

Insectes Sociaux, Paris.
1974. Tome 21, n° 2, pp. 167-180.

**DOSAGE BIOLOGIQUE DE LA PHÉROMONE DE PISTE
CHEZ LES FOURRAGEUSES ET LES REINES
DE *MYRMICA RUBRA***

Par JACQUES M. PASTEELS et JEAN-CLAUDE VERHAEGHE

*Laboratoire de Biologie animale et cellulaire,
Faculté des Sciences, Université libre de Bruxelles,
50, avenue F.-D. Roosevelt, B-1050 Bruxelles.*

Reçu le 16 février 1974.

Accepté le 17 mai 1974.

RÉSUMÉ

Une méthode est décrite pour doser la phéromone de piste chez *Myrmica rubra*.

Une piste circulaire de 10 cm de diamètre tracée avec 25 µl d'extrait de glande à poison sur une feuille de papier est déposée sur l'aire de récolte d'un nid. Les trajets des fourmis le long de la piste sont enregistrés pendant une demi-heure.

La quantification la plus précise de l'activité d'un extrait est la moyenne des logarithmes des distances parcourues le long de la piste. Une unité d'activité est proposée : celle provoquant des réponses dont la moyenne des logarithmes décimaux est 1.

Un extrait de concentration de 4 glandes de fourrageuses/ml (10^{-3} glande/piste) possède une activité d'environ 1 unité. Un extrait de même concentration en glandes à poison de reines fonctionnelles est cent fois moins actif. Cette très faible activité pourrait être due à la présence de substances organiques non spécifiques dans l'extrait.

SUMMARY

***Biological quantification of trail pheromone
in foragers and queens in Myrmica rubra.***

A bioassay has been developed for quantitative analysis of trail pheromone extracts in *Myrmica rubra*.

A circular artificial trail of 10 cm in diameter is drawn on a sheet of paper by using 25 µl of hexane extract of the poison sacs (pheromone source) to be tested. This trail is then placed on the ant's foraging area for a testing period of 30 minutes.

The most accurate quantification of an extract's activity is the mean of the logarithms of the walked distances along the trail. An arbitrary activity unit is proposed : the activity for which this mean is one.

An extract of four foragers' glands/ml hexane has about one unit of activity. An extract of the same concentration of glands from functional queens is hundred times less active.

This weak activity could be due to the presence of unspecific organic substances in the extract.

INTRODUCTION

Les *Myrmica rubra* ne tracent pas de pistes de récolte très apparentes, comme celles de Myrmicinae plus évoluées. Elles suivent cependant une piste odorante en deux circonstances au moins. Lorsque les fourmis changent de nid, elles parcourent une piste pouvant atteindre 6 m de long et 2 à 3 cm de large. La piste est bien marquée par une phéromone; les fourmis sont désorientées, si la couche superficielle du sol est enlevée le long de 2 à 3 cm de trajet (PASTEELS, observation non publiée). Les ouvrières tracent aussi une piste de recrutement après avoir localisé un ennemi aux abords du nid (CAMMAERTS-TRICOT, 1974 b). Comme chez beaucoup de Myrmicinae, la phéromone de piste est sécrétée par la glande à poison (CAMMAERTS-TRICOT, 1974 a).

Les tests biologiques décrits permettant de quantifier une phéromone de piste dans un extrait conviennent mal pour doser la phéromone de *Myrmica rubra*, sans doute parce que cette espèce ne suit que rarement des pistes très accusées. Un test fréquemment utilisé consiste à présenter une piste artificielle généralement circulaire à des fourmis isolées de leur aire de récolte et à déterminer la proportion de fourmis qui suivent une portion du trajet, arbitrairement choisie (MOSER et BLUM, 1963). Si ce test convient bien pour des espèces comme les *Atta* qui suivent volontiers une piste, par contre il s'est avéré beaucoup trop peu sensible pour quantifier la réponse de *M. rubra*. Les fourmis très perturbées par l'isolement suivent mal, même un extrait concentré.

Des méthodes moins perturbantes ont été proposées, en testant des pistes artificielles dans un environnement coutumier des fourmis. LEUTHOLD (1968), par exemple, interpose sur le parcours d'une piste naturelle de *Crematogaster ashmaedi* une piste artificielle ou deux pistes concurrentes. Cette méthode n'est bien sûr possible qu'avec des fourmis traçant des pistes de récolte de longue durée. WILSON (1959) dessine les pistes artificielles sur l'aire de récolte même de *Solenopsis saevissima* et détermine la proportion de fourmis parcourant au moins la moitié de la piste.

Nous utiliserons une méthode proche de celle de WILSON (1959), mais en tenant compte de tout le spectre de réponses des fourmis. La production de phéromone de piste par les fourrageuses et les reines sera évaluée dans ce travail. Par fourrageuses, nous désignons les fourmis présentes sur l'aire de récolte

dans les conditions normales d'élevage. Il sera décrit ailleurs comment la méthode proposée permet de quantifier la production de phéromone de piste en fonction de l'âge des ouvrières et également de comparer la réponse d'ouvrières d'âges différents à une piste artificielle (CAMMAERTS-TRICOT et VERHAEGHE, 1974).

I. — MÉTHODES GÉNÉRALES

ELEVAGES ET CONDITIONS D'EXPÉRIENCES. — Les nids ont été maintenus en laboratoire en utilisant la méthode décrite par TRICOT et al. (1972). Les conditions étaient les suivantes : température de $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$; humidité relative $40\% \pm 10$; éclairage à incandescence de 590 lux (intensité totale du rayonnement, $3,9 \cdot 10^3$ erg/cm² sec.); durées d'éclairement d'environ 12 heures, alternant avec des périodes équivalentes d'obscurité.

PRÉPARATION DES EXTRAITS. — Les fourmis tuées par congélation sont disséquées sous l'eau. Les glandes à poison et leurs réservoirs sont transférés dans du n hexane (Merck, pour analyse) et la solution est homogénéisée par quelques aspirations dans une pipette Pasteur. Chaque solution stock contient 40 glandes dans 1 ml d'hexane. Elles sont conservées à -20°C et jamais utilisées, par précaution, plus de huit jours après leur préparation. Des dilutions de 10 en 10 fois fournissent la gamme des concentrations testées.

PISTES ARTIFICIELLES. — L'extrait hexanique de glandes à poison est déposé sur une circonférence de 10 cm de diamètre, divisée en 36 arcs égaux, au centre d'une feuille de papier millimétré (Selecta Bestell n° 662.561, format A4). Le choix d'une piste circulaire se justifie par le fait qu'on dispose ainsi d'une piste infinie, certaines fourmis ont parcouru la piste sur une longueur totale de plus de 1,50 m.

La piste artificielle est tracée avec une plume de normographe (Standargraphe 56 S) remplie avec 25 μl de la solution à tester : solution stock, ou dilution de cette solution. Si la solution stock est utilisée, l'équivalent de l'extrait d'une glande est déposé sur la piste. La concentration de l'extrait utilisé peut donc être convertie en fractions de glande/piste.

MESURE DES RÉPONSES DES FOURMIS. — La feuille préparée est déposée durant une demi-heure sur l'aire de récolte, à 10 cm environ d'une entrée du nid, dans une région fréquentée par les fourmis (1).

Dès qu'une fourmi aborde la piste, on note le nombre d'arcs de cercle qu'elle parcourt pendant tout le temps où elle suit la piste, même si elle fait demi-tour en cours de route.

Des méthodes plus spécifiques seront utilisées à propos de chaque expérience.

(1) Les fourrageuses parcourent l'aire de récolte, apparemment sans suivre une piste précise. Il n'est pas impossible cependant qu'elles utilisent des trajets privilégiés, s'orientant grâce à des repaires lumineux ou à des traces odorantes, comme c'est le cas pour d'autres espèces de *Myrmica* (MCGREGOR, 1948; AYE, 1968 et 1969).

Les tests statistiques non paramétriques utilisés sont décrits et leurs conditions d'emploi commentées par SIEGEL (1956). Lors de la comparaison de deux distributions, le test de KOLMOGOROV-SMIRNOV (in SIEGEL, 1956) a été préféré au χ^2 lorsque des fréquences de classes faibles imposaient un trop grand regroupement de classes. Par contre, le χ^2 a été préféré au test de KOLMOGOROV-SMIRNOV lorsque les échantillons étaient de tailles inégales.

II. — ANALYSE DE LA DISTRIBUTION DES RÉPONSES DES FOURRAGEUSES A UNE PISTE ARTIFICIELLE

MÉTHODE. — Les 2 extraits utilisés (a et b, tableau I) sont de même concentration (4 glandes/ml), obtenus par dilution de deux solutions stock différentes. Quatre pistes ont été présentées séparément aux fourmis, 2 tracées avec l'extrait a, 2 avec l'extrait b.

RÉSULTATS. — La réponse varie d'une fourmi à l'autre et même d'une rencontre avec la piste à une autre pour la même fourmi. Les réponses ne se distribuent pas normalement. Toute comparaison de résultats expérimentaux, en tenant compte de toutes les réponses, ne peut donc se faire qu'à l'aide d'un test statistique non paramétrique.

TABLEAU I. — Réponses des fourmis à quatre pistes tracées avec des extraits de concentration identique (1) de glandes à poison de fourrageuses.

TABLE I. — Responses of ants to four trails drawn with poison sacs extracts of identical concentration (4 sacs/ml hexane, 10^{-1} sac/trail).

Extraits (2)	Nombre total de réponses	Nombre de réponses positives	\bar{m} des Log_{10} des distances parcourues
a	37	32	$1,009 \pm 0,143$
a	38	35	$0,928 \pm 0,146$
b	33	30	$1,112 \pm 0,184$
b	26	25	$1,158 \pm 0,175$

(1) La concentration utilisée est de 4 glandes/ml d'hexane, soit un dépôt par piste de l'équivalent de 10^{-1} glande.
(2) a et b désignent deux extraits préparés indépendamment.

En ne tenant compte que des réponses > 0 , et en opérant une transformation logarithmique, on obtient une distribution non distincte d'une distribution normale théorique de même moyenne et de même écart-type, au seuil $P = 0,05$ (χ^2) (fig. 1). Il est donc légitime de caractériser la réponse des fourmis par la moyenne et son intervalle de confiance, des logarithmes décimaux des longueurs de piste parcourues.

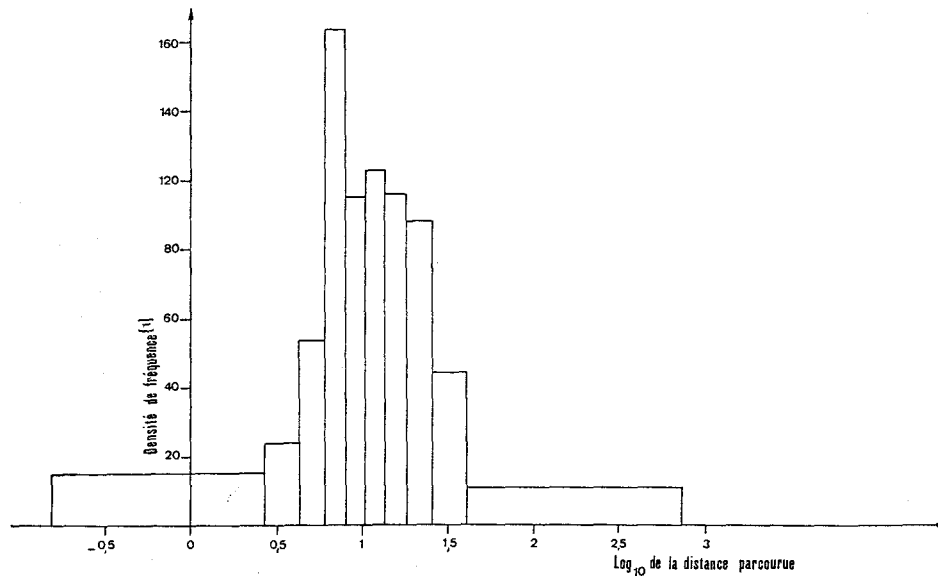


FIG. 1. — Distribution des Log_{10} des distances (mesurées en cm) parcourues le long de pistes tracées avec des extraits de 4 glandes à poison de fourrageuses par ml (10^{-1} glande/piste).

Effectif : 122 ouvrières; moyenne : $1,040 \pm 0,079$.

(1) Fréquence absolue/intervalle de classe (in HELLER, 1968).

FIG. 1. — Distribution of the Log_{10} of the distances (in cm) walked along trails drawn with extracts containing 4 poison sacs of foragers per ml (10^{-1} sac/trail).

Number of workers observed : 122; Mean : 1.040 ± 0.079 .

(1) Absolute frequency/class interval (HELLER, 1968).

Cette méthode permet de quantifier de manière satisfaisante la réponse des fourmis, même en n'enregistrant qu'un nombre faible de réponses, environ une trentaine. En effet, les réponses aux quatre pistes différentes sont équivalentes. Une seule piste peut suffire pour quantifier l'efficacité d'un extrait et les résultats sont reproductibles, même si les expériences sont réalisées des jours différents et à partir d'extraits préparés indépendamment (tableau I).

III. — RÉPONSES DES FOURRAGEUSES EN FONCTION DE LA CONCENTRATION DE LA PISTE EN PHÉROMONE

MÉTHODE. — Les concentrations utilisées correspondent au dépôt d'une quantité d'extrait équivalant à $1,10^{-1}$, 10^{-2} et 10^{-3} glande/piste. Les expériences contrôles utilisent des pistes tracées avec le solvant seul ou des circonférences non traitées.

RÉSULTATS. — Les réponses aux deux pistes contrôles sont identiques et seront considérées ensemble.

Les fourmis réagissent de moins en moins aux pistes tracées avec des extraits de moins en moins concentrés. La comparaison des spectres complets des réponses à une piste et à une autre tracée avec un extrait d'une dilution immédiatement supérieure montre que les différences observées sont respectivement significatives aux seuils : $0,05 > P > 0,01$; $P = 0,01$, $0,05 > P > 0,01$ (test de KOLMOGOROV-SMIRNOV pour deux échantillons). Les tests non paramétriques ne permettent pas de mettre en évidence une différence significative entre les réponses des fourmis aux pistes contrôles et leur comportement vis-à-vis d'une piste imbibée d'une quantité d'extrait équivalent à l'extrait de 10^{-3} glande/piste.

TABLEAU II. — Réponses des ouvrières à des pistes artificielles tracées avec des extraits de glande à poison de concentrations variées.

TABLE II. — Reactions of workers to artificial trails drawn with extracts of poison glands of various concentrations.

Concentrations (2)	Nombre de fourmis observées	% (1) de ♀ ayant parcouru plus de			
		0 cm	5 cm	10 cm	30 cm
1	29	96,5 (83-100)	86,2 (69-96,2)	82,7 (70-94,3)	41,1 (23-59)
10^{-1}	30	86,7 (69-96,5)	66,6 (47-83)	60 (41-77)	20 (7,7-39)
10^{-2}	30	80 (61-92,3)	43,3 (25-62)	23,3 (7,4-33)	6,7 (0,8-22)
10^{-3}	30	60 (41-77)	13,3 (3,8-31)	0 (0-17)	0 (0-17)
Hexane pur..	40	55 (39-71)	0 (0-8,8)	0 (0-8,8)	0 (0-8,8)
Papier seul..	50	50 (35-64)	0 (0-11)	0 (0-7,1)	0 (0-7,1)

(1) Les pourcentages sont donnés avec leurs intervalles de confiance pour $P = 0,95$.
(2) Les concentrations sont exprimées en glande à poison/piste.

La quantification de la réponse peut se faire en déterminant le pourcentage des fourmis ayant parcouru une longueur choisie de piste (tableau II), méthode généralement utilisée pour d'autres espèces de fourmis. Ces pourcentages décroissent au fur et à mesure que l'on utilise des concentrations plus faibles en phéromone. Le pourcentage de fourmis ayant parcouru plus de 5 cm de piste paraît le plus discriminatif. Cependant, cette méthode de quantification est peu précise, à moins de multiplier les expériences. Les intervalles de confiance de ces pourcentages sont grands. De fait, d'une dilution à la suivante, il n'est pas possible de trouver une différence significative entre ces pourcentages au seuil $P = 0,05$ (χ^2).

La moyenne des logarithmes décimaux des longueurs de piste parcourues (en ne tenant compte que des réponses > 0) permet une quantification plus sûre. Un test « t » de Student peut être utilisé pour comparer ces moyennes, si l'on suppose que les distributions des logarithmes décimaux des longueurs parcourues restent normales à d'autres dilutions que celles correspondant au dépôt de 10^{-1}

glande/piste. Cette supposition paraît raisonnable, même pour la dilution la plus grande utilisée. En effet, la distribution des logarithmes des distances parcourues pour une piste de concentration 10^{-3} glande/piste ne peut être distinguée d'une distribution normale théorique de même moyenne et de même écart-type ($P > 0,2$, test de KOLMOGOROV-SMIRNOV pour un échantillon).

Par contre, la distribution des logarithmes décimaux des longueurs de piste parcourues, dans les expériences contrôles, n'est pas gaussienne ($P < 0,01$). Il est vraisemblable que la probabilité pour que le trajet d'une fourmi coïncide avec une portion de piste contrôle suit une loi de Poisson. La moyenne de ces parcours est très proche de la variance de leur distribution $m = 2,10$ cm et $\sigma^2 = 2,38$ cm, et cette distribution n'est pas discernable d'une distribution de Poisson théorique de même moyenne ($0,2 > P > 0,1$ χ^2 ou test de KOLMOGOROV-SMIRNOV).

Les réponses des fourmis à la piste tracée avec un extrait correspondant au dépôt de 10^{-3} glande/piste sont donc différentes des réponses aux pistes contrôles : les moyennes des logarithmes des distances parcourues sont différentes (fig. 2) et les deux distributions de ces logarithmes également ($P = 0,05$, χ^2).

Cette différence n'avait pu être démontrée en tenant compte à la fois des réponses nulles et des réponses positives par un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV.

Le graphique de la figure 2 montre que les moyennes des logarithmes des distances parcourues augmentent de manière linéaire avec les logarithmes des concentrations, pour des concentrations comprises entre 10^{-3} et 10^{-1} glande par piste. Ces moyennes sont statistiquement différentes ($0,02 > P > 0,01$ et $0,01 > P > 0,001$ respectivement, pour la comparaison des moyennes correspondant aux concentrations 10^{-1} et 10^{-2} glande/piste ainsi qu'aux concentrations 10^{-2} et 10^{-3} glande/piste : « t » de Student). De plus, il y a corrélation entre les logarithmes des distances parcourues et les logarithmes des concentrations des extraits dans ces limites ($r = 0,53$). La droite de régression de X en Y a pour équation :

$$Y = 0,352 X + 1,474$$

où Y est le logarithme de la distance parcourue le long de la piste et X le logarithme de la concentration de l'extrait.

En désignant la distance parcourue le long de la piste par D et la concentration par C, l'équation s'écrit :

$$\text{Log}_{10} D = 0,352 \text{Log}_{10} C + 1,474$$

Si l'on pose $0,352 \approx 1/3$,

$$D = \sqrt[3]{C} \cdot 10^{1,474}$$

Autrement dit, pour des concentrations comprises entre 10^{-3} et 10^{-1} glande/piste, la réponse croît approximativement comme la racine cubique de la concentration.

Les moyennes correspondant aux concentrations de 10^{-1} et 1 glande/piste ne sont guère différentes ($0,1 > P > 0,05$), ce qui suggère que la courbe amorce un palier à partir de la concentration de 10^{-1} glande/piste.

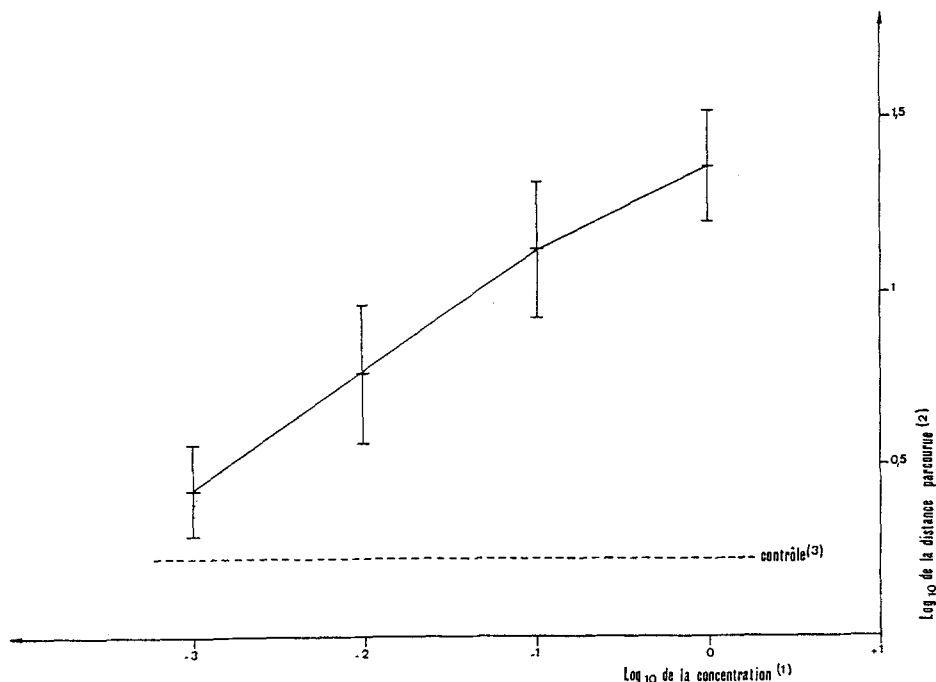


FIG. 2. — Réponse des fourmis en fonction de la concentration de l'extrait.

- (1) La concentration est exprimée en glande à poison/piste.
- (2) Les distances parcourues le long des pistes sont mesurées en cm. Pour chaque concentration, la moyenne des Log₁₀ de ces trajets et son intervalle de confiance (pour P = 0,95) sont représentés.
- (3) Seule la moyenne est donnée pour le contrôle; la distribution des réponses n'étant pas normale, l'intervalle de confiance ne peut être calculé.

FIG. 2. — Response of workers according to the concentration of the extract.

- (1) In poison sac/trail.
- (2) The distances walked along the trails are measured in cm. The mean of the Log₁₀ of these distances and its confidence limits (P = 0.95) are given for each concentration.
- (3) Only the mean is given for the control. In this case, the distribution of the responses not being normal, the confidence limits cannot be calculated.

IV. — RENFORCEMENT ÉVENTUEL PAR LES FOURRAGEUSES ET PERSISTANCE DES PISTES ARTIFICIELLES

Pendant la demi-heure que dure le test, la piste peut soit perdre de son activité par évaporation, soit être renforcée par les ouvrières qui la parcourent. Les expériences suivantes tentent d'évaluer l'importance de ces phénomènes.

MÉTHODE. — Une série de pistes artificielles de concentration 10⁻¹ glande/piste ont été présentées au même nid 0, 1, 2, 3 et 4 heures après leur tracé. Chaque

piste est présentée pendant une demi-heure et pendant ce laps de temps, la réponse de toutes les fourmis qui atteignent la piste est enregistrée.

D'autre part, deux pistes ont été laissées sur l'aire de récolte de deux nids différents pendant 4 h 30. Les réponses des fourmis sont également mesurées pendant une demi-heure, aux temps 0, 1, 2, 3 et 4 heures après le dépôt de la piste. Les réponses des fourmis aux deux pistes sont additionnées.

Les réponses des fourmis sont exprimées en Log_{10} des distances parcourues, en ne tenant pas compte des réponses nulles. La température lors de ces expériences était de $21\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$.

RÉSULTATS (fig. 3). — L'activité des pistes décroît rapidement, puis plus lentement au cours du temps. La piste perd toute activité au bout de 4 heures. Après une heure, la piste est environ 10 fois moins active.

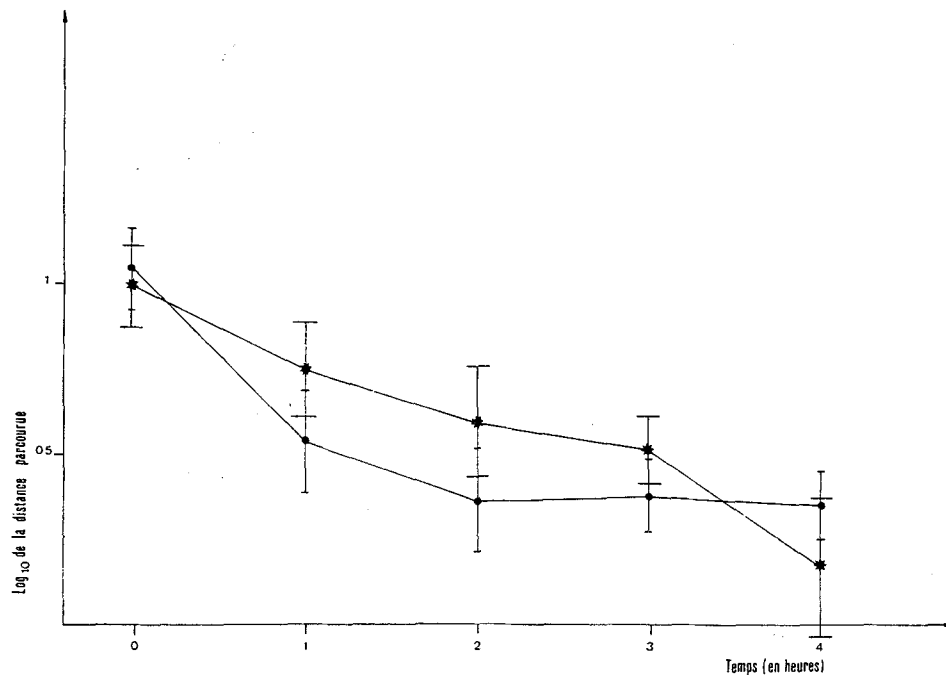


FIG. 3. — *Perte d'activité d'une piste au cours du temps.* Chaque point est placé au début des périodes (une demi-heure) de mesures. La piste est soit laissée constamment sur l'aire de récolte (cercles), soit déposée uniquement pendant la période de mesures (étoiles). Chaque piste est tracée avec une quantité d'extrait équivalant à 10^{-1} glande à poison de fourrageuse. Les distances parcourues le long des pistes sont mesurées en cm.

FIG. 3. — *Fade out of an artificial trail.* The points are placed at the beginning of each period (1/2 h) of measurements. The trail is either left continually on the foraging area (circles) or deposited only during the period of measurements, a new trail being used for each period (asterisks). Each trail is drawn with an equivalent of 10^{-1} poison sac of forager. The distance walked along the trails are measured in cm.

L'activité des pistes laissées sur l'aire de récolte pendant toute la durée de l'expérience n'est pas supérieure à celle des pistes déposées pendant la seule demi-heure durant laquelle les réponses sont enregistrées. Elle est au contraire nettement plus faible. Une interprétation de ce résultat paradoxal est proposée dans le chapitre « Discussion et conclusions ».

Les fourmis ne renforcent donc pas une piste laissée sur l'aire de récolte par un dépôt de phéromone, ce qui aurait dû augmenter son activité et sa durée de vie. Par des expériences analogues, nous avons pu vérifier qu'il n'y a pas renforcement, même si la piste circulaire est déposée entre la nourriture des fourmis et leur nid, ou si on interpose de la nourriture sur son trajet.

V. — DOSAGE DE LA PHÉROMONE DE PISTE CHEZ LES REINES

MÉTHODES. — Les reines fonctionnelles proviennent d'une même société, récoltée le 1^{er} mai près de Bruxelles. L'extrait utilisé est de 40 glandes à poison dans 10 ml d'hexane. Les pistes artificielles de concentration 10^{-1} glande/piste sont testées sur des fourrageuses. Outre les pistes contrôles habituelles, des pistes tracées avec un extrait de thorax de fourrageuses (concentrations 10^{-1} thorax/piste, tracées avec un extrait de 40 thorax dans 10 ml d'hexane) ont également été testées.

RÉSULTATS. — La réponse à l'extrait de glandes à poison de reines est très faible (moyenne des Log_{10} des distances parcourues : $0,407 \pm 0,119$), mais supérieure à celle au solvant ($m = 0,224$). Cependant, cette réponse n'est pas significativement différente de celle obtenue en présentant une piste imbibée d'un extrait de thorax d'ouvrières ($m = 0,438 \pm 0,114$).

Les pistes imbibées d'une quantité d'extrait de glandes à poison de reines équivalant à 10^{-1} glande/piste sont environ 100 fois moins actives que des pistes tracées avec un extrait équivalent de glandes à poison de fourrageuses.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La méthode proposée est simple, rapide et sensible. En testant une piste pendant une demi-heure sur l'aire de récolte, on perturbe très peu les fourmis et un minimum d'extrait est utilisé. Une seule piste artificielle peut parfois suffire pour déterminer l'ordre de grandeur de l'activité d'un extrait.

La moyenne des logarithmes décimaux des distances parcourues, réponses nulles exclues, donne la mesure la plus précise de l'activité d'un extrait, si le test s'effectue toujours sur la même catégorie de fourmis, dans le cas présent les

fourrageuses. Il est bien évident que si on veut comparer les performances de fourmis de catégories différentes (âge, castes, espèces...), il est préférable de tenir compte de toutes les réponses, nulles et positives.

Nous suggérons d'utiliser comme unité d'activité celle pour laquelle la moyenne des logarithmes décimaux des distances parcourues est de 1, ce qui correspond à un parcours de piste de 10 cm. Un extrait de 4 glandes à poison de fourrageuses (10^{-1} glande par piste) par ml possède une activité proche de l'unité. En dessous de cette concentration, les moyennes des Log_{10} des distances parcourues décroissent linéairement avec Log_{10} des concentrations, ce qui permet, en appliquant la formule 1, de calculer l'activité d'un extrait.

L'activité d'une piste artificielle s'affaiblit certainement de manière sensible au cours de la demi-heure de mesure. Après une heure, une piste d'activité 1 n'a plus qu'une activité d'environ 0,1 unité. Il n'y a donc pas intérêt à prolonger les tests au-delà d'une demi-heure, et il est indispensable d'enregistrer les réponses des fourmis pendant toute la demi-heure. Par contre, les fourmis ne renforçant pas la piste, le nombre de fourmis qui parcourent la piste pendant la durée du test ne peut fausser son résultat, pour autant que l'activité des fourmis ne varie pas sensiblement au cours de la demi-heure d'expérience.

Dans nos conditions expérimentales, les fourrageuses ne renforcent pas de manière appréciable une piste artificielle, même si de la nourriture est interposée sur son trajet. Cela ne permet pas de conclure que les ouvrières de *Myrmica rubra* ne recrutent jamais de congénères par piste odorante vers une source de nourriture. Un tel mode de recrutement a été démontré par AYRE (1968, 1969), chez *Myrmica americana*. Dans nos expériences, les fourmis ne sont pas affamées. De plus, le dépôt d'une feuille de papier inconnue des fourmis sur une aire de récolte familière peut déclencher un comportement d'exploration et diminuer ou supprimer l'activité de récolte. Le recrutement vers une source de nourriture chez *Myrmica rubra* est à l'étude dans notre laboratoire.

Une piste laissée sur l'aire de récolte, loin d'être renforcée par les ouvrières qui la parcourent, paraît moins active après 1 et 2 heures, qu'une piste déposée sur l'aire de récolte pour la première fois 1 ou 2 heures après avoir été tracée. Ce résultat inattendu peut être interprété de plusieurs manières, dont la plus probable nous paraît être la suivante. En déposant une piste sur l'aire de récolte, on crée une légère perturbation qui « alerte » les fourmis. Les fourmis légèrement excitées seraient plus sensibles à la phéromone de piste. Rappelons que lorsqu'elles sont excitées par la présence d'une fourmi étrangère sur l'aire de récolte, les ouvrières tracent et suivent une piste (CAMMAERTS-TRICOT, 1974 b).

Les reines fonctionnelles de *Myrmica rubra* ne produisent pas ou très peu de phéromone de piste. La réaction des fourrageuses à l'extrait de leur glande à poison (10^{-1} glande/piste) n'est pas différente de celle vis-à-vis d'un extrait de thorax d'ouvrière. La faible réponse vis-à-vis d'un extrait de glandes à poison de reines pourrait donc être due à la présence de substances organiques non spécifiques dans l'extrait. Dans les extraits de glandes à poison d'ouvrières, cette activité non spécifique est masquée par la présence de phéromone de piste et elle

disparaîtrait plus tôt par dilution que l'activité due à la phéromone. Lors de la dissection, nous avons pu constater que le réservoir des glandes à poison des reines est très aplati et pauvre en sécrétion dont la composition et la nature chimique sont inconnues.

La présence de phéromone de piste chez les reines n'a que rarement été recherchée. Selon WATKINS et al. (1967), les reines de trois espèces de *Neivamyrmex*, placées dans un labyrinthe en Y, tracent des pistes suivies par les ouvrières et les reines. Les auteurs ne précisent pas si l'origine de la phéromone est la même que celle des ouvrières, ni *a fortiori* s'il s'agit de la même substance. Par contre, TORGERSON et AKRE (1970) n'ont pu démontrer dans des conditions similaires l'émission de phéromone de piste par les reines d'*Eciton hamatum*.

Chez *Lasius fuliginosus*, la phéromone de piste est présente dans les ampoules rectales des ouvrières, des mâles et des femelles ailées (HANGARTNER, 1967). Chez les Myrmicines également, les reines ou les femelles (ailées ?) de certaines espèces paraissent sécréter la phéromone de piste, par exemple *Crematogaster peringueyi* (CREWE, 1973). Le cas échéant, on ne sait pas dans quelles circonstances les reines déposent leur phéromone de piste, ni quelle est leur signification dans le comportement social de l'espèce. HÖLDOBLER (1971) a suggéré, mais sans le démontrer, que la phéromone sexuelle des femelles ailées de *Xenomyrmex floridanus* pourrait être identique à la phéromone de piste des ouvrières.

Dans ce travail, seules les réactions des fourrageuses et la production de phéromone par les fourrageuses et les reines ont été quantifiées. Le test décrit a permis en outre d'analyser l'ontogenèse de la production de phéromone par les ouvrières et de leur capacité ou de leur propension à suivre une piste (CAMMAERTS-TRICOT et VERHAEGHE, 1974).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AYRE (G. L.), 1968. — Comparative studies on the behaviour of three species of ants (Hymenoptera : Formicidae). I. Prey finding, capture, and transport. *Can. Ent.*, 100, 165-172. — 1969 Comparative studies on the behaviour of three species of ants (Hymenoptera : Formicidae). II. Trail formation and group foraging. *Can. Ent.*, 101, 118-128.
- CAMMAERTS-TRICOT (M.-C.), 1974 a. — Recrutement d'ouvrières chez *Myrmica rubra* par les phéromones de l'appareil à venin. *Behaviour*, 50, 111-112. — 1974 b. Piste et phéromone attractive chez la fourmi *Myrmica rubra*. *J. Comp. Physiol.*, 88, 373-382.
- CAMMAERTS-TRICOT (M.-C.) et VERHAEGHE (J.-C.), 1974. — Ontogenesis of trail pheromone production and trail following behaviour in the workers of *Myrmica rubra* L. (Formicidae). *Ins. soc.* (à paraître).
- CREWE (R. M.), 1973. — An examination of biochemical polymorphism in ants. Proc. VII Congr. IUSSI, London, 77-83.
- HANGARTNER (W.), 1967. — Spezifität und Inaktivierung des Spurpheromones von *Lasius fuliginosus* Latr. und Orientierung der Arbeiterinnen im Duftfeld. *Z. vergl. Physiol.*, 57, 103-136.
- HELLER (R.), 1968. — Manuel de statistique biologique. *Gauthier-Villars*, édit., Paris.
- HÖLDOBLER (B.), 1971. — Sex pheromone in the ant *Xenomyrmex floridanus*. *J. Insect Physiol.*, 17, 1497-1499.
- LEUTHOLD (R. H.), 1968. — A tibial gland scent-trail and trail-laying behavior in the ant *Crematogaster ashmeadi* Magr. *Psyche*, 75, 233-248.

- Mc GREGOR (E. G.), 1948. — Odour as a basis for orientated movement in ants. *Behaviour*, 1, 267-296.
- MOSER (J. C.) et BLUM (M. S.), 1963. — Trail marking substances of the Texas leafcutting ant : source and potency. *Science*, 140, 1228.
- SIEGEL (S.), 1956. — Non parametric statistics for the behavioral sciences. *Mc Graw Hill*, publ., New York.
- TORGERSON (R. L.) et AKRE (R. D.), 1970. — Interspecific responses to trail and alarm pheromones by new world army ants. *J. Kansas Ent. Society*, 43, 395-404.
- WATKINS (J. F. II), COLE (T. W.) et BALDRIDGE (R. S.), 1967. — Laboratory studies on inter-species trail following and trail preference of army ants (Dorylinae). *J. Kansas Ent. Society*, 40, 146-151.
- WILSON (E. O.), 1959. — Source and possible nature of the odour trail of fire ants. *Science*, 129, 643-644.
-