primer pheromones). Les premières agissent sur le comportement par l'intermédiaire du système nerveux, les secondes modifient la physiologie, en particulier celle du système reproducteur et du système endocrinien.

Étant donné le sujet choisi, il portera sur le premier type de ces phéromones. Elles jouent un rôle de premier plan au cours des comportements d'attraction sexuelle, d'alarme et de défense, de marquage de piste, d'agrégation sexuelle, de reconnaissance mutuelle.

Les exemples choisis porteront sur les *Hyménoptères*.

I. — LES PHÉROMONES ATTRACTIVES SEXUELLES

Les recherches sur les substances attractives sexuelles ont surtout été poursuivies chez les Lépidoptères. Cependant, tous les autres ordres d'insectes ont révélés la présence de telles phéromones. (*Dictyoptera*, *Hémiptera*, *Mécop-tera*, *Coléoptera*, *Diptera* et *Hymenoptera*).

Pour les étudier, il est indispensable de disposer d'un test biologique précis permettant d'observer le comportement typique de l'insecte mâle ou femelle. Ce comportement doit être reproductible avec les extraits phéromonaux de l'un des deux sexes ou avec les différentes substances en cours de synthèse.

Chez les abeilles domestiques, GARY (1962, 1963) puis nous-mêmes (PAIN, RUTTNER, 1963) avons procédé de la façon suivante. Sachant que l'accou-

plement s'effectue en plein vol, pendant les journées chaudes et ensoleillées, à environ 10 mètres du sol, des reines vivantes ou des leurres imbibés de substances ont été attachés par un fil à des ballons gonflés d'hélium ou d'hydrogène. Ces ballons sont reliés au sol par un fil souple de nylon. Les observations se font à la jumelle. Elles permettent de compter le nombre de mâles attirés et la durée de leur visite.

Cette méthode a permis de démontrer que la substance attractive sexuelle est localisée dans la tête des reines et plus précisément dans les glandes mandibulaires très développées. Ces glandes sont riches en lipides. Ceux-ci ont été fractionnés. Les mâles d'*Apis mellifica* sont attirés par une fraction phospholipidique et une fraction acide gras (GARY, 1962). L'acide gras a été identifié à l'acide céto-9 décène-2 *trans* oïque (substance royale de BUTLER, phéromone 1 de PAIN).

L'extraction et la synthèse ont été réalisées par deux équipes, l'une française (BARBIER, LEDERER, REICHSTEIN, SCHINDLER, 1960 ; BARBIER, LEDERER, 1960 ; BARBIER, LEDERER, NOMURA, 1960), l'autre anglaise (BUTLER, CALLOW, JOHNSTON, 1959, 1961 ; CALLOW, JOHNSTON, 1960).

L'acide de synthèse attire les mâles d'abeilles tout comme l'acide naturel. Cependant, selon les auteurs et les méthodes utilisées, l'attraction paraît plus faible (GARY ; PAIN et RUTTNER) ou de même intensité (BUTLER, FAIREY, 1964) que celle des extraits totaux de glandes mandibulaires ou de reines entières vierges ou fécondes.

Tout récemment, des zones « artificielles » de rassemblement de mâles d'abeilles ont été créées en utilisant de grandes quantités de l'attractif sexuel de synthèse (STRANG, 1970).

Au cours de ces expériences, aucun autre insecte n'est attiré excepté les mâles d'*Apis mellifica*. Cependant, s'ils sont attirés par l'odeur de leur propre reine ou sur les lieux de rassemblements de mâles (RUTTNER, KAISLING, 1968) ils peuvent aussi être attirés par des extraits éthyliques de reines d'*Apis cerana* et d'*Apis florea*. Les extraits analysés par chromatographie en phase gazeuse indiquent qu'ils contiennent une substance ayant le même temps de rétention que l'acide céto-9 décène-2 oïque (BUTLER, CALAM, CALLOW, 1967).

Les extraits céphaliques de reines d'*Apis cerana* contiennent effectivement de l'acide céto-9 décène-2 oïque de même que les extraits céphaliques de reines d'*Apis dorsata*. Chez les deux espèces, les quantités trouvées sont identiques à celles présentes chez les reines d'*Apis mellifica*. Les mâles d'*Apis dorsata* et d'*Apis cerana* ne sont pas attirés par l'acide de synthèse, et par des reines mortes d'*Apis mellifica* (SHEARER, BOCH, MORSE, LAIGO, 1970).

Non seulement cet acide joue le rôle d'un attractif sexuel, mais c'est aussi un aphrodisiaque : il stimule le mâle à s'accoupler à condition que la chambre de l'aiguillon de la reine soit ouverte. Le parfum de la chambre de l'aiguillon ne serait cependant que secondaire (BUTLER, 1967).

DOOLITTLE, BLUM, BOCH (1970) ont montré que l'acide céto-9 décène-2 oïque forme *cis* n'a aucune activité en tant qu'attractif sexuel. Des mélanges en proportions égales des 2 acides forme *trans* et forme *cis* (100 µg.) attirent autant de mâles d'abeilles que la même quantité (100 µg.) forme *trans* d'acide céto-9 décène-2 oïque. Au cours de ces expériences, l'acide céto-9 décène-2 *cis* oïque ne masque pas l'activité de la phéromone attractive sexuelle. Les auteurs ont démontré que la forme *cis* est photoisomérisée en forme *trans* rapidement en présence de la lumière du soleil. Ce serait le premier exemple de ce type de transformation découvert en tant qu'attractif sexuel chez les abeilles, alors que chez d'autres insectes comme les lépidoptères, ces substances sont complètement masquées par de petites quantités de leurs isomères géométriques.

Au cours du processus d'attraction sexuelle, l'acide céto-9 décène-2 oïque n'est pas le seul acide en cause. Un autre acide, contenu dans les glandes mandibulaires de la reine attire, bien que plus faiblement, les mâles d'abeilles. Il s'agit de l'acide hydroxy-9 décène-2 oïque (BUTLER, FAIREY, 1964). Il a d'ailleurs une autre fonction, celle de stabiliser les essaims d'ouvrières. Nous en reparlerons plus loin.

Mais comment les mâles d'*Apis* perçoivent-ils ces extraits ? Les mâles qui quittent une ruche à la recherche d'une reine nubile ne s'aventurent généralement pas à plus de 3 kilomètres, bien qu'une partie d'entre eux puissent couvrir plus du double de cette distance. Le vent est un facteur important pour la rencontre des deux sexes. Si leur acuité visuelle est faible, leurs antennes par contre sont particulièrement sensibles à l'odeur de la reine. Elles sont garnies d'au moins 9 types d'organes sensoriels. Parmi ceux-ci, ce sont les *Sensilla placodea*, plus nombreuses chez les mâles que chez les ouvrières, qui réagissent aux odeurs de la reine et aux vapeurs d'acide céto-9 décène-2 oïque (BEETSMA, 1967; BOETCKH, KAISLING, SCHNEIDER, 1966; KAISLING, RENNER, 1968; RUTTNER, KAISLING, 1968).

Des mâles d'abeilles ont été dressés à réagir à différents parfums. Tout comme les ouvrières et probablement les reines, ils peuvent distinguer ceux-ci et notamment l'odeur de l'acide céto-9 décène-2 oïque ainsi que le parfum de la glande de Nassanoff. Le réflexe d'extension du proboscis est le test utilisé pour conditionner ces insectes (VARESCHI, KAISLING, 1970).

Chez d'autres Apides, HAAS (1952, 1967) a observé les vols d'accouplements chez les *Bombus* et les *Psithyrus*. Il a montré comment les bourdons utilisent une substance parfumée en provenance de leurs glandes mandibulaires. La sécrétion sert à marquer des supports (feuilles, tiges, brindilles) situés à différentes hauteurs et répartis le long de routes préférentielles. Ces chemins sont utilisés au cours de la journée. Les mâles et les femelles s'y rencontrent pour s'accoupler. KULLENBERG (1956, p. 277) signala que les mâles de *Bombus hortorum* paraissent sensibles à l'odeur d'*hydroxycitronellal*. Des observations plus récentes (BERGSTROM, KULLENBERG, STALLBERG-STENHAGEN, STENHAGEN,

1968) indiquent que la sécrétion mandibulaire des mâles de bourdons peut être considérée comme une phéromone attractive à la fois pour les mâles et les jeunes fondatrices. Elle a probablement aussi la faculté d'augmenter la disposition des mâles à la copulation. D'après les analyses chimiques, plusieurs substances parfumées seraient produites dans les différentes parties du système glandulaire céphalique. La principale substance volatile des mâles de *Bombus terrestris* a été identifiée au 2-3-dihydro-6-trans-farnésol. D'autres substances accompagnent ce terpène. Par contre, les auteurs précédemment cités ne trouvèrent pas de farnésol, sesquiterpène considéré par STEIN (1963) comme la substance odorante des glandes mandibulaires des mâles de *Bombus terrestris*.

Le farnésol a été localisé par la même équipe dans les sécrétions céphaliques d'autres espèces : *Bombus hortorum*, *pratorum* et chez un Psithyre : *Psithyrus barbutellus* K. Rappelons que CALAM (1969) avait déjà signalé chez *Bombus pratorum* la présence d'une substance dont le temps de rétention était identique à celui du farnésol commercial. Chez toutes les espèces étudiées, les auteurs suédois ont trouvé à côté d'une substance principale, plusieurs substances en quantités plus faibles telles que le géraniol, le citronellol, etc. Chaque espèce de *Bombus* possède d'ailleurs une sécrétion qui lui est propre (KULLENBERG, BERGSTROM, STALLBERG-STENHAGEN, 1970).

Les fourmis sécrètent également des terpènes. C'est le cas de certaines espèces de *Lasius* et *Acanthomyops*. Les mâles produisent dans leurs glandes mandibulaires hypertrophiées un mélange d'alcools terpénoides. Ces substances libérées au cours des vols nuptiaux ont été considérées comme des phéromones sexuelles (LAW, WILSON, Mc CLOSKEY, 1965).

Les études de KANNOVSKI et de JOHNSON (1969) suggèrent, chez plusieurs espèces de *Formica*, que les rencontres des mâles avec les femelles aux cours des activités nuptiales sont dues à la libération par les femelles d'attractants sexuels spécifiques. Cependant, différentes parties du corps des femelles présentées écrasées à des mâles n'ont pu provoquer, tout au moins dans ces conditions, la réponse des mâles.

Les Hyménoptères sociaux ne sont pas les seuls insectes à sécréter des substances sexuelles. D'autres hyménoptères non sociaux en possèdent également. Ainsi, chez les Hyménoptères symphytes, une femelle encagée de la tenthrede du pin, *Diprion similis*, est capable d'attirer au total 11 000 mâles. La réponse des mâles est rapide puisqu'au bout de 30 secondes ils arrivent auprès des cages contenant les reines vierges. La substance attractive extractible par l'éther serait produite par les glandes abdominales (COPPEL, CASIDA, DAUTERMAN, 1960).

Chez les Hyménoptères parasites, des recherches effectuées sur les braconides indiquent aussi la présence de phéromone sexuelle sécrétée par les femelles (BOUSH, BAERWALD, 1967). Chez 2 espèces d'*Ichneumonoidea* : *Phaeogenes invisor*

(*Ichneumonidae*) et *Apanteles medicaginis* (*Braconidae*) un parfum attractif est produit par les jeunes femelles vierges âgées de quelques heures, auquel les mâles répondent lorsqu'ils se trouvent à environ 2 mètres des femelles (COLE, 1970).

II. — LES PHÉROMONES D'ALARME

Les phéromones d'alarme ont été étudiées surtout sur les insectes sociaux. Elles ont été signalées chez de nombreuses espèces de Fourmis, chez les abeilles : *Apis* et *Mélipones* et chez quelques guêpes du genre *Vespula*. Il ne semble pas qu'elles existent chez les bourdons (*Bombus lucorum*, *hortorum*, *hypnorum*), ni chez *Polistes dubia* K. (*Vespidae*), ni chez *Ponera coactata* et *Myrmecina graminicola* (*Formicidae*) (MASCHWITZ, 1964). Ces observations ont permis de penser que la présence de ces phéromones est peut-être caractéristique des nids contenant un grand nombre d'insectes.

Dans cette catégorie de substance, on a considéré que les sécrétions défensives projetées sur des insectes d'une autre espèce, ne sont pas des phéromones au sens de KARLSON, BUTENANDT et LUSCHER.

BUTLER (1967) a proposé d'appeler les phéromones d'alarme : phéromones d'alerte, pour les distinguer des substances purement défensives.

Les phéromones d'alarme ou d'alerte perturbent le comportement des insectes en accélérant leur marche et leur vol, en augmentant leur agressivité jusqu'à l'attaque.

Ces phéromones sont toujours en rapport avec les organes et les glandes assumant la défense de la colonie. Chez les fourmis, elles sont émises par les glandes mandibulaires, les glandes à venin, de Dufour ou anales, chez les guêpes, par les glandes à venin, chez les abeilles genre *Apis* par les glandes de l'aiguillon et les glandes mandibulaires (MASCHWITZ, 1964) et chez les abeilles *mélipones* par les glandes mandibulaires. BLUM (1969) donne la liste d'une vingtaine de phéromones d'alarme identifiées chez les insectes sociaux. La moitié d'entre elles sont des terpènes. Presque toutes ces substances sont des composés non polaires montrant peu de tendance à s'associer. C'est pourquoi, elles ne persistent pas dans les zones où elles sont émises, ce qui permet aux insectes de retrouver rapidement leur activité normale.

Chez les fourmis, WILSON (1963) indique que la phéromone d'alarme se propage pendant 13 secondes à une concentration active en l'absence de vent. Il se forme alors un nuage héli-sphérique ayant au maximum 6 cm de diamètre, dans le domaine duquel la concentration est supérieure au seuil. Si de nouvelles sécrétions ne sont pas libérées, cette sphère disparaît 35 secondes après. La phéromone présente une concentration plus faible vers l'extérieur de la sphère. Les ouvrières sont d'abord attirées par la faible concentration de la substance

d'alarme de la périphérie. Mais aussitôt qu'elles pénètrent dans la zone de haute concentration centrale, la réaction d'alarme caractéristique est déclenchée chez elles.

Plus les fourmis sont alarmées, plus elles sécrètent de phéromones d'alarme et plus le nombre d'ouvrières mobilisées pour la défense du nid est grand. Dès la disparition de l'élément perturbateur, l'odeur d'alarme s'évanouit aussitôt et le nombre d'ouvrières excitées diminue également.

L'analyse chimique des phéromones d'alarme a surtout été poursuivie chez les fourmis. L'une d'elles, *Acanthomyops claviger* de la famille des *Formicinae* en possèdent plusieurs identifiées dans les glandes mandibulaires et dans la glande de Dufour. Les glandes mandibulaires produisent différents terpènes parmi lesquels le citronellal et le citral. La glande de Dufour, organe accessoire de la glande à venin produit plusieurs hydrocarbures. Ceux-ci sont libérés en même temps que l'acide formique contenu dans la glande à venin. Ils permettent à cet acide de se propager plus facilement (REGNIER, WILSON, 1968).

Tout récemment, CREWE et BLUM (1970) viennent d'identifier 4 substances dans les sécrétions mandibulaires d'une autre espèce de fourmi. Deux d'entre-elles sont sécrétées en plus grande quantité. Il s'agit de l'octanone-3 et de l'octanol-3. Elles provoquent une réaction d'alarme chez les ouvrières de *Myrmica brevinodis*. Les mêmes substances ont également été trouvées dans les glandes mandibulaires de *Crematogaster peringueyi* E. (CREWE, BRAND, FLETCHER, EGGERS, 1970).

Le même système de réponse existe chez les abeilles. Nous décrivons plus en détails les résultats obtenus chez ces insectes. Dans la famille des Apides, les phéromones d'alarme ont été mises en évidence chez *Apis*, *Trigona* et *Lestrimelitta*.

Chez *Apis mellifica*, les mâles et les reines ne produisent pas ces phéromones mais seulement les ouvrières. F. HUBER (1814) a montré que des aiguillons fraîchement arrachés et présentés à l'entrée de la ruche provoquent un comportement d'attaque de la part des gardiennes. De même, quand une ouvrière pique une intruse, elle libère une substance d'alarme. CHAUVIN (1960) l'appelle Répulsine Gamma.

Cette phéromone a été étudiée par BOCH, SHEARER et STONE (1962). A partir d'une trentaine d'aiguillons, ils ont identifié la phéromone d'alarme à l'acétate d'iso-amyl (ou acétate d'iso-pentyl). A l'époque cette substance n'était pas encore connue dans les tissus animaux. Des touffes de coton imbibées d'acétate d'iso-amyl, présentées à l'entrée de la ruche alertent et provoquent une agitation chez les gardiennes. Cependant des cotons imbibés de la même quantité d'aiguillons odorants provoquent en plus la piqure. Les aiguillons (avec leurs glandes) d'ouvrières âgées de 15 à 30 jours contiennent de 1 à 5 μg par abeille d'acétate d'iso-amyl (BOCH, SHEARER, 1966). Cette quantité diffère

d'ailleurs entre les quatre espèces d'*Apis* (MORSE, SHEARER, BOCH, BENTON, 1967). GHENT et GARY (1962) observèrent que le parfum caractéristique de l'aiguillon est associé à la membrane pileuse entre les plaques oblongues. MASCHWITZ (1964) trouva en effet que ces membranes écrasées étaient les seules attractives. Ces membranes ont été analysées par la chromatographie en phase gazeuse (GUNNISON et MORSE, 1968). Elles contiennent un certain nombre de substances identiques à celles contenues dans les aiguillons entiers. Ces substances n'ont pas été identifiées. Les glandes de Koschewnikow situées également dans la chambre de l'aiguillon sont par contre moins riches en substances. On ne retrouve pas l'acétate d'iso-amyl dans le venin (FREE, SIMPSON, 1968).

Chez les ouvrières d'abeilles, une autre substance d'alarme a été localisée dans les glandes mandibulaires (MASCHWITZ, 1964). Son action est de plus faible intensité que celle de la phéromone de l'aiguillon (BOCH, SHEARER, PETRASOVITS, 1970). Elle a été identifiée à l'heptanone-2 (SHEARER, BOCH, 1965). Elle apparaît chez les butineuses et les gardiennes. Les mêmes auteurs (BOCH, SHEARER, 1967) en trouvent 40 μ g chez de jeunes abeilles butineuses. Cependant SIMPSON (1966) émet un doute quand à la véritable fonction d'alarme de cette substance. Elle serait plutôt répulsive vis-à-vis des abeilles pillardes. L'heptanone-2 est sécrétée uniquement chez *Apis mellifica*, non chez *Apis dorsata*, *floreana* et *cerana*. (MORSE, SHEARER, BOCH, BENTON, 1967).

Ainsi, l'abeille domestique, *Apis mellifica* produit deux phéromones d'alarme, une cétone (l'heptanone-2) et un ester d'alcool (l'acétate d'iso-amyl). Les trois autres espèces ne produisent que l'acétate d'iso-amyl en quantités variables. Cette substance est d'ailleurs sécrétée avec d'autres composés actifs, en provenance des aiguillons. L'acétate d'iso-amyl n'a été mis en évidence que chez les *Apis*. Par contre, l'heptanone-2 est sécrétée par plusieurs espèces de fourmis de la famille des Dolichoderidae non dans les glandes mandibulaires, mais dans les glandes anales (BLUM, WARTER, MONROE, CHIDESTER, 1963; BLUM, WARTER, 1966; KANNOVSKI, JOHNSON, BLUM, travaux non publiés).

Chez d'autres Apides, les mélipones, abeilles sans aiguillon, BLUM (1966) a trouvé une phéromone d'alarme dans les glandes mandibulaires de *Lestrimelitta limao*. La sécrétion a été identifiée au citral (géraniol et néral). La phéromone est employée par l'insecte au cours de raids sur des colonies de *Melipona* et *Trigona* sp. Ces dernières sont totalement désorientées par des concentrations élevées de citral et incapables d'organiser une résistance (MOURE, NOGUERA-NETO, KERR, 1958). Par contre, le comportement des abeilles qui ne sont pas attaquées par *Lestrimelitta limao* n'est que faiblement modifié par la présence de ce terpène. D'autres abeilles sans aiguillon comme *Trigona subterranea* produisent également dans leurs glandes mandibulaires les 2 stéréoisomères du citral (géraniol et néral). Les ouvrières de cette espèce ont un comportement d'alarme en présence de très fortes concentrations de citral. (BLUM, CREWE, KERR, KEITH, GARRISON, WALKER, 1970.)

Chez deux autres mélipones : *Trigona postica* L et *Trigona tubiba* F S, BLUM et d'autres chercheurs (BLUM, PADOVANI, KERR, DOOLITTLE, BEROZA, travaux non publiés), ont mis en évidence l'heptanone-2 et la nonanone-2.

III. — LES PHÉROMONES DE MARQUAGE DE PISTE

Les phéromones de marquage de piste ont été les plus étudiées des phéromones de recrutement (REGNIER, LAW, 1968). En général, elles sont déposées par les butineuses lorsqu'elles reviennent à leur nid après avoir découvert une source de nourriture. Cependant, elles peuvent aussi être utilisées pour d'autres buts. Chez les fourmis (WILSON, 1963) elles aident les insectes à effectuer des raids vers des colonies étrangères, elles facilitent l'émigration de la colonie ou permettent aux insectes de s'orienter dans le nid pour accomplir par exemple un travail de réparation.

Les phéromones de marquage de piste existent aussi bien chez les insectes qui volent que chez ceux qui ne volent pas.

Chez les insectes terrestres, les exemples les plus classiques sont fournis par les différentes espèces de fourmis qui marquent de leur odeur des pistes sur le sol. Le parfum de ces pistes n'est autre qu'une phéromone. Elles peuvent être émises par la glande de Dufour, par la glande de Pavan, par la glande à venin, toutes situées dans l'abdomen. Elles peuvent aussi provenir de l'intestin.

WILSON (1962) a montré chez la fourmi *Solenopsis saevissima* que le recrutement en masse en vue du butinage s'effectue par l'utilisation d'une phéromone de marquage sécrétée par la glande de Dufour et émise par l'aiguillon dégainé. L'examen d'une série de photographies prises au flash électronique, au millième de seconde a mis en évidence que seule la pointe de l'aiguillon touchant le sol trace des traits parfumés en se relevant à intervalles réguliers. La phéromone est un attractif puissant qui excite les ouvrières et les tire hors du nid dans la direction indiquée par la piste. Au cours de ce comportement, il ne semble pas que d'autres stimuli interviennent. WALSH, LAW, WILSON (1965) isolèrent de deux cent mille ouvrières, 250 μ g de cette phéromone mais ne purent en déterminer la formule chimique. L'odeur de la piste disparaît au bout d'environ 100 secondes (WILSON, BOSSERT, 1963). Toutefois, chez d'autres fourmis elle disparaît plus lentement. Chez *Acanthomyops interjectus*, HANGARTNER (1970) a mis en évidence que la quantité de phéromone de marquage de piste est ajustée à la qualité de la nourriture.

Chez les insectes qui volent telles que les abeilles Melipones, les butineuses déposent sur des substrats divers (pierres, brins d'herbe, branches, feuilles, monticules de terre...) des marques parfumées qui relient leur colonie à une source de nourriture. La sécrétion provient dans ce cas de leurs glandes mandibulaires (LINDAUER, KERR, 1958, 1960). De plus, les chemins parfumés de

Trigona sp. sont polarisés, l'odeur étant plus intense vers la source de nourriture. Selon les espèces, après son dépôt, l'odeur peut se maintenir de 9 à 14 minutes (KERR, FERREIRA, de MATTOS, 1963). Elle semble spécifique de l'espèce.

Dans le cas des abeilles domestiques, lorsqu'une ouvrière d'*Apis* découvre une source de nourriture abondante, elle marque celle-ci au moyen de sa glande de Nassanoff, située au niveau du 7^e tergite abdominal. Comme chez les fourmis, la nourriture ainsi marquée va attirer de nouvelles ouvrières. RENNER (1960) a exprimé la sécrétion de cette glande sur des bandelettes de papier déposées ensuite auprès de nourrisseurs. Il a constaté que les butineuses ne faisaient pas de différence entre l'odeur des glandes de leur propre colonie ou d'une autre. La sécrétion est donc une substance attractive générale.

BOCH et SHEARER (1962, 1963, 1964) ont montré que dans cette glande, on trouve plusieurs constituants phéromonaux : un alcool, le géraniol dont la quantité varie avec l'âge des ouvrières, et deux acides : gérannique et nérolïque. Cependant, le mélange de ces trois substances est un peu moins attractif que des papiers filtres déposés directement sur l'organe odorant. De son côté, FREE (1962) avait aussi observé que la glande elle-même est plus attractive que le géraniol.

SHEARER et BOCH (1966) identifièrent ensuite le citral. Cette substance n'apparaît dans les sécrétions glandulaires que dans certaines conditions et à des doses très faibles. Elle est attractive pour les butineuses. Cette attraction contestée par certains (WOODROW, GREEN, TUCKER, SCHONHORST, HAMILTON, 1965) fut cependant constatée par d'autres chercheurs (N. WEAVER, E. C. WEAVER, J. H. LAW, 1964).

Selon BUTLER et CALAM (1969) le mélange de citral (géraniol forme *trans*) et de géraniol est finalement presque aussi attractif que la sécrétion phéromonale de plusieurs butineuses.

Le marquage par la glande de Nassanoff n'est pas le seul procédé utilisé par les abeilles domestiques. En effet, en fonction de certaines conditions expérimentales, les ouvrières déposent des phéromones de piste non pas au cours d'un vol mais en marchant.

Ainsi, LECOMTE (1956) a observé en période de miellée que les butineuses d'une ruche ayant subi une rotation de 180° continuent dans une certaine mesure à atterrir à l'ancien emplacement, en gagnant le trou de vol à la marche. Elles suivent le long de la ruche une piste étroite enduite d'une substance qui peut persister pendant 15 jours. On peut entraîner la substance par l'eau, l'alcool et l'éther.

LECOMTE avait supposé à l'époque que l'odeur se dégageant du trou de vol devait jouer un rôle de guide en attirant les ouvrières vers l'entrée de la ruche. Ce travail fut repris 13 ans après (BUTLER, FLETCHER, WATLER, 1969). Il aboutit aux conclusions suivantes : deux substances sont en cause pour per-

mettre aux butineuses de regagner leur ruche. L'une est constituée par l'odeur de la colonie, l'autre par l'odeur laissée par l'extrémité des pattes des ouvrières (Footprint pheromones).

Cette phéromone contamine le corps de l'abeille sauf la tête. Mais il est possible que les glandes situées à la surface du corps de l'ouvrière interviennent aussi. Leur odeur ainsi que celle des glandes tarsales sont en partie responsables de l'odeur de la colonie. Les mêmes auteurs (BUTLER, FLETCHER, WATLER, 1970) montrèrent que selon l'état de perturbation et le nombre de butineuses, celles-ci regagnent soit en volant soit en marchant l'entrée de leur ruche qui a été déplacée. Parmi les butineuses qui regagneront l'emplacement de l'ancienne entrée, l'une d'elle finira par trouver la nouvelle et la marquera du parfum de sa glande de Nassanoff. D'autres viendront renforcer cette odeur et une piste parfumée s'établira ainsi entre les deux entrées. L'odeur de la colonie mais surtout des repères visuels viennent aider à la formation de ces pistes. La phéromone d'empreinte tarsale ne joue finalement qu'un rôle secondaire.

En 1962, CHAUVIN avait déjà signalé que les traces laissées par les ouvrières sur un nourrisseur en verre étaient susceptibles de provenir des glandes d'Arn-hart situées à l'extrémité des tarses. Il les avait appelées épagines *éta*. Ces phéromones d'empreintes tarsales dont l'odeur est plus persistante que celle de la glande de Nassanoff, ne seraient pas spécifiques d'une colonie et peut-être pas de l'espèce. Les reines et les mâles d'abeilles possèdent aussi des phéromones tarsales.

Les ouvrières de la guêpe sociale *Vespa vulgaris* déposent également une phéromone d'empreinte tarsale attractive pour les guêpes, mais inattirative pour les ouvrières d'abeilles. Ces phéromones n'ont pas encore été identifiées.

Ce type de phéromones existe aussi chez les fourmis. Les *Crematogaster* en réunissant leurs pattes postérieures tambourinent vigoureusement le sol avec l'extrémité des tarses (FLETCHER, BRAND, 1968). Chez d'autres, on a localisé dans les tibias postérieurs la glande phéromonale et son réservoir. La sécrétion d'aspect huileux peut s'écouler dans la lumière du tendon vers l'extrémité des pattes. L'orifice extérieur de la glande n'a pas été situé avec exactitude (LEUTHOLD, 1968). Grâce au microscope électronique à balayage, PASTEELS, CREWE, BLUM (1970), ont pu localiser avec précision l'orifice glandulaire externe par où s'échappe la phéromone de marquage de piste chez *Crematogaster minutissima*.

IV. — LES PHÉROMONES D'AGRÉGATION

Chez beaucoup d'insectes appartenant à de nombreux genres, les femelles, les mâles ou les deux sexes se rassemblent soit pour s'accoupler et pondre, soit pour nidifier ou pour hiverner, estiver ou encore pour se protéger mutuellement.

Des phéromones olfactives sont encore impliquées dans la formation de tels rassemblements. Ceux-ci d'ailleurs peuvent être temporaires ou permanents.

Dans le premier cas, on peut citer celui d'une abeille solitaire, *Andrena flavipes* où une ou plusieurs phéromones favoriseraient l'agrégation temporaire des mâles autour des femelles émergentes. Les mâles sont attirés par la couleur orangée des pattes postérieures des femelles nubiles mais aussi par l'odeur des différents terriers placés les uns à côté des autres dans des zones bien définies. L'odeur des femelles nubiles ne serait pas en cause mais peut-être celle du couvain émanant de l'ensemble des colonies (BUTLER, 1965).

Dans le deuxième cas, chez les fourmis, les guêpes, les abeilles sociales, des phénomènes entrent encore en jeu pour maintenir la cohésion permanente des populations. Elles sont produites par la reine, mais peuvent aussi provenir des ouvrières, des mâles et du couvain.

Chez les abeilles domestiques, l'importance du couvain a été remarquée depuis longtemps par les apiculteurs et les chercheurs. Sa présence agit sur la récolte de pollen et sur les apports en eau, elle stimule les échanges trophiques et modifie la physiologie des ouvrières et leur teneur en substances diverses. Son influence est donc aussi importante que celle de la reine.

Dans le cas particulier de l'essaimage, la cohésion d'un essaim d'abeilles est assurée par les ouvrières elles-mêmes (FREE, BUTLER, 1955) mais aussi et surtout par la reine. Par son odeur, elle maintient groupé autour d'elle un nombre d'ouvrières qui peut varier suivant les conditions entre 500 grammes et 3 000 grammes. Les substances responsables ont été trouvées dans les glandes mandibulaires. Il s'agit de deux acides : l'acide céto-9 décène-2 oïque et l'acide hydroxy-9 décène-2 oïque. Le premier acide attire les ouvrières assaïmanes, le deuxième les maintient groupées et tranquillisées (BUTLER, CALLOW, CHAPMAN, 1964 ; BUTLER, SIMPSON, 1967). L'extirpation des glandes mandibulaires à des reines vivantes conduit à la suppression de leur pouvoir d'attraction à l'égard des ouvrières groupées en essaim (VELTHUIS, Van Es, 1964).

Ces deux acides, dans d'autres conditions expérimentales que nous avons décrites auparavant, attirent les mâles d'abeilles. Ils agissent alors en tant que phéromones sexuelles. L'un d'eux, l'acide céto-9 décène-2 oïque en association avec d'autres substances non encore identifiées en provenance des glandes mandibulaires de la reine (PAIN, 1961) et des glandes de Koschewnikow de la chambre de l'aiguillon (BUTLER, SIMPSON, 1965) attirent les ouvrières d'abeilles et les maintient groupées autour de supports variés imbibés d'extraits royaux (PAIN, 1956).

Dans le cas où l'attraction est observée en cagette, le nombre d'ouvrières agglomérées autour des leurres est restreint. Les substances en cause ne sont pas à proprement parler des phéromones d'agrégation. Ce sont plutôt des phéro-

mones de reconnaissance mutuelle entre la reine et les ouvrières. On peut les prélever à la surface du corps des reines. On peut alors considérer que ce sont des phéromones de surface. Cependant, elles ont pour principal effet de modifier la physiologie des ouvrières réceptrices. Sous cet angle, elles appartiennent au groupe des phéromones d'amorçage.

V. — LES PHÉROMONES « DE SURFACE »

WILSON (1965) appelle phéromones de surface toutes les odeurs qui sont absorbées à la surface du corps des insectes, sur le tégument cireux. On considère qu'elles sont perçues par chimioréception de contact.

Dans ce groupe, on peut ranger les odeurs de la colonie, les odeurs corporelles des reines vierges ou fécondes, des ouvrières, des mâles et des larves, également les odeurs qui stimulent les échanges alimentaires entre les individus adultes ou entre ceux-ci et leurs larves.

Leur parfum est très complexe. Il est constitué en partie par l'odeur des substances glandulaires, par celle émanant du groupe, par l'odeur des matériaux constituant le nid, peut-être par l'odeur des aliments que les insectes ont entreposés, des plantes qu'ils ont visitées. Des variations dans le métabolisme des individus peuvent aussi être en cause.

Chez les abeilles domestiques, on peut prélever les parfums corporels en entourant de papier-filtre le corps des reines vivantes pendant quelques heures. Les papiers imprégnés de l'odeur royale présentés à de jeunes ouvrières les attirent tout autant que la reine elle-même (PAIN, 1956).

Ces parfums sont extraits par différents solvants organiques tels que l'éther, le chloroforme, l'acétone, l'alcool (PAIN, 1954, 1961).

Les extraits royaux déposés sur des bandes de papier, des morceaux de moelle de sureau ou même sur le corps d'une ouvrière vivante (PAIN, 1962) déclenchent chez les ouvrières accompagnatrices un comportement de cour caractéristique suivi du léchage des différents supports.

Pour étudier cette attraction, j'ai été amenée à mettre au point un test biologique basé sur le nombre de jeunes ouvrières attirées, toutes les 30 secondes pendant 5 minutes (PAIN, 1960).

Cette méthode m'a permis de montrer qu'à part le tégument, les glandes mandibulaires royales déposées sur des languettes de papier attirent d'une manière durable les ouvrières encagées (LAVIE, PAIN, 1959). Elles imprègnent de leur odeur les téguments de la reine.

Plusieurs chercheurs ont mis au point une technique d'extirpation des glandes mandibulaires de la reine (NEDEL, 1960; GARY et MORSE, 1960, 1961; WALTON, SMITH, 1970). Si des reines vierges sans glandes mandibulaires

peuvent s'accoupler (MORSE, GARY, JOHANSSON, 1962), des reines vierges ou fécondes aux glandes extirpées perdent environ 85 % de leur attraction (GARY, MORSE, 1960; GARY, 1961 a, 1961 b; ZMARLICKI, MORSE, 1964).

D'où proviennent alors les 15 % de l'attraction restante ?

Bien qu'elle soit moins importante, BUTLER et SIMPSON (1965) essayèrent de découvrir cette seconde source de l'odeur attractive. Elle serait localisée dans l'abdomen, plus particulièrement dans les glandes de Koscchewnikow situées dans la chambre de l'aiguillon.

De leur côté, RENNER et BAUMANN (1964) puis VELTHUIS (1967, 1970) signalent que les glandes abdominales subépidermiques dorsales pourraient aussi produire un parfum attractif. Aucun de ces parfums n'a été identifié.

De mon côté, j'ai montré que l'acide céto-9 décène-2 oïque (ou Phéromone I), l'une des substances glandulaires, n'est pas attractive à l'égard des ouvrières, pas plus que d'autres substances volatiles (ou Phéromone II) en provenance de ces mêmes glandes (BARBIER, PAIN, 1960).

Pour reconstituer l'odeur attractive de la reine, il est indispensable de réunir la phéromone I à la phéromone II.

La phéromone totale attractive présente deux propriétés. L'une est d'empêcher la construction de cellules royales et par conséquent l'élevage de reines de remplacement, l'autre est d'inhiber le développement des ovaires des ouvrières.

Dans une colonie d'abeilles ou dans un groupe d'abeilles encagées, la disparition de la reine ou des extraits royaux lève ces deux inhibitions (BUTLER, 1967; PAIN, 1961).

Les substances en cause au cours de ces deux processus sont considérées appartenir au groupe des phéromones actives sur la physiologie (Phéromones d'amorçage, Primer Pheromones).

L'attraction et ses effets a également été étudiée chez d'autres insectes notamment chez les fourmis (STUMPER, 1956; WATKINS, COLE, 1956) et chez les guêpes. ISHAY, IKAN et BERGMANN (1965) ont montré chez la guêpe *Vespa orientalis* F que les reines sécrètent une phéromone attractive. La même équipe (IKAN, GOTTLIEB, BERGMANN, ISHAY, 1969) a décrit l'isolement et l'identification de cette substance extraite des têtes de reines. Il s'agit d'une lactone- δ . Elle agit sur le comportement des ouvrières puis sur leur physiologie.

RÉSUMÉ ET CONCLUSION

Devant l'abondante littérature touchant aux problèmes des phéromones chez les insectes, j'ai opéré un choix en fonction de mes travaux antérieurs et de mes préoccupations actuelles. C'est pourquoi, j'ai surtout insisté sur les phéromones qui entrent en jeu dans la vie sociale des apides (abeilles, mélipones, bourdons). Je n'ai cité que quelques exemples chez les fourmis.

Cependant les insectes sociaux cités ne sont pas les seuls à posséder de tels systèmes de communication chimique. Chez d'autres hyménoptères non sociaux, des substances attractives ont été signalées chez des insectes défoliateurs et chez quelques parasites.

Parmi toutes les substances énumérées dans ce texte, un certain nombre d'entre elles sont des terpènes. Elles appartiennent au groupe des phéromones d'alarme et de marquage de piste. Ce sont les acides gérannique et nérolïque, le géraniol, le citral, le citronellal. Les unes sont des produits de sécrétion de la glande de Nassanoff des abeilles domestiques (géraniol, acides gérannique, nérolïque, citral), les autres sont sécrétées par les glandes mandibulaires d'un autre apide : *Lestrimelitta limao* (citral) ou par celles des fourmis : *Atta sexdens rubropilosa* et *Acanthomyops claviger* (citral, citronellal).

Parmi ces phéromones, on trouve également des hydrocarbures, des alcools et des sels d'alcool, d'autres sont des cétones comme l'heptanone-2, la nonanone-2 ou l'octanone-3. On trouve ces dernières dans les glandes mandibulaires des abeilles domestiques (heptanone-2) et des trigones (heptanone-2, nonanone-2), dans les glandes anales de plusieurs espèces de fourmis (heptanone-2) et dans leurs glandes mandibulaires (octanone-3).

Tout récemment, de nombreux dérivés de l'heptanone-2 viennent d'être obtenus et leurs effets contrôlés vis-à-vis de la fourmi *Conomyrma pyranica*. Selon leur configuration stéréochimique, ils produisent ou ne produisent pas la réaction d'alarme caractéristique. Lorsque cette réaction est abolie, les auteurs parlent d'anti-phéromone. Ils la définissent en analogie avec les anticorps et les antimétabolites. Ils considèrent que ces substances interfèrent ou s'opposent à la réaction normale d'une phéromone (R.A. et R.L. METCALF, 1970). Dans un avenir proche, ces substances sont peut-être susceptibles de produire des effets inattendus sur le comportement animal.

J'ai ensuite signalé la présence de l'acide céto-9 décène-2 oïque chez l'abeille domestique. Cet acide n'agit sur le comportement que dans certaines conditions expérimentales bien définies. C'est une phéromone attractive sexuelle vis-à-vis des mâles d'*Apis* lorsqu'elle est présentée sur un leurre, situé à environ 10, 12 mètres du sol. C'est une phéromone attractive d'agrégation vis-à-vis des ouvrières lorsqu'elle est présentée à moins de 4 mètres du sol (BUTLER, SIMPSON, 1967). Par contre, l'acide céto-9 décène-2 oïque offert aux ouvrières d'une ruche ou dans une cage ne les attire plus. Les substances responsables de l'attraction dans les conditions de confinement n'ont pas encore été identifiées. D'autre part, cet acide est aussi une phéromone d'amorçage, active sur la physiologie des abeilles lorsqu'elles la prélèvent dans certaines conditions.

Les différents comportements observés chez les autres insectes sont tout aussi passionnants et complexes. Chez les lépidoptères par exemple, les femelles de certaines espèces attirent les mâles d'une distance de plusieurs kilomètres. On a tiré parti de ce comportement dans la lutte contre les insectes nuisibles.

Dans ces cas, on utilise les femelles elles-mêmes, leurs extraits ou encore leurs phéromones sexuelles naturelles ou de synthèse pour la capture des mâles qu'on veut éliminer.

Chez les insectes utiles comme l'abeille ou d'autres apides, les phéromones sexuelles servent à d'autres buts. C'est ainsi que SHOWERS (1967) indiqua que la phéromone royale de synthèse offerte à des ouvrières orphelines, permet de maintenir la cohésion de la société d'abeilles aussi bien que la reine elle-même. JAYCOX (a, 1970) montra qu'on peut utiliser à des fins pratiques, de petites colonies d'abeilles orphelines. Les reines indispensables à l'équilibre et au bon fonctionnement des colonies sont remplacées par leur phéromone sexuelle. L'acide céto-9 décène-2 oïque présenté à fortes doses sur des blocs de plastique poreux stimule les ouvrières butineuses à la récolte du nectar. La reine influence aussi la récolte du pollen par sa ponte qui produit du couvain. La réponse des ouvrières libres ou encagées à la présence de larves et de leurs extraits suggère qu'une phéromone est impliquée dans le comportement de récolte du pollen JAYCOX (b, 1970).

On peut encore employer d'autres phéromones tels que le citral, le géraniol ou d'autres substances. Mises en solution puis vaporisées, ces substances attirent les ouvrières vers des champs de luzerne (*Medicago sativa*) (WALLER, 1970).

Ce résultat montre à quel point la stimulation par les odeurs phéromonales est importante dans le monde des insectes.

L'étude, l'analyse et la synthèse de nouvelles phéromones élargissent chaque année le champ des recherches touchant au comportement et par la même à la physiologie sensorielle.

On ne peut que souhaiter qu'elles se poursuivent avec des moyens accrus et continuent à s'étendre à toutes les catégories d'êtres vivants.

Reçu pour publication en avril 1971.

DEUTSCHE ÜBERSETZUNG ¹

PHEROMONE UND VERHALTEN BEI EINIGEN HYMENOPTEREN

EINLEITUNG

Was wird genau unter der Bezeichnung Pheromon verstanden? Die von deutschen Forschern gegebene Definition (KARLSON und BUTENANDT, 1959; KARLSON und LÜSCHER, 1959) lautet folgendermaßen: Pheromone sind Substanzen, die von einem Individuum nach *außen* abgesondert werden; aufgenommen von einem zweiten Individuum *derselben Art*, lösen sie bei diesem letzteren eine ganz bestimmte Reaktion aus, die das Verhalten oder die Physiologie des Empfängers beeinflußt.

Dieser Terminus steht seither allgemein in Verwendung. Es wurden für denselben Sachverhalt aber auch andere Bezeichnungen vorgeschlagen, so Ektohormone (BETHE, 1932), Parahormone (KULLENBERG, 1952), Exohormone (HRDY und NOVAK, 1960) oder Telergone (KIRSCHENBLATT, 1968).

Da die Pheromone von Drüsen ausgeschieden werden und ihre Besonderheit darin besteht, daß sie entweder ein bestimmtes Verhalten stimulieren bzw. hemmen oder einen physiologischen Prozeß auslösen, entspricht dieses Phänomen ganz genau der Definition eines Hormones. Aber es sind Hormone eines besonderen Typs, da ihre Verteilung nicht durch das Blut innerhalb eines Organismus erfolgt, sondern durch Individuen in einer sozialen Gruppe.

Es handelt sich also um Botenstoffe zwischen Individuen. Sie ermöglichen diesen eine Kommunikation auf Grund eines Codes von chemischen Reizen.

Diese Definition schließt also Attraktivstoffe aus dem Bereich der Ernährung (« Phagostimulantien ») ebenso aus wie auch andere Attractants organischen oder synthetischen Ursprungs.

Pheromone entsprechend dieser Definition wurden in allen Insektenordnungen gefunden. Hinsichtlich ihrer Klassifikation scheinen sich zwei Tendenzen zu entwickeln. KARLSON (1960) unterscheidet Pheromone, die olfaktorisch wirken und solche, die durch die Verdauungsorgane, also durch Inges-

1. Übersetzung F. RUTTNER, Oberursel.

tion zur Wirkung gelangen. Zu den ersteren rechnet er die Sexuallockstoffe, die Markierungs- und die Alarmsubstanzen. Bei den letzteren reiht er die bei den Bienen und Termiten festgestellten Pheromone ein, die die Entstehung von Ersatzgeschlechtstieren hemmen.

In den USA hingegen (WILSON, 1963, REGNIER und LAW, 1968) unterscheidet man Auslöser-Pheromone (Releaser), die über das Nervensystem das Verhalten beeinflussen, und Aktivierungs-Pheromone (Primer), die den physiologischen Zustand verändern, besonders im Reproduktions- und endokrinen System.

Die folgende Arbeit wird sich mit dem 1. Typ dieser Pheromone beschäftigen. Sie spielen die Hauptrolle beim Verhalten während der sexuellen Anlockung, des Alarms und der Verteidigung, der Markierung der Wege zur Futterstelle, der sexuellen Ansammlung und bei dem gegenseitigen Erkennen. Die angeführten Beispiele beziehen sich nur auf Hymenopteren.

I. — DIE SEXUALLOCKSTOFFE

Bisher wurden die Sexuallockstoffe vor allem bei Lepidopteren untersucht, aber auch bei allen anderen Insektengruppen sind solche Pheromone festgestellt worden (*Dictyoptera*, *Hemiptera*, *Mecoptera*, *Coleoptera*, *Diptera* und *Hymenoptera*).

Unbedingte Voraussetzung für diese Studien ist die Entwicklung eines biologischen Tests, in dem das typische Verhalten des männlichen oder weiblichen Insekts beobachtet werden kann. Dieses Verhalten muß mit einem Pheromonextrakt eines der beiden Geschlechter oder mit einer ähnlichen synthetischen Substanz reproduzierbar sein.

Bei der Honigbiene sind GARY (1962, 1963) und später wir selbst (PAIN und RUTNER 1963) in der folgenden Weise vorgegangen: Da es bekannt war, daß die Paarungen an warmen sonnigen Tagen im freien Flug in etwa 10 m Höhe stattfinden, wurden lebende Königinnen oder mit attraktiven Substanzen getränkte Köder an helium- oder wasserstoffgefüllten Ballons befestigt. Diese Ballons ließ man an einem Nylonfaden in die gewünschte Höhe aufsteigen. Zur Kontrolle wurden die Versuche paarweise durchgeführt. Auf diese Weise konnte die Zahl der angelockten Drohnen und die Dauer ihres Aufenthalts bei der Königin bestimmt werden.

Mit dieser Methode konnte nachgewiesen werden, daß sich der Sexuallockstoff im Kopf der Königin befindet und zwar in den gut entwickelten, lipidreichen Mandibulardrüsen. Die Lipide wurden fraktioniert. Die Männchen von *Apis mellifica* werden durch eine Phospholipidkomponente und durch eine Fettsäurekomponente angelockt (GARY, 1962). Die Fettsäure wurde als 9-Keto-trans-2-

decensäure (« Königinnsbstanz » von BUTLER, « Pheromon 1 » von PAIN) bestimmt.

Die Extraktion und die Synthese des Sexuallockstoffes der Bienen wurde durch zwei Gruppen durchgeführt, eine in Frankreich (BARBIER, LEDERER, REICHSTEIN und SCHINDLER, 1960 ; BARBIER und LEDERER, 1960 ; BARBIER, LEDERER und NOMURA, 1960), die andere in England (BUTLER, CALLOW und JOHNSTON, 1959, 1961 ; CALLOW und JOHNSTON, 1960).

Die synthetische Säure lockt die Drohnen genauso an wie die natürliche. Die Intensität der Wirkung war aber bei einigen Autoren schwächer (GARY ; PAIN und RUTTNER), bei anderen jedoch gleichstark (BUTLER und FAIREY, 1964) wie die von Totalextrakten von Mandibulardrüsen oder von lebenden (unbegatteten oder begatteten) Königinnen.

Neuerdings ist es gelungen, durch Exposition großer Mengen synthetischen Sexuallockstoffes künstliche Drohnenansammlungen zu erzeugen (STRANG, 1970).

Bei diesen Versuchen wurden niemals andere Insekten angelockt als Männchen von *Apis mellifica*. Sobald diese jedoch durch den Geruch ihrer eigenen Königin angelockt sind, oder an Drohnensammelplätzen, (RUTTNER und KAISLING, 1968) können sie auch durch Äthanolextrakte von Königinnen von *Apis cerana* und *Apis florea* angelockt werden. Die Analyse der Extrakte mittels Gaschromatographie zeigt, daß das Muster der Retentionszeiten dasselbe ist wie bei der 9-Keto-trans-2-decensäure (BUTLER, CALAM und CALLOW, 1967).

Die Extrakte aus den Köpfen von Königinnen von *Apis cerana* enthalten dieselbe Wirkstoffmenge an 9-Keto-decensäure wie die Kopfextrakte von Königinnen von *Apis dorsata*. Die bei diesen beiden Arten gefundenen Mengen sind gleich groß wie bei Königinnen von *Apis mellifica*. Aber die Drohnen von *Apis dorsata* und von *Apis cerana* werden weder von der synthetischen Säure, noch von toten *Mellifica*-Königinnen angelockt (SHEARER, BOCH, MORSE und LAIGO, 1970).

Die 9-Keto-decensäure wirkt nicht nur als Sexuallockstoff, sondern auch als Aphrodisiakum : Sofern die Stachelkammer der Königin geöffnet ist, stimuliert sie den Drohn zur Kopula. Der Geruch der Stachelkammer selbst sei nur von sekundärer Bedeutung (BUTLER, 1967).

DOOLITTLE, BLUM und BOCH (1970) haben gezeigt, daß die Cis-Form der 9-Keto-decensäure keinerlei Wirkung als Sexuallockstoff besitzt. Aber eine Mischung zu gleichen Teilen der Cis- und der Trans-Form (je 100 µg) lockt ebensoviele Drohnen an wie 100 µg von der 9-Keto-trans-decensäure allein. Bei diesen Versuchen hat also die Cis-Form der 9-Keto-decensäure die Aktivität des Sexuallockpheromones nicht maskiert. Diese Autoren konnten nachweisen, daß die Cis-Form unter der Einwirkung des Sonnenlichtes sehr rasch auf photochemischem Wege in die Trans-Isomere umgewandelt wird. Damit wäre der

Sexuallockstoff bei den Bienen das erste Beispiel einer Transformation dieser Art, denn bei den anderen Insekten wie bei den Lepidopteren werden diese Substanzen schon durch kleine Mengen ihrer Isomere vollständig maskiert.

Die 9-Keto-2-decensäure ist übrigens nicht die einzige Säure, die bei der sexuellen Attraktion bei der Biene eine Rolle spielt. Auch eine andere Säure, ebenfalls in den Mandibulardrüsen der Königin enthalten, lockt die Drohnen an, wenn auch weniger stark : die 9-Hydroxy-decensäure (BUTLER und FAIREY, 1964). Sie hat übrigens noch eine andere Funktion, die Stabilisierung des Schwarms der Arbeitsbienen. Darauf werden wir später noch zu sprechen kommen.

Aber wie nehmen die Männchen der Gattung *Apis* diese Extrakte wahr ? Die Drohnen, die den Bienenstock auf der Suche nach einer Königin auf dem Hochzeitsflug verlassen, entfernen sich für gewöhnlich nicht weiter als 3 Kilometer [obwohl ein Teil von ihnen mehr als das Doppelte dieser Strecke zurücklegt (RUTTNER und RUTTNER 1968, 1971)]. Der Wind ist ein wichtiger Faktor für das Zusammentreffen der beiden Geschlechter. Die Sehschärfe des Bienenauges ist zwar gering. Aber die Antennen der Drohnen, ausgestattet mit mindestens 9 verschiedenen Typen von Sinnesorganen, sind sehr empfindlich für den Geruch der Königin. Von diesen sind es vor allem die *Sensilla placodea* — bei den Drohnen wesentlich zahlreicher als bei den Arbeitsbienen —, die auf den Geruch der Königin oder auf die Moleküle der 9-Keto-2-decensäure reagieren (BEETSMA, 1967 ; BOECKH, KAISLING und SCHNEIDER, 1966 ; LACHER und SCHNEIDER, 1963 ; KAISLING und RENNER, 1968 ; RUTTNER und KAISLING, 1968).

Drohnen können auf verschiedene Gerüche dressiert werden. Ganz wie die Arbeitsbienen und wahrscheinlich auch die Königinnen können sie diese unterscheiden und zwar ganz besonders den Geruch der 9-Keto-2-decensäure und des Sekrets der Nassanoff-Drüse. Als Test für die Konditionierung der Tiere wurde der Rüsselstreckreflex benutzt (VARESCHI und KAISLING, 1970).

Was die anderen Apiden betrifft, so hat HAAS (1952, 1967) die Paarungsflüge von *Bombus* und von *Psithyrus* beobachtet. Et hat gezeigt, wie die Männchen ein aus ihren Mandibulardrüsen stammendes Duftsekret benutzen, um bestimmte Unterlagen (Steine, Blätter, Zweige) damit zu markieren. Die Marken liegen in einer für die jeweilige Art spezifischen Höhe entlang einer bestimmten, immer wieder benutzten Bahn. Hier treffen sich die Männchen und Weibchen zur Paarung. KULLENBERG (1956, S. 277) gibt an, daß die Männchen von *Bombus hortorum* auf Hydroxycitronellal zu reagieren scheinen. Neueste Beobachtungen (BERGSTRÖM, KULLENBERG, STALLBERG-STENHAGEN und STENHAGEN, 1968) deuten darauf hin, daß das Mandibularsekret der Hummelmännchen als Pheromon betrachtet werden kann, das sowohl für die Männchen wie für die jungen nestgründenden Weibchen attraktiv ist. Es hat wahrscheinlich auch die Eigenschaft, die Bereitschaft der Männchen zur

Kopulation zu erhöhen. Auf Grund der chemischen Analyse kann man annehmen, daß in den verschiedenen Abschnitten des Drüsensystems im Kopf mehrere Duftstoffe erzeugt werden. Die wichtigste flüchtige Substanz wurde bei den Männchen von *Bombus terrestris* als 2-3-Dihydro-6-trans-farnesol identifiziert. Andere Substanzen begleiten dieses Terpen. Dagegen fanden diese Autoren kein Farnesol, ein Sesquiterpen, das STEIN (1963) als Duftsekret der Mandibulardrüsen der Männchen von *Bombus terrestris* betrachtet hat.

Dihydrofarnesol wurde von derselben Arbeitsgruppe auch in den Sekreten der Kopfdrüsen anderer Arten gefunden : Bei *Bombus hortorum*, *B. pratorum* und bei *Psithyrus barbutellus* K. Es muß daran erinnert werden, daß CALAM (1969) bei *Bombus pratorum* eine Substanz festgestellt hat, deren Retentionszeit mit der des kommerziellen Farnesol identisch ist. Bei den untersuchten Arten haben die schwedischen Autoren neben einer Hauptschubstanz mehrere Substanzen in sehr geringer Menge gefunden, wie Geraniol, Citronellol usw. Jede Art von *Bombus* besitzt übrigens ein Sekret, das für sie typisch ist (KULLENBERG, BERGSTRÖM, STALLBERG-STENHAGEN, 1970).

Auch die Ameisen scheiden Terpene aus. Dies ist der Fall bei bestimmten Arten von *Lasius* und *Acanthomyops*. Die Männchen erzeugen in ihren hypertrophischen Mandibulardrüsen eine Mischung von alkoholischen Terpenen. Diese Substanzen, die während des Hochzeitsfluges freigegeben werden, sind als Sexualpheromone zu betrachten (LAW, WILSON und MC CLOSKEY, 1965).

Die Untersuchungen von KANOWSKI und JOHNSON (1969) machen es wahrscheinlich, daß sich bei einigen Arten von *Formica* die Geschlechter beim Hochzeitsflug durch die Freisetzung spezifischer Sexuallockstoffe durch die Weibchen finden. Es ist jedoch nicht gelungen, durch Exposition zerriebener Körperteile von Weibchen bei Männchen Reaktionen auszulösen, jedenfalls nicht unter den gegebenen Bedingungen.

Die sozialen Hymenopteren sind nicht die einzigen Insekten, die Sexualstoffe abscheiden. Auch andere, nicht soziale Hymenopteren besitzen solche. So kann ein einziges gekäfigtes Weibchen der Tenthredinide *Diprion similis* insgesamt mehr als 11 000 Männchen anlocken. Die Antwort der Männchen ist sehr rapid, da sie schon nach 30 Sekunden bei dem Käfig mit den Weibchen sind. Die attraktive Substanz, die ätherlöslich ist, soll in Abdominaldrüsen erzeugt werden (COPPEL, CASIDA und DAUTERMAN, 1960).

Auch bei den parasitischen Hymenopteren gibt es auf Grund von Untersuchungen, die an Braconiden durchgeführt worden sind, Hinweise dafür, daß ein von den Weibchen sezerniertes Pheromon vorhanden ist (BOUSH u. BAERWALD, 1967). Bei 2 Arten der *Ichneumonidea* (*Phaeogenes invisor*, *Ichneumonidae*, und *Apanteles medicaginis*, *Braconidae*), wird von jungen unbegatteten Weibchen, die erst wenige Stunden alt sind, ein attraktiver Geruch abgegeben, auf den die Männchen aus etwa 2 m Entfernung ansprechen (COLE, 1970).

II. — ALARMPHEROMONE

Alarmpheromone wurden vor allem bei den sozialen Insekten untersucht. Man hat sie bei zahlreichen Ameisenarten und bei den Honigbienen festgestellt: bei *Apis*, bei den Meliponen und bei einigen Arten des Genus *Vespula*. Dagegen scheinen sie bei den Hummeln zu fehlen (*Bombus lucorum*, *B. hortorum*, *B. hypnorum*), ebenso bei *Polistes dubia* (*Vespidae*), bei *Ponera coarctata* und bei *Myrmecina graminicola* (*Formicidae*, MASCHWITZ, 1964). Diese Beobachtungen legen die Vermutung nahe, daß diese Pheromone vielleicht für Nester mit großer Individuenzahl charakteristisch sind.

Die Verteidigungssekrete, die auf Insekten einer anderen Art gespritzt werden, hat man jedoch nicht zu der Kategorie der Pheromone im Sinne der Definition von KARLSON, BUTENANDT und LÜSCHER gerechnet. Um die Alarmpheromone von den reinen Verteidigungssubstanzen zu unterscheiden, hat BUTLER (1967) vorgeschlagen, sie als erregende Pheromone zu bezeichnen.

Die Alarmpheromone verändern das Verhalten der Insekten, indem sie ihren Gang oder ihren Flug beschleunigen und ihre Aggressivität bis zur Attacke steigern.

Diese Pheromone stehen regelmäßig mit den Organen und Drüsen in Beziehung, die zur Verteidigung der Kolonie bestimmt sind. Bei den Ameisen werden sie von den Mandibulardrüsen oder Giftdrüsen, den Dufourschen oder Analdrüsen abgesondert, bei den Wespen von den Giftdrüsen, bei den Bienen der Gattung *Apis* von Stacheldrüsen und den Mandibulardrüsen (MASCHWITZ, 1964) und bei den Meliponen ebenfalls von den Mandibulardrüsen. BLUM (1969) gibt eine Liste von ungefähr 20 Pheromonen, die bei den sozialen Insekten identifiziert wurden. Die Hälfte von ihnen sind Terpene. Fast alle diese Substanzen sind nichtpolare Verbindungen von hoher Flüchtigkeit. Sie verbleiben deshalb nicht lange in den Zonen der Emission, so daß die Insekten sehr bald wieder zu ihrem normalen Verhalten zurückkehren können.

Für die Ameisen gibt WILSON (1963) an, daß sich das Alarmpheromon in einer wirksamen Konzentration bei Windstille 13 Sekunden lang ausbreitet. Es bildet sich dabei eine halbkugelförmige Wolke von max. 6 cm Durchmesser, in deren Bereich die Konzentration über dem Schwellenwert liegt. Wird kein neues Sekret abgegeben, so verschwindet diese Wolke nach 35 Sekunden. Nach aussen hin wird die Pheromonkonzentration in der Kugel immer schwächer. Von der schwachen Konzentration des Alarmstoffes in der Peripherie werden die Arbeiterinnen zunächst angelockt. Sobald sie aber in die Zone hoher Konzentration im Zentrum gelangen, wird bei ihnen die charakteristische Alarmreaktion ausgelöst.

Je stärker die Ameisen alarmiert werden, desto mehr Alarmpheromon sezernieren sie und desto größer wird die Zahl der zur Verteidigung des Nestes

mobilisierten Arbeiterinnen. Sobald der Störfaktor verschwunden ist, verflüchtigt sich der Alarmgeruch und gleichzeitig verringert sich die Zahl der erregten Arbeiterinnen.

Chemische Analysen der Alarmpheromone sind vor allem bei Ameisen durchgeführt worden. Bei einer von ihnen, *Acanthomyops claviger* (*Formicinae*) wurden mehrere in den Mandibular- und Dufourschen Drüsen identifiziert. Die Mandibulardrüsen produzieren mehrere Terpene, so Citronellal und Citral. Die Dufoursche Drüse, ein akzessorisches Organ der Giftdrüse, erzeugt mehrere Hydrocarbone. Sie werden gleichzeitig mit der in der Giftdrüse gespeicherten Ameisensäure abgegeben und erleichtern die Ausbreitung dieser Säure (REGNIER und WILSON, 1968).

Kürzlich ist es CREWE und BLUM (1970) gelungen, 4 weitere Substanzen im Sekret der Mandibeldrüsen einer anderen Ameisenart zu identifizieren. Zwei von ihnen werden in großer Quantität abgegeben. Es handelt sich um Octanon-3 und um Octanol-3. Sie lösen eine Alarmreaktion bei *Myrmica brevinodis* aus. Dieselben Substanzen sind auch in den Mandibeldrüsen von *Crematogaster peringueyi* gefunden worden (CREWE, BRAND, FLETCHER und EGGERS, 1970).

Dasselbe Reaktionssystem existiert auch bei den Bienen. Wir wollen im folgenden die Resultate der bisherigen Untersuchungen im einzelnen beschreiben. Bei der Familie der Apiden wurden Alarmpheromone bisher bei *Apis*, *Trigona* und *Lestrimelitta* nachgewiesen.

Bei *Apis mellifica* wird dieses Pheromon nur von Arbeitsbienen, nicht aber von Königinnen und Drohnen erzeugt. F. HUBER hat 1814 nachgewiesen, daß der Stachel, frisch abgetrennt und am Flugloch dargeboten, ein Angriffsverhalten der Wächterbienen auslöst. Ebenso gibt eine Biene, die einen Eindringling sticht, eine Alarmsubstanz ab. CHAUVIN (1960) nennt diese Répulsive Gamma.

Dieses Pheromon wurde von BOCH, SHEARER und STONE (1962) untersucht. Ausgehend von etwa 30 Stacheln, konnten sie das Alarmpheromon als Isoamylacetat (oder Isopentylacetat) bestimmen. Zu der damaligen Zeit war diese Substanz für tierisches Gewebe noch nicht bekannt. Mit Isoamylacetat getränkte Wattebäusche, am Flugloch dargeboten, lösen bei den Wächterbienen einen Erregungszustand aus. Der Duftstoff aus derselben Menge Stachel, ebenfalls in Wattebauschen dargeboten, löst darüber hinaus aber auch Stiche aus. Die Stachel mit ihren Drüsen von 15-30 Tage alten Bienen enthalten zwischen 1-5 µg Isoamylacetat pro Biene (BOCH und SHEARER, 1966). Hinsichtlich der Menge gibt es übrigens Unterschiede zwischen den 4 Bienenarten (MORSE, SHEARER, BOCH und BENTON, 1967). GHENT und GARY (1962) haben beobachtet, daß der charakteristische Duft des Stachels an der behaarten Membran zwischen den oblongen Platten haftet. MASCHWITZ (1964) konnte bestätigen,

daß diese Membranen (in zerriebenen Zustand) die einzigen attraktiven Organe sind. Diese Membranen wurden im Gaschromatographen untersucht (GUNNISON und MORSE, 1968). Sie enthalten eine Anzahl von Substanzen, die identisch sind mit denjenigen, die im gesamten Stachelapparat enthalten sind, aber noch nicht bestimmt werden konnten. Die KOSCHEWNIKOW'schen Drüsen der Stachelkammer enthalten hingegen weniger aktive Substanzen. Im Bienengift hat man kein Isoamylacetat gefunden (FREE und SIMPSON, 1968).

Bei den Arbeiterinnen der Honigbiene wurde noch eine weitere Alarmsubstanz in den Mandibulardrüsen lokalisiert (MASCHWITZ, 1964). Sie wurde als Heptanon-2 identifiziert (SHEARER und BOCH, 1965), deren Wirkung aber schwächer ist als die des Stachelpheromons (BOCH, SHEARER und PÉTRASOVITS, 1970). Sie ist bei Trachtbienen und bei Wächterinnen vorhanden. BOCH und SHEARER (1967) haben bei jungen Trachtbienen 40 µg davon gefunden. Aber SIMPSON (1966) hat Zweifel geäußert, ob diese Substanz eine echte Alarmfunktion besitze. Sie wirke vielmehr repulsiv auf die Raubbienen. Heptanon-2 wird einzig und allein bei *Apis mellifica* sezerniert, nicht aber bei *Apis dorsata*, *floreana* und *cerana* (MORSE, SHEARER, BOCH und BENTON, 1967).

Die Honigbiene *Apis mellifica* produziert also zwei Alarmpheromone, ein Keton (2-Heptanon) und einen Alkoholester (Isoamylacetat). Die drei anderen Arten produzieren nur Isoamylacetat in unterschiedlicher Quantität. Diese Substanz wird übrigens gemeinsam mit anderen aktiven Komponenten im Stachelapparat sezerniert. Isoamylacetat wurde bisher nur bei *Apis* nachgewiesen. 2-Heptanon hingegen kommt auch bei mehreren Ameisenarten der Familie *Dolichoderidae* vor: nicht in den Mandibulardrüsen, sondern in den Analdrüsen (BLUM, WARTER, MONROE und CHIDESTER, 1963; BLUM und WARTER, 1966; KANNOVSKI, JOHNSON und BLUM).

Bei anderen Apiden, den Meliponen (stachellosen Bienen) hat BLUM (1966) ein Alarmpheromon in den Mandibeldrüsen von *Lestrimelitta limao* gefunden. Das Sekret wurde als Citral (Geranial und Neral) identifiziert, das Pheromon wird von dieser Biene bei ihren Überfällen auf Kolonien von *Melipona* und *Trigona* sp. benutzt. Die letzteren werden durch höhere Konzentrationen von Citral vollständig desorientiert und unfähig, einen Widerstand zu organisierten (MOURE, NOGUEIRA-NETO und KERR, 1958). Das Verhalten der Bienen hingegen, die von *Lestrimelitta limao* nicht attackiert werden, erfährt durch die Gegenwart dieses Terpens eine nur geringe Veränderung. Andere stachellose Bienen, wie *Trigona subterranea* erzeugen in ihren Mandibeldrüsen ebenfalls 2 Stereoisomere von Citral (Geranial und Neral). Die Arbeiterinnen dieser Art zeigen in Gegenwart sehr hoher Citral-Konzentrationen ein Alarmverhalten (BLUM, CREWE und KERR; KEITH, GARRISON und WALKER, 1970).

Bei 2 anderen Meliponen — *Trigona postica* L und *Trigona tubiba* F.S. — haben BLUM und Mitarbeiter (nicht publ.) 2-Heptanon und 2-Nonanon nachgewiesen.

III. — MARKIERUNSPHEROMONE

Die Markierungspheromone sind die meist studierten Rekrutierungspheromone (RÉGNIER und LAW, 1968). Gewöhnlich werden sie von Sammlerinnen bei der Rückkehr zum Nest von einer Nahrungsquelle abgegeben. Sie können jedoch auch zu anderen Zwecken benutzt werden: Bei den Ameisen helfen sie den Insekten Raubzüge gegen andere Insekten durchzuführen (WILSON, 1963), sie erleichtern die Auswanderung der Kolonie und die Orientierung im Nest, z.B. bei der Durchführung einer Reparatur.

Markierungspheromone gibt es bei fliegenden Insekten genau so wie bei Bodeninsekten.

Die klassischen Beispiele bei Bodeninsekten stammen von verschiedenen Ameisenarten, die ihre Pisten am Boden mit ihrem Geruch markieren. Der Geruch dieser Pisten ist nichts anderes als ein Pheromon. Es kann aus der DUFOUR-oder aus der PAVAN-Drüse stammen, oder aus der Giftdrüse — alles Drüsen im Abdomen. Auch der Darm kommt als Erzeugungsstelle in Betracht.

Bei der Ameise *Solenopsis saevissima* hat WILSON (1962) gezeigt, daß die Massenrekrutierung zu einer Nahrungsquelle durch ein Markierungspheromon aus der Dufourschen Drüse erfolgt, das über den aus der Scheide geschobenen Stachel abgegeben wird. Durch eine Serie von Elektronenblitzaufnahmen (1/1 000 Sek.) konnte nachgewiesen werden, daß allein die Stachelspitze, die den Boden in regelmäßigen Abständen berührt, die Duftspuren auslegt. Das Pheromon ist eine Substanz von hoher Attraktivität, die die Arbeiterinnen erregt und sie vom Nest in die von der Piste angezeigten Richtung lenkt. Anscheinend gibt es während dieses Verhaltens keine anderen Stimuli, die ablenken können. WALSH, LAW und WILSON isolierten 1965 aus 200 000 Arbeiterinnen 250 µg von diesem Pheromon, aber sie waren nicht in der Lage, die chemische Formel zu bestimmen. Der Geruch der Piste verschwand nach etwa 100 Sek. (WILSON und BOSSERT, 1963). Bei anderen Arten bleibt er jedoch viel länger bestehen. HANGARTNER (1970) hat bei *Acanthomyops interjectus* nachgewiesen, daß die Quantität des ausgelegten Markierungspheromons von der Qualität des Futters abhängt.

Bei fliegenden Insekten, wie bei den Meliponen, deponieren die Sammlerinnen auf verschiedenem Substrat (Steine, Grashalme, Zweige, Blätter, Erdhügel) Duftmarken, die ihre Nestgenossinnen zur Futterquelle leiten. Das Sekret stammt in diesem Fall aus der Mandibeldrüse (LINDAUER und KERR, 1958, 1960). Bei *Trigona* sp. sind die Duftstraßen außerdem polarisiert, d.h. der Duft wird in Richtung zum Futter immer intensiver. Je nach der Art bleibt der Duft nach seiner Deponierung 9-14 Minuten bestehen (KERR, FERREIRA und DE MATOS, 1963). Er scheint für die Art spezifisch zu sein.

Die Arbeiterin der Honigbiene markiert eine reichliche Futterquelle mit dem Sekret der Nassanoffdrüse, die in der Höhe des 7. Abdominaltergits liegt. Wie bei den Ameisen lockt das derart markierte Futter neue Sammelbienen an. RENNER (1960) hat das Sekret dieser Drüse auf Papierstreifen aufgebracht und diese bei der Futterstelle ausgelegt. Er konnte feststellen, daß die Sammelbienen keinen Unterschied zwischen dem Geruch der Drüsen aus dem eigenen Volk oder dem aus einem anderen Volk machen. Das Sekret ist also eine Substanz von allgemeiner Attraktivität.

BOCH und SHEARER (1962, 1963, 1964) konnten zeigen, daß man in dieser Drüse mehrere Pheromonkomponenten findet : einen Alkohol, Geraniol (in wechselnder Menge je nach dem Alter der Arbeiterinnen) und 2 Säuren : Geraniol- und Nerolsäure. Die Mischung dieser 3 Substanzen ist jedoch etwas weniger attraktiv als Filterpapier, getränkt mit dem Sekret der Drüse. Auch FREE (1962) hat festgestellt, daß die Nassanoffdrüse selbst attraktiver ist als Geraniol.

Später haben SHEARER und BOCH (1966) das Citral identifiziert. Diese Substanz erscheint im Drüsensekret nur unter bestimmten Bedingungen und in sehr geringen Mengen ; sie ist für die Sammlerinnen attraktiv. Diese Attraktionswirkung wurde von einigen Forschern bestritten (WOODROW, GREEN, TUCKER, SCHONHORST, HAMILTON, 1965), von anderen aber bestätigt (N. WEAVER, E. C. WEAVER, J. H. LAW, 1964).

Nach BUTLER und CALAM (1969) ist eine Mischung von Citral (Transform von Geraniol) und von Geraniol fast genauso attraktiv wie das Drüsensekret von mehreren Trachtbienen.

Die Markierung mit dem Sekret der Nassanoffdrüse ist nicht die einzige Methode, welche die Honigbiene benutzt. Unter bestimmten experimentellen Bedingungen legen die Arbeiterinnen Markierungspheromone nicht nur beim Flug, sondern auch beim Fußmarsch aus. So konnte LECOMTE (1956) während einer Trachtperiode beobachten, daß die Flugbienen nach Drehung ihres Stockes um 180° das Flugloch zu Fuß erreichten, nachdem sie an der Rückseite des Stockes gelandet waren. Sie folgten an der Kastenwand einer geraden Piste, markiert durch eine 15 Tage lang persistierende Substanz. Man konnte diese Substanz mit Wasser, Alkohol oder Ather abwaschen. LECOMTE hatte damals die Vermutung ausgesprochen, daß der Geruch aus dem Flugloch als Lockmittel dient, um die Bienen zum Eingang in den Stock zu leiten. Diese Arbeit wurde jetzt 13 Jahre später wieder aufgenommen (BUTLER, FLETCHER und WATLER, 1969). Man gelangte zu folgenden Schlußfolgerungen : Es gibt 2 Substanzen, die den Trachtbienen das Heimfinden erleichtern : den Volksgeruch und einen Geruch der von den Fußspitzen (Tarsen) der Arbeitsbienen ausgeht (Footprint-Pheromon).

Dieses Pheromon bedeckt den Körper der Bienen außer den Kopf. Aber es ist möglich, daß die Drüsen an der Körperoberfläche der Biene auch daran

beteiligt sind. Ihr Geruch sei ebenso wie der der Tarsaldrüsen zum Teil für den Volksgeruch verantwortlich. Dieselben Autoren (BUTLER, FLETCHER und WATLER, 1970) haben gezeigt, daß die Flugbienen das Flugloch ihres verstellten Stockes entweder im Fluge oder im Fußmarsch erreichen, je nach der Art der Störung und der Zahl der suchenden Bienen. Von den Flugbienen, die an der Stelle des alten Flugloches gelandet sind, wird schließlich eine den neuen Eingang finden und ihn mit dem Duft ihrer Nassanoffdrüse markieren. Andere werden hinzukommen und diesen Geruch verstärken, bis sich schließlich zwischen den beiden Stellen eine Piste gebildet hat. Das Footprint-Pheromon spielt schließlich nur eine sekundäre Rolle.

Schon 1962 hatte CHAUVIN die Vermutung geäußert, daß die Duftspuren, die Arbeiterinnen an Glas-Futtermeschirren hinterlassen, von den ARNHART'schen Drüsen an der Spitze der Tarsen stammen. Er nannte sie Epagine Eta. Diese Tarsalpheromone, deren Geruch weit persistenter ist als der der NASSANOFF-DRÜSE, sei nicht volksspezifisch und vielleicht nicht einmal artspezifisch. Auch Königinnen und Drohnen besitzen ein Tarsalpheromon.

Auch die Arbeiterinnen von *Vespa vulgaris* hinterlassen ein Fußabdruck-Pheromon, das für Wespen, aber nicht für Arbeitsbienen attraktiv ist. Diese Pheromone konnten bisher noch nicht identifiziert werden.

Diesen Typ von Pheromonen gibt es auch bei Ameisen. Bei einer Gattung (*Crematogaster*) trommeln die Arbeiterinnen mit ihren zusammengelegten Hintertarsen kräftig auf den Boden (FLETCHER und BRAND, 1969). Bei anderen konnte man in den Hintertibien die Pheromondrüse und ihr Reservoir finden. Das Sekret sieht ölig aus und gelangt in einem Sehnenkanal bis in die Spitze der Beine. Während die Öffnung nach außen zunächst nicht mit Bestimmtheit gefunden werden konnte (LEUTHOLT 1968), wurde sie später mit Hilfe des Raster-Elektronenmikroskops bei *Crematogaster minutissima* eindeutig lokalisiert (PASTEELS, CREWE und BLUM, 1970).

IV. — AGGREGATIONS-PHEROMONE

Bei vielen Insekten aus zahlreichen Gattungen versammeln sich die Weibchen, die Männchen oder beide Geschlechter zu Gruppen, um sich zu paaren, um Eier abzulegen, um Nester zu bauen, um zu überwintern oder zu übersommern, oder um sich gegenseitig zu schützen.

Auch bei der Bildung dieser Ansammlungen sind Geruchsstoffe beteiligt. Die Ansammlungen können flüchtig oder dauerhaft sein.

Für den ersten Fall kann man als Beispiel eine solitäre Biene *Andrena flavipes* anführen, wo ein oder mehrere Pheromone die zeitweilige Ansammlung von Männchen um die ausschlüpfenden Weibchen bewirkt. Die Drohnen werden einerseits durch die orange Farbe der Hinterbeine der jungen Köni-

ginnen angelockt, aber auch durch den Geruch der verschiedenen Niststätten, die eine neben der anderen an bestimmten Plätzen angelegt werden. Der Geruch der jungen Weibchen selbst sei nicht die Ursache, aber vielleicht derjenige der schlüpfenden Brut der gesamten Kolonien (BUTLER 1965).

Bei den Dauerkolonien der Ameisen, Wespen und sozialen Bienen spielen die Pheromone eine bedeutende Rolle für den dauernden Zusammenhalt der Populationen. Sie werden von der Königin erzeugt, können aber auch bei den Arbeiterinnen, den Drohnen oder der Brut entstehen.

Bei den Honigbienen ist die Bedeutung der Brut sowohl Praktikern wie Wissenschaftlern schon seit langem bekannt. Ihr Vorhandensein wirkt sich auf die Ernte von Pollen und auf das Eintragen von Wasser aus, sie stimuliert den Nahrungsaustausch und verändert die Physiologie der Arbeiterinnen und ihren Gehalt an verschiedenen Substanzen. Ihr Einfluß ist also genauso bedeutungsvoll wie derjenige der Königin.

In dem besonderen Fall des Schwärmens wird der Zusammenhalt eines Schwarmes Bienen teils durch die Arbeitsbienen selbst (FREE und BUTLER, 1965), teils — und in erster Linie — durch die Königin bewirkt. Durch ihren Geruch hält sie eine Zahl von Arbeiterinnen um sich versammelt, die je nach den Bedingungen zwischen 5 000 und 30 000 schwanken kann. Die dafür verantwortlichen Substanzen wurden in den Mandibulardrüsen gefunden. Es handelt sich um 2 Säuren : die 9-Keto-2-decensäure und die 9-Hydroxy-2-Decensäure. Die erste Säure lockt die schwärmenden Arbeiterinnen an, die zweite hält sie im Schwarm zusammen und beruhigt sie (BUTLER, CALLOW und CHAPMAN 1964, BUTLER und SIMPSON 1967). Die Entfernung der Mandibulardrüsen aus lebenden Königinnen führt zum Verlust ihres Anlockungsvermögens gegenüber schwärmenden Bienen (VELTHUIS, VAN ES 1964).

Diese 2 Säuren locken unter anderen experimentellen Bedingungen, als wir sie vorhin beschrieben haben, die Männchen der Honigbienen an. Insofern wirken sie also als Sexualpheromone. Eine von den beiden, die 9-Keto-2-decensäure, lockt zusammen mit anderen, noch nicht identifizierten Substanzen aus den Mandibulardrüsen der Königin (PAIN 1961) und den KOSCHEWNIKOW-DRÜSEN in der Stachelkammer (BUTLER und SIMPSON, 1965) die Arbeitsbienen an und stabilisiert sie in Gruppen um mit Königinnenextrakten versehenen Ködern (PAIN 1956).

Wo die Anlockung in Käfigen beobachtet wird, ist die Zahl der um den Köder versammelten Arbeiterinnen beschränkt. Die hier besprochenen Substanzen sind nämlich keine Aggregations-Pheromone im eigentlichen Sinne. Vielmehr handelt es sich um Pheromone des gegenseitigen Erkennens von Königin und Arbeiterinnen. Man kann sie von der Körperoberfläche der Königin gewinnen und sie demnach auch als « Oberflächenhormone » bezeichnen. Ihr Haupteffekt liegt in einer Veränderung des physiologischen Zu-

standes der aufnehmenden Arbeiterinnen. Unter diesem Gesichtspunkt muß man sie bei den Aktivierungspheromonen einordnen.

V. — OBERFLÄCHENPHEROMONE

WILSON (1965) bezeichnet alle Geruchsstoffe, die von der Wachsschicht des Integuments der Insekten absorbiert werden, als « Oberflächenpheromone ». Man nimmt an, daß sie durch Kontakt-Chemorezeptoren wahrgenommen werden. In diese Gruppe kann man den Volksgeruch, den Körpergeruch der unbegatteten und der begatteten Königinnen, der Arbeiterinnen, der Drohnen und der Larven einordnen, ebenso wie die Geruchsstoffe, die den Nahrungsaustausch zwischen den Adulten oder zwischen diesen und den Larven stimulieren.

Ihr Geruch ist sehr komplex. Er setzt sich z.T. aus dem Geruch der Drüsensekrete zusammen, ferner aus dem Geruch der ganzen Gruppe und des Nestmaterials, vielleicht auch der gestapelten Futtermittel und der von den Insekten besuchten Pflanzen. Veränderungen im Stoffwechsel der Individuen können ebenfalls eine Rolle spielen.

Bei der Honigbiene kann man den Körpergeruch dadurch gewinnen, daß man lebende Königinnen für einige Stunden in Filterpapier einhüllt. Das mit dem Geruchsstoff der Königin imprägnierte Papier ist für junge Arbeiterinnen ebenso attraktiv wie die Königin selbst (PAIN 1956). Diese Geruchsstoffe können mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln, wie Äther, Chloroform, Aceton und Alkohol, extrahiert werden (PAIN 1954, 1951). Auch Königinnen-Extrakte, aufgebracht auf Papierstreifen, Stücke von Holundermark oder selbst auf den Körper einer lebenden Arbeitsbiene (PAIN 1962) lösten bei den Begleithienen die Bildung eines typischen « Hofstaates » und ein Belegen verschiedener Objekte aus. Zur quantitativen Erfassung dieser Attraktion habe ich einen biologischen Test ausgearbeitet, der darauf beruht, daß man für 5 Minuten alle 30 Sekunden die Zahl der angelockten jungen Arbeiterinnen festhält (PAIN 1960). Mit dieser Methode konnte ich zeigen, daß neben dem Integument auch die Mandibulardrüsen der Königin über eine längere Zeit hinweg gekäfigte Arbeiterinnen anlocken (LAVIE und PAIN, 1959). Auch das Integument der Königin wird mit diesem Geruchsstoff imprägniert.

Verschiedene Autoren haben Techniken der Exstirpation der Mandibulardrüsen entwickelt (NEDEL 1960, GARY und MORSE 1960 und 1961, WALTON und SMITH, 1970). Obwohl sich junge Königinnen ohne Mandibulardrüsen erfolgreich paaren können (MORSE, GARY und JOHANSSON, 1962), verlieren diese Königinnen — unbegattet oder begattet — doch ungefähr 85 % ihrer Attraktivität (GARY und MORSE, 1960; GARY 1961 a, 1961 b; ZMARLICKI und MORSE, 1964).

Von wo stammen aber die verbliebenen 15 Prozent Attraktivität? Obwohl die Frage weniger wichtig erscheint, haben BUTLER und SIMPSON (1965) versucht, diese zweite Quelle des attraktiven Geruchsstoffes ausfindig zu machen. Nach diesen Versuchen wären sie im Abdomen zu lokalisieren und zwar speziell in den KOSCHEWNIKOW-DRÜSEN in der Stachelkammer.

RENNER und BAUMANN (1964) und später VELTHUIS (1967, 1970) geben an, daß auch die dorsalen subepidermalen Abdominaldrüsen einen attraktiven Geruchsstoff sezernieren könnten. Bisher ist jedoch kein einziger dieser Geruchsstoffe identifiziert worden.

Ich meinerseits konnte nachweisen, daß die 9-Keto-2-decensäure (oder Pheromon I), eines der Sekrete der Mandibulardrüse, auf Arbeiterinnen genauso wenig attraktiv wirkt wie die anderen flüchtigen Substanzen (Pheromon II) aus derselben Drüse (BARBIER und PAIN 1960).

Um den attraktiven Geruchsstoff der Königin wieder herzustellen, müssen Pheromon I und Pheromon II miteinander vereinigt werden. Das attraktive Gesamtpheromon besitzt 2 Eigenschaften: es verhindert die Errichtung von Weiselzellen, und es unterbindet die Entwicklung der Ovarien der Arbeiterinnen. In einem Bienenvolk oder in einer Gruppe gekäfigter Bienen hebt die Entfernung der Königin oder der Extrakte aus Königinnen diese beiden Hemmfaktoren auf (PAIN 1961, BUTLER 1967). Man nimmt an, daß die Substanzen, die diese beiden Prozesse steuern, auf den Stoffwechsel einwirken können (Aktivierungs- oder Primer Pheromone).

Die Attraktion und ihre Effekte wurde auch bei anderen Insekten untersucht, vor allem bei den Ameisen (STUMPER 1956, WATKINS und COLE 1966) und bei den Wespen. ISHAY, IKAN und BERGMANN konnten bei *Vespa orientalis* F zeigen, daß die Königinnen ein attraktives Pheromon abgeben. Dieselbe Gruppe (IKAN, GOTTLIEB, BERGMANN und ISHAY, 1969) hat die Isolierung und Identifizierung dieser Substanz aus dem Kopf der Königin beschrieben. Es handelt sich um ein δ -Lacton. Es wirkt auf das Verhalten der Arbeiterinnen und dann auf ihre Physiologie.

ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNG

Angesichts der umfangreichen Literatur über die Probleme der Pheromone bei Insekten habe ich eine Auswahl getroffen, entsprechend meinen früheren Arbeiten und meinem gegenwärtigen Arbeitsgebiet. Deshalb habe ich mich vor allem mit den Pheromonen befaßt, die das soziale Leben der Apiden (Honigbienen, Meliponen, Hummeln) steuern. Von den Ameisen habe ich einige Beispiele angeführt.

Die zitierten sozialen Insekten sind jedoch nicht die einzigen, die ein derartiges System chemischer Kommunikation besitzen. Bei anderen, nicht

sozialen Insekten wurden Attraktivstoffe z.B. bei pflanzenfressenden Insekten und bei einigen Parasiten gefunden.

Bei einem Teil der in dieser Arbeit angeführten Substanzen handelt es sich um Terpene. Sie gehören zur Gruppe der Alarm- und der Markierungspheromone. Es sind dies Geraniol- und Nerolsäure und Geraniol, Citral und Citronellal. Die einen sind Produkte der Nassanoffdrüse der Honigbiene (Geraniol, Geraniol- und Nerolsäure, Citral), die anderen sind Sekrete der Mandibulardrüse einer anderen Apide (*Lestrimelitta limao*, Citral) oder von Ameisen (*Atta sexdens rubropilosa* und *Acanthomyops claviger*, Citral, Citronellal).

Unter diesen Pheromonen findet man auch Hydrocarbone, Alkohole und Verbindungen von Alkoholen sowie Ketone wie 2-Heptanon, 2-Nonanon oder 3-Octanon. Die letzteren findet man in den Mandibeldrüsen der Honigbiene (2-Heptanon) und der Trigonon (2-Heptanon, 2-Nonanon), in den Analdrüsen verschiedener Ameisenarten (2-Heptanon) und in ihren Mandibulardrüsen (3-Octanon).

In letzter Zeit wurden zahlreiche Derivate von 2-Heptanon bei der Ameise *Conomyrma pyranica* gefunden und ihre biologische Bedeutung studiert. Entsprechend ihrer stereochemischen Konfiguration produzieren sie charakteristische Alarmreaktionen, oder sie tun dies nicht. Da diese Reaktion aufgehoben wird, sprechen diese Autoren von Anti-Pheromonen. Sie definieren sie in Analogie zu den Antikörpern und den Antimetaboliten. Sie nehmen an, daß diese Substanzen die normale Reaktion eines Pheromons überlagern oder blockieren (R.A. und R.L. METCALF, 1970). In naher Zukunft wird es vielleicht gelingen, mit Hilfe dieser Substanzen ganz unerwartete Effekte auf das Verhalten der Tiere zu erzielen.

Weiter habe ich über das Vorkommen der 9-Keto-2-decensäure bei der Honigbiene berichtet. Diese Säure wirkt auf das Verhalten, unter ganz bestimmten, wohl-definierten experimentellen Bedingungen. Es handelt sich um ein Sexualpheromon für die Männchen der Gattung *Apis*, die durch einen mit dieser Substanz imprägnierten Köder, den man in 10-12 m Höhe gebracht hat, stark angelockt werden. Den Arbeitsbienen gegenüber hingegen wirkt es als Attraktions- und Ansammlungs- Pheromon, wenn man es in 4 m Höhe über dem Boden darbietet (BUTLER und SIMPSON, 1967). Wird die 9-Keto-2-decensäure den Arbeiterinnen hingegen im Stock oder im Käfig dargeboten, dann wirkt sie nicht mehr attraktiv. Die Substanzen, die unter den Bedingungen der Gefangenschaft attraktiv wirken, konnten noch nicht identifiziert werden. Andererseits ist diese Säure auch ein Aktivierungspheromon, das den physiologischen Zustand der Bienen beeinflußt, wenn sie es unter bestimmten Bedingungen aufnehmen.

Die verschiedenen Verhaltensweisen, die man bei anderen Insekten beobachten kann, sind alle ebenso erstaunlich und komplex. Bei den Lepidopteren z.B. locken die Weibchen einiger Arten die Männchen schon aus einer Entfer-

nung von mehreren Kilometern an. Man hat dieses Verhalten im Zuge der Schädlingsbekämpfung ausgenutzt. Dabei benutzt man zum Fang der Männchen entweder die Weibchen selbst, ihre Extrakte oder die natürlichen oder synthetischen Sexualpheromone.

Bei den nützlichen Insekten, wie bei den Honigbienen oder anderen Apiden, werden die Pheromone zu einem anderen Zweck benutzt. So hat SHOWERS (1967) darauf hingewiesen, daß man mit synthetischem Königinnen-Pheromon weisellose Arbeiterinnen ebenso gut in einer Gemeinschaft zusammenhalten kann wie durch eine Königin selbst. JAYCOX (1970) hat gezeigt, daß man für Zwecke der Praxis kleine weisellose Bienenvölker benutzen kann. Die Königin, bisher unentbehrlich für das Gleichgewicht und die normalen Funktionen des Bienenvolkers, wird ersetzt durch ihr Sexualpheromon. Die 9-Keto-2-decensäure, in hohen Dosen auf Stücken von Schaumstoff dargeboten, stimuliert die Trachtbienen zum Sammeln von Nektar. Man kann auch andere Pheromone wie Citral, Geraniol oder andere Substanzen benutzen. In Lösung gebracht und dann verdampft, locken diese Substanzen die Trachtbienen auf Luzernefelder (WALLER 1970).

Diese Resultate zeigen, welche Bedeutung in der Welt der Insekten die Stimulierung mit Gerüchen von Pheromoncharakter hat. Die Untersuchung, Analyse und Synthese von neuen Pheromonen erweitert jedes Jahr das Feld der Forschung, wobei sowohl die Verhaltensforschung wie die Sinnesphysiologie berührt werden. Man kann nur hoffen, daß diese Forschungen mit ständig verbesserten Mitteln weiterverfolgt und auf alle Gruppen der Lebewesen ausgedehnt werden.

Eingegangen im April 1971.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARBIER M., LEDERER E., 1960. Structure chimique de la substance royale de la reine d'abeille (*Apis mellifica* L.). *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 250, 4467-4469.
- BARBIER M., LEDERER E., NOMURA T., 1960. Synthèse de l'acide céto-9 décène-2 *trans* oïque (substance royale) et de l'acide céto-8 nonène-2 *trans* oïque. *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 251, 1133-1135.
- BARBIER M., LEDERER E., REICHSTEIN T., SCHINDLER O., 1960. Auftrennung der sauren Anteile von Extrakten aus Bienen Königinnen (*Apis mellifica* L.); Isolierung des als Königinnen-Substanz bezeichneten Pheromones. *Helv. Chim. Acta*, 43, 1682-1689.
- BARBIER M., PAIN J., 1960. Étude de la sécrétion des glandes mandibulaires des reines et des ouvrières d'abeilles (*Apis mellifica*) par chromatographie en phase gazeuse. *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 250, 3740-3742.
- BEETSMA J., 1967. The transmission of regulating factors between the queen and worker honeybees (*Apis mellifica* L.). *Vest. ceskosl. Spol Zool.*, 31, (4), 325-328.
- BERGSTRÖM G., KULLENBERG B., STÄLLBERG-STENHAGEN S., STENHAGEN E., 1968. Studies on natural odoriferous compounds. II. Identification of a 2,3-dihydrofarnesol as the main component of the marking perfume of male bumble bees of the species *Bombus terrestris* L. *Ark. Kemi, Sverige*, 28, (31), 453-469.
- BETHE A., 1932. Vernachlässigte Hormone. *Naturwissenschaften, Dtsch.*, 20, 177-181.
- BLUM M. S., WARTER S. L., MONROE R. S., CHIDESTER J. C., 1963. Chemical Releasers of Social Behavior. I. Methyl-n-amyl Ketone in *Iridomyrmex pruinosus* (Roger), *J. Insect Physiol.*, G.B., 9, 881-885.
- BLUM M. S., 1966. Chemical releasers of social behavior. VIII. Citral in the mandibular gland secretion of *Lestrimelitta Limao*. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 59, 962-964.
- BLUM M. S., WARTER S. L., 1966. Chemical releasers of social behavior. VII. The isolation of 2-heptanone from *Conomyrma pyranica* and its *modus operandi* as a releaser of alarm and digging behavior. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 59, 774-779.
- BLUM M. S., 1969. Alarm Pheromones. *Annu. Rev. Entomol., U.S.A.*, 14, 57-80.
- BLUM M. S., PADOVANI F., KERR W. E., DOOLITTLE R. E., BEROZA E., (Travaux non publiés, voir BLUM, 1969, p. 62.)
- BLUM M. S., CREWE R. M., KERR, W. E., KEITH L. H., GARRISON A. W., WALKER M. M., 1970. Citral in stingless bees : Isolation and functions in trail-laying and robbing. *J. Insect Physiol.*, G.B., 16, 1637-1648.
- BOCH R., SHEARER D. A., 1962. Identification of Geraniol as the Active Component in the Nassanoff Pheromone of the Honey Bee. *Nature, G.B.*, 194, 704-706.
- BOCH R., SHEARER D. A., STONE B. C., 1962. Identification of Iso-amyl-acetate as an Active Component in the Sting Pheromone of the Honey Bee. *Nature, G.B.*, 195, 1018-1020.
- BOCH R., SHEARER D. A., 1963. Production of Geraniol by Honey Bees of Various Ages. *J. Insect Physiol.*, G.B., 9, 431-434.
- BOCH R., SHEARER D. A., 1964. Identification of Nerolic and Geranic Acids in the Nassanoff Pheromone of the Honey Bee. *Nature, G.B.*, 202, 320-321.
- BOCH R., SHEARER D. A., 1966. Iso-pentyl Acetate in Stings of Honeybees of Different Ages. *J. Apicult. Res.*, G.B., 5, (2), 65-70.
- BOCH R., SHEARER D. A., 1967. 2-Heptanone and 10-Hydroxy-*trans*-dec-2-enoic Acid in the Mandibular Glands of Worker Honey Bees of Different Ages. *Z. vergleich. Physiol.*, Dtsch., 54, 1-11.
- BOCH R., SHEARER D. A., PETRASOVITS A., 1970. Efficacies of two Alarm Substances of the Honey Bee. *J. Insect Physiol.*, G.B., 16, 17-24.
- BOECKH J., KAISLING K. E., SCHNEIDER D., 1966. Insect Olfactory Receptors. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, U.S.A., 30, 263-280.
- BOUSH G. M., BAERWALD R. J., 1967. Courtship Behavior and Evidence for a Sex Pheromone in the Apple Maggot Parasite, *Opius alloeus* (Hymenoptera : Braconidae.) *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 60, (4), 865-866.
- BUTLER C. G., CALLOW R. K., JOHNSTON N. C., 1959. Extraction and Purification of "Queen Substance" from Queen Bees. *Nature, G.B.*, 184, 1871.

- BUTLER C. G., CALLOW R. K., JOHNSTON N. C., 1961. The Isolation and Synthesis of Queen Substance, 9-oxodec-*trans*-2-enoic Acid, a Honeybee Pheromone. *Proc. r. Soc., B, G.B.*, 155, 417-432.
- BUTLER C.G., CALLOW R. K., CHAPMAN J. R., 1964. 9-Hydroxydec-*trans*-2-enoic Acid, a Pheromone Stabilizing Honeybee Swarms. *Nature, G.B.*, 201, 733.
- BUTLER C. G., FAIREY E. M., 1964. Pheromones of the Honeybee : Biological Studies of the Mandibular Gland Secretion of the Queen. *J. Apicult. Res.*, *G.B.*, 3, (2), 65-76.
- BUTLER C. G., 1965. Sex attraction in *Andrena flavipes* Panzer (Hymenoptera : Apidae), with some observations on nest-site restriction. *Proc. r. entomol. Soc. London, A*, 40, (4-6), 77-80.
- BUTLER C. G., SIMPSON J., 1965. Pheromones of the Honeybee (*Apis mellifera* L.) An Olfactory Pheromone from the Koscshewnikow Gland of the Queen. *Scientific Studies, Univ. Librice, ceskosl.*, 4, 33-36.
- BUTLER C. G., 1967. Insect Pheromones. *Biol. Rev.*, *G.B.*, 42, 42-87.
- BUTLER C. G., 1967. A sex attractant acting as an aphrodisiac in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Proc. r. entomol. Soc. London, A*, 42, (4-6), 71-76.
- BUTLER C. G., CALAM D. H., CALLOW R. K., 1967. Attraction of *Apis mellifera* Drones by the Odours of the Queens of Two Other Species of Honeybees. *Nature, G.B.*, 213, 423-424.
- BUTLER C. G., SIMPSON J., 1967. Pheromones of the queen honeybee (*Apis mellifera* L.) which enable her workers to follow her when swarming. *Proc. r. entomol. Soc. London, A*, 42, (10-12), 149-154.
- BUTLER C. G., CALAM D. H., 1969. Pheromones of the Honeybee. The Secretion of the Nassanoff Gland of the Worker. *J. Insect Physiol.*, *G. B.*, 15, 237-244.
- BUTLER C. G., FLETCHER D. C. J., WATLER D., 1969. Nest-entrance Marking with Pheromones by the Honeybee *Apis mellifera* L. and by a Wasp, *Vespa vulgaris* L. *Animal Behav.*, *G. B.*, 17, 142-147.
- BUTLER C. G., FLETCHER D. J. C., WATLER D., 1970. Hive entrance finding by Honey bee (*Apis mellifera*) foragers. *Animal Behav.*, *G.B.*, 18, 78-91.
- CALAM D. H., 1969. Species and Sex-specific Compounds from the Heads of Male Bumble Bees (*Bombus* spp.). *Nature, G. B.*, 221, 856-857.
- CALLOW R. K., JOHNSTON N. C., 1960. The chemical Constitution and Synthesis of Queen Substance of Honeybees (*Apis mellifera* L.). *Bee World, G.B.*, 41, 152-153.
- CHAUVIN R., 1960. Les substances actives sur le comportement à l'intérieur de la ruche. *Ann. Abeille, Fr.*, 3, (2), 185-187.
- CHAUVIN R., 1962. Sur l'épagine ϵ et sur les glandes tarsales d'Arnhart. *Insectes Soc., Fr.*, 9, (1), 1-5.
- COLE L. R., 1970. Observations on the finding of mates by male *Phaeogenes invisior* and *Apan-tes medicaginis* (Hymenoptera : Ichneumonoidea). *Animal Behav.*, *G.B.*, 18, 184-189.
- COPPEL H. C., CASIDA J. E., DAUTERMAN W. C., 1960. Evidence for a potent sex attractant in the introduced Pine sawfly, *Diprion similis* (Hymenoptera : Diprionidae). *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 53, 510-512.
- CREWE R. M., BLUM M. S., 1970. Identification of the Alarm Pheromones of the Ant *Myrmica brevinodis*. *J. Insect Physiol.*, *G.B.*, 16, 141-146.
- CREWE R. M., BRAND J. M., FLETCHER D. J. C., EGGERS S. H., 1970. The Mandibular Gland Chemistry of the Some South African Species of *Crematogaster* (Hymenoptera : formicidae). *J. georgia entomol. Soc.*, 5, (1), 42-47.
- DOOLITTLE R. E., BLUM M. S., BOCH R., 1970. Cis-9-Oxo-2-decenoic Acid : Synthesis and Evaluation as a Honey Bee Pheromone and Masking Agent. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 63, (4), 1180-1185.
- FLETCHER D. J. C., BRAND J. M., 1968. Source of the Trail Pheromone and Method of Trail laying in the Ant *Crematogaster peringueyi*. *J. Insect Physiol.*, *G.B.*, 14, 783-788.
- FREE J. B., BUTLER C. G., 1955. An Analysis of the Factors involved in the Formation of the Cluster of Honeybees. *Behaviour, Netherl.*, 7, 304-316.
- FREE J. B., 1962. The Attractiveness of Geraniol to Foraging Honeybees. *J. Apicult. Res.*, *G. B.*, 1, 52-54.

- FREE J. B., SIMPSON J., 1968. The Alerting Pheromones of the Honeybee. *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.*, 61, 361-365.
- GARY N. E., MORSE R. A., 1960. A Technique for the Removal of Mandibular Glands from living Queen Honeybees. *Bee World, G.B.*, 41, (9), 229-230.
- GARY N. E., 1961 - a. Mandibular gland extirpation in living queen and worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 54, 529-531.
- GARY N. E., 1961 - b. Queen Honeybee Attractiveness as Related to Mandibular Gland Secretion. *Science, U.S.A.*, 133, 1479-1480.
- GARY N. E., 1962. Chemical Mating Attractants in the Queen Honeybee. *Science, U.S.A.*, 136, 773-774.
- GARY N. E., 1963. Observations of Mating Behaviour in the Honeybee. *J. Apicult. Res., G.B.*, 2, (1), 3-13.
- GHEENT R. L., GARY N. E., 1962. A Chemical Alarm Releaser in Honeybee Stings (*Apis mellifera* L.). *Psyche, U.S.A.*, 69, (1), 1-6.
- GUNNISON A. F., MORSE R. A., 1968. Source of the Ether-Soluble Organics of Stings of the Honeybee, *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 61, 5-8.
- HAAS A., 1952. Die Mandibeldrüse als Duftorgan bei einigen Hymenopteren. *Naturwissenschaften, Dtsch.*, 39, 484.
- HAAS A., 1967. Vergleichende Verhaltensstudien zum Paarungsschwarm der Hummeln (*Bombus*) und Schmarotzerhummeln (*Psithyrus*). *Z. Tierpsychol., Dtsch.*, 24, 257-277.
- HANGARTNER W., 1970. Control of pheromone quantity in odor trails of the ant *Acanthomyops interjectus* Mayr. *Experientia, Suisse*, 26, (6), 664-665.
- HRDY J., NOVAK V. J. A., 1960. A contribution to the question of non specificity of the exohormones. *Internat. Kongr. Entomol. XI. 1960. Wien*, 3, 222-225.
- HUBER F., 1814. Nouvelles observations sur les Abeilles. I, 147-168, 2^e éd. J. J. Paschoud, Paris.
- IKAN R., GOTTLIEB R., BERGMANN E. D., ISHAY J., 1969. The Pheromone of the Queen of the Oriental Hornet, *Vespa orientalis* F. *J. Insect Physiol., G.B.*, 15, 1709-1712.
- ISHAY J., IKAN R., BERGMANN E. D., 1965. The Presence of Pheromones in the Oriental Hornet *Vespa orientalis* F. *J. Insect. Physiol., G.B.*, 11, 1307-1309.
- JAYCOX E. R., 1970-a. Honey Bee Queen Pheromones and Worker Foraging Behavior. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 63, 222-228.
- JAYCOX E. R., 1970-b. Honey Bee Foraging Behavior : Responses to Queens, Larvae, and Extracts of Larvae. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 63, 1689-1694.
- KAISLING K. E., RENNER M., 1968. Antennale Rezeptoren für Queen Substance und Sterelduft bei der Honigbiene. *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.*, 59, 357-361.
- KANNOVSKI P. B., JOHNSON R. L., BLUM M. S. (travaux non publiés, voir BLUM, 1969, p. 64).
- KANNOVSKI P. B., JOHNSON R. L., 1969. Male patrolling behaviour and sex attraction in ants of the genus *Formica*. *Animal Behav., G.B.*, 17, 425-429.
- KARLSON P., BUTENANDT A., 1959. Pheromones (ectohormones) in insects. *Ann. Rev. Entomol., U.S.A.*, 4, 39-48.
- KARLSON P., LUSCHER M., 1959. « Pheromones » : a New Term for a Class of Biologically Active Substances. *Nature, G.B.*, 183, 55-56.
- KARLSON P., 1960. Pheromones. *Ergebn. Biol., Dtsch.*, 22, 212-225.
- KERR W. E., FERREIRA A., de MATTOS N. S., 1963. Communication among Stingless Bees. Additional Data (Hymenoptera : Apidae). *J. New York entomol. Soc.*, 71, 80-90.
- KIRSCHENBLATT J. A. D., 1968. Les Télérgones, substances chimiques d'action sur les animaux (en russe). *Moskva, Izdat, Nauka*, 106 pages.
- KULLENBERG B., 1952. Recherches sur la biologie florale des Ophrys. *Bull. Soc. Hist. nat. Afr. Nord*, 43, 53-62.
- KULLENBERG B., 1956. Field experiments with chemical sexual attractants on Aculeate Hymenoptera males. *Zool. Bidr. Uppsala*, 31, 253-354.
- KULLENBERG B., BERGSTROM G., STALLBERG - STENHAGEN S., 1970. Volatile Components of the Cephalic Marking Secretion of Male Bumble Bees. *Acta Chem. scand., Danem.*, 24, (4), 1481-1483.

- LACHER V., SCHNEIDER D., 1963. Elektrophysiologischer Nachweis der Riechfunktion von Porenplatten (*sensilla placodea*) auf den Antennen der Dohne und der Arbeitsbiene (*Apis mellifica* L.). *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.*, 47, 274-278.
- LAVIE P., PAIN J., 1959. Relation entre la substance attractive, le facteur antibiotique et le développement ovarien chez la reine d'Abeille. *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 248, 3753-3755.
- LAW J. H., WILSON E. O., CLOSKEY J. A. Mc., 1965. Biochemical Polymorphism in Ants. *Science, U.S.A.*, 149, 544-546.
- LECOMTE J., 1956. Formation de pistes par les butineuses d'une ruche ayant subi une rotation de 180°. *Z. Bienenforsch., Dtsch.*, 3, (6), 128-133.
- LEUTHOLD R. H., 1968. A tibial gland scent-trail and trail-laying behavior in the ant *Crematogaster ashmeadi* Mayr. *Psyche, U.S.A.*, 75, (3), 233-248.
- LINDAUER M., KERR W. E., 1958. Die gegenseitige Verständigung bei den Stachellosen Bienen. *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.*, 41, 405-434.
- LINDAUER M., KERR W. E., 1960. Communication between the Workers of Stingless Bees. *Bee World, G.B.*, 41, 29-41 et 65-71.
- MASCHWITZ U. W., 1963. Gefahrenalarmstoffe und Gefahrenalarmierung bei Sozialen Hymenopteren. *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.*, 47, 596-655.
- MASCHWITZ U. W., 1964. Alarm Substances and Alarm Behavior in Social Hymenoptera. *Nature, G.B.*, 204, 324-327.
- METCALF R. A., METCALF R. L., 1970. Effects of Isosteres of 2-Heptanone on the Alarm Behavior of the Ant *Conomyrma pyranica*. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 63, 34-35.
- MORSE R. A., GARY N. E., JOHANSSON T. S. K., 1962. Mating of Virgin Queen Honey Bees (*Apis mellifera* L.) following Mandibular Gland Extirpation. *Nature, G.B.*, 94, 605.
- MORSE R. A., SHEARER D. A., BOCH R., BENTON A. W., 1967. Observations on alarm substances in the genus *Apis*. *J. Apicult. Res., G.B.*, 6, (2), 113-118.
- MOURE J. S., NOGUEIRA-NETO P., KERR W. E., 1958. Evolutionary problems among *Meliponinae*. *Internat. Congr. Entomol. 10. 1956. Montréal*, 2, 481-493.
- NEDEL J. O., 1960. Morphologie und Physiologie der Mandibeldrüse einiger Bienen-Arten (*Apidae*). *Z. Morphol. ökol. Tiere. Dtsch.*, 49, 139-183.
- PAIN J., 1954. Sur l'ectohormone des reines d'abeilles. *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 239, 1869-1870.
- PAIN J., 1956. Mesure du pouvoir inhibiteur et de l'attractivité de l'ectohormone des reines d'abeilles. Différences individuelles. *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 242, 1080-1082.
- PAIN J., 1960. Les méthodes de dosage de la phéromone des reines d'abeilles (*Apis mellifica* L.). *Internat. Kongr. Entomol. XI. 1960. Wien*, 2, 507-509.
- PAIN J., 1961. Sur la phéromone des reines d'abeilles et ses effets physiologiques. Thèse Sc. nat. Paris. n° 4526, 103 pages.
- PAIN J., 1962. Le pouvoir d'attraction des reines d'abeilles. Film couleur 16 mm, sonore optique, 18 mètres. En coopération avec le service du film de Recherche Scientifique, Paris.
- PAIN J., 1968. Les phéromones et leurs effets physiologiques. *Traité de biologie de l'Abeille*, 2, 214-215, Masson, Paris.
- PAIN J., RUTTNER F., 1963. Les extraits de glandes mandibulaires des reines d'abeilles attirent les mâles, lors du vol nuptial. *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 256, 512-515.
- PASTEELS J. M., CREWE R. M., BLUM M. S., 1970. Étude histologique et examen au microscope électronique à balayage de la glande sécrétant la phéromone de piste chez deux *Crematogaster* nord-américains (*Formicidae, Myrmicinae*). *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 271, 835-838.
- REGNIER F. E., LAW J. H., 1968. Insect Pheromones. *J. Lipid Res., U.S.A.*, 9, 541-551.
- REGNIER F. E., WILSON E. O., 1968. The Alarm-defense System of the Ant *Acanthomyops claviger*. *J. Insect Physiol., G.B.*, 14, 955-970.
- RENNER M., 1960. Das Duftorgan der Honigbiene und die physiologische Bedeutung ihres Lockstoffes. *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.*, 43, 411-468.
- RENNER M., BAUMANN M., 1964. Über Komplexe von subepidermalen Drüsenzellen (Duftdrüsen?) der Bienenkönigin. *Naturwissenschaften, Dtsch.*, 51, (3), 68-69.
- RUTTNER F., KAISLING K. E., 1968. Über die interspezifische Wirkung des Sexuallockstoffes von *Apis mellifica* und *Apis cerana*. *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.*, 59, 362-370.

- RUTTNER F., RUTTNER H., 1968. Untersuchungen über die Flugaktivität und das Paarungsverhalten der Drohnen. *Z. Bienenforsch., Dtsch.*, 9, (6), 259-265.
- SHEARER D. A., BOCH R., 1965. 2-Heptanone in the Mandibular Gland Secretion of the Honeybee. *Nature, G.B.*, 206, 530.
- SHEARER D. A., BOCH R., 1966. Citral in the Nassanoff Pheromone of the Honeybee. *J. Insect Physiol., G.B.*, 12, 1513-1521.
- SHEARER D. A., BOCH R., MORSE R. A., LAIGO F. M., 1970. Occurrence of 9-oxodec-trans-2-enoic Acid in Queens of *Apis dorsata*, *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *J. Insect Physiol., G.B.*, 16, 1437-1441.
- SHOWERS R. E., 1967. Preliminary Evaluation of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Behaviour induced by the Pheromone 9-Oxodec-Trans-2-Enoic Acid. *Amer. Bee. J.*, 107, (8), 294-296.
- SIMPSON J., 1966. Repellency of the Mandibular Gland Scent of Worker Honey Bees. *Nature, G.B.*, 209, 531-532.
- STEIN G., 1963. Untersuchungen über den Sexuallockstoff der Hummelmännchen. *Biol. Zbl., Dtsch.*, 82, (3), 343-349.
- STRANG G. E., 1970. A Study of Honey Bee Drone Attraction in the Mating Response. *J. econ. Entomol., U.S.A.*, 63, (2), 641-645.
- STUMPER R., 1956. Sur les sécrétions attractives des fourmis femelles. *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 242, 2487-2589.
- VARESCI E., KAISLING K. E., 1970. Dressur von Bienenarbeiterinnen und Drohnen auf Pheromone und andere Duftstoffe. *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.*, 66, (1), 22-26.
- VELTHUIS H. H. W., VAN ES J., 1964. Some Functional Aspects of the Mandibular Glands of the Queen Honey bee. *J. Apicult. Res., G.B.*, 3 (1), 11-16.
- VELTHUIS H. H. W., 1967. On Abdominal Pheromones in the Queen Honey bee. *Internat. congr. Apicult.* 21. 1967. Maryland, 58-59.
- VELTUIS H. H. W., 1970. Queen Substances from the Abdomen of the Honey Bee Queen. *Z. vergleich. Physiol., Dtsch.*, 70, 210-222.
- WALLER G. D., 1970. Attracting honeybees to alfalfa with citral, geraniol and anise. *J. Apicult. Res., G.B.*, 9, (1), 9-12.
- WALSH C. T., LAW J. H., WILSON E. O., 1965. Purification of the Fire Ant Trail Substance. *Nature, G.B.*, 207, 320-321.
- WALTON G. M., SMITH M. V., 1970. Effect of Mandibular Gland Extirpation on Acceptance of the Queen Honey Bee. *J. econ. Entomol., U.S.A.*, 63, 714-715.
- WATKINS J. F. H., COLE T. W., 1966. The Attraction of Army Ant Workers to Secretions of Their Queens. *Texas J. Sci.*, 18, (18), 254-265.
- WEAVER N., WEAVER E. C., LAW J. H., 1964. The Attractiveness of Citral to Foraging Honeybees. *Progr. Rep., Texas agric. Exper. Stn.*, n° 2324, 7 p.
- WILSON E. O., 1962. Chemical Communication Among Workers of the Fire Ant, *Solenopsis saevissima* (Fr. Smith) 1. The Organisation of Mass Foraging 2. An Information Analysis of the Odour Trail. 3. Experimental Induction of Social Responses. *Animal Behav., G.B.*, 10, 134-164.
- WILSON E. O., 1963. Pheromones. *Scientific. Amer.*, 208, 100-114.
- WILSON E. O., 1963. The Social Biology of Ants. *Ann. Rev. Entomol., U.S.A.*, 8, 345-368.
- WILSON E. O., BOSSERT W. H., 1963. Chemical communication among animals. *Recent Progr. Hormone Res., U.S.A.*, 19, 673-716.
- WILSON E. O., 1965. Chemical communication in the social insects. *Science, U.S.A.*, 149, 1064-1071.
- WOODROW A. W., GREEN N., TUCKER H., SCHONHORNST M. H., HAMILTON K. C., 1965. Evaluation of Chemicals as Honey Bee Attractants and Repellents. *J. econ. Entomol., U.S.A.*, 58, (6), 1094-1102.
- ZMARLICKI C., MORSE R. A., 1964. The Effect of Mandibular Gland Extirpation on the Longevity and Attractiveness to Workers of Queen Honey Bees, *Apis mellifera*. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, 57, 73-74.
-