



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Paul Sabatier – Toulouse III
Spécialité : Ecologie

Présentée et soutenue par
Julien Grangier
le 27 juin 2008

Stabilité évolutive d'un mutualisme plante/fourmis obligatoire et spécifique



JURY

Anne-Marie Cortesero	Professeur, Université Rennes I	Rapporteur
Doyle McKey	Professeur, Université Montpellier II	Rapporteur
Raphaël Boulay	Chercheur, Estación Biológica de Doñana	Examinateur
Brigitte Crouau-Roy	Professeur, Université Toulouse III	Examinateur
Alain Lenoir	Professeur émérite, Université de Tours	Examinateur
Alain Dejean	Professeur, Université Toulouse III	Directeur

Ecole doctorale Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries
Laboratoire Evolution et Diversité Biologique - UMR 5174 CNRS/UPS
Directeurs de Thèse : Pr. Alain Dejean et Dr. Jérôme Orivel

R e m e r c i e m e n t s

Je tiens tout d'abord à remercier sincèrement Raphaël Boulay, Anne-Marie Cortesero, Brigitte Crouau-Roy, Alain Lenoir et Doyle McKey, pour avoir gentiment accepté de faire partie de mon jury de thèse malgré leur emploi du temps chargé.

Je remercie vivement Alain Dejean et Jérôme Orivel, directeur et co-directeur de thèse, pour m'avoir donné l'opportunité de mener ce travail. Merci à Jérôme qui avait déjà accepté de m'encadrer en DEA et avait guidé efficacement mes premiers pas au laboratoire ainsi que dans la forêt guyanaise. Merci à Alain pour m'avoir fait partager un peu de son incommensurable expérience. Tous deux ont fait preuve d'une disponibilité sans faille tout au long de ces années. Travailler avec eux m'a constamment donné en exemple un niveau scientifique que je n'ai pas peur de qualifier d'exceptionnel, et cette expérience ne pourra m'être que profitable par la suite.

De nombreuses personnes ont rendu ce travail possible à travers leur soutien scientifique ou logistique.

Je remercie tous le personnel du laboratoire Evolution et Diversité Biologique pour les conditions de travail enthousiasmantes qu'il m'a fournies. Je suis notamment reconnaissant à Brigitte Crouau-Roy qui en est la directrice et qui a accepté de faire partie de mon jury de thèse, ainsi qu'à Marc Gibernau, Angélique Quilichini, Céline Leroy et Jérôme Chave pour le partage de leurs ressources bibliographiques et les discussions que l'on a pu avoir sur les Chrysobalanaceae, les statistiques ou diverses techniques expérimentales.

Côté guyanais, où j'ai passé plusieurs mois, j'ai été épaulé par le personnel du

laboratoire Hydreco de Petit Saut. Merci à Philippe Cerdan son directeur, ainsi qu'à toute sa pétillante petite équipe, Benoît, Caroline, Cécile, Régis, Laurent, Roland, Sandrine, Véronique...

A Albi, je remercie Michel Treillhou et toute l'équipe du laboratoire Chimie et Biochimie des Interactions, pour m'avoir à chaque fois chaleureusement accueilli.

J'adresse un remerciement tout particulier à Andrea Dejean, pour la relecture et les corrections attentives de tous mes manuscrits en anglais, et plus généralement pour la gentillesse dont elle a fait preuve à mon égard. Andrea et Alain m'ont par ailleurs permis de mener une bonne partie de ma thèse dans des conditions matérielles plus qu'enviables, et je leur en suis très reconnaissant.

Plusieurs étudiants ont participé à ce travail, au premier rang desquels Pierre-Jean Malé qui est intervenu à plusieurs étapes. De stagiaire prometteur, le voici maintenant devenu thésard brillant : je te souhaite bonne route (« par beau temps » si possible) ! Et de toute façon, « Je ne m'en fais pas pour toi ». Un gros merci aussi à Sarah Groc, Jean-Michel Martin, Michaël Negrini, Stéphanie Montembault, Charlotte Trontin et Pierre Uzac pour avoir de près ou de loin contribué à ce travail avec bonne humeur, que ce soit devant la bino ou dans la forêt. Cela a été une chance de côtoyer de pareils stagiaires de choc !

Merci aux membres de mon comité de thèse Alain Lenoir et Vincent Fourcassié. Je suis reconnaissant à Vincent, ainsi qu'à Christian Jost et Raphaël Jeanson, pour avoir eu plusieurs fois la patience d'écouter mes tracas statistiques et de m'en expliquer les remèdes.

Claire Villemant, du MNHN de Paris, ainsi que Jacques Delabie, du CEPLAC au Brésil, m'ont plusieurs fois gentiment renseigné avec force détails sur la systématique des guêpes et des fourmis

rencontrées au gré de mes pérégrinations guyanaises. Merci à eux, ainsi qu'à Jérôme Albre vers qui je me suis tourné pour ce qui est des papillons.

J'ai eu l'occasion de faire plusieurs rencontres enrichissantes pendant les missions de terrain ou dans les colloques. Merci entre autres à Bruno Corbara, Guy Beugnon, Jean-Paul Lachaud, Hervé Jourdan et Alain Thomas.

La thèse a aussi été l'occasion de faire mes premiers pas d'enseignant. Je remercie toutes les nombreuses personnes avec qui j'ai collaboré dans cette activité, en saluant tout particulièrement Erick Campan, Olivier Roux et Laurent Pelozuelo.

De nombreuses personnes ont en outre contribué à ce travail par le biais de leur amitié et de leur soutien moral.

Je remercie Julien « MC » Foucaud, avec qui j'ai partagé pas mal de franches rigolades et de discussions scientifiques révolutionnaires sur pas moins de trois continents.

Je remercie très chaleureusement tous mes petits camarades du labo (ou affiliés) qui forment une concentration assez épatante de chouettes personnes. Clin d'œil spécial à mes « vieux » collègues insulaires de DEA qui ont mené leur thèse en même temps que moi, Joséphine et Fabian. Merci à Abel, Amélie, Bello, Borja, Charles, Claire, Cristina, Darin, Elodie, Erwan-et-Mona, Franck, Gabor, Jean, Joël, Juliette, Maily, Manue, Mario, Maxime, Natalia, Nadia, Pascal, Pierre-Jean, Sarah, Suzana, Vincent, Wafa. Vous avez tous apporté votre petite touche de couleur personnelle à mes années de thèse, et je dois dire qu'à l'heure de prendre un peu de recul, je trouve le tableau vraiment réussi.

Je tiens à remercier spécialement Mailyncita et Lily pour le soutien crucial et quasi quotidien qu'elles m'ont apporté dans les dernières semaines de rédaction, à grandes louchées de « fuerza ! » et de « courage ! ». Au-delà de ça, et puisque je

n'ai pas 50 pages devant moi, je leur exprime simplement toute ma reconnaissance et toute mon amitié, en leur signalant au passage que c'est un vrai bonheur de les connaître.

Je n'oublie pas non plus mes amis originels, que je ne vois pas souvent mais qui ont toujours autant d'importance et de pouvoir réconfortant à mes yeux. Merci Céline, Yann et Romain. Une pensée aussi pour la cohorte des (ex-)Grenoblois(es) qui ont pu suivre cette aventure doctorale par petits épisodes très intermittents ; je pense notamment à Agathe, à toute la bande des Berliozards que je n'oublie pas malgré la distance et le temps qui passe, ainsi qu'à Julie.

Bien sûr, merci Kath. Tout ne tiendra pas en quelques mots, mais je te remercie simplement pour tout ce que tu m'as apporté. Tu as réussi le tour de force de me soutenir énergiquement et efficacement depuis les antipodes. C'est dire toute l'importance que tu peux avoir quand 18000km ne nous séparent pas. Je garde un souvenir impérissable des virées hautes en couleur dans lesquelles tu m'as embarqué pour me sortir un peu de la thèse. J'espère pouvoir te rendre bientôt la pareille !

Enfin, il se trouve que j'ai eu la chance de naître dans une famille composée de personnes formidables, qui m'ont toujours invariablement soutenu. Je les remercie toutes et tiens à leur témoigner tout mon amour. Merci à mon Papa, qui est en fait le premier à avoir inconsciemment initié cette thèse, ce jour lointain où il m'a mis un livre d'E.O. Wilson entre les mains. Mais bien mieux que ça et que n'importe quelle thèse, il m'a transmis une vision de la nature profondément enrichissante. Merci à mes grands-parents, à ma Maman, et à ma Soeurette.

Je m'excuse auprès de ceux que j'aurais pu oublier... et salue bien bas ceux qui sont restés courageusement attentifs jusqu'à cette ligne.

SOMMAIRE

Introduction générale.....	9
1. Le mutualisme	11
1.1. Interactions entre espèces : tout n'est pas conflit.....	11
1.2. Le défi posé par l'évolution du mutualisme.....	13
1.3. Vers un cadre conceptuel général.....	16
2. Les mutualismes plante-fourmis	18
2.1. Diversité	18
2.2. Les mutualismes de protection plante-fourmis	20
2.2.1. Associations facultatives et opportunistes.....	20
2.2.2. Associations obligatoires et spécialisées	22
3. Modèle d'étude	24
3.1. La plante : <i>Hirtella physophora</i> Mart. & Zucc.	24
3.1.1. Systématique et distribution géographique	24
3.1.2. Fourmis associées	26
3.1.3. Biologie et écologie	26
3.2. La fourmi : <i>Allomerus decemarticulatus</i> Mayr	28
3.2.1. Systématique et distribution géographique	28
3.2.2. Plantes hôtes	29
3.2.3. Biologie et écologie	29
3.3. Site d'étude.....	32
3.3.1. Contexte géographique et écologique	32
3.3.2. L'association <i>H. physophora</i> / <i>A. decemarticulatus</i> en Guyane française	33
3.3.3. Objectifs de l'étude et organisation de la thèse	34
<hr/>	
1 ^{ère} Partie : Stabilité des interactions entre partenaires	37
1. Introduction	39
2. Effets positifs de l'association sur <i>Allomerus</i>	41
2.1. Abris et nectar	41
2.1.1. Les domaties	41
2.1.2. Le nectar.....	42
2.2. Isolement des colonies et matériau de construction	42
2.2.1. Défense des colonies	42
2.2.2. Prédation	46
2.3. Discussion	47
3. Effets positifs de l'association sur <i>Hirtella</i>	51
3.1. <i>Allomerus decemarticulatus</i> protège-t-elle son hôte des défoliateurs ?	52

3.2. La défense assurée par <i>A. decemarticulatus</i> est-elle optimale ?	54
3.2.1. <i>Distribution spatiale des patrouilles</i>	55
3.2.2. <i>Réponse induite par une blessure foliaire</i>	57
3.3. Discussion	59
3.3.1. <i>Efficacité de la protection</i>	59
3.3.2. <i>Optimalité de la protection</i>	60
3.3.3. <i>La plante bénéficie-t-elle d'autres avantages ?</i>	64
4. Effets négatifs de l'association sur <i>Allomerus</i>	65
4.1. Les patrouilles sont-elles coûteuses pour les colonies ?	66
4.1.1. <i>Les patrouilles sont-elles récompensées ?</i>	66
4.1.2. <i>Les patrouilles mobilisent-elles un grand nombre d'individus ?</i>	69
4.2. Le développement des plantes restreint-il celui des colonies ?	70
4.3. Discussion	73
5. Effets négatifs de l'association sur <i>Hirtella</i>	76
5.1. Production du nectar et des domaties	76
5.2. Impact des fourmis sur la reproduction	77
5.3. Discussion	81
6. Discussion générale et conclusion	84
6.1. Coûts et bénéfices	84
6.2. Facteurs de facilitation et de limitation	88
6.3. Conclusion	89
<hr/>	
2^{ème} Partie : Transmission horizontale et spécificité d'association	91
1. Introduction	93
2. Rôle de la compétition interspécifique	98
3. Rôle des filtres sélectifs	106
3.1. Trichomes des domaties	107
3.2. Localisation et taille de l'entrée des domaties	109
4. Rôle de la reconnaissance des plantes-hôtes	109
4.1. Les reines identifient-elles leur plante-hôte habituelle ?	109
4.2. Quelle est la nature des indices de reconnaissance ?	111
4.2.1. <i>Olfactométrie</i>	111
4.2.2. <i>Collecte des odeurs</i>	114
4. Discussion générale et conclusion	120
<hr/>	
Conclusions générales et perspectives	123
1. Conclusions générales	125
1.1. Cycles de vie des partenaires	125
1.2. Stabilité de l'association	127

1.2.1. <i>Exploitation interne</i>	127
1.2.2. <i>Exploitation externe</i>	128
1.3. Importance du modèle <i>Hirtella / Allomerus</i> dans l'étude du mutualisme.....	128
2. Perspectives	130
2.1. Stabilité de l'association : éléments complémentaires	130
2.2. Variations temporelles de la dynamique coévolutive	132
2.3. Variations spatiales de la dynamique coévolutive	134
<hr/>	
Références bibliographiques.....	136
<hr/>	
ANNEXE 1 : METHODES	150
1.1. Expériences d'exclusion	150
1.1.1. <i>Objectifs et choix de la méthode</i>	150
1.1.2. <i>Protocole détaillé</i>	151
1.1.3. <i>Sites d'étude et plantes utilisées</i>	151
1.2. Mesure du taux de défoliation lors des expériences d'exclusion	156
1.2.1. <i>Feuilles présentes au début des expériences</i>	156
1.2.2. <i>Feuilles apparues au cours de l'expérience de long-terme</i>	156
1.3. Recrutement induit par les blessures foliaires	157
1.4. Tests d'agressivité entre ouvrières d'<i>Allomerus</i>	158
1.5. Développement des colonies en fonction de celui des plantes	159
1.5.1. <i>Mesures de la taille des plantes et des effectifs des colonies</i>	159
1.5.2. <i>Expérience de nourrissage des colonies</i>	159
1.6. Etude des filtres sélectifs potentiels	159
1.6.1. <i>Les trichomes des domaties</i>	160
1.6.2. <i>La position et la taille de l'entrée des domaties</i>	160
1.7. Reconnaissance de la plante-hôte	161
ANNEXE 2 : ARTICLES	162

Introduction générale

Le mutualisme
et les associations plantes-fourmis

1. Le mutualisme

1.1. Interactions entre espèces : tout n'est pas conflit

Quel que soit l'écosystème auquel elles appartiennent, les espèces interagissent continuellement les unes avec les autres. Ainsi, très tôt, une préoccupation majeure des biologistes a été de décrire la nature de ces interactions pour comprendre la façon dont elles pouvaient influencer les traits d'histoire de vie des espèces et leur évolution. Cette démarche a donné naissance à une classification regroupant les interactions selon l'effet net que les espèces produisent les unes sur les autres (positif, négatif ou neutre). Pendant longtemps, cette classification a été représentée sous la forme d'une grille distinguant toutes les combinaisons d'effets possibles (Fig. 1A). Cependant, à partir des années 1980, suite à la prise de conscience du caractère dynamique des effets exercés par les espèces les unes sur les autres, cette grille a été remise en question. En effet, ce mode de représentation sous-entendait un caractère statique des différentes interactions et entraînait des regroupements simplificateurs (comme celui du parasitisme et de la prédation). Il a alors semblé plus judicieux de placer les différents types d'interactions le long d'un gradient d'effets nets (Fig. 1B). Dès lors, les frontières entre les différents types d'interactions ne sont plus perçues comme infranchissables, et ceci à une échelle de temps aussi bien écologique qu'évolutive. Ainsi, il paraît indispensable de prendre en compte toutes les formes d'interactions entre espèces pour pouvoir comprendre puis théoriser le fonctionnement des systèmes écologiques. Or, toutes n'ont justement pas reçu la même attention. Les interactions négatives comme la prédation et la compétition ont contribué de façon très majoritaire à l'élaboration des théories écologiques modernes. La nécessité d'y intégrer les interactions interspécifiques positives n'a été soulignée que récemment (Stachowicz 2001; Bruno et al. 2003).

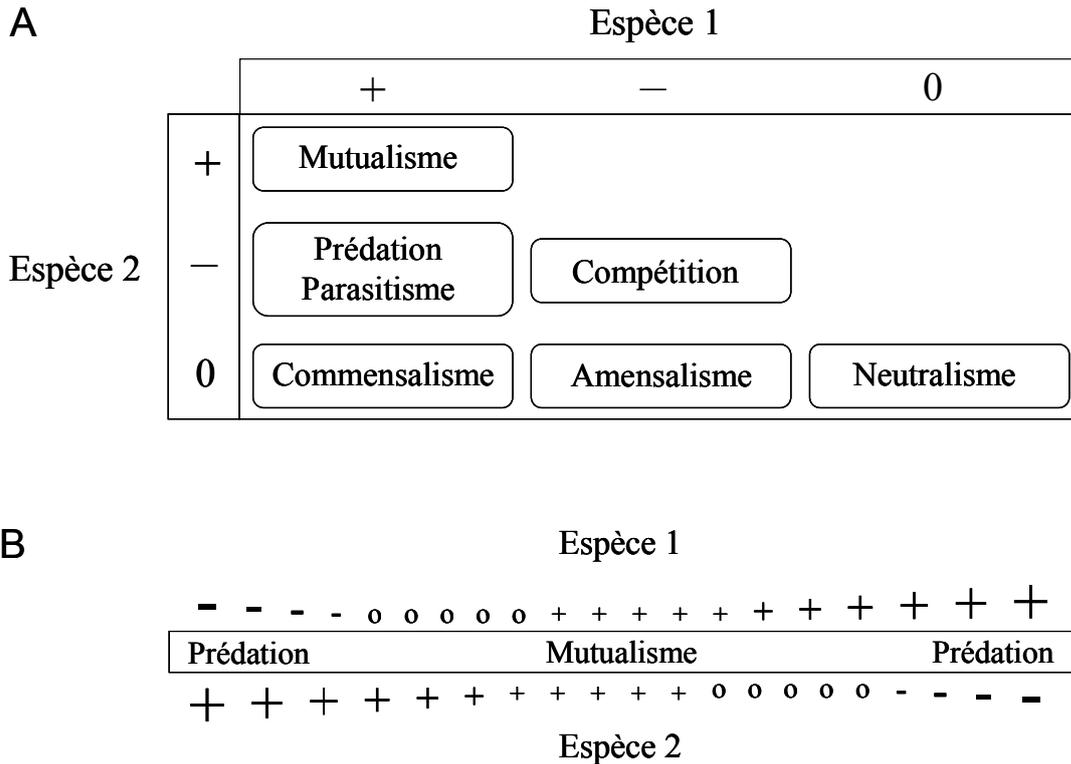


Figure 1. Deux exemples de représentations des différents types d'interactions interspécifiques existant. **A.** Représentation classique sous forme de grille. **B.** Représentation sous forme de continuum. Dans les deux cas, les +, - et 0 représentent les effets induits par l'interaction sur chacune des espèces en présence. D'après Bronstein (1994a).

Ce retard dans le traitement de la question des interactions positives par rapport aux interactions négatives a été discuté par de nombreux auteurs s'intéressant au mutualisme (+/+). Par exemple, Boucher et al. (1982) émettent l'hypothèse que des raisons politiques en sont pour partie responsables. Des analogies récurrentes entre mutualisme et coopération dans les sociétés humaines auraient ainsi freiné l'étude du mutualisme pendant toute la première moitié du vingtième siècle, tandis qu'au même moment celle de la prédation et de la compétition était en plein essor. Bronstein (1994b) insiste, quant à elle, sur le fait que ce n'est pas tant un désintérêt des scientifiques vis-à-vis du mutualisme que la façon de l'aborder qui explique sa sous-représentation dans les théories écologiques modernes. Ainsi, les études auraient souvent été concentrées sur le point de vue d'une seule des espèces impliquées, sans analyser les effets réciproques de l'interaction sur tous les partenaires, comme cela était fait plus couramment dans l'étude des interactions négatives. De plus, le mutualisme n'était pas souvent étudié en tant que forme d'interaction. En effet, l'objectif et les résultats de ces études menées sur différents systèmes individuels étaient rarement mis en relation avec des questions

d'ordre général sur le sujet. Aujourd'hui, bien que de très nombreuses recherches expérimentales et théoriques aient été conduites depuis une quarantaine d'années pour combler ce retard, plusieurs aspects du mutualisme restent imparfaitement compris.

1.2. Le défi posé par l'évolution du mutualisme

Selon la définition communément admise à l'heure actuelle, **le mutualisme désigne les interactions interspécifiques à bénéfices réciproques**. Etant donné que les organismes impliqués dans des mutualismes sont rencontrés dans tous les écosystèmes et qu'ils présentent une très grande diversité taxonomique, ce type d'interaction apparaît comme universel (aussi bien au niveau géographique qu'évolutif) (Boucher 1985). Un grand nombre d'études empiriques, concernant des modèles variés, ont pu mettre en évidence la diversité des mutualismes et le rôle majeur que ceux-ci jouent dans le fonctionnement des systèmes écologiques (Bronstein 1994b). Le tableau 1 illustre en quelques exemples la diversité des organismes et des échanges impliqués. De cette variété de situations ont été dégagés quelques critères pouvant aider à préciser la nature des mutualismes. Ces derniers peuvent ainsi être :

- **symbiotiques ou non-symbiotiques**, selon que les partenaires soient associés pendant une grande partie de leur cycle de vie ou pas (Douglas 1994).
- **facultatifs ou obligatoires**, selon que les partenaires peuvent survivre l'un sans l'autre ou pas (ce critère sera à déterminer pour les différents partenaires puisque ceux-ci peuvent différer dans leur dépendance à l'autre au sein d'une même association, Bronstein 1994b).
- **à transmission verticale ou horizontale**, selon que la reproduction d'un partenaire dépende complètement de celle de son associé (la descendance d'un partenaire est directement transmise à celle de son associé), ou que les deux soient indépendantes (la rencontre des partenaires doit se faire à chaque génération).

Cependant, tout en mettant en avant l'importance écologique des mutualismes, ces études ont aussi fait naître de nombreuses questions quant à leur apparition et leur évolution.

Tableau 1. Quelques exemples de mutualismes. Dans la plupart des types de mutualismes, la gamme des interactions connues s'étend d'association facultatives à obligatoires, généralistes à spécifiques, symbiotique à non symbiotiques. Concernant le mode de transmission, il est le plus souvent horizontal. Dans les exemples présentés ici, seul le mutualisme entre les insectes Aphidae et les bactéries endosymbiotiques du genre *Buchnera* est à transmission verticale.

Type de mutualisme	Espèce 1	Nature des bénéfices	Espèce 2
Pollinisation	Plantes à fleur	Ressources alimentaires, et parfois site de reproduction	Insectes Colibris Chauves-souris
		Transport du pollen	
Dispersion des graines	Plantes à fleurs	Souvent ressources alimentaire	Oiseaux Mammifères Fourmis
		Transport des graines	
Nutrition	Plantes (Légumineuses)	Carbone	Bactéries (<i>Rhizobium</i>)
		Azote	
	Plantes	Carbone	Champignons mycorhiziens
		Assimilation de nutriments	
Fourmis Termites	Milieu de croissance	Champignons	
	Nourriture		
	Insectes (Aphidae)	Milieu de croissance	Bactérie (<i>Buchnera</i>)
		Acides aminés	
Protection	Plantes	Proies (Phytophages)	Insectes parasitoïdes
		Protection contre les phytophages	
	Anémone de mer	Abri	Poissons clowns
		Protection contre les prédateurs	
	Homoptères Larves de Lépidoptères	Excrétions nutritives	Fourmis
		Protection contre les prédateurs	
Nettoyage	Poissons Crevettes	Nettoyage	Poissons
		Proies (Ectoparasites)	

Ainsi, il apparaît que dans la plupart des mutualismes, un des partenaires conduit certaines actions qui bénéficient à l'autre (« services »), et reçoit lui-même un bénéfice suite à cette action (« récompense ») (Cushman et Beattie 1991). Ces services et récompenses représentent un coût énergétique pour leurs auteurs : **c'est donc le ratio entre ces coûts et les bénéfices obtenus qui détermine le caractère mutualiste d'une association**. L'importance des coûts dans le façonnement des mutualismes a d'ailleurs été mise en exergue par certains auteurs décrivant ces derniers comme des « exploitations réciproques offrant un bénéfice net à chaque partenaire » (Herre et al. 1999).

Or, ces interactions doivent être considérées comme des situations d'équilibres dynamiques. En effet, il est reconnu qu'au sein de ces systèmes, les coûts et bénéfices varient dans le temps et dans l'espace en fonction des conditions écologiques (on parle de « conditionnalité » pour désigner ce caractère dynamique du mutualisme, Bronstein 1994a). Pour chaque partenaire, l'effet net de l'association sera maximum s'il lui est possible de maximiser les bénéfices reçus de l'autre tout en minimisant ses propres coûts. Les coûts d'un partenaire étant souvent directement traduits en bénéfices pour l'autre, cette situation est à même de mener à l'émergence de **conflits d'intérêts** entre associés. La sélection naturelle devrait en effet favoriser les comportements « tricheurs » visant à profiter des services de l'autre sans lui fournir de récompenses (ou *vice-versa*). Autrement dit, à l'échelle évolutive, les partenaires d'un mutualisme devraient en théorie inévitablement finir par troquer le statut de mutualiste pour celui d'**exploiteur**, et conduire à l'extinction de l'association. De plus, outre ces exploiters « internes » issus de l'évolution de partenaires initialement mutualistes, d'autres exploiters pourraient aussi venir de l'extérieur du système. Ces organismes s'insinueraient dans une association existante en prenant la place d'un des partenaires habituels, et en profitant d'un service ou d'une récompense par le biais d'un comportement ne profitant nullement aux espèces impliquées dans le mutualisme.

Les études empiriques ont confirmé l'existence de ces deux types d'exploiteurs, appelés aussi parfois « parasites du mutualisme ». Elles montrent même qu'ils pourraient être une composante courante des mutualismes (Bronstein 2001b; Yu 2001; Bronstein et al. 2006). Mais à l'évidence, ceci ne conduit pas tous les mutualismes à l'extinction, étant donné leur omniprésence dans les écosystèmes. Ce paradoxe peut paraître d'autant plus fort que la plupart des mutualismes présentent un mode de transmission horizontal, considéré comme étant un facteur facilitant la tricherie sous toutes ses formes. En effet, le fait que les partenaires ne trouvent pas d'intérêts immédiats dans la reproduction de l'autre devrait renforcer l'effet de la sélection naturelle sur les comportements « égoïstes », les intérêts des

deux partenaires n'étant pas totalement alignés. De plus, quand les partenaires doivent se rencontrer à chaque génération, certains peuvent échouer à trouver un associé. Le risque que des exploitateurs s'immiscent dans le système s'en trouve alors accru.

Pour résumer, tout semble indiquer que les espèces impliquées dans les mutualismes se trouvent dans des situations évolutivement instables : ratio coûts/bénéfices fluctuant et mode de transmission souvent horizontal. Mais cela est clairement contredit par l'abondance et la diversité des mutualismes observés dans la nature.

1.3. Vers un cadre conceptuel général

Le paradoxe évoqué ci-dessus a fait naître l'idée qu'il existait nécessairement des facteurs stabilisant les mutualismes. Depuis une trentaine d'années, de très nombreux travaux théoriques ont été conduits dans le but d'éclaircir la nature de ces facteurs. Par le biais d'une approche mathématique utilisée dans des cadres conceptuels tels que la théorie des jeux ou plus récemment les marchés biologiques, ces études ont exploré divers mécanismes pouvant influencer la stabilité des associations sur le long terme, comme le choix du meilleur partenaire, la possibilité de sanctions à l'égard des tricheurs ou le mode de transmission (Bull et Rice 1991; Noë et Hammerstein 1995; Doebeli et Knowlton 1998; Genkai-Kato et Yamamura 1999; Hoeksema et Bruna 2000; West et al. 2002; Doebeli et Hauert 2005; Ferdy et Godelle 2005). Tous ces travaux tendent *in fine* à développer un modèle général capable d'expliquer l'évolution des mutualismes. Mais comme en témoignent les publications les plus récentes, ce but n'est encore que partiellement atteint puisque les modèles proposés font encore l'objet de nombreuses discussions (Sachs et al. 2004; Foster et Wenseleers 2006; Lehmann et Keller 2006; Connor 2007).

Différents facteurs compliquent l'élaboration d'un modèle général. Premièrement, l'immense diversité des mutualismes implique une diversité de mécanismes qui constitue en soi un obstacle certain à la généralisation (Keeler 1985). Deuxièmement, la littérature consacrée à ce thème est si volumineuse et couvre un champ de travail si large que de nombreuses confusions sémantiques ont pu entraver son développement (West et al. 2007). Enfin et surtout, certains auteurs soulignent le fait qu'en définitive, bien qu'une immense variété de mutualismes ait été décrite sur le terrain, les connaissances empiriques ne sont peut-être pas encore suffisantes pour saisir toute la gamme de mécanismes intervenant dans ces systèmes. Par exemple, au sujet du ratio coûts/bénéfices et des risques de conflits d'intérêts,

Herre et al. (1999) insistent sur le fait que l'on ne peut pas commencer à établir l'existence de principes généraux dans les mutualismes si l'on ne comprend qu'imparfaitement les études de cas individuels. Ils recommandent ainsi de mener des travaux supplémentaires sur des systèmes individuels où coûts et bénéfices de chaque partenaire seraient identifiés et quantifiés, et les facteurs de variation désignés. Selon Bronstein (2001a) et Hoeksema et Bruna (2000), des approches empiriques similaires sont clairement nécessaires. Par ailleurs, Wilkinson et Sherratt (2001) remettent en cause l'idée très répandue selon laquelle les associations à transmission horizontale sont intrinsèquement instables, et invitent à réexaminer cette question en proposant plusieurs mécanismes à tester. Ainsi, des travaux empiriques supplémentaires contribueraient vraisemblablement à éclaircir certains aspects de l'évolution du mutualisme, s'ils s'attachent à décrire le fonctionnement global de leur modèle d'étude. Ceci sous-entend la prise en considération des coûts et bénéfices de tous les partenaires et des implications écologiques et évolutives des traits observés.

Notre travail de thèse s'inscrit dans ces dernières recommandations. Il vise à expliquer la stabilité d'un mutualisme obligatoire à transmission horizontale entre une plante myrmécophyte (*Hirtella physophora*) et ses fourmis associées (*Allomerus decemarticulatus*). Par une approche expérimentale, nous avons étudié deux aspects de l'association que les connaissances exposées ci-dessus pointent comme étant des sources potentielles de déstabilisation : 1) le ratio coûts/bénéfices des deux partenaires, qui peut conduire à l'apparition d'exploiteurs « internes » précédemment mutualistes, et 2) la transmission de l'association qui, étant horizontale, pourrait conduire à l'intrusion d'exploiteurs « externes » s'immisçant dans l'association existante. Le modèle choisi est particulièrement propice à ce type d'étude pour deux raisons principales. Premièrement, les associations plantes-fourmis en général sont connues comme offrant des possibilités expérimentales intéressantes à ce sujet, notamment vis-à-vis de la mesure des coûts et bénéfices (Bronstein 1998). Deuxièmement, l'association *H. physophora/A. decemarticulatus* en particulier offre une situation intéressante du fait du niveau de spécificité inhabituellement élevé qui semble la caractériser : cela suggère que des mécanismes empêchent efficacement l'intrusion d'exploiteurs et convient donc tout à fait à nos objectifs. Dans les pages qui suivent, nous allons dresser un aperçu général des mutualismes plantes-fourmis, avant de décrire précisément notre modèle et l'approche que nous entendons mener pour atteindre notre but.

2. Les mutualismes plante-fourmis

2.1. Diversité

Les fourmis sont présentes dans la quasi-totalité des écosystèmes terrestres. Elles en sont une composante dominante, au vu de leur abondance (entre 1 et 10 millions de milliards d'individus sur Terre) et de leur diversité (environ 12000 espèces décrites à ce jour). Cette omniprésence s'accompagne d'un impact écologique majeur, illustré par exemple par leur rôle dans l'aération et le brassage des sols, l'effet qu'elles exercent sur les populations d'autres insectes *via* la prédation, ou encore les nombreuses interactions qu'elles entretiennent avec les plantes (Passera et Aron 2005).

Les interactions entre plantes et fourmis sont extrêmement variées, et reflètent vraisemblablement des histoires évolutives étroitement liées. Il semble en effet que la diversification des angiospermes ait pu directement influencer celle des fourmis entre -100 et -60 Ma, notamment à travers l'apparition de nouvelles ressources alimentaires pour ces dernières (proies phytophages, trophobiontes ou substances végétales) (Wilson et Hölldobler 2005; Moreau et al. 2006). Toujours est-il qu'aujourd'hui, les interactions entre ces deux grands groupes peuvent être antagonistes aussi bien que mutualistes. Comme nous l'avons vu précédemment pour les interactions interspécifiques en général, ces situations ne sont toutefois que deux extrémités d'un même continuum. Globalement, entre plantes et fourmis, les interactions mutualistes sont nettement plus abondantes et diversifiées que les interactions antagonistes.

Il n'existe ainsi que deux exemples de fourmis exerçant une pression de prédation directe sur des végétaux (Huxley 1991). C'est le cas, tout d'abord, des fourmis champignonnistes *Atta* sp. et *Acromyrmex* sp, communes dans la région néotropicale. Leurs ouvrières coupent en effet les feuilles des plantes, les ramènent dans leur nid et les utilisent comme substrat de croissance pour les champignons dont se nourrissent exclusivement leurs colonies. Le second exemple est fourni par les fourmis dites « moissonneuses », particulièrement présentes dans les régions arides de différents continents (genres *Pogonomyrmex* ou *Messor* par exemple). Ces fourmis récoltent les graines des plantes et les stockent dans leur nid en vue de les consommer pendant l'hiver ou la saison sèche¹. Ces deux types de relations antagonistes ne sont finalement le fait que d'une petite proportion d'espèces de fourmis, mais leur impact

¹ Des travaux récents montrent que ces fourmis peuvent cependant agir comme agents de dispersion accidentels.

écologique est néanmoins très important. Les fourmis coupeuses de feuilles sont habituellement considérées comme ayant un impact sur la végétation plus important que n'importe quel herbivore des Amériques, et l'action des fourmis moissonneuses peut profondément influencer la composition des communautés de plantes qui les entourent (MacMahon et al. 2000; Beattie et Hughes 2002).

Les interactions mutualistes entre plantes et fourmis sont de natures plus variées et impliquent une plus grande diversité d'espèces. On peut les classer en quatre grands types de mutualismes, nommés en fonction du service rendu par les fourmis.

Le moins répandu est incontestablement le mutualisme de **pollinisation**. Rico-Gray et Oliveira (2007) n'en recensent que 16 cas avérés dans le monde. Pourtant, les fourmis fréquentent couramment les fleurs afin d'y récolter du nectar (Haber et al. 1981). Cette apparente contradiction a trouvé une possible explication avec le travail de Beattie et al. (1985) qui a montré que les substances antibiotiques produites par la glande métapleurale caractéristique des fourmis pouvaient tuer le pollen.

Le mutualisme de **dispersion** (ou myrmécochorie) est nettement plus répandu, puisqu'il concerne au moins 3000 espèces de plantes (Beattie et Hughes 2002). Il repose sur une adaptation spécialisée de certaines plantes : l'élaiosome porté par leurs graines. Il s'agit d'une structure attractive pour les fourmis, qui stimule le transport des graines jusqu'au nid par les ouvrières qui la trouvent. L'élaiosome est par ailleurs riche en nutriments : il sera consommé par les fourmis, après quoi la graine est abandonnée dans une partie inutilisée du nid ou à l'extérieur de celui-ci (Rico-Gray et Oliveira 2007). L'avantage premier pour la plante est donc la dispersion de ses graines par le biais des ouvrières circulant jusqu'à leur nid, mais d'autres effets positifs semblent également exister (Giladi 2006).

Un autre type d'interaction est le mutualisme de **nutrition** (ou myrmécotrophie). Il concerne un certain nombre de plantes tropicales formant un groupe assez hétérogène, mais vivant toutes en étroite association avec des nids de fourmis. Elles peuvent être des myrmécophytes (des plantes possédant des structures creuses spécialisées dans lesquelles logent les fourmis, voir ci-dessous) (Janzen 1974; Cabrera et Jaffé 1994; Solano et Dejean 2004). D'autres sont des plantes dont les racines consolident les nids de carton de certaines fourmis arboricoles (formant ce qu'on appelle des « jardins de fourmis ») (Davidson 1988; Orivel et al. 1998). Dans tous les cas, elles sont capables d'assimiler des nutriments qu'elles prélèvent dans les déchets stockés par les fourmis tout en fournissant elles-mêmes des

récompenses alimentaires à leurs associées (Rico-Gray et Oliveira 2007). Souvent, la myrmécotrophie est combinée au quatrième grand type de mutualisme plantes-fourmis.

Ce dernier, de loin le plus commun, est le mutualisme de **protection**. Dans ce cas, les plantes attirent les fourmis à leur surface par le biais de récompenses variées, directes ou indirectes². Du fait de leur comportement agressif ou prédateur, les fourmis réduisent le nombre de phytophages s'attaquant aux plantes en question et les protègent donc indirectement. Ce type d'association regroupe des situations très diverses que l'on peut placer le long d'un continuum allant d'interactions facultatives et opportunistes (dans le cas de plantes n'offrant que de la nourriture) jusqu'à des interactions obligatoires et très spécialisées (dans le cas de plantes offrant en plus un abri à ses associées) (Heil et McKey 2003). Notre travail de thèse portant sur un mutualisme de ce type, nous allons en détailler les principales caractéristiques.

2.2. Les mutualismes de protection plante-fourmis

2.2.1. Associations facultatives et opportunistes

Deux types de ressources peuvent expliquer que des fourmis nichant au sol concentrent leurs activités de fourragement dans la végétation : certaines directement produites par les plantes comme le nectar extra-floral, ou d'autres qui en dérivent indirectement comme le miellat des homoptères qu'elles entretiennent.

De très nombreuses plantes produisent des récompenses à destination des visiteurs susceptibles d'avoir un impact négatif sur les phytophages. Cela consiste le plus souvent en du nectar extra-floral, donc distinct de celui destiné aux pollinisateurs. Il est produit par des nectaires, petites structures glandulaires pouvant être situées à peu près partout sur les plantes. Selon l'espèce, on peut les trouver sur les feuilles, les stipules, les tiges, les bractées ou à la surface des fruits (Elias 1983). La présence de nectaires extra-floraux a été rapportée chez des plantes issues d'au moins 93 familles et 332 genres, aussi bien sur des formes herbacées que ligneuses, sur des lianes, des épiphytes et même des fougères (Koptur 1992). Le nectar produit par ces structures est un mélange de nutriments, pouvant contenir parfois des acides aminés ou des lipides, mais en général largement dominé par les sucres. Il constitue donc une source énergétique profitable à un large spectre d'organismes. Chez les insectes, les

² Dans certains cas, comme dans les mosaïques de fourmis arboricoles (cf p.43-44), les plantes n'offrent pas de récompenses, seulement un support pour le nid.

consommateurs de nectar extra-floral ont été identifiés dans plus de 10 ordres. Les hyménoptères, dont principalement les fourmis, sont cependant les plus abondants (Koptur 1992; Beattie et Hughes 2002). Les fourmis utilisant ces ressources appartiennent à des centaines d'espèces différentes, et ne présentent pas de spécialisation particulière liée à cette activité qui relève essentiellement d'un comportement de fourragement opportuniste. Ainsi, une même espèce de plante peut être visitée par un nombre élevé d'espèces de fourmis. Il en résulte que ce type d'interaction est plutôt diffus et facultatif (Benson 1985; Rico-Gray et Oliveira 2007). Le bénéfice qu'en retirent les plantes a été vérifié expérimentalement de nombreuses fois : des plantes dont on empêche l'accès aux fourmis souffrent de dommages liés aux phytophages plus marqués que des plantes visitées. Les ouvrières protègent en effet souvent les nectaires contre les autres insectes, parfois en adoptant un comportement territorial, et les font fuir ou les tuent lors de leur allers et venues sur la plante (Hölldobler et Wilson 1990; Beattie et Hughes 2002). Dans certains cas cependant, des expériences d'exclusion n'ont pas pu mettre en évidence de différence entre les plantes des deux lots. Cela peut être dû au fait que la composition spécifique des populations de phytophages et de fourmis varient d'un milieu à l'autre, ou encore que des animaux autres que les fourmis peuvent aussi jouer un rôle protecteur dans certains cas (comme des guêpes parasites ou des araignées) (Mody et Linsenmair 2004). Tout cela reflète les variations spatiales et temporelles inhérentes aux mutualismes de protection de type opportuniste (Beattie et Hughes 2002; Heil et McKey 2003).

Les insectes trophobiontes, essentiellement des hémiptères tels que les pucerons, constituent un autre type de ressources maintenant un haut niveau de fréquentation des plantes par les fourmis. Le comportement de ces dernières à l'égard des producteurs de miellat est comparable à celui qu'elles adoptent vis-à-vis des nectaires, avec une agressivité susceptible d'écarter bon nombre de phytophages. Cependant, la situation est plus complexe dans ce cas : si les fourmis écartent certains ennemis des plantes, elles en favorisent d'autres puisque les hémiptères en question se nourrissent de la sève de leur hôte. Par conséquent, il n'est pas surprenant que l'effet net de la présence des fourmis sur les plantes soit dans ce cas beaucoup plus variable et illustre particulièrement bien le concept de conditionnalité des mutualismes (Bronstein 1994a; Beattie et Hughes 2002; Rico-Gray et Oliveira 2007; Styrsky et Eubanks 2007). Malgré tout, il semble que celui-ci soit souvent positif, peut-être en partie car les hémiptères producteurs de miellat sont souvent monopolisés par des fourmis territoriales et écologiquement dominantes capables de réduire considérablement la densité des autres insectes phytophages (Heil et McKey 2003; Styrsky et Eubanks 2007).

2.2.2. Associations obligatoires et spécialisées

Des interactions beaucoup plus étroites sont observées dans le cas des plantes possédant des structures spécialisées appelées domaties, constituant des sites de nidification pour leurs fourmis associées. De telles plantes, appelées myrmécophytes, se trouvent dans une centaine de genres chez les Angiospermes (Davidson et McKey 1993). Cette fois, les fourmis vivent sur les plantes qu'elles protègent et ne peuvent le plus souvent pas s'installer ailleurs. Les plantes, elles, dépendent fortement de leurs hôtes pour se défendre contre les phytophages et certaines ne survivent pas très longtemps à leur absence. Il s'agit donc généralement d'interactions obligatoires pour les deux partenaires. Ces interactions sont de surcroît assez spécifiques puisqu'une espèce de plante n'est souvent associée qu'à un nombre très restreint d'espèces de fourmis et réciproquement. La nature de certains traits spécialisés observés chez les différents partenaires suggère qu'ils sont issus d'un processus coévolutif (Bronstein et al. 2006).

Chez les plantes, la présence des domaties en est un des exemples les plus frappants. Ces cavités constituent des sites de nidifications pré-formés pour l'accueil des fourmis. Elles consistent en des structures creuses qui peuvent être des pétioles, des épines ou plus communément des tiges ou des poches foliaires (Heil et McKey 2003). La façon dont certaines de ces structures sont colonisées illustre bien comment des adaptations réciproques ont pu forger ces associations. Par exemple, dans certains cas où les domaties sont des tiges creuses (*Cecropia* spp. par exemple), les fourmis doivent percer elles-mêmes l'entrée de leurs abris. Les reines fondatrices doivent localiser des zones précises non lignifiées (prostomas) puis les percer avant de pouvoir entrer (Benson 1985). Le processus est similaire chez les myrmécophytes africains du genre *Leonardoxa*, pour lesquels on a même mis en évidence une correspondance très marquée entre les dimensions et la forme du prostoma et celles des reines des espèces associées (Brouat et al. 2001).

Par ailleurs, en dehors du logement, la spécialisation des récompenses chez les myrmécophytes s'illustre aussi par le type de nourriture qu'ils fournissent à leurs hôtes. Par exemple, la plupart des myrmécophytes produisent du nectar extra-floral. Or chez des *Acacia*, il a été montré que la composition de ce nectar était spécifiquement adaptée au régime de leurs associées et différait du nectar qu'offrent les plantes non myrmécophytes aux fourmis généralistes (Heil et al. 2005). D'autre part, nombreux sont ceux produisant des récompenses beaucoup plus riches en nutriments. C'est le cas des corps nourriciers, nourriture solide dont

la composition inclut de grandes proportions de protéines, de lipides ou même parfois de glycoène (sucre complexe habituellement rencontré dans les tissus animaux) (Rico-Gray et Oliveira 2007). Comme pour le nectar, cette composition semble être adaptée aux besoins des fourmis associées, et leur production est parfois induite par la présence des fourmis sur la plante, soulignant un peu plus le degré de spécialisation de ces interactions (Rish et Rickson 1981; Heil et al. 1998).

Chez les fourmis, les traits considérés comme des spécialisations liées à leur association avec les myrmécophytes sont naturellement le reflet de ce qui a été décrit ci-dessus. Elles concernent par exemple la forme du corps des reines ou les capacités de digestion du nectar des ouvrières (Bronstein et al. 2006). D'une façon plus générale, on peut relever deux activités principales à travers lesquelles s'illustrent de telles spécialisations.

Premièrement, c'est le cas de la défense de la plante contre les attaques de phytophages. D'une part les patrouilles continues des ouvrières à la surface de leur hôte sont presque toujours majoritairement orientées vers les feuilles les plus jeunes, qui sont souvent les plus vulnérables (Heil et McKey 2003). D'autre part, chez beaucoup d'espèces, les ouvrières reconnaissent les blessures infligées à leur hôte par le biais des composés chimiques qu'elles émettent, et y répondent en recrutant des congénères au niveau de la zone concernée (Agrawal 1998; Agrawal et Rutter 1998; Agrawal et Dubin-Thaler 1999; Christianini et Machado 2004; Romero et Izzo 2004).

Deuxièmement, des adaptations poussées s'expriment visiblement chez les reines au moment de la fondation. Ces associations étant à transmission horizontale, des reines ailées quittent leur plante-hôte à chaque génération pour aller en coloniser de nouvelles. Or cela implique des capacités de reconnaissance d'hôte efficaces. Ce sujet n'a pas été beaucoup étudié, bien qu'il soit d'une importance cruciale pour la compréhension du fonctionnement de ces systèmes. Une telle capacité de reconnaissance n'a jusqu'ici été montrée que trois fois (Inui et al. 2001; Edwards et al. 2006; Jürgens et al. 2006).

La description de cette adéquation *a priori* parfaite entre les myrmécophytes et leurs fourmis associées ne doit pas faire perdre de vue que la tricherie est extrêmement répandue dans ces associations. Des exploiters de différentes sortes y ont souvent été décrits (Bronstein 2001b; Yu 2001; Bronstein et al. 2006). C'est vrai d'une part pour les exploiters « internes » ; il s'agit de fourmis protégeant bien leur plante hôte mais qui ont aussi développé des comportements ayant des effets négatifs sur sa reproduction. En effet, leurs ouvrières

castrent leur hôte en s'attaquant directement aux bourgeons floraux ou aux fleurs (Yu et Pierce 1998; Stanton et al. 1999; Izzo et Vasconcelos 2002; Gaume et al. 2005a). Cela pourrait détourner vers la croissance l'énergie que la plante avait initialement allouée dans la reproduction, et accroître ainsi l'espace de nidification des fourmis ou la production de récompenses en général. D'autre part, des exploiters « externes » sont aussi connus. Ce sont cette fois des fourmis ou autres organismes qui prennent la place des vrais mutualistes en profitant des récompenses offertes par les myrmécophytes (domaties et nourriture) sans les protéger en retour (Gaume et McKey 1999; Raine et al. 2004).

Pour étudier les mécanismes pouvant limiter l'apparition de ces deux types d'exploiteurs, nous avons choisi de travailler sur l'association entre le myrmécophyte *Hirtella physophora* et la fourmi *Allomerus decemarticulatus*.

3. Modèle d'étude

3.1. La plante : *Hirtella physophora* Mart. & Zucc.

3.1.1. Systématique et distribution géographique

Classées dans l'ordre des Rosales et la famille des Chrysobalanaceae, les plantes du genre *Hirtella* sont pour la plupart des petits arbres ou arbustes de forêt et se répartissent en 107 espèces. Parmi elles, 105 vivent en Amérique tropicale ou sub-tropicale, et deux se trouvent en Afrique et à Madagascar. Certaines sont caractérisées par la présence d'une paire de poches creuses formant des domaties à la base de chaque feuille. Ces dernières espèces, toutes néotropicales, ont été regroupées au sein d'une section *Myrmecophila* et sont au nombre de sept : *H. dorvalii*, *H. duckei*, *H. guianiae*, *H. myrmecophila*, *H. physophora*, *H. revillae* et *H. vesiculosa* (Prance et White 1988; Prance et Sothers 2003). Parmi elles, *H. physophora* est sans doute l'espèce présentant l'aire de répartition la plus vaste (Prance 1982). Présente dans tout le bassin amazonien et le plateau des Guyanes, elle a été recensée en Guyane française, au Surinam, au Guyana, au Venezuela, en Colombie, au Pérou et au Brésil (Prance et Sothers 2003) (Fig 2).



Figure 2. Distribution des sites au sein desquels la présence d'*Allomerus decemarticulatus* (points jaunes) et *Hirtella physophora* (points rouges) est documentée. Sources pour *A. decemarticulatus* : Solano et al 2003, Bruna et al 2005, Fernandez 2007 (d'autres références n'ont pas été prises en compte ici car jugées trop imprécises, voir texte). Sources pour *H. physophora* : bases de données du New York Botanical Garden, du Missouri Botanical Garden, de l'Herbier de la Guyane et du Museum national d'histoire naturelle de Paris, via le portail de données GBIF (www.gbif.net) et le site W³TROPICOS du Missouri Botanical Garden (www.mobot.org) (accès février 2008). De plus, Prance (1982) signale des sites supplémentaires, notamment au Sud de l'Amazonie, ce qui permet de tracer les limites de l'aire de distribution approximative d'*H. physophora* (ligne rouge, d'après Grainger et al. 1995). Carte réalisée à partir du service de cartographie Google EarthTM.

Tableau 2. Espèces de fourmis associées à *Hirtella physophora*. Les espèces explicitement désignées comme opportunistes, ainsi que les références imprécises (voir texte), ont été ignorées.

Fourmis associées	Lieu	Références
<i>Allomerus decemarticulatus</i>	Brésil, Guyane française	Présente étude; Solano et al 2003; Bruna et al 2005 ; Fernandez 2007
<i>Allomerus octoarticulatus</i>	Brésil	Bruna et al 2005; Izzo & Vasconcelos 2002; Romero & Izzo 2003
<i>Allomerus septemarticulatus</i>	Brésil	Bruna et al 2005
<i>Azteca</i> spp.	Brésil	Bruna et al 2005
<i>Crematogaster</i> sp. aff. <i>crucis</i>	Guyane française	Présente étude

Tableau 3. Liste des plantes-hôtes d'*Allomerus decemarticulatus*. Les références imprécises (voir texte), ont été ignorées.

Plantes-hôtes	Lieu	Références
<i>Hirtella physophora</i>	Brésil, Guyane française	Présente étude, Solano et al 2003; Bruna et al 2005 ; Fernandez 2007
<i>Hirtella myrmecophila</i>	Brésil	Bruna et al 2005
<i>Hirtella</i> sp.	Brésil	Wheeler 1942 ; Kempf 1975

3.1.2. Fourmis associées

Les habitants des *Hirtella* myrmécophytes sont assez peu connus, mais Prance et White (1988) signalent que la consultation de spécimens dans les herbiers laisse entrevoir une grande spécificité d'association entre ces plantes et leurs fourmis hôtes. Parmi ces dernières, les genres *Solenopsis*, *Allomerus* et *Azteca* sont bien représentés. La très restreinte littérature concernant *H. physophora* permet de dresser une liste d'au moins cinq espèces de fourmis (Tab. 2), hors occupants accidentels et mentions imprécises (Fonseca (1999) parle par exemple de « fourmis du complexe *Allomerus octoarticulata* (sic)»).

3.1.3. Biologie et écologie

Hirtella physophora est recensée préférentiellement dans les forêts non-inondables, comme au moins trois des six autres *Hirtella* myrmécophytes (Prance et Sothers 2003). Il s'agit d'un petit arbre de sous-bois pouvant atteindre jusqu'à 8m de hauteur (Fig. 3A). Ses feuilles présentent un limbe oblong (17-30 x 6-11cm), des stipules sub-persistantes et un pétiole court (< 1cm). De part et d'autre de ce dernier se trouvent les domaties, deux poches foliaires formées par l'enroulement de la base du limbe vers la face abaxiale (Fig. 3B). Ce sont des domaties de type secondaire au sens de Benson (1985), leur développement passant par plusieurs modifications structurales et fonctionnelles importantes qui en font des structures spécialisées se différenciant nettement des autres tissus foliaires (Leroy et al. 2008). Les deux poches adjacentes d'une même feuille ne communiquent pas : chacune présente une ouverture circulaire près de la nervure principale, en face abaxiale. Les feuilles d'*Hirtella physophora* portent des nectaires extra-floraux, comme celles de nombreuses espèces de Chrysobalanaceae (Prance et White 1988; Koptur 1992). Ceux-ci sont répartis sur la face inférieure du limbe selon une ligne sub-marginale, ainsi qu'à l'intérieur des domaties selon une spirale en continuité avec l'alignement des nectaires du limbe (Solano 2000; Leroy et al. 2008) (Fig. 3C). Par ailleurs, à peu près toutes les parties de la plante sont recouvertes de poils raides plus ou moins denses, que ce soit les jeunes tiges, le limbe, le pétiole, les stipules ou encore les faces externe et interne des domaties (*Hirtella* vient du latin « hirtus », qui signifie « hérissé ») (Prance et Sothers 2003). Enfin, les fleurs sont de petite taille, de couleur blanche ou rose, et regroupées en inflorescence fasciculées longues de 4 à 6cm ; tandis que les fruits sont des drupes charnues, lisses, de couleur noir violet à maturité (Fig. 3D-F). La reproduction est un aspect quasiment inexploré de la biologie de ce myrmécophyte. Prance et White (1988) indiquent que papillons et oiseaux pourraient être, respectivement, des pollinisateurs et

disperseurs courants pour beaucoup de plantes du genre *Hirtella*. Mais les données semblent rares et rien n'est encore connu concernant *H. physophora*.

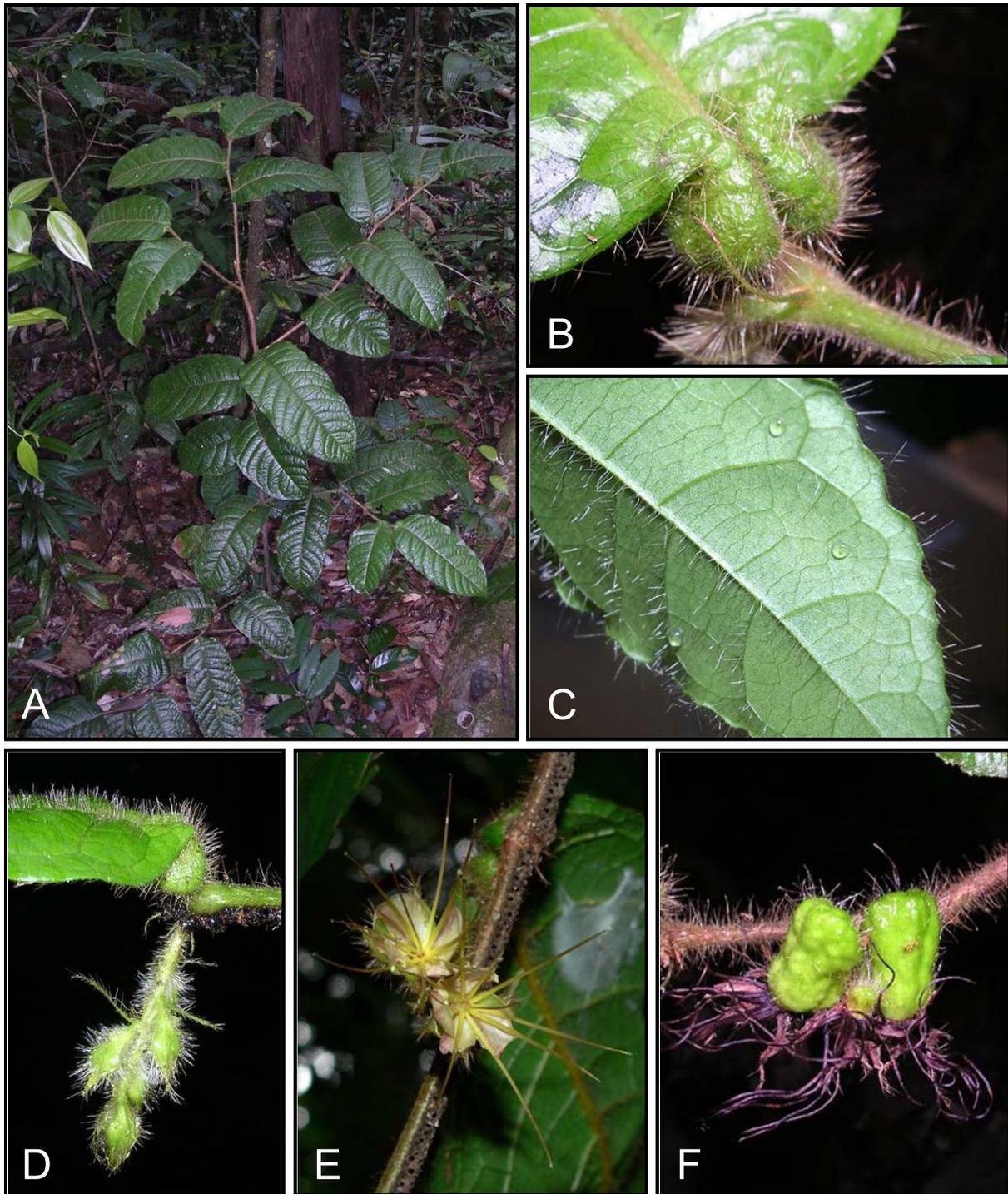


Figure 3. Morphologie d'*H. physophora*. **A.** Plant adulte d'environ 1,80m de haut. **B.** Paire de poches foliaires (domaties) présente à la base de chaque feuille. **C.** Gouttes de nectar s'étant formées sur la face abaxiale d'une feuille d'un plant en pot inhabité. **D.** Bourgeons floraux à l'extrémité d'une branche. **E.** Fleurs matures au milieu d'une branche. **F.** Fruits immatures.

3.2. La fourmi : *Allomerus decemarticulatus* Mayr

3.2.1. Systématique et distribution géographique

Appartenant à la sous-famille des Myrmicinae, le genre *Allomerus* a été décrit pour la première fois par Mayr en 1878. Cent-trente ans plus tard, il est encore difficile de dire combien d'espèces y sont incluses. Oscillant selon les auteurs entre une seule (divisée en plusieurs sous-espèces, Wheeler 1942) et une trentaine (Benson 1985), Fernandez (2007) en dénombre finalement huit dans une récente tentative d'éclaircissement systématique du genre : *A. brevipilosus*, *A. decemarticulatus*, *A. dentatus*, *A. maietae*, *A. octoarticulatus*, *A. septemarticulatus*, *A. vogeli* et *A. undecemarticulatus*. Ce dernier auteur attribue les difficultés rencontrées dans l'étude taxonomique des *Allomerus* à plusieurs facteurs : le manque de spécimens (notamment d'individus sexués), leur petite taille (le corps des ouvrières fait un peu plus de 2mm), l'apparente homogénéité de nombreux traits extérieurs, et la variabilité intraspécifique (et même parfois intra-spécimen) du nombre de segments antennaires qui constitue un trait souvent utilisé dans la systématique des fourmis. Ainsi, Fernandez souligne que son étude n'a pu écarter définitivement les incertitudes concernant *A. octoarticulatus*, qui pourrait en fait désigner plusieurs espèces sœurs. Au-delà de ces doutes sur les frontières interspécifiques, les *Allomerus* présentent toutes des caractéristiques morphologiques uniques au sein de la tribu des Solenopsidini où elles sont habituellement classées, suggérant que le genre est monophylétique (Fernandez 2007).

En dehors du fait que le genre est exclusivement néotropical, la connaissance de la distribution géographique des *Allomerus* souffre comme les connaissances systématiques d'une récolte trop rare. Cela est vrai pour *Allomerus decemarticulatus*, pourtant décrite dès 1878 par Mayr. L'espèce est signalée plusieurs fois au Brésil de façon imprécise par Mayr (1878) (nord du pays), par Wheeler (1942) (« Oyapoc »), et par Kempf (1972) (« Amazonas, Amapá, Pará »). Quelques localités plus précises sont indiquées dans ce même pays mais aussi en Guyane française par Kempf (1975); Solano et al. (2003), Bruna et al. (2005), Fernandez (2007) et Orivel (comm. pers.) (Fig. 2). Nous n'avons pas connaissance d'occurrences dans des pays autres que ces deux-là (confirmé par J. Delabie et F. Fernandez, comm. pers.), mais la rareté des données ne permet pas d'inférer une quelconque aire de répartition de cette espèce. De ce point de vue, le déséquilibre entre l'état actuel des connaissances sur *H. physophora* et *A. decemarticulatus* est flagrant.

3.2.2. Plantes hôtes

Toutes les espèces d'*Allomerus* vivent en association obligatoire avec des myrmécophytes. En l'état actuel des connaissances, la gamme de leurs plantes-hôtes comprend sept genres appartenant à cinq familles (Davidson et McKey 1993; Fernandez 2007). Benson (1985) indique qu'une spécificité d'hôte assez marquée semble ressortir chez plusieurs espèces. Les plantes hôtes d'*A. decemarticulatus* semblent être limitées au genre *Hirtella* (Tab. 3). A noter tout de même que d'autres plantes ont été signalées, mais ces données semblent peu sûres car floues ou vraisemblablement erronées. Par exemple, Wheeler (1942) rapporte la présence au Brésil d'*A. decemarticulatus* sur « *Hirtella* sp. » et « probablement dans *Tococa* ou *Cordia* », deux myrmécophytes morphologiquement très dissemblables. De même, Kempf (1975) parle de *Cleasonia* (sic) *nauensis* comme plante-hôte, mais Fernandez (2007) pense que les specimens en question pourraient en fait appartenir à *A. brevipilosus*, espèce connue pour habiter *Gleanosia nauensis* et présentant des similitudes morphologiques avec *A. decemarticulatus*, notamment le même nombre d'articles antennaires.

3.2.3. Biologie et écologie

De couleur jaune orangée, les ouvrières d'*A. decemarticulatus* mesurent un peu plus de 2mm de long, sont monomorphes, et possèdent un aiguillon fonctionnel (Fig. 4D). Les reines mesurent environ 5mm (Fig. 4E), et les mâles, bien que connus, n'ont encore jamais été décrits. Les colonies de cette espèce sont monogynes, et l'on trouve généralement une seule colonie par plante. La taille d'une colonie mature sur un arbre de taille moyenne ($\approx 1,5$ m) est de l'ordre du millier d'individus. Les ouvrières patrouillent constamment les feuilles de leur hôte, mais de façon un peu plus marquée le jour que la nuit (Dejean et al. 2001). Cette espèce n'entretient pas d'insectes trophobiontes sur sa plante hôte.

Pour beaucoup de fourmis arboricoles, les sources de sucres sont nombreuses (via les exudats d'insectes herbivores ou ceux de la plante elle-même) tandis que les sources d'azote sont limitantes (Dejean et Corbara 2003). Face à cette contrainte, beaucoup d'espèces de fourmis associées à des myrmécophytes ont développé des comportements prédateurs à l'encontre des insectes visitant leur plante-hôte (à l'exception de quelques unes associées à des plantes fournissant directement des récompenses azotées, Davidson et al. 2003). C'est le cas d'*A. decemarticulatus*, dont le comportement prédateur s'illustre de différentes façons.

Tout d'abord, les ouvrières de cette espèce construisent le long des tiges de leur plante-hôte une structure qu'elles utilisent comme un piège pour capturer des proies (Dejean et al. 2005) (Fig. 4A-B). Pour cela, elles commencent par dégager une voie sans trichomes le long de la face inférieure des tiges. Ensuite, les poils intacts bordant le chemin ainsi tracé sont utilisés comme des piliers, les ouvrières disposant à leurs sommets les poils coupés de façon à fabriquer une voûte. Lors de cette étape, les trichomes sont liés par une substance régurgitée par les fourmis, et des ouvertures circulaires sont créées tout le long de la galerie. Par la suite, cette structure est renforcée par le mycelium d'un champignon dont le développement est apparemment guidé par les fourmis. Les ouvrières se cachent enfin dans ces tunnels, positionnant leur tête juste sous les trous qui en parsèment les parois. Mandibules ouvertes, elles attendent là qu'un insecte se pose sur la plante et se déplace le long des tiges. S'il glisse une patte ou une antenne près d'une des ouvertures du piège, celle-ci est immédiatement saisie par l'ouvrière qui s'y trouve. Cette dernière tire l'appendice vers l'intérieur de la galerie, et pour peu que d'autres procèdent de la même manière avec les pattes restantes, l'insecte est très rapidement plaqué contre la galerie et immobilisé (Fig. 4C). D'autres ouvrières sortent alors en nombre de la galerie et piquent la proie qui sera ensuite découpée et transportée jusqu'aux domaties les plus proches. Permettant la capture d'insectes jusqu'à 2000 fois plus lourdes qu'une ouvrière, cette stratégie permet un apport d'azote extrêmement efficace. Pour l'heure, seules deux autres espèces de fourmis sont connues pour chasser de cette façon : *A. octoarticulatus* et *Azteca brevis* (Dejean et al. 2007).

Par ailleurs, bien qu'elles patrouillent souvent de façon solitaire, les ouvrières d'*A. decemarticulatus* sont aussi capables de chasser des insectes s'étant posés à la surface des feuilles. Probablement grâce à des adaptations morphologiques conférant une forte adhérence au substrat, une ouvrière seule est capable d'immobiliser un insecte le temps que d'autres ouvrières en patrouille la rejoignent. Parmi ces dernières, certaines vont rejoindre les domaties et recruter d'autres individus qui vont à leur tour participer à l'immobilisation de la proie et vont lui injecter du venin. Beaucoup d'insectes réussissent vraisemblablement à leur échapper en sautant ou en s'envolant, mais certains y laissent malgré tout un peu d'eux-mêmes du fait de la perte d'une patte par autotomie par exemple (Dejean et al. 2001). Un apport alimentaire par la prédation des intrus parcourant la surface des feuilles existe donc chez *A. decemarticulatus*.

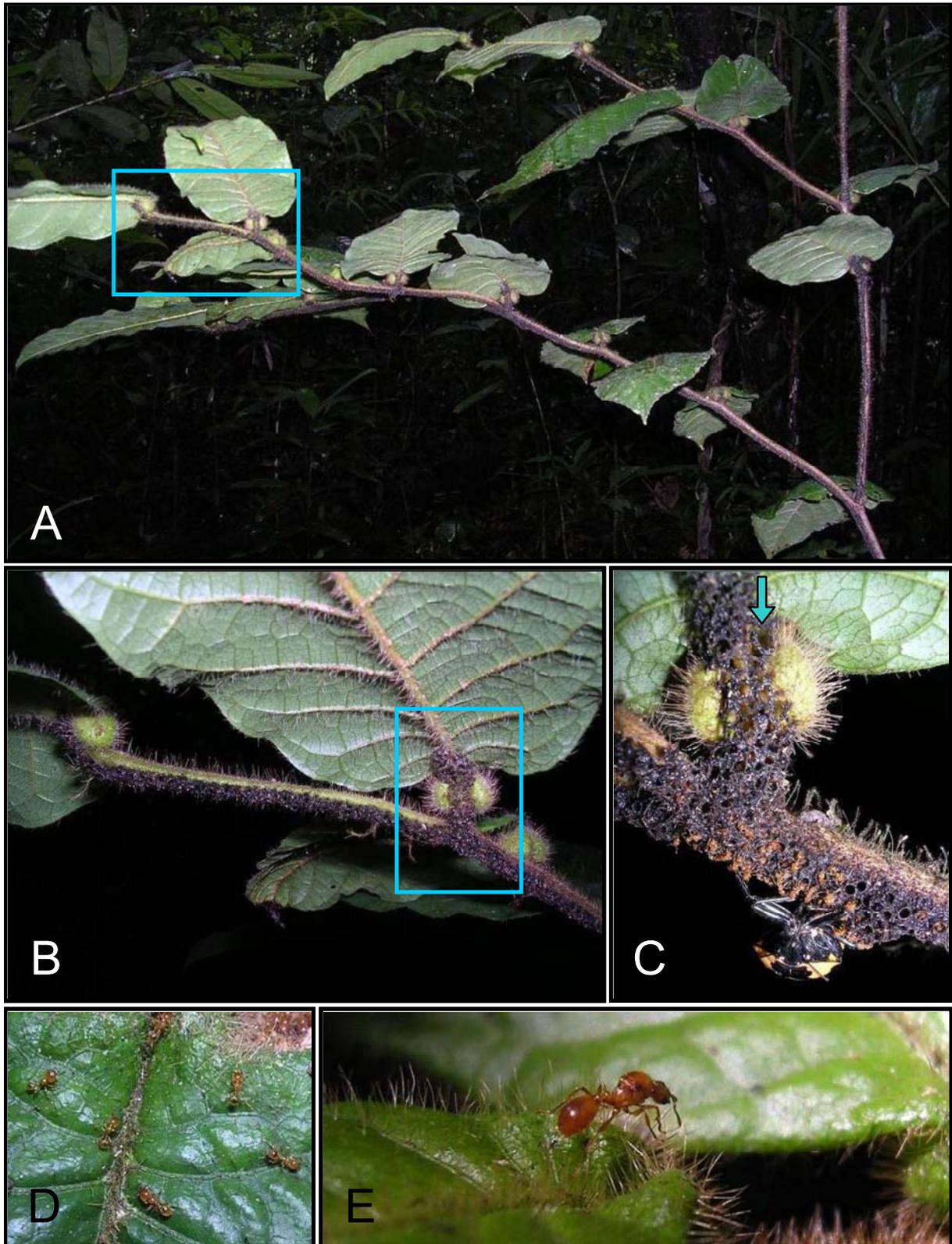


Figure 4. **A.** Vue d'ensemble des galeries construites par *A. decemarticulatus* le long de la face inférieure des tiges d'*H. physophora* (cadre bleu = image suivante). **B.** Vue rapprochée des mêmes galeries (cadre bleu = image suivante). **C.** Détail de la galerie alors qu'une proie vient d'être capturée par les ouvrières. Une fois tuées, les proies sont souvent hissées jusqu'à l'entrée des domaties, indiquée ici par la flèche bleue. **D.** Ouvrières à la surface d'une feuille. **E.** Reine fondatrice désailée d'*A. decemarticulatus* recherchant l'entrée d'une domatie.

3.3. Site d'étude

Dans le cadre de cette thèse, l'association *H. physophora* / *A. decemarticulatus* a été étudiée en Guyane française. Les quatre missions de terrain menées de 2004 à 2007 se sont toutes déroulées dans la région de Petit Saut.

3.3.1. Contexte géographique et écologique

La Guyane est un département français d'outre-mer situé dans le nord-est de l'Amérique du Sud. Il est bordé au nord par l'Océan Atlantique, à l'est et au sud par le Brésil et à l'ouest par le Surinam. Le climat y est équatorial, avec des températures élevées toute l'année (moyenne annuelle = 26,5°C). Les précipitations sont très abondantes et le taux d'humidité relative élevé (oscillant entre 80 et 90%), mais les deux varient selon la période de l'année. Deux saisons sèches et deux saisons des pluies s'alternent de la façon suivante : la petite saison des pluies (mi-novembre à mi-février), le petit été de mars, la grande saison des pluies (avril à mi-août) et la saison sèche (mi-août à mi-novembre).

Comme le reste du plateau des Guyanes dont elle fait partie, la Guyane française renferme une biodiversité d'une extrême richesse. Plusieurs types d'habitats y participent : des mangroves et des savanes sur la frange littorale du territoire, et une forêt pluviale qui recouvre plus de 90% du département. La flore y est composée d'au moins 5406 espèces, dont la quasi-totalité sont des espèces natives (Funk et al. 2007). Il est vraisemblable que les espèces d'insectes se comptent en centaines de milliers d'espèces, pour la plupart totalement inconnues. La myrmécofaune de Guyane elle-même est loin d'être entièrement recensée : environ 400 espèces ont été décrites et il en existe probablement un millier au total (Le Breton 2003; Groc 2007).

La région de Petit Saut où nous avons conduit nos travaux se trouve à quelques dizaines de km à l'intérieur des terres, le long du fleuve Sinnamary (Fig. 5). Nous étions basés au Laboratoire Environnement HYDRECO du barrage de Petit Saut, et travaillions dans des zones de forêt primaire aux alentours. Les sous-bois de ces dernières abritent plusieurs espèces de myrmécophytes assez communes (Tab. 4).

Tableau 4. Principales espèces de myrmécophytes et leurs fourmis associées dans les sous-bois de la région de Petit Saut en Guyane française, selon Solano et al. (2003) et Dejean et al. (2006).

Espèce	Famille	Principales espèces de fourmis associées
<i>Cordia nodosa</i>	Boraginaceae	<i>Allomerus octoarticulatus</i> et <i>Azteca</i> sp.
<i>Hirtella physophora</i>	Chrysobalanaceae	<i>Allomerus decemarticulatus</i>
<i>Maieta guianensis</i>	Melastomataceae	<i>Pheidole minutula</i> et <i>Crematogaster laevis</i>
<i>Tococa guianensis</i>	Melastomataceae	<i>Crematogaster laevis</i> et <i>Azteca</i> sp.



Figure 5. Localisation de la zone de Petit Saut en Guyane française.

3.3.2. L'association *H. physophora* / *A. decemarticulatus* en Guyane française

Hirtella physophora est à ce jour la seule espèce d'*Hirtella* myrmécophyte recensée en Guyane française (Funk et al. 2007). Récoltée en de nombreux endroits de ce territoire, elle

semble y être une espèce commune dans les sous-bois de forêts primaires. La région de Petit Saut a fait l'objet des principales études sur cette plante et ses associés. Solano et al. (2003) ont montré que dans cette zone, les individus d'*H. physophora* se trouvent majoritairement aux sommets des collines et tendent donc à être distribués en « patches ». Toujours dans cette même région, l'inspection des colonies matures occupant les domaties a révélé qu'*A. decemarticulatus* était l'hôte quasi-exclusif de ce myrmécophyte. Sur 280 plantes inspectées, 273 étaient habitées par *A. decemarticulatus*, quatre par *Crematogaster* sp. aff. *crucis*, une par *A. octoarticulatus* et deux étaient vides. Cette haute spécificité d'association est de plus retrouvée quelle que soit la taille de la plante (Solano et al. 2003).

3.3.3. Objectifs de l'étude et organisation de la thèse

L'objectif général de ce travail est de comprendre comment une association aussi spécifique peut se maintenir sur le long terme face à différents facteurs de déstabilisation. Comme on l'a vu précédemment, ces derniers peuvent être internes à l'association ou externes. C'est autour de ces deux types de déstabilisation potentielle que s'articule la thèse, puisque nous étudierons successivement chacun d'eux.

Dans la première partie, nous examinerons en détail les multiples façons dont interagissent *H. physophora* et *A. decemarticulatus* afin d'identifier tous les effets positifs et négatifs qu'ils exercent l'un sur l'autre. Tous seront discutés les uns après les autres, avant d'être finalement présentés dans un bilan général offrant une vision globale des échanges structurant cette association. Nous verrons alors comment les forces de sélection poussant *a priori* les deux partenaires à optimiser leur ratio coûts/bénéfices, et donc à devenir des exploités, peuvent être freinées par la façon dont tous ces effets se conjuguent.

Dans la seconde partie, nous nous pencherons sur la transmission horizontale de l'association, c'est-à-dire le moment où les deux partenaires (reines fondatrices et plantes inhabitées) doivent se rencontrer. Nous testerons expérimentalement trois mécanismes à travers lesquels *A. decemarticulatus* pourrait dominer l'occupation des plants d'*H. physophora* face aux exploités externes : la compétition interspécifique (agressions entre les différents occupants d'une même plante), les filtres sélectifs (traits phénotypiques de la plante empêchant l'installation d'autres espèces), et la reconnaissance de l'hôte (capacité de la fourmi mutualiste à identifier son partenaire).

Au terme de ce travail, nous aurons donc répondu aux questions suivantes : comment les deux partenaires se rencontrent-ils et qu'échangent-ils une fois réunis ? Dans une conclusion

générale, nous ferons le lien entre les réponses à ces deux questions pour résumer le cycle de vie entier des deux partenaires. Nous verrons comment comment notre étude contribue à l'étude du mutualisme en général et nous présenterons les perspectives ouvertes par notre étude.

1^{ère} Partie

Stabilité des interactions entre partenaires

1. Introduction

La plupart des myrmécophytes sont associés avec un petit nombre d'espèces de fourmis mutualistes qui sont en compétition pour l'occupation des plantes. Si ces quelques espèces apportent toutes une protection indirecte à leur hôte, elles ne le font cependant pas toutes de la même manière. Par exemple, le niveau de protection peut différer d'une espèce à l'autre selon l'efficacité avec laquelle les ouvrières détectent, attaquent ou font fuir les défoliateurs (Vasconcelos et Davidson 2000; Lapola et al. 2003; Bruna et al. 2004). De plus, le type même de protection assuré peut varier (protection contre différents groupes de phytophages, contre les plantes grimpantes ou compétitrices,...) (Frederickson 2005). La désignation de « partenaire mutualiste » regroupe donc des investissements plus ou moins marqués de la part des fourmis, illustrés par une variété de comportements et de traits qu'il est nécessaire d'identifier pour connaître l'importance que représente une espèce de fourmi pour sa plante hôte. C'est un point d'autant plus important que le niveau de dépendance entre fourmis et myrmécophytes est intrinsèquement asymétrique : les fourmis ne peuvent généralement pas vivre ailleurs que sur leur plante-hôte, tandis que cette dernière est au moins capable de survivre sans fourmis le temps d'être colonisée. Ainsi, si du point de vue des fourmis ces associations peuvent facilement être qualifiées d'obligatoires, le niveau de dépendance des myrmécophytes vis-à-vis de leurs hôtes demandent une identification et une quantification précise des bénéfices qu'ils reçoivent.

Les services rendus par les fourmis ne sont pas le seul facteur de variation de ces associations : les récompenses qui les motivent (alimentation et espace de nidification) ne sont pas fixes non plus. Il semble que les plantes peuvent contrôler leur production, faisant parfois de la nourriture ou des domaties une ressource limitante susceptible de moduler la taille des colonies qui les habitent (Fonseca 1993; Itino et al. 2001b). Cela leur permet d'optimiser leurs propres bénéfices en limitant au maximum les coûts nécessaires à l'obtention d'une défense biotique.

Tout cela suggère que l'évolution des associations symbiotiques plantes-fourmis est une course au bénéfice optimal, où les coûts du mutualisme, c'est-à-dire l'investissement lié aux

services rendus ou aux récompenses offertes, tendent à être réduits au minimum. Cette situation est génératrice de conflits d'intérêt, qui peuvent s'exprimer d'autant plus profondément que ce type de mutualisme est à transmission horizontale. Au niveau individuel, seule la survie du partenaire compte, pas nécessairement sa reproduction. Dans certains cas, les pressions de sélection exercée par ces conflits ont ainsi fait basculer des mutualismes vers le parasitisme. En effet, certaines espèces de fourmis mutualistes ont développé au cours de leur évolution des comportements optimisant leurs propres bénéfices au point de nuire grandement à leur hôte. Tout en protégeant la plante contre les défoliateurs, ces fourmis castrent leur myrmécophyte en détruisant ses bourgeons floraux ou les fleurs (Yu 2001). Cela détourne vraisemblablement vers la croissance l'énergie que la plante aurait alloué dans la reproduction, et accroît ainsi l'espace de nidification des fourmis ou la production de récompenses en général. Ces fourmis, dont seulement quatre espèces ont à ce jour été décrites, constituent des exploiters « internes » du mutualisme, au sens de Bronstein et al. (2006). Leur tricherie est sans doute l'étape la plus récente d'un long processus coévolutif les ayant précédemment conduit à être des mutualistes spécifiques. Dans certains cas, l'espèce de myrmécophyte se maintient au niveau populationnel du fait de la présence d'autres espèces de fourmis associées qui ne trichent pas (Yu et Pierce 1998; Stanton et al. 1999; Yu et al. 2001; Yu et al. 2004; Gaume et al. 2005a). Dans un des cas connus, il semble que la plante ait développé une réponse évolutive au niveau individuel. Il s'agit d'un système proche de notre modèle d'étude : l'association dans la forêt brésilienne entre *A. octoarticulatus* et *H. myrmecophila*. Ici, la plante perd les domaties de ses vieilles branches. Devenues inhabitées, ces dernières peuvent alors fleurir normalement (Izzo et Vasconcelos 2002).

Dans l'association *A. decemarticulatus*/*H. physophora*, les coûts et bénéfices de chaque partenaire n'avaient quasiment pas encore été étudiés au commencement de ce travail. Ajouté au fait qu'un des rares exemples de castration ait été observé dans un système taxonomiquement très proche, ceci nous a poussé à identifier, et si possible quantifier, tous les effets positifs ou négatifs affectant chaque partenaire du fait de son implication dans l'association. Dans un premier temps, nous utiliserons volontairement les termes très génériques « d'effets positifs et négatifs » pour traduire au mieux notre approche, consistant à identifier tout ce qui peut d'une façon ou d'une autre, chez un des partenaires, affecter la fitness de son associé. Cela nécessite de décortiquer les différentes façons par lesquelles les deux partenaires interagissent, et par quels biais ils peuvent avoir une influence l'un sur

l'autre. Cela inclut bien sûr les coûts et bénéfices classiquement relevés dans ce type d'association (abri et nourriture contre protection). Mais nous ne nous sommes pas restreints à cela et avons envisagé d'autres éléments pouvant participer au bilan total de l'association. Autrement dit, n'y a-t-il pas hors de ces services réciproques d'autres facteurs par lesquels les deux partenaires s'influencent positivement ou négativement ?

Dans les pages qui suivent, nous allons ainsi présenter l'ensemble de ces effets pour chaque partenaire. Le choix a été fait de présenter d'abord les effets positifs de l'association sur chacun des partenaires, et ensuite les effets négatifs. Ils seront discutés au cas par cas, et nous proposerons en fin de chapitre un bilan de ces effets qui permettra d'en distinguer les différentes catégories, et d'estimer le poids que chacun peut avoir dans l'évolution et la stabilité de cette association.

2. Effets positifs de l'association sur *Allomerus*

Certains effets positifs découlant pour *A. decemarticulatus* de son association avec *H. physophora* sont évidents, comme l'abri que lui procurent les poches foliaires de la plante ou la nourriture que constitue le nectar extra-floral. D'autres en revanche le sont beaucoup moins : certaines caractéristiques de la plante pourraient ainsi fournir aux colonies une protection contre les prédateurs ou les compétiteurs. Cet aspect étant souvent négligé dans les associations entre myrmécophytes et fourmis (Prance et White 1988; Davidson et al. 1989), nous en avons fait le thème principal de cette partie.

2.1. Abris et nectar

2.1.1. Les domaties

Les poches foliaires d'*H. physophora* constituent évidemment une ressource primordiale pour *A. decemarticulatus* puisqu'elles sont la structure même de leur nid. Leroy et al (2008) ont montré que les tissus formant la paroi des domaties sont beaucoup plus épais que ceux du limbe. Les poches foliaires constituent un abri solide, qui doit probablement tamponner les variations des conditions extérieures. A noter qu'au cours des expériences d'exclusion des colonies, nous avons observé que les œufs sont typiquement stockés dans la domatie abritant

la reine ou celle l'avoisinant, généralement situées sur une feuille mature d'âge moyen, alors que le reste du couvain est stocké préférentiellement dans les plus jeunes domaties. Cela est peut-être lié au fait que ces dernières, souvent intactes, offrent de meilleures conditions pour le développement des larves. Les conditions de température et d'humidité y sont peut-être plus stables que dans les vieilles domaties, car celles-ci sont souvent endommagées (paroi trouée) ou car les tissus âgés ne sont peut-être pas à même d'assurer un rôle tampon aussi efficace vis-à-vis des conditions extérieures.

2.1.2. Le nectar

Le nectar extra-floral produit par *H. physophora* à l'intérieur des domaties et sur les limbes des feuilles constitue un bénéfice direct pour *A. decemarticulatus*. Par ailleurs, il semble que les ouvrières accèdent également à du nectar floral en perçant l'hypanthium des fleurs (Montembault 2008). Pour l'heure, ces deux types de nectar sont les seules substances alimentaires connues produites par *H. physophora* et utilisable par ses hôtes. Les ouvrières ne fourrageant pas ailleurs que sur leur plante-hôte, on peut penser que cela représente leur seule source de sucres. Cependant, les patterns de production de ces nectars étant encore totalement inconnus, tant sur les plans quantitatifs que qualitatifs, l'importance qu'ils tiennent dans la diète des fourmis reste impossible à mesurer.

2.2. Isolement des colonies et matériau de construction

2.2.1. Défense des colonies

Reines fondatrices et colonies naissantes

L'observation des nombreuses reines ayant re-colonisé les plants traités de nos expériences d'exclusion a révélé que la fondation était claustrale chez *A. decemarticulatus* (voir 2^{ème} Partie pour l'étude détaillée de la re-colonisation). Les reines fondatrices se débarrassent de leurs ailes avant de pénétrer dans la domatie qu'elles ont choisie, puis entreprennent d'obstruer complètement l'ouverture de la poche foliaire. Or, ce sont les trichomes tapissant l'intérieur des domaties qui servent de matériau de base pour bloquer l'entrée. Les reines sont capables de les couper et de les assembler dans ce but (Fig. 6A). Des

débris non-identifiés sont également ajoutés (des traces suggèrent qu'il pourrait s'agir de matière végétale que les reines récupèrent en grattant la face interne des domaties). La structure prend alors une apparence similaire à celle du piège construit plus tard par les ouvrières (Fig. 6B). Elle restera fermée jusqu'à ce que les premières ouvrières y percent un trou afin d'aller fourrager à la surface de la plante (Fig. 6C). En empêchant les intrus d'entrer, il est probable que l'obturation des domaties par les reines fondatrices diminue considérablement les pressions de prédation et de compétition qui s'exercent sur elles. Ainsi, la morphologie du myrmécophyte augmente indirectement le succès des reines de son hôte par le biais de ses trichomes qui permettent des fondations claustrales.



Figure 6. Structure construite par les reines fondatrices pour bloquer l'entrée des domaties, vue à trois stades différents. **A.** Domatie dont on a découpé une paroi pour montrer le stade initial de la construction. Une reine seule récemment installée (ses ailes sont encore devant l'entrée) a commencé à découper les trichomes tapissant l'intérieur de la poche et à les assembler en tas devant l'entrée (agrégat de couleur beige). **B.** Deux domaties occupées chacune par une colonie naissante (reine et toutes premières ouvrières) : le limbe de la feuille a été coupé afin de montrer les structures brunes encore intactes qui obturent l'entrée (mélanges de trichomes coupés et de débris végétaux). **C.** Une domatie renfermant une colonie naissante d'un stade plus avancé a été ouverte de façon à ne laisser en place que l'entrée de la domatie. On distingue le trou percé par les ouvrières.

Colonies matures

Au stade mature, les colonies d'*A. decemarticulatus* profitent aussi indirectement de certaines caractéristiques de leur hôte quant à leur défense vis-à-vis de menaces variées, notamment celles posées par les autres fourmis. Une caractéristique remarquable naît de la distribution des individus d'*H. physophora* qui sont relativement isolés par rapport au reste de la végétation. Ainsi constituent-ils pour leurs hôtes un territoire physiquement bien délimité et relativement isolé des territoires et zones de fourragement des autres colonies de fourmis. Cela est d'autant plus vrai que les ouvrières d'*A. decemarticulatus* semblent ne jamais fourrager ailleurs que sur leur plante. Nous n'avons ainsi jamais observé d'ouvrières circulant en dessous de la limite du piège sur les plantes, ce dernier n'atteignant jamais le sol.

Isolement par rapport à la myrmécofaune en général

D'une façon générale, cette configuration isole les colonies d'*A. decemarticulatus* des autres espèces de fourmis puisque les points de contact entre leur hôte et le reste de l'habitat sont limités (base du tronc au sol et rares points de contact entre le feuillage d'*H. physophora* et celui des autres plantes). Puisqu'ils sont rares, ces points de passages potentiels sont donc plus faciles à défendre pour les colonies en place, limitant considérablement les intrusions. Cela est notamment illustré par la façon particulière dont les ouvrières d'*A. decemarticulatus* construisent le piège au niveau du tronc principal de leur hôte. En effet, quand il est bien développé, le piège constitue un réseau de galeries continu recouvrant la face inférieure des branches ainsi qu'une petite partie de la partie supérieure du tronc principal, en dessous de la première fourche. Or à cet endroit précis, le piège s'élargit souvent, et il arrive parfois qu'il ceinture entièrement le tronc. Tout insecte marcheur partant du sol en direction de la couronne de la plante a donc de grandes chances de passer par le piège. Or, même pour des intrus se déplaçant rapidement, le risque est grand de se faire capturer. Des fourmis rapides et de grande taille ont été observées prises au piège alors qu'elles s'étaient aventurées sur des plants d'*H. physophora* habités (Fig. 7A). Lorsque des intrus parviennent sur le myrmécophyte *via* le feuillage contigu d'autres plantes, ils risquent également d'être capturés et tués par les ouvrières d'*A. decemarticulatus* (Fig. 7B). Le risque est d'autant plus grand que les points de passage sont rares, et que les résidentes découvrant l'intrus peuvent recruter des congénères, ce qui peut rapidement aboutir à des patrouilles très denses dans la zone en question.

L'efficacité des ouvrières d'*A. decemarticulatus* à empêcher l'intrusion d'autres fourmis sur leur plante-hôte a d'ailleurs pu être quantifiée à l'occasion des expériences d'exclusion

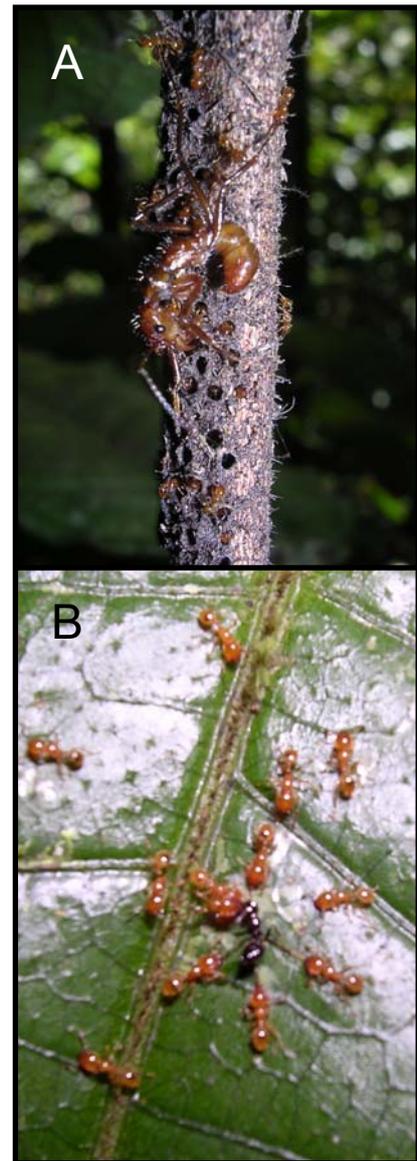


Figure 7. **A.** Une ouvrière *Ectatomma tuberculatum* capturée sur le piège au niveau du tronc d'un *H. physophora*. **B.** Une ouvrière *Crematogaster* sp. capturée alors qu'elle était parvenue avec plusieurs autres congénères sur une feuille d'*H. physophora* *via* une plante contigüe.

que nous avons menées (voir Annexe 1). Deux jours après l'exclusion des résidentes, la présence d'ouvrières étrangères isolées se déplaçant à la surface des *H. physophora* a été recensée sur 30 plantes traitées (inhabitées) et 30 plantes témoins (occupées par des colonies matures d'*A. decemarticulatus*). Le pourcentage de plants sur lesquels était présent au moins un visiteur était alors de 27% sur les plantes traitées et de 0% sur les plants habités (Test exact de Fisher, $p < 0.01$). Des pourcentages quasiment identiques ont été trouvés lors de recensements effectués 30 et 40 jours après le traitement (en tout, une seule ouvrière étrangère a été découverte sur un plant habité). Les visiteurs étaient variés, appartenant aux genres *Azteca*, *Brachymyrmex*, *Camponotus*, *Crematogaster*, *Pheidole*, *Pseudomyrmex* et *Solenopsis*.

Isolement par rapport aux fourmis à plantes

L'isolement des colonies d'*A. decemarticulatus* se vérifie encore plus clairement par rapport aux fourmis elles-mêmes associées à des myrmécophytes. En effet, bien qu'*H. physophora* présente une distribution en patches, il est rare au sein de ces patches que deux individus entrent en contact, ce qui rend les contacts intraspécifiques entre colonies matures exceptionnels. Cela est d'autant plus constant que la croissance de ces plantes est très lente. Encore plus improbables sont les contacts interspécifiques avec les fourmis habitant les autres espèces de myrmécophytes sympatriques (*C. nodosa*, *T. guianensis* et *M. guianensis*), du fait de la distribution différente de ces plantes dans le sous-bois (Solano et al. 2003).

Cette situation nous a poussé à examiner plus en détail l'agressivité exprimée par les *Allomerus* envers des individus de colonies étrangères, conspécifiques ou non. L'objectif était de quantifier l'agressivité de ces fourmis et de découvrir selon quels facteurs elle varie et dans quelle mesure l'isolement des colonies peut l'influencer. Plus globalement, cela permet de documenter un sujet qui est bien connu dans le cas des fourmis arboricoles construisant des nids dans la canopée, mais beaucoup moins dans le cas des fourmis associées à des myrmécophytes. Nous avons pour cela conduit différents types de tests d'agressivité intraspécifiques entre ouvrières d'*A. decemarticulatus* vivant sur des plants plus ou moins distants. Les mêmes tests ont aussi été conduits entre ouvrières d'*A. octoarticulatus*. Cette espèce est strictement associée au myrmécophyte *C. nodosa* dans nos sites d'étude, et ses colonies sont isolées de la même manière. Des tests interspécifiques entre ces deux espèces ont aussi été menés (voir Annexe 1.4 pour le protocole détaillé).

D'une part, les résultats montrent que l'agressivité intraspécifique et intercoloniale était significativement plus élevée que celle observée durant les tests contrôles intra-colonie. A noter que ceci était valable aussi bien pour les tests intra-zone qu'inter-zones chez *A.*

octoarticulatus, et seulement pour les tests inter-zones chez *A. decemarticulatus* (Fig. 8). Cela suggère que les ouvrières *Allomerus* disposent de certaines capacités de reconnaissance des individus non-apparentés. Mais d'autre part, nous avons aussi constaté chez les deux espèces que le niveau d'agressivité intraspécifique restait globalement faible dans tous les cas, y compris lors des tests entre nids très éloignés provenant de zones différentes. Dans ce cas, la moyenne \pm ET est de seulement $1,29 \pm 0,30$ et $1,31 \pm 0,21$ chez *A. decemarticulatus* et *A. octoarticulatus*, respectivement (Fig. 8). En comparaison, le niveau d'agressivité interspécifique est toujours considérablement plus élevé, avec des combats presque systématiques (moyenne \pm ET = $2,80 \pm 0,22$) (Fig. 8).

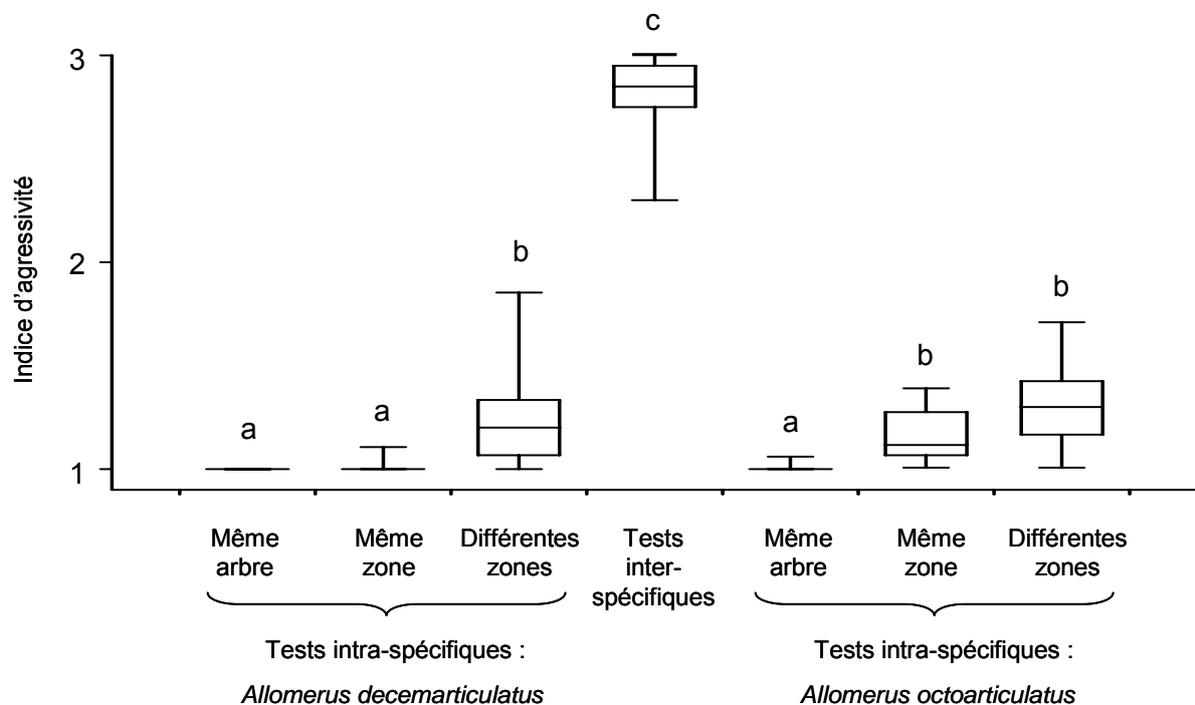


Figure 8. Résultats des tests d'agressivité chez *A. decemarticulatus* et *A. octoarticulatus*. Les box-plots avec les barres d'erreur indiquent les médianes et les 10^{ème}, 25^{ème}, 75^{ème} et 90^{ème} centiles. Un test de Kruskal-Wallis a indiqué que les résultats de ces types de rencontres différaient significativement ($H = 57,12$; $df = 6$; $p < 0,001$). Des lettres différentes signalent les différences significatives selon les tests de Mann-Whitney ($p < 0,05$ après une correction de Bonferroni).

2.2.2. Prédation

Les trichomes de la plante favorisent indirectement le succès des ouvrières d'*A. decemarticulatus* dans la prédation puisqu'ils sont utilisés comme matériau de base pour la

construction du piège (voir page 26 pour la description de sa construction). De plus, comme pour la défense des colonies, l'isolement peut aussi jouer un rôle de facilitation en ce qui concerne la prédation. En effet, la plante-hôte correspond dans ce contexte à une zone de fourragement exclusive, d'où la compétition par exploitation des ressources est absente vis-à-vis des fourmis étrangères à la colonie. A noter tout de même que toute compétition n'est pas absente pour autant : des guêpes peuvent par exemple profiter d'une proie capturée par les fourmis alors que celle-ci est immobilisée sur le piège.

2.3. Discussion

Directement ou indirectement, les plants d'*H. physophora* assurent aux colonies d'*A. decemarticulatus* un apport en nourriture et une protection contre différents types de pressions extérieures. Il peut être intéressant d'envisager ces effets positifs de la plante sur les fourmis à deux stades de développement des colonies, colonies naissantes et colonies matures, les premières n'occupant qu'une seule domatie et les secondes la plante entière.

Aux colonies naissantes, les poches foliaires offrent une protection contre les intempéries, mais aussi contre toutes sortes d'intrus puisque la fondation est systématiquement claustrale chez *A. decemarticulatus*. En effet, nous avons montré que les reines fondatrices utilisent les trichomes de la domatie pour en bloquer complètement l'entrée. La fondation claustrale est courante chez les fourmis (Bourke et Franks 1995), et a déjà été reporté chez plusieurs espèces associées à des myrmécophytes (mais à chaque fois sur des plantes portant des domaties autres que des poches foliaires, voir Fiala et Maschwitz 1990; Federle et al. 1998; Gaume et al. 2000; Stanton et al. 2005). Nos résultats montrent que les plants vidés de leur colonie mature sont régulièrement visités par des fourrageuses d'autres espèces : c'est un exemple de menace écartée par la construction mise en place par les reines. De même, cela limite les rencontres antagonistes entre reines tentant de coloniser la même plante (voir 2^{ème} Partie 2). Enfin, dans ce contexte, la présence de nectaires extra-floraux à l'intérieur même des poches foliaires revêt une importance particulière. En effet, la reine et ses premières ouvrières disposent par ce biais d'une source d'alimentation durant toute la durée de la fondation claustrale. L'apport de nourriture à l'intérieur des domaties est connue chez plusieurs myrmécophytes sous forme de corps nourriciers ou de trichomes glandulaires, dans les genres *Piper*, *Maieta* and *Tococa* (Roth 1976; Alvarez et al. 2001; Fisher et al. 2002; Nery

et Vasconcelos 2003). Mais la production de nectaires à l'intérieur des domaties n'est pour l'instant connue que chez *H. physophora* (Leroy et al. 2008).

Pour les colonies matures, l'habitat n'est plus restreint à une domatie mais à la plante entière. Les domaties apparaissent alors comme une ressource modulaire dont l'exploitation passe par des échanges entre les différentes parties de la plante, tandis que d'autres ressources peuvent également être exploitées par les ouvrières circulant à la surface.

Les domaties semblent offrir aux ouvrières des possibilités d'organisation du nid comparables à ce que l'on peut observer dans des nids très différents constitués de plusieurs chambres ou calies (dans le sol ou la litière par exemple). Par exemple, le fait que le couvain soit préférentiellement stocké dans les jeunes domaties suggère que les poches foliaires d'une plante ne présentent pas toutes les mêmes conditions de stockage. La croissance de la colonie peut s'en retrouver optimisée puisque tous les stades de développement (œufs, larves nymphes) ne requièrent pas nécessairement les mêmes niveaux de température ou d'humidité chez les fourmis. De plus, il est connu que de très petites variations de température peuvent influencer la différenciation du couvain sexué chez certaines espèces de fourmis (Hölldobler et Wilson 1990). La structure des domaties et leur nature modulaire pourraient donc à ce stade assurer plus qu'une protection et jouer un rôle dans l'organisation de la société.

Outre l'utilisation du nectar trouvé à l'intérieur des domaties, les colonies matures peuvent exploiter celui présent sur les limbes foliaires, et également chasser des proies. Dans cette dernière activité, les trichomes de la plante jouent à nouveau un rôle crucial en servant de matériau de construction, comme lors de la fondation claustrale. Cette fois, ce sont les ouvrières qui coupent et assemblent les trichomes présents le long des tiges de la plante pour fabriquer des galeries sur leur face inférieure. Le piège qu'elles constituent est très efficace et permet aux ouvrières de capturer des proies jusqu'à 2000 fois plus lourdes qu'elles (Dejean et al. 2005).

Enfin, les colonies matures n'étant pas isolées dans les domaties comme le sont les colonies naissantes, elles doivent faire face directement aux différentes menaces de l'extérieur. Or, nos résultats indiquent que différentes caractéristiques d'*H. physophora* favorisent la défense des colonies. Tout d'abord, l'architecture de la plante et sa taille limite globalement les contacts avec la végétation environnante. Les points de passage permettant d'accéder à la plante sont donc plutôt rares en dehors de la base du tronc. Or nos observations montrent que les ouvrières d'*A. decemarticulatus* savent faire face aux invasions occasionnelles. D'une part car elles recrutent visiblement en direction des feuilles sur

lesquelles des intrus en provenance de plantes voisines auraient été repérés, et les combattent efficacement. D'autre part car le piège construit le long des tiges et en particulier au niveau du tronc permet vraisemblablement de barrer le passage à des intrus, en particulier aux fourmis étrangères en provenance du sol. Nos observations montrent que des fourmis rapides et de grande taille peuvent être ainsi capturées. Quoique nous n'ayons assisté à aucune attaque de ce genre, on peut penser que des raids de fourmis légionnaires (*Eciton* spp.) ou de fourmis coupeuses de feuilles (*Atta* spp., *Acromyrmex* spp.), toutes communes dans nos sites d'étude, peuvent ainsi être repoussées. Certaines espèces de fourmis à plantes sont déjà connues pour en être capables. *Azteca alfari* semble ainsi protéger ses hôtes du genre *Cecropia* vis-à-vis d'*Atta laevigata* (Vasconcelos et Casimiro 1997). Il a aussi été observé qu'*Azteca chartifex*, fourmi construisant des nids de carton dans les arbres, évite ce type d'attaque en neutralisant par le nombre les premières éclaireuses d'*Eciton* s'aventurant sur le tronc de leur arbre (Servigne 2003). Les ouvrières d'*A. decemarticulatus* pourraient faire de même grâce à leur piège. Par ailleurs, des travaux ont suggéré que les trichomes longs et denses recouvrant les myrmécophytes pouvaient gêner le déplacement de fourmis trop grandes et donc globalement réduire les risques d'invasion par des fourmis étrangères (Davidson et al. 1988; 1989). Il est possible que cela soit le cas chez *H. physophora*. Mais nos résultats suggèrent que la présence de fourmis intruses est bien réduite par *A. decemarticulatus*, et non pas seulement par les trichomes. En effet, les plants vidés de leurs hôtes étaient naturellement visités par des espèces très variées possédant des ouvrières de tailles diverses. Autrement dit, la plante facilite la protection de la colonie plus qu'elle ne l'assure elle-même.

Il est intéressant de relever que l'agressivité d'*A. decemarticulatus* rappelle ce qui est observé chez les fourmis arboricoles dites dominantes, en ce sens qu'elles défendent leur nid (les domaties) et leur aire de fourragement (le reste de la plante) comme un territoire absolu duquel tout intrus est exclu (Dejean et al. 2007; Rico-Gray et Oliveira 2007). Cela va dans le sens de ce qu'écrivaient Levings et Traniello (1981) : « *Ant plants are a special set of cases of true territoriality* ». Nos résultats mettent d'ailleurs en lumière certains aspects justifiant que cette forme de territorialité puisse être considérée comme « spéciale » par rapport aux fourmis dominantes des canopées (comme les *Oecophylla* ou certaines *Azteca* par exemple).

Outre le fait que les fourmis associées à des myrmécophytes ne construisent pas de nids, l'isolement de leur plante-hôte comme discuté précédemment constitue aussi une différence majeure avec les autres fourmis arboricoles. En effet, ces dernières se répartissent dans le milieu en juxtaposant leurs territoires, formant ce qu'on appelle des « mosaïques de

fourmis ». Les limites de ces territoires sont définies par la compétition entre colonies qui s'exerce à travers une agressivité intra- et inter-spécifique typiquement très marquée (Blüthgen et Stork 2007; Dejean et al. 2007). Or, dans le cas d'*A. decemarticulatus*, le territoire est très isolé du territoire des autres espèces arboricoles et notamment des autres myrmécophytes. Ses limites sont définies par la taille de la plante, et non pas par le territoire des autres colonies. De plus, nos résultats montrent clairement que l'agressivité intra-spécifique est extrêmement faible quelle que soit la distance entre les nids, et que seuls les individus d'autres espèces déclenchent une agressivité marquée. Le même patron d'agressivité a été trouvé chez *A. octoarticulatus* sur *C. nodosa*, suggérant que c'est le mode de vie même des fourmis associées aux myrmécophytes qui est à l'origine de ces caractéristiques originales. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées au sujet de la façon dont ce mode de vie peut induire une agressivité intraspécifique faible.

Premièrement, cela pourrait être un sous-produit neutre de leur association symbiotique obligatoire et spécifique avec leur plante-hôte : cela pourrait être à l'origine d'une homogénéisation des signaux de reconnaissance coloniale entre ouvrières. Chez les fourmis, il est généralement accepté que cette reconnaissance est de nature chimique, et que l'odeur coloniale peut être une combinaison d'odeurs génétiquement déterminée (origine physiologique) et d'odeurs exogènes (originaires de l'environnement) (Vander Meer et Morel 1998). La part de ces deux catégories d'odeurs varie beaucoup d'une espèce à l'autre. Chez les *Allomerus*, cela n'a pas encore été étudié, mais l'homogénéisation des deux types d'odeurs semble possible. D'une part, les reines fondatrices pourraient avoir une capacité de dispersion limitée, résultant en une isolation génétique par la distance et donc en un niveau d'agressivité n'augmentant que lentement et graduellement à notre échelle spatiale d'investigation. D'autre part, une association stricte avec la même espèce de plante pourrait homogénéiser la composante environnementale de l'odeur coloniale, induisant un plus faible niveau d'agressivité entre colonies conspécifiques. Par exemple, il a été montré expérimentalement que la nature du bois dans lequel niche *Leptothorax nylanderi* influence leur odeur coloniale et leur agressivité (Heinze et al. 1996). Combiner de nouveaux tests d'agressivité avec des études chimiques et génétiques approfondies est maintenant l'approche indispensable pour tester ces hypothèses chez *Allomerus* (pour une telle approche chez des fourmis à plantes, voir Debout et al. 2003).

Deuxièmement, il est aussi possible que la faible agressivité intra-spécifique soit favorisée par la sélection naturelle si elle offre des avantages aux colonies d'*Allomerus*. Si de tels avantages existent, ils sont à rechercher au cours de la colonisation des plantes, seule période

durant laquelle plusieurs colonies (naissantes) peuvent entrer régulièrement en contact. On sait que les colonies matures sont monogynes. Par conséquent, il est possible qu'il y ait combat entre colonies naissantes jusqu'à ce que l'une d'elles élimine toutes les autres. Mais il est aussi possible qu'il y ait tolérance entre les ouvrières de colonies différentes, et exécution des seules reines surnuméraires comme chez certaines espèces à fondation pléométrique (Adams et Balas 1999).

Notons enfin que les patrons d'agressivité que nous avons observés chez *Allomerus* sont très similaires à certains trouvés chez des espèces vivant dans des conditions écologiques complètement différentes. En particulier, il semble que les contacts réguliers entre colonies matures, et notamment l'échange d'individus entre nids, jouent habituellement un rôle central dans ce phénomène (Holzer et al. 2006; Steiner et al. 2007). Ceci étant impossible chez les *Allomerus*, notre étude met en lumière des conditions écologiques inédites sous lesquelles des fourmis ne montrent presque pas d'agressivité à l'égard de colonies conspécifiques.

En conclusion, il apparaît qu'*H. physophora* a de multiples impacts positifs sur *A. decemarticulatus*. Certains sont directs, comme la fourniture de différents types de ressources (nectar et abris), et d'autres indirects comme la favorisation de l'exploitation d'un territoire exclusif (constructions à base de trichomes pour la défense et la prédation, distribution de la plante isolant les colonies).

3. Effets positifs de l'association sur *Hirtella*

Parmi les effets positifs qu'*A. decemarticulatus* peut potentiellement exercer sur son hôte, nous avons concentré nos efforts sur la protection contre les phytophages puisqu'il s'agit d'un effet crucial dans le façonnement des associations plantes-fourmis et qu'il n'avait jamais été examiné dans notre modèle. Plus précisément, l'objectif était de répondre aux questions suivantes :

- 1) La présence d'*A. decemarticulatus* réduit-elle le taux de défoliation sur *H. physophora*, et dans quelle mesure exactement ?

- 2) Si une protection significative est mesurée, comment est-elle assurée par *A. decemarticulatus* ? Quelles sont les activités des fourmis directement responsables de cette protection, et se combinent-elles de façon optimale par rapport aux menaces pesant sur leur hôte ?

3.1. *Allomerus decemarticulatus* protège-t-elle son hôte des défoliateurs ?

Pour savoir si *A. decemarticulatus* fait bénéficier sa plante-hôte d'une protection contre les attaques des herbivores, il fallait comparer le taux de défoliation subi par des plantes sans fourmis avec celui dont souffrent des plantes habitées. Après avoir envisagé les différentes méthodes possibles pour exclure les fourmis d'*H. physophora*, nous avons finalement opté pour une technique non-destructive et n'utilisant aucun insecticide : les colonies ont été exclues par une récolte complète de tous les individus présents en surface y compris le piège et ses occupants, suivie d'injections d'eau répétées à l'intérieur des domaties. Cela s'est révélé être efficace tout en évitant les biais qu'auraient pu avoir des techniques plus classiques vis-à-vis de nos objectifs (voir Annexe 1.1 pour une justification complète du choix de ce protocole ainsi que sa description détaillée).

Par ailleurs, nous tenions à tester l'effet du temps d'exclusion sur le taux de défoliation observé. (Heil et al. 2001a) avaient en effet souligné l'intérêt de mener ce genre d'études sur des périodes longues, c'est-à-dire de plusieurs mois, alors qu'elles sont souvent limitées à quelques semaines maximum. Un suivi de la défoliation sur une période trop courte peut conduire à sous-estimer fortement l'importance des fourmis en tant que défense indirecte du myrmécophyte, et cela d'autant plus sur des plantes pouvant vivre très longtemps. Nous avons donc réalisé deux expériences d'exclusion en appliquant cette technique : une de court-terme sur 90 plantes (45 traitées, 45 témoins, durée de 40 jours) et une de long-terme sur 60 plantes (30 traitées, 30 témoins ; durée de huit mois) (voir Annexe 1.1 pour la description détaillée des plantes utilisées et leur localisation au sein des sites d'étude).

La croissance foliaire est très lente chez *H. physophora* et plusieurs semaines s'écoulent entre l'émergence et la maturité d'une nouvelle feuille. Cela augmente les chances que la feuille ne subisse pas la même pression de défoliation tout au long de sa vie. C'est pourquoi nous avons pris soin de mesurer le taux de dommages sur des feuilles de différents stades foliaires. D'une part, des feuilles matures présentes dès le début des deux expériences ont été

suivies (stade 3 : jeunes feuilles, stade 4 : vieilles feuilles). D'autre part, les nombreuses feuilles étant apparues au cours de l'expérience de long terme nous ont permis de mesurer les attaques subies par des feuilles immatures (stade 1 : feuilles juvéniles, stade 2 : feuilles en expansion) (Fig. 9). Pour ce faire, nous avons analysé des photos de ces différentes feuilles afin de pouvoir quantifier très précisément le taux de dommages dont elles ont souffert sur les plants traités et témoins au terme des deux expériences (voir Annexe 1.2).



Figure 9. Les quatre stades de développement foliaire d'*H. physophora* utilisés pendant les expériences d'exclusion (1 et 2 sont immatures, 3 et 4 sont matures). **1 : Feuilles juvéniles** = moins de 5cm de long, position verticale, domaties pas encore complètement développées. **2 : Feuilles en expansion** = domaties souvent pleinement développées, limbe immature et souple, mais plus long que le stade précédent. **3 : Jeunes feuilles matures** = limbe de 15 à 20cm de long, mature mais relativement souple, couleur vert clair, position horizontale. **4 : Vieilles feuilles** = limbe jusqu'à 30cm de long, rigide et de couleur vert foncé.

Les résultats de ces analyses montrent que les plants vidés de leurs fourmis souffrent d'un taux de défoliation plus marqué que les plants habités, mais aussi que l'ampleur de cet effet varie nettement selon le stade de développement foliaire et la durée de la période d'absence des fourmis (Tab. 5). Ainsi, pendant l'expérience de court terme, les plantes traitées n'ont pas subi de dommages significativement plus importants que les plantes témoins, que ce soit pour les feuilles de stade 3 ou 4. En revanche, à long terme, si cela était encore vrai pour les feuilles de stade 4, ça ne l'était plus pour celles de stade 3 qui, bien qu'assez faiblement attaquées, l'ont été significativement plus en l'absence des fourmis (Tab. 5). Concernant les nouvelles feuilles apparues au cours de l'expérience à long terme, les résultats sont très contrastés. D'une part, nous n'avons détecté absolument aucun dommage sur les feuilles de stade 1, qu'elles aient émergé sur les plants traités ou témoins. D'autre part, les feuilles de stade 2 ont elles souffert d'un très fort taux de dommages en l'absence des fourmis, bien plus

marqué que sur les plants témoins (Tab. 5). Pour résumer, les feuilles de stade 2, et dans une moindre mesure celles de stade 3, sont les seules pour lesquelles le retrait des fourmis a entraîné une hausse significative du taux de défoliation dans nos expériences. En corollaire à ces résultats, nous avons aussi remarqué que les plants témoins produisaient plus de nouvelles feuilles que les plantes traitées (nombre moyen par plant \pm ET : $2,9 \pm 1,3$ versus $2 \pm 1,5$; *t*-test: $p < 0,05$; $t = 2,4$; $df = 55$).

Tableau 5. Pourcentages de surface foliaire perdue par les plantes utilisées dans les expériences d'exclusion à court et long terme (N = nombre de plantes, n = nombre de feuilles).

	Plants témoins		Plants sans fourmis		Test Mann-Whitney	
	% manquant Moyenne \pm SE	N (n)	% manquant Moyenne \pm SE	N (n)	U	p
Court terme						
Feuilles de stade 3	0,03 \pm 0,02	45 (114)	0,13 \pm 0,12	44 (112)	968	ns
Feuilles de stade 4	0,06 \pm 0,04	14 (19)	0,06 \pm 0,06	11 (13)	74	ns
Long terme						
Feuilles de stade 1	0	16 (18)	0	8 (11)	-	-
Feuilles de stade 2	2,79 \pm 1,37	27 (70)	32,69 \pm 3,89	18 (43)	14	p < 0,0001
Feuilles de stade 3	0,11 \pm 0,05	30 (77)	4,59 \pm 2,42	25 (56)	228	p < 0,05
Feuilles de stade 4	0,13 \pm 0,11	10 (12)	5,95 \pm 5,94	16 (22)	70,5	ns

La présence des fourmis limite donc considérablement les dommages subis par les feuilles pendant leur croissance et peu après leur maturité, et permet la production d'un plus grand nombre de feuilles. Par conséquent, *A. decemarticulatus* représente bien une défense indirecte contre les défoliateurs pour *H. physophora*.

3.2. La défense assurée par *A. decemarticulatus* est-elle optimale ?

Nous savons que les fourmis protègent leur hôte contre les attaques des phytophages, l'objectif est maintenant de savoir comment.

Une question importante est de savoir si en plus d'être efficace, les activités de défense des fourmis sont optimales pour *H. physophora*. Les plantes ne disposant que de ressources limitées pour contrer les attaques des phytophages, la théorie de la défense optimale prédit que leurs défenses soient concentrées dans les parties les plus vulnérables et celles présentant

le plus de valeur pour l'individu (McKey 1974; Rhoades 1979). Les défenses directes des plantes, en particulier chimiques, ont souvent été examinées à la lumière de cette théorie et les résultats la soutiennent en général (Ohnmeiss et Baldwin 2000). Les défenses indirectes ne l'ont été que beaucoup plus rarement (Rostás et Eggert 2008). Dans le cas particulier des myrmécophytes et de la défense indirecte que leur procurent les fourmis, le patron de distribution spatiale des patrouilleuses à la surface des plantes est généralement considéré comme étant en accord avec cette théorie. En effet, dans la plupart des cas, les ouvrières fréquentent préférentiellement les jeunes feuilles, qui sont souvent les plus vulnérables (Heil et McKey 2003). Cependant, très peu d'études ont été spécifiquement menées pour comparer précisément les patrons d'activités des fourmis à ceux de valeur ou vulnérabilité des différentes parties du myrmécophyte (mais voir Heil et al. 2004). C'est le but que nous nous sommes donné.

Pour cela, nous avons déterminé le patron spatio-temporel des activités liées à la défense de la plante chez les ouvrières d'*A. decemarticulatus* en vue de le comparer avec le patron de vulnérabilité révélé précédemment. Le type d'activités par lequel la défense des myrmécophytes s'exerce est connu : les fourmis associées peuvent d'une part patrouiller constamment leur hôte indépendamment de la présence d'ennemis, et d'autre part répondre spécifiquement à l'attaque d'un phytophage en recrutant des congénères sur le site des dommages (Heil et McKey 2003). Nous avons donc dans un premier temps vérifié l'existence de chacun de ces comportements chez *A. decemarticulatus*. A chaque fois, nous avons quantifié l'implication des ouvrières dans ces activités, et ce sur des feuilles à différents stades de développement (les stades 1 à 4 définis dans le paragraphe 3.1). La comparaison des patrons de distribution obtenus avec celui de vulnérabilité du feuillage révélé par les expériences d'exclusion permettront de savoir si la défense assurée par *A. decemarticulatus* est optimale pour *H. physophora*.

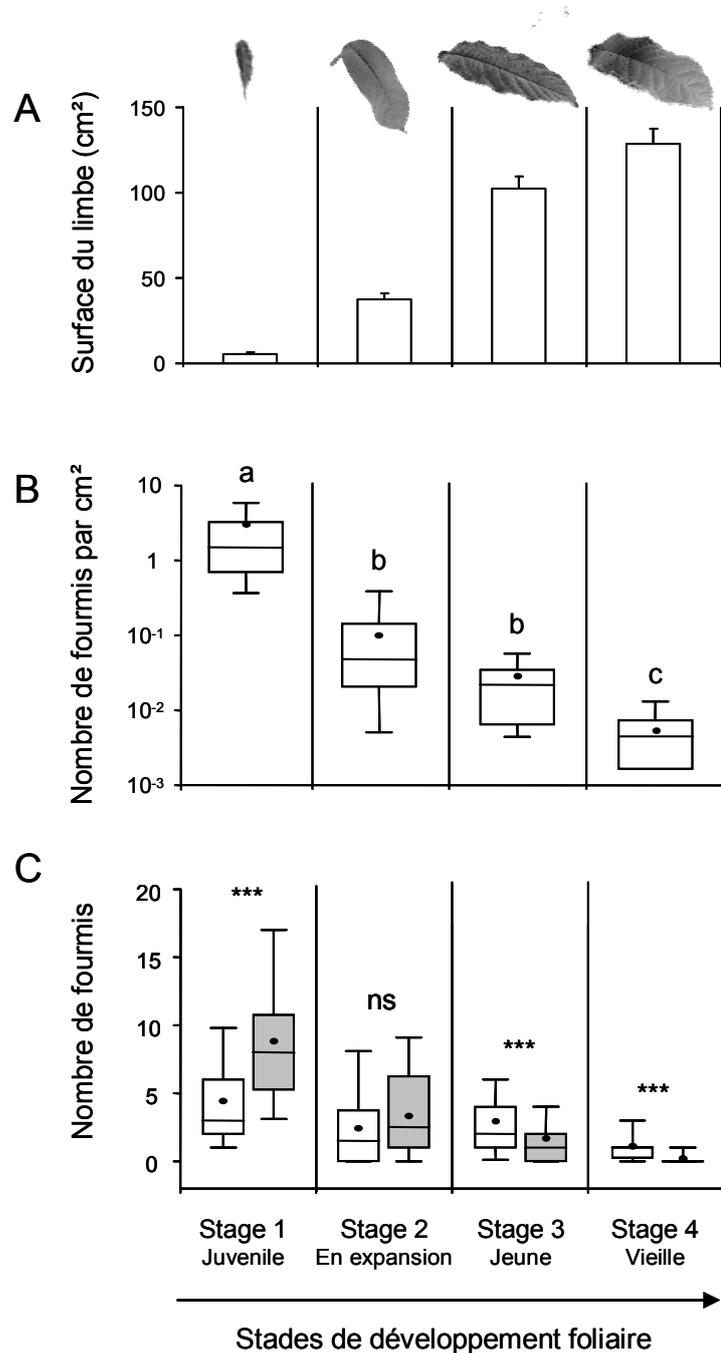
3.2.1. Distribution spatiale des patrouilles

L'intensité des patrouilles sur le feuillage a été mesurée sur des feuilles de différents stades de développement. Pour cela, sur des plants habités par des colonies matures, nous avons déterminé le nombre moyen d'ouvrières par feuille sur les stades de développement 1,2,3 et 4 décrits précédemment. Ces mesures étaient des comptages instantanés, tous réalisés

dans la journée par temps ensoleillé. Chaque feuille n'était utilisée qu'une fois. Les fourmis présentes en face abaxiale et adaxiale étaient distinguées à chaque fois.

Les résultats montrent que les patrouilles d'*A. decemarticulatus* diminuent constamment et de façon très marquée avec le vieillissement des feuilles. Le nombre moyen d'ouvrières par feuille \pm ET varie de $13,3 \pm 8,4$ sur les feuilles de stade 1 à $1,25 \pm 1$ sur les feuilles de stade 4, les stades 2 et 3 présentant des niveaux de fréquentation intermédiaires. Les feuilles s'agrandissant considérablement entre le premier et le dernier stade de développement, la densité de fourmis diminue de façon spectaculaire : elle est divisée par plus de 500 sur cette même période (Fig. 10A et 10B).

Figure 10. Changements subis par les feuilles d'*Hirtella physophora* au cours de leur développement. **A.** Surface et position du limbe. **B.** Densité de fourmis (nombre d'ouvrières par cm^2). Des lettres différentes indiquent une différence significative à $p < 0,001$ au test post-hoc de Tukey. **C.** Nombre total de fourmis sur les faces adaxiale (blanc) et abaxiale (gris) des feuilles. *** indique une différence significative à $p < 0,001$ au test t pour échantillons appariés.



3.2.2. Réponse induite par une blessure foliaire

Afin de savoir si des blessures foliaires subies par leur hôte induisaient une réponse des fourmis, nous avons mené des expériences consistant à suivre le nombre d'ouvrières sur des feuilles blessées artificiellement (en utilisant comme contrôle des feuilles témoin intactes de la même plante ; voir Annexe 1.3 pour le protocole détaillé). Cela a été mené sur des feuilles de stades 3 et 4, pour voir si l'âge de la feuille influençait l'éventuelle réponse des ouvrières.

Dans un petit nombre de réplicats, les ouvrières n'ont pas découvert l'emplacement de la blessure, c'est-à-dire qu'elles ne sont pas rentrées physiquement en contact avec elles. Cela est arrivé aussi bien sur des feuilles de stade 3 que de stade 4 (4 cas sur 28 et 7 cas sur 31, respectivement ; test Chi^2 : $p = 0,41$). Concernant les réplicats où la blessure était découverte, nos résultats montrent clairement que les ouvrières recrutent rapidement d'autres individus quel que soit l'âge de la feuille. Typiquement, la première patrouilleuse entrant en contact avec la blessure va passer quelques secondes ou dizaines de secondes à longer celle-ci, en la palpant avec ses antennes et ses mandibules. Si d'autres patrouilleuses déjà présentes sur le limbe découvrent aussi par hasard la blessure, elles font de même. Passée cette courte période de « reconnaissance », l'une d'elles regagne rapidement les domaties de la feuille concernée.

Après un court laps de temps, plusieurs ouvrières en sortent et se dirigent vers le site de la blessure, certaines finissant par patrouiller la feuille entière. Par conséquent, au cours de notre expérience, le nombre d'ouvrières augmentait significativement sur les feuilles blessées, et pas sur les feuilles intactes (Fig. 11 et Tab. 6). Bien que nous ne puissions pas mener d'analyse statistique pour comparer l'ampleur du recrutement sur les deux types de feuilles (stade 3 et 4), il semble que celle-ci soit la même dans les deux cas. En effet, le facteur d'augmentation moyen du nombre de fourmis (i.e., le rapport entre le nombre maximal atteint au cours de l'expérience et le nombre initial) est similaire pour les feuilles des stades 3 et 4 (4,2 et 4,9 ; respectivement). Cependant, le nombre initial était plus faible sur les feuilles de stade 4 car celles-ci sont moins patrouillées.

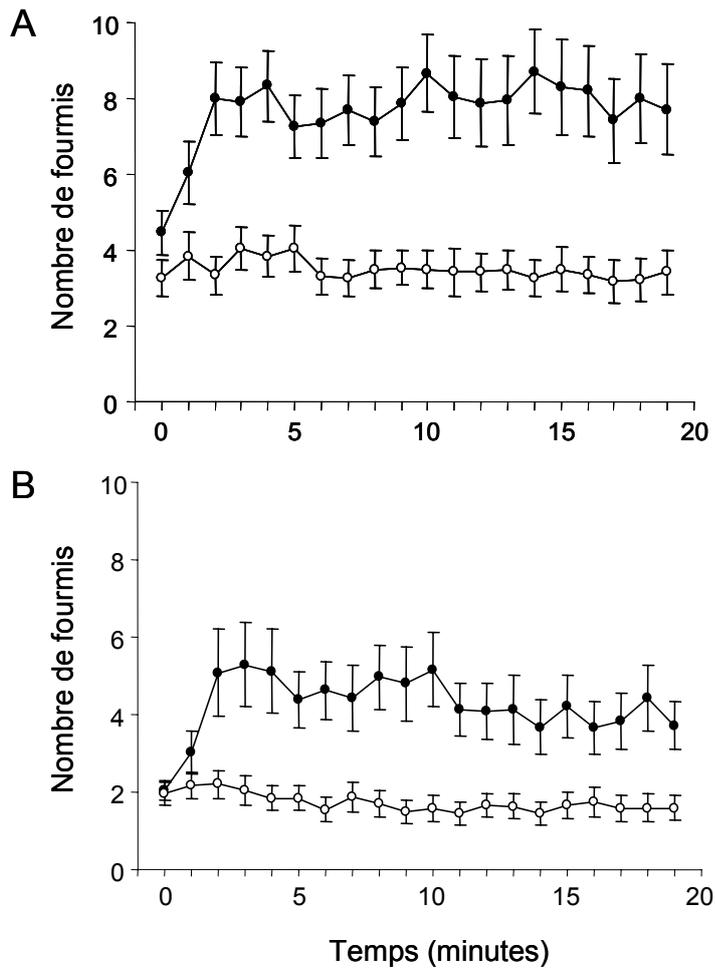


Figure 11. Evolution au cours du temps du nombre moyen d'ouvrières *A. decemarticulatus* (\pm SE) patrouillant des feuilles artificiellement blessées (points noirs) et des feuilles contrôles intactes (points blancs). **A.** Jeunes feuilles (stade 3). **B.** Vieilles feuilles (stade 4). Dans les deux cas, le nombre de réplicats est de 24, et le début de la période ($t=0$ min) correspond à la découverte de la blessure par une ouvrière (i.e., premier contact physique avec la blessure).

Tableau 6. Résultats des ANOVA à mesures répétées examinant l'effet du traitement (feuilles contrôles vs. feuilles blessées) sur le recrutement des fourmis après le premier contact physique d'une ouvrière avec la blessure, sur (a) les jeunes feuilles (stade 3) et (b) les vieilles feuilles (stade 4).

Source de variation	df	MS	F	p	G-G
a) Coupure du limbe des feuilles de stade 3					
Traitement	1	169,815	18,455	<0,001	
Erreur	46	9,202			
Temps	19	0,436	2,349	0,001	0,025
Temps x Traitement	19	0,409	2,207	0,002	0,035
Erreur	874	0,185			
b) Coupure du limbe des feuilles de stade 4					
Traitement	1	90,041	11,93	0,001	
Erreur	46	7,547			
Temps	19	0,396	2,711	<0,001	0,01
Temps x Traitement	19	0,432	2,959	<0,001	0,005
Erreur	874	0,146			

3.3. Discussion

3.3.1. Efficacité de la protection

Nos résultats démontrent que l'association entre *A. decemarticulatus* et *H. physophora* est bien un mutualisme de protection. Séparées de leurs fourmis, les plantes souffrent en effet d'un taux de défoliation plus important, et produisent moins de feuilles. En particulier, la présence des fourmis est cruciale pour les feuilles en expansion de stade 2, qui sont la cible principale des défoliateurs comme chez la plupart des espèces de plantes tropicales (Coley et Barone 1996). En leur absence, une partie des nouvelles feuilles est presque entièrement mangée (à l'exception en général des domaties) tandis que les autres atteignent la maturité avec de lourds dommages et donc une capacité photosynthétique moindre. Les feuilles de stade 3 bénéficient aussi de la présence des fourmis, mais dans une bien moindre mesure car elles sont moins attaquées. Cela suggère que des défenses autres que biotiques sont rapidement mises en place une fois que la feuille a atteint sa maturité. Notons d'ailleurs que l'effet protecteur des fourmis sur ces feuilles de stade 3 n'a été détecté que pendant l'expérience de long terme, soulignant ainsi que les études menées sur de courtes périodes ne permettent pas forcément de dresser un bilan réaliste de l'efficacité des fourmis en tant que défense indirecte des myrmécophytes (point important déjà remarqué par Heil et al. 2001a).

Cet effet protecteur d'*A. decemarticulatus* vis-à-vis des feuilles de sa plante-hôte repose sur deux types d'activités qui, combinés, font de cette fourmi un mutualiste particulièrement efficace pour *H. physophora*.

Premièrement, les ouvrières patrouillent le feuillage de la plante comme dans la plupart des associations fourmis-myrmécophytes (Heil et McKey 2003). Cela forme une barrière contre les organismes phytophages que l'on peut comparer à une **défense constitutive** du point de vue de la plante. En effet, cette activité est constante dans le temps et indépendante de la présence de menaces. Bien qu'elles patrouillent plus le jour que la nuit, les ouvrières sont présentes tout au long du cycle circadien. L'effet dissuasif de ces patrouilles sur les phytophages est évident au vu des capacités prédatrices qu'affichent les ouvrières d'*A. decemarticulatus* à la surface des feuilles. Elles sont capables d'immobiliser les insectes visiteurs et de les tuer, ou bien de provoquer au moins leur fuite (Dejean et al. 2001).

Deuxièmement, les ouvrières recrutent leurs congénères lorsqu'elles découvrent une blessure foliaire, comme cela a déjà été montré dans plusieurs autres systèmes plantes-fourmis obligatoires (Agrawal 1998; Agrawal et Dubin-Thaler 1999; Christianini et Machado 2004; Romero et Izzo 2004). Cela peut être assimilé à une **défense inductible** pour la plante, dans le sens où les ouvrières concentrent leurs activités temporairement et localement dans la zone effectivement attaquée. Dans notre expérience, l'attaque est simplement simulée, et les ouvrières ne découvrent aucun insecte sur la zone de la blessure. C'est donc bien la blessure elle-même qui induit la réponse observée, et ce vraisemblablement par le biais des composés chimiques émis à cet endroit. Il est même probable que des composés faiblement volatiles nécessitant un contact physique soient impliqués. En effet, des palpations antennaires intenses de la blessure précédaient toujours le recrutement, et aucune réponse n'était par ailleurs détectée dans les quelques cas où les patrouilleuses présentes sur la feuille n'entraient pas en contact avec la blessure. Il est intéressant de signaler que des observations similaires ont été faites chez *A. octoarticulatus* habitant *H. myrmecophila* (Romero et Izzo 2004). Dans ce système cependant, contrairement à ce que nous avons observé chez *A. decemarticulatus*, la réponse des ouvrières est nettement plus marquée sur les jeunes feuilles que sur les vieilles. Cela reflète peut-être le fait que les domaties des vieilles feuilles sont perdues chez *H. myrmecophila* alors que ce n'est pas le cas chez *H. physophora* (Izzo et Vasconcelos 2002). En effet, on peut penser qu'une période de détérioration importante des vieilles domaties précède probablement leur perte chez *H. myrmecophila*, les conduisant à n'être habitées que par un petit nombre d'ouvrières. Ceci limiterait les capacités de réponses en cas de blessure foliaire dans la mesure où le recrutement est essentiellement local. Une autre hypothèse non-exclusive est que les composés chimiques émis par les blessures foliaires changent avec l'âge de la feuille chez *H. myrmecophila*, et pas chez *H. physophora*.

3.3.2. Optimalité de la protection

L'action combinée de ces défenses biotiques constitutives et inductibles est non seulement efficace, mais nos résultats montrent qu'elle est aussi globalement **optimale** pour *H. physophora*.

Le nombre de patrouilleuses décroît très nettement au fur et à mesure que l'âge de la feuille augmente, comme c'est le cas sur beaucoup de myrmécophytes (énumérés par Heil et McKey 2003). Or cette diminution s'accompagne d'une vulnérabilité aux dommages elle

aussi décroissante entre les stades de développement foliaire 2 et 4, d'après les résultats de nos expériences d'exclusion (voir Tab. 5). Cette résistance qui augmente avec l'âge de la feuille est probablement due, au moins en partie, à l'augmentation de la dureté du limbe, aisément constatée sur le terrain. Cela semble d'ailleurs être en général un trait défensif majeur pour les feuilles matures en milieu tropical (Coley 1983). La moindre fréquentation par les fourmis sur les feuilles plus rigides apparaît donc comme une défense spatialement optimale.

Les feuilles de stade 1, toujours intensément patrouillées mais visiblement très résistantes même en l'absence des fourmis, sont les seules pour lesquelles il y a, à première vue, contradiction avec la théorie de la défense optimale. En effet, à la fin de notre expérience d'exclusion, les feuilles de stade 1 qui étaient apparues sur les plants inhabités ne présentaient aucun signe de dommage, comme celles apparues sur les plants témoins habités par *A. decemarticulatus* et toujours intensément patrouillées. Cela suggère qu'à ce stade, les feuilles disposent de défenses directes efficaces. Plusieurs hypothèses peuvent être émises à ce sujet. Il est possible que les trichomes très denses qui les

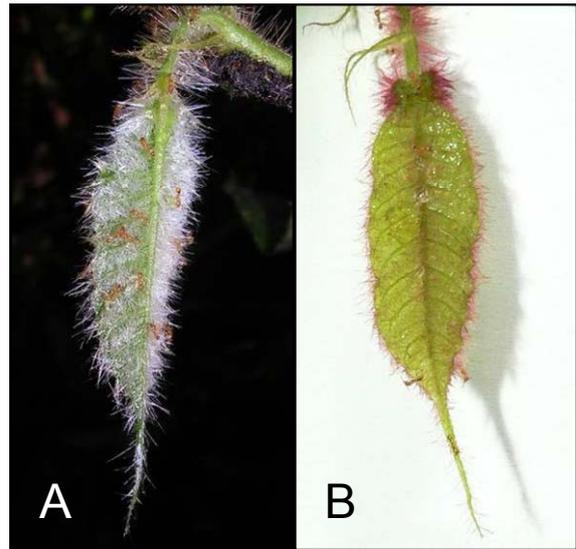


Figure 12. Feuilles juvéniles (stade 1) d'*H. physophora* montrant : **A.** la forte densité de trichomes et les nombreuses ouvrières en patrouille ; et **B.** les trichomes entièrement rouges que présentent une partie seulement de ces feuilles (environ 18%, N = 40 de plants différents).

recouvrent (Fig. 12A) constituent une protection contre divers types de phytophages, comme chez d'autres plantes (Levin 1973). La teinte rouge des trichomes d'une partie des feuilles juvéniles (figure 12B) suggère la présence d'anthocyanines, qui peuvent potentiellement avoir un rôle protecteur de multiples manières (Lee et Gould 2002). Enfin, leur petite taille les rend sans doute moins facilement détectables pour certains insectes phytophages. Quelles que soient les raisons de cette absence de dommages, ce résultat inattendu allait à première vue à l'encontre de la théorie de la défense optimale : si ces feuilles juvéniles sont résistantes par elles-mêmes, comment expliquer la présence massive des fourmis en cet endroit ? Les points suivants ont permis de relativiser cette apparente « contradiction ».

Tout d'abord, il est important de souligner que le stade 1 peut être considéré comme étant celui ayant la plus grande **valeur** du point de vue de la croissance de la plante, car c'est celui qui présente l'espérance de vie la plus grande et donc la valeur photosynthétique potentielle la plus élevée. La théorie de la défense optimale prédisant une concentration dans les parties les plus vulnérables, mais aussi celles ayant la plus grande valeur, on peut considérer la forte présence des fourmis sur les feuilles juvéniles comme étant en accord avec la théorie.

Par ailleurs, outre le fait que l'efficacité des défenses directes de ces feuilles reste à prouver, on peut remarquer que certaines d'entre elles présentent de toute façon un revers négatif. Par exemple, la petite taille des feuilles juvéniles les rend peut-être moins visibles et donc plus rarement attaquées, mais les soumet aussi à un risque « tout ou rien ». Étant donné la petite surface du limbe, le moindre dommage à ce stade peut avoir des conséquences très importantes au regard du développement foliaire à venir.

Enfin, des attaques plus discrètes que des dommages dans le limbe peuvent être passées inaperçues lors de notre expérience d'exclusion. De nombreux insectes phytophages déposent leurs oeufs préférentiellement sur les plus jeunes feuilles des plantes. Les larves se nourriront ensuite des feuilles plus âgées en expansion. De tels événements ne sont pas impossibles sur *H. physophora*, d'autant que des chenilles se nourrissant de feuilles de stade 2 ont été occasionnellement découvertes sur le terrain (voir fig. 13A-D). De même, il semble que des champignons pathogènes s'attaquent parfois aux feuilles durant leur expansion (voir fig. 13E) et leurs spores pourraient être présentes dès le stade 1. Dans les deux cas, il est tout à fait possible que les fourmis jouent un rôle protecteur en supprimant les œufs de phytophages et les spores de champignons comme cela a été montré dans d'autres systèmes plantes-fourmis (de la Fuente et Marquis 1999; Djiéto-Lordon et al. 2004).

Ainsi, les risques encourus par les feuilles juvéniles sont peut-être limités par des défenses directes, mais certainement pas nuls. Or, les fourmis pourraient constituer une bonne défense contre ces risques potentiels, d'une façon qui ne leur serait vraisemblablement pas très coûteuse. En effet, le stade 1 est très limité dans le temps (de l'ordre de deux à trois semaines), si bien que même une présence importante d'ouvrières sur ces feuilles est en fait un investissement moins élevé que les patrouilles du stade 4, mobilisant beaucoup moins d'individus mais durant une période pouvant s'étendre sur plusieurs années. Par conséquent, une défense indirecte pour les feuilles de stade 1 a pu être facilement sélectionnée au cours de l'évolution d'*H. physophora*, d'autant plus que ces feuilles sont d'une grande valeur pour la plante. Le faible coût énergétique de cette défense rend en effet possible une protection par les fourmis même pour de faibles risques.

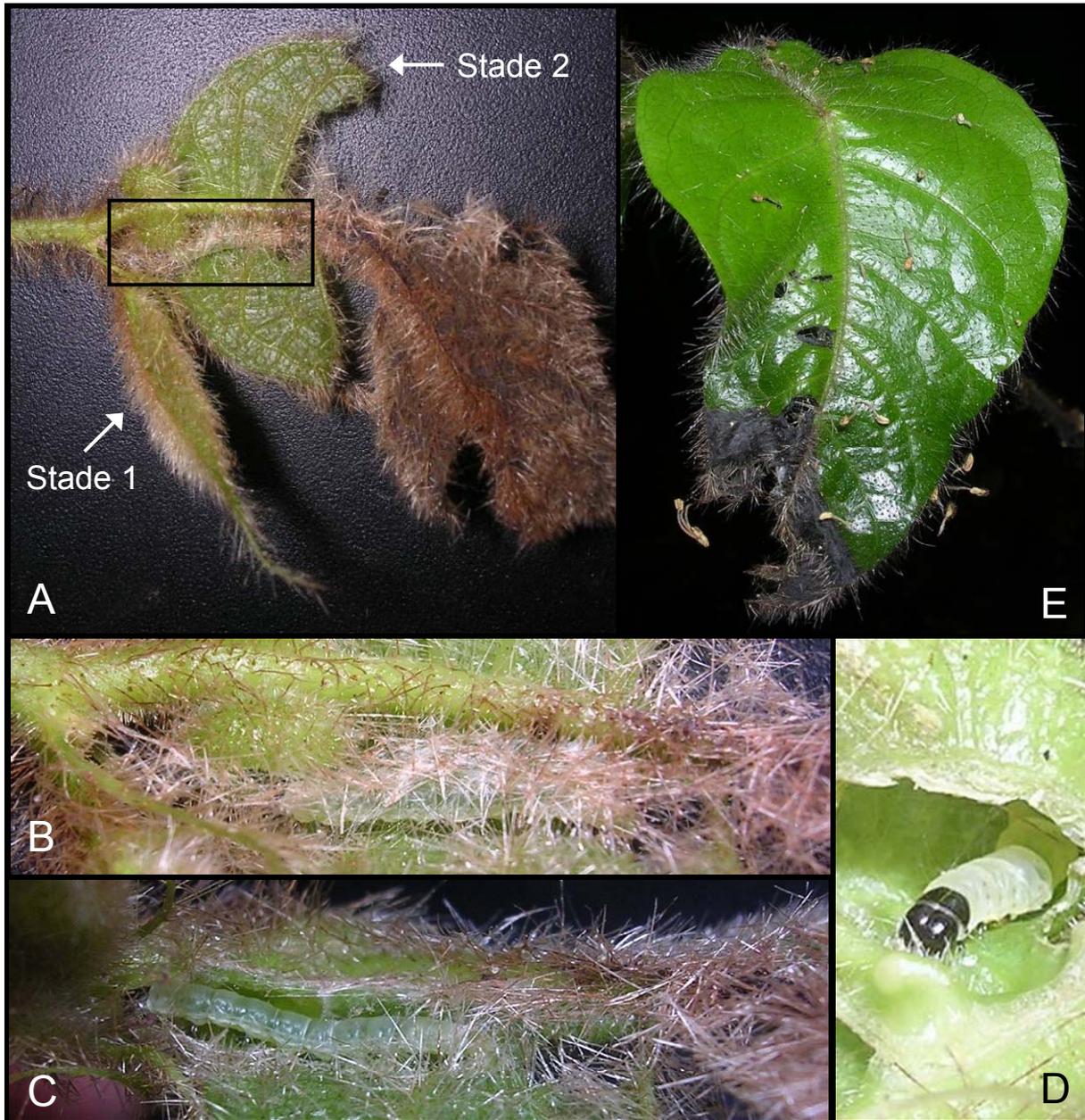


Figure 13. Exemples de dommages soufferts par les feuilles en expansion (stade 2) d'*H. physophora* : attaques par des larves de lépidoptères ou par des champignons pathogènes. Dans les deux cas, les feuilles de stade 1 pourraient héberger les éléments qui sont à la source de ces dommages : œufs ou spores. **A.** Une feuille de stade 2 lourdement endommagée, vraisemblablement par la chenille se déplaçant à sa surface. Il semble que cette dernière soit par ailleurs capable de couper les trichomes : elle se déplace le long de la nervure centrale dans une sorte de galerie composée de poils coupés (cela rappelle beaucoup le comportement de chenilles se nourrissant d'espèces de plantes très différentes ; voir Hulley 1988). Une feuille de stade 1 intacte est adjacente à celle de stade 2. Le cadre noir indique la zone montrée dans l'image suivante. **B.** Photo rapprochée de la galerie dans laquelle circule la chenille. **C.** Vue latérale de la même galerie, après avoir retiré quelques trichomes. **D.** Détail de la chenille en question. **E.** Feuille de stade 2 présentant des symptômes pouvant être dus à la présence d'un champignon pathogène.

Enfin, l'ampleur du recrutement induit par la découverte d'une blessure foliaire semble être la même quel que soit l'âge de la feuille. Cela renforce l'optimalité spatiale de la défense fournie par *A. decemarticulatus* et y ajoute un facteur temporel. Le nombre de fourmis augmente précisément à l'endroit et au moment où cela est nécessaire, c'est-à-dire quand les défenses constitutives de la plante n'ont pas suffi à empêcher les dommages. Cela est en particulier tout à fait adapté au taux d'attaques des vieilles feuilles, qui est très faible mais pas nul. Les patrouilles y sont restreintes au minimum, mais suffisent à découvrir d'éventuels dommages et à recruter en conséquence. Nos résultats s'accordent donc là encore avec la théorie de la défense optimale prédisant que des tissus rarement attaqués bénéficient d'une défense majoritairement inductible plutôt que constitutive. Cette prédiction a déjà testée et vérifiée en ce qui concerne les défenses chimiques de diverses plantes (voir par exemple Zangerl et Rutledge 1996).

3.3.3. La plante bénéficie-t-elle d'autres avantages ?

Nous nous sommes concentrés sur la protection contre les phytophages, qui est un bénéfice essentiel car ayant un effet potentiellement très fort et rapide sur la fitness du myrmécophyte. Cependant, d'autres types de bénéfices ne sont pas exclus.

Par exemple, on ne sait pas si les ouvrières d'*A. decemarticulatus* élaguent la végétation venant au contact de leur hôte, comme le font certaines espèces de fourmis. Davidson et al. (1988) signalent par exemple qu'une autre espèce d'*Allomerus* vivant sur *C. nodosa* au Pérou présente un comportement d'élagage facultatif, qui ne s'exprime que si des *Crematogaster* sont présentes en nombre sur les plantes adjacentes. Par contre, il est sûr que les ouvrières d'*A. decemarticulatus* ne peuvent agir sur les plantes poussant à distance de leur hôte, puisqu'elles ne quittent pas leur plante pour aller au sol ou sur la végétation environnante. Des fourmis du genre *Myrmelachista* sont, elles, connues pour quitter leur hôte et tuer la végétation risquant d'entrer en compétition avec leurs myrmécophytes (Renner et Ricklefs 1998; Frederickson et al. 2005).

On ne sait pas non plus si les ouvrières d'*A. decemarticulatus* « nettoient » la surface de leur hôte, ce qui pourrait avoir un impact positif sur son activité photosynthétique. Les nombreux épiphylls recouvrant les vieilles feuilles laissent cependant penser que si elle existe, cette activité est limitée. D'autre part, l'absorption par *H. physophora* de nutriments contenus dans les débris de l'activité des fourmis reste à examiner en détail. Une comparaison des ratios d'isotopes stables ($\delta^{15}\text{N}$) mesurés sur des plants d'*H. physophora* a été menée et n'a

pas révélé de différence significative, n'apportant donc aucun soutien à l'hypothèse de myrmécotrophie (Solano et Dejean 2004). Cependant, des expériences récentes ont montré que ce même ratio était significativement plus élevé dans les plants dont les colonies avaient été suralimentées que dans les plants habités par des colonies témoins (Dejean, comm. pers., voir Annexe 1.5 pour le protocole de suralimentation). Des travaux supplémentaires sont donc nécessaires pour comprendre ces résultats. Ils devront notamment explorer le rôle que pourrait avoir le champignon se développant sur le piège des *A. decemarticulatus* dans un éventuel transfert de nutriments depuis les débris de proies capturées jusqu'à la plante.

Enfin, certains aspects de l'activité des fourmis, sans être spécifiquement dirigés vers leur hôte, peuvent néanmoins agir positivement sur la plante. Ainsi, Leroy et al. (2008) ont décrit la présence de stomates à l'intérieur même des poches foliaires, ce qui pourrait indiquer un échange gazeux entre *H. physophora* et ses occupants, la plante profitant par exemple d'un apport supplémentaire de CO₂ via la respiration des fourmis.

4. Effets négatifs de l'association sur *Allomerus*

Comme pour toutes les fourmis associées à des plantes myrmécophytes, le fait d'habiter un nid constitué de matériel vivant peut impliquer pour *A. decemarticulatus* deux types de contraintes susceptibles d'influencer fortement son mode de vie. D'une part, la plante est la cible de divers organismes phytophages, comme cela a été illustré précédemment. La préservation de l'intégrité du nid passe donc par des interactions biotiques antagonistes fréquentes, source éventuelle de coûts directs pour les fourmis. D'autre part, l'espace disponible pour la nidification dépend de la croissance de la plante-hôte. L'agrandissement du nid, si nécessaire, ne dépend donc pas directement de l'activité des ouvrières contrairement aux espèces creusant le sol ou assemblant divers types de matériaux. Cela peut potentiellement devenir un facteur limitant de la croissance de la colonie. Nous avons vérifié l'existence de ces deux types de contraintes pour *A. decemarticulatus* vivant sur *H. physophora*, et tenté d'estimer dans quelles mesures elles peuvent peser dans l'évolution de l'association.

4.1. Les patrouilles sont-elles coûteuses pour les colonies ?

Les patrouilles constantes des ouvrières pourraient constituer un coût direct pour les colonies de fourmis. En effet, les individus occupés à cette tâche sont autant d'ouvrières ne participant pas aux soins du couvain, à la construction et à l'entretien du piège ou à son utilisation pour capturer des proies. On peut alors se poser deux questions relatives à l'investissement que représente cette activité pour une colonie : 1) Quels facteurs proximaux motivent ce comportement de patrouille et l'orientent préférentiellement sur les jeunes feuilles ? Autrement dit, n'y aurait-il pas d'effets plus immédiats et directs pour les fourmis que la protection à long-terme de la plante, *via* d'éventuelles récompenses ? 2) Au sein d'une colonie, cette activité occupe-t-elle une proportion importante d'individus ?

4.1.1. Les patrouilles sont-elles récompensées ?

D'une façon générale, les facteurs proximaux orientant les patrouilles des fourmis sur leurs plantes-hôtes sont mal connus, mais l'on sait que des récompenses alimentaires de même que des odeurs attractives peuvent en faire partie (Brouat et al. 2000; Heil et McKey 2003). Nous avons tenté d'évaluer ces deux hypothèses dans le système *A. decemarticulatus/H. physophora*.

Hypothèse des ressources

La présence de nectaires extra-floraux sur la face abaxiale des limbes foliaires d'*H. physophora* est connue (Leroy et al. 2008). Or, les comptages instantanés des ouvrières patrouillant les feuilles nous ont révélé que celles-ci sont significativement plus nombreuses en face abaxiale sur les feuilles de stade 1. Elles se répartissent de façon égale entre les deux faces sur les feuilles de stade 2 et 3, et enfin préfèrent la face adaxiale au stade 4 (Fig. 10C p.49). Ce pattern pourrait refléter une production de nectar décroissant avec l'âge de la feuille, à l'instar de nombreuses plantes dont les nectaires sont plus actifs sur les parties en développement (Koptur 1992). Une partie des ouvrières présentes sur les feuilles pourraient donc y être afin de récolter du nectar.

Deux raisons conduisent à penser que la présence des nectaires n'explique que partiellement la présence des fourmis sur les feuilles. Premièrement, en filmant des ouvrières d'*A. decemarticulatus* patrouillant des feuilles de stade 1 d'un *H. physophora* en pot, nous

avons pu constater que les nectaires n'étaient apparemment pas leur seul but, même en face abaxiale des feuilles. En effet, si elles enfoncent bien régulièrement leur tête à travers les trichomes très denses pour atteindre le limbe, elles le font parfois dans des parties de la feuille ne possédant pas de nectaires. De plus, elles parcourent toute la feuille, et semblent inspecter le pétiole ou la pointe de la feuille tout autant que les zones à nectaires. Quelques-unes ont même été observées en train de couper des trichomes du limbe pour ensuite les transporter, parfois jusqu'à d'autres feuilles, mais ce comportement semble marginal. Deuxièmement, si les ouvrières ne visitaient les feuilles que dans le but de récolter du nectar, pourquoi certaines fréquenteraient-elles les faces supérieures des feuilles, d'autant plus que l'entrée des domaties est en face inférieure ? Et surtout, pourquoi fréquenteraient-elles même significativement plus les faces supérieures des vieilles feuilles ? On peut faire l'hypothèse qu'un autre type de ressource alimentaire intervient : les proies se posant sur les feuilles. En effet, il faut noter qu'au cours de leur développement, les feuilles ne font pas que grandir, elles changent aussi de position : verticales au stade 1, elles s'inclinent pendant leur expansion au stade 2 et finissent par être horizontales à maturité, à partir du stade 3. Or, il est possible qu'une surface horizontale facilite l'atterrissage des insectes, surtout ceux de grande taille. Ainsi, l'inclinaison du limbe pourrait influencer la probabilité avec laquelle un insecte volant se pose à sa surface, et donc la probabilité pour les fourmis de rencontrer une proie potentielle. On sait par ailleurs que les ouvrières d'*A. decemarticulatus* sont capables d'adopter un comportement de prédation à la surface des feuilles et de capturer des proies. Cela a été testé artificiellement par Dejean et al. (2001) en déposant des insectes sur les limbes, mais également observé occasionnellement sur le terrain (par exemple avec des fourmis ailées d'autres espèces, voir Fig. 14).



Figure 14. Reine fondatrice de *Crematogaster* sp. capturée par des ouvrières d'*A. decemarticulatus* sur une feuille d'*H. physophora*. Les ouvrières sont en train d'immobiliser la reine en saisissant ses pattes et ses antennes.

Hypothèse des odeurs attractives

Nous avons voulu tester l'hypothèse selon laquelle la distribution des ouvrières sur le feuillage pourrait être influencée par des variations qualitatives ou quantitatives de composés chimiques attractifs au cours du vieillissement foliaire. Dans ce but, nous avons choisi de réaliser des extraits chimiques de feuilles par le biais de bains de solvants à l'hexane (voir 2^{ème} partie, p.107). Cette méthode présente l'avantage de pouvoir tester biologiquement les extraits sur les fourmis, et elle a été utilisée avec succès dans le même but par Brouat et al. (2000) dans l'étude d'une autre association plante-fourmis. Chaque test se déroulait de la façon suivante : 20 ouvrières d'*A. decemarticulatus* étaient placées dans une boîte de Pétri dont les bords étaient préalablement recouverts de Fluon pour empêcher les évasions. Après les avoir laissé parcourir la boîte pendant une dizaine de minutes, deux morceaux de papier filtre de taille et de forme identiques était déposé dans la boîte. Sur l'un était déposé 100µl d'extrait de feuille de stade 1, sur l'autre 100µl d'extrait de feuilles de stade 4. Dans les deux cas, les morceaux de papiers filtres n'était déposés dans les boîtes qu'après avoir laissé le solvant s'évaporer pendant une minute environ. Le comptage commençait immédiatement après avoir déposé les papiers : le nombre d'ouvrières en contact avec chaque papier était ensuite relevé toutes les trente secondes pendant 10 minutes. Douze réplicats ont été réalisés.

Les résultats ne montrent aucune préférence des ouvrières pour l'un ou l'autre extrait, quelque soit la façon de les analyser. Par exemple, le nombre moyen d'ouvrières par période de 10 minutes ne diffère pas significativement ($1,39 \pm 0,95$ vs. $1,33 \pm 0,67$ pour les extraits de stade 1 et 4, respectivement ; test t : $p = 0,87$).

Au vu de ces différents résultats et observations, il apparaît que la présence des ouvrières d'*A. decemarticulatus* sur les feuilles d'*H. physophora* est influencée par une combinaison de plusieurs facteurs. Si la question nécessite encore clairement des travaux supplémentaires, notamment des tests d'attraction chimique plus diversifiés utilisant différents solvants, il est probable que la recherche de ressources alimentaires soit le principal facteur en jeu. Cela englobe d'une part la récolte de nectar extra-floral, mais aussi la capture occasionnelle de proies, phytophages ou non, s'étant posées sur le feuillage de la plante. Par conséquent, une partie des ouvrières patrouillant les feuilles, dont l'importance est difficile à estimer, regagne les domaties avec de la nourriture. Ainsi, les patrouilles s'apparentent au moins partiellement à un comportement de fourragement. Un coût énergétique direct n'existe que lorsque les patrouilleuses ne rapatrient aucune nourriture.

4.1.2. Les patrouilles mobilisent-elles un grand nombre d'individus ?

Pour savoir si le nombre d'ouvrières patrouillant les feuilles d'*H. physophora* représente une partie importante ou non des colonies d'*A. decemarticulatus*, nous avons estimé la proportion moyenne d'individus occupés à cette tâche dans les colonies matures. Pour cela, nous avons procédé de la façon suivante :

- 1) Calcul de la taille moyenne d'une colonie mature (N):

La détermination précise des effectifs de plusieurs colonies habitant des *H. physophora* de différentes tailles a permis de déterminer que le nombre des ouvrières est corrélé au nombre total de domaties (voir partie suivante), l'équation de régression étant la suivante : $y = 31,045x + 13,536$. Or, le nombre total moyen de domaties sur les *H. physophora* témoins utilisés pour nos expériences d'exclusion était de 33,4. Par conséquent :

$$N = 31,045 * 33,4 + 13,536 = 1050,4.$$

- 2) Calcul du nombre moyen de patrouilleuses (P) à un instant t :

Sur ces mêmes plantes témoins utilisées pendant nos expériences d'exclusion, on connaît le nombre moyen de feuilles par plant (F), et ce pour chacun des 4 stades de développement foliaire que nous avons alors défini. De plus, grâce à des comptages instantanés, nous connaissons le nombre moyen d'ouvrières (O) sur des feuilles de ces différents stades chez des colonies matures (voir Fig. 10). Par conséquent :

$$P = F_4 * O_4 + F_3 * O_3 + F_2 * O_2 + F_1 * O_1$$

$$P = 9,2 * 1,3 + 3,6 * 4,6 + 2,3 * 5,8 + 0,6 * 13,6 = 50,1.$$

- 3) Pourcentage des ouvrières participant aux patrouilles dans une colonie (p):

$$p = \frac{P}{N} * 100 = \frac{50,1}{1050,4} * 100 = 4,8$$

Ainsi, dans les colonies matures, le nombre d'ouvrières occupées à patrouiller le feuillage de leur plante-hôte est d'environ 5% en moyenne. Occasionnellement, cette proportion augmentera en cas d'attaque d'une feuille du fait du recrutement qu'une telle situation induit.

4.2. Le développement des plantes restreint-il celui des colonies ?

Afin de savoir si la croissance des plants d'*H. physophora* peut influencer la croissance et la reproduction des colonies d'*A. decemarticulatus*, nous avons dénombré précisément les effectifs des différentes castes d'individus habitant des plantes offrant des domaties plus ou moins nombreuses (voir Annexe 1.5). Le nombre de domaties peut en effet être considéré comme un bon indicateur de croissance des plantes.

Les résultats montrent que la taille totale des colonies ainsi que le nombre d'individus sexués sont fortement corrélés au nombre de domaties (Fig. 15 et 16A). Par ailleurs, au sein de la catégorie des individus sexués, on peut remarquer que la relation linéaire est bien marquée pour le couvain (larves et nymphes sexuées, reconnaissables à leur grande taille, Fig. 16B), mais moins quand on ne considère que les sexués adultes (Fig. 16C, notez la valeur de R^2 qui n'est que de 41%). Cela indique peut-être que les sexués ailés quittent leur plante-mère les uns après les autres, et non pas lors d'essaimage massifs (ce qui est confirmé par d'autres observations, voir 2^{ème} Partie).

La nature corrélative des relations que nous avons mises en évidence entre le nombre de domaties et les effectifs de leurs habitants ne permettent pas d'affirmer qu'un lien de causalité lie les deux. Pourtant, plusieurs types de ressources sont susceptibles de constituer un lien direct entre les deux paramètres et ainsi d'expliquer pourquoi ils sont corrélés. C'est le cas en particulier de l'espace de nidification disponible, c'est-à-dire du volume d'abri et de stockage offert par la plante aux fourmis. C'est aussi le cas de la nourriture, et ce sous deux formes. En effet, le nombre de domaties est évidemment corrélé à la quantité de nectar produit, puisque les nectaires sont situés à l'intérieur des domaties et à la surface des limbes foliaires. Cependant, l'azote, plutôt que le sucre, est supposé être un facteur limitant vis-à-vis de la croissance des colonies. Or, on sait que le nombre de domaties est aussi corrélé à la taille des

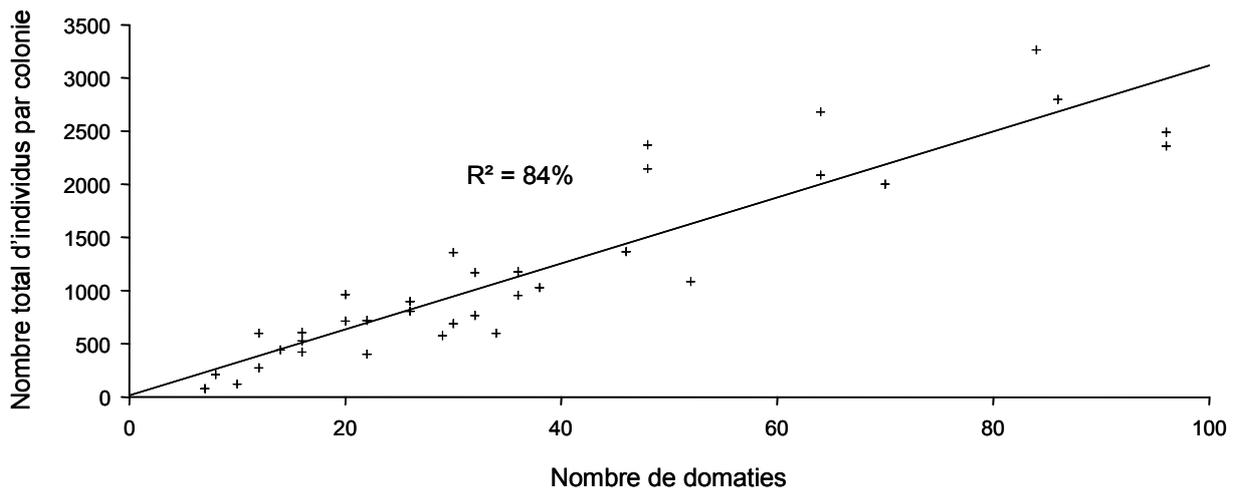


Figure 15. Taille des colonies d'*A. decemarticulatus* (nombre total d'individus) en fonction du nombre de domaties porté par leur plante-hôte *H. physophora* (Pearson : $r=0,91$; $n=35$; $p<0,0001$).

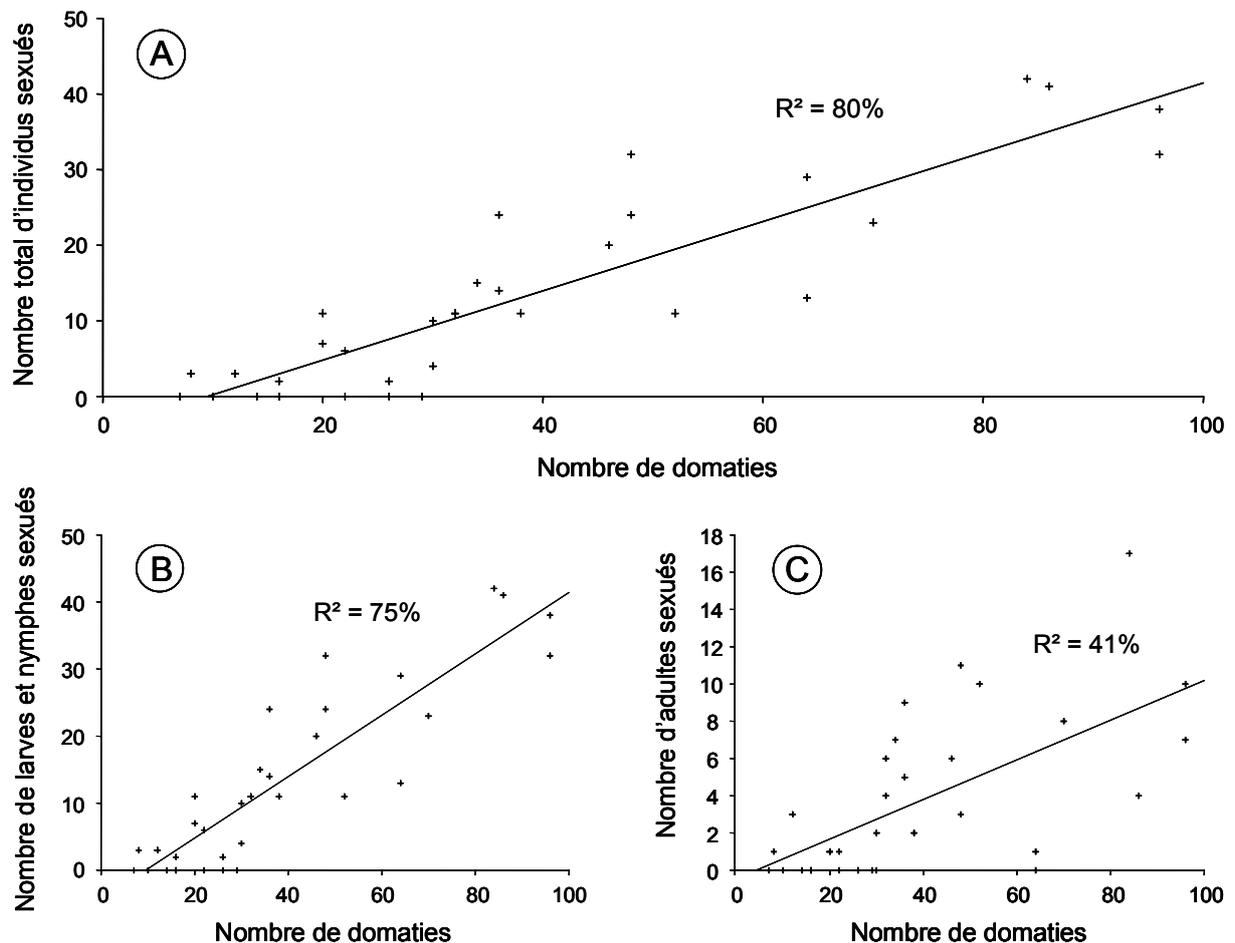


Figure 16. Effectifs des individus sexués dans les colonies d'*A. decemarticulatus* en fonction du nombre de domaties porté par leur plante-hôte *H. physophora*. **A.** Nombre total d'individus sexués (adultes et couvain) (Pearson : $r=0,89$; $n=35$; $p<0,0001$). **B.** Nombre total de larves et nymphes sexuées (Pearson : $r=0,86$; $n=35$; $p<0,0001$). **C.** Nombre total d'adultes sexués (Pearson : $r=0,64$; $n=35$; $p<0,0001$).

plantes (Pearson : $r=0,86$; $n=19$; $p<0,0001$) et au nombre de branches qu'elles portent (Pearson : $r=0,95$; $n=19$; $p<0,0001$). Une plante plus grande avec des branches plus nombreuses permet la construction d'un piège plus étendu, et reçoit peut-être la visite de phytophages plus nombreux, augmentant le succès prédateur des fourmis.

Cependant, plusieurs arguments laissent penser que c'est l'espace qui est la ressource clé des corrélations observées. Premièrement, le taux d'occupation des domaties est toujours élevé (moyenne \pm ET = $86,6 \pm 13,5\%$), même lorsque ces dernières sont nombreuses (Fig. 17).

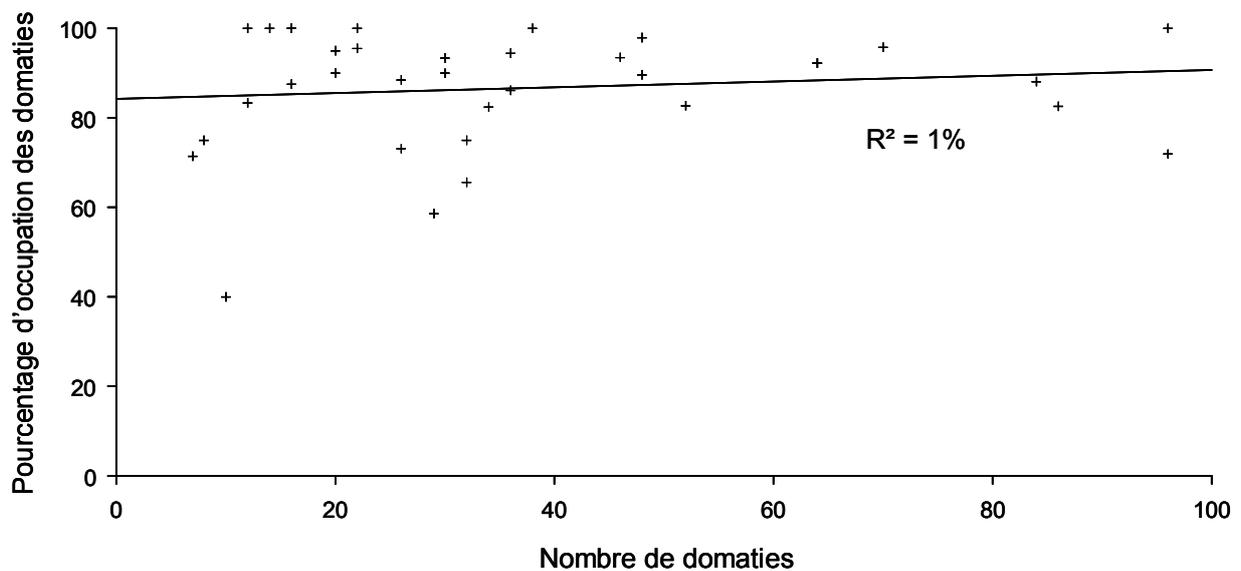


Figure 17. Pourcentage de domaties occupées par les colonies matures d'*A. decemarticulatus* sur les plants d'*H. physophora* en fonction du nombre total de domaties qu'ils portent (Pearson : $r=0,12$; $n=35$; $p=0,49$).

Deuxièmement, si l'apport en nourriture était le facteur limitant majeur, on peut penser qu'un apport en proies supplémentaires dans des colonies matures entraînerait une croissance de la colonie plus importante et notamment un plus grand nombre de sexués car leur production requiert un apport en azote très important. Or, une expérience de nourrissage mise en place dans le but de tester le possible caractère limitant de l'apport en proies ne soutient pas cette hypothèse (voir Annexe 1.5 pour le protocole détaillé). En effet, des colonies suralimentées ne produisent pas significativement plus d'individus sexués (Fig. 18).

Enfin, un dernier argument va encore dans le même sens : les ouvrières d'*A. decemarticulatus* ne fourragent jamais ailleurs que sur leur plante. Comment pourrait-on expliquer cela si la nourriture était effectivement le facteur limitant majeur de la croissance de la colonie ?

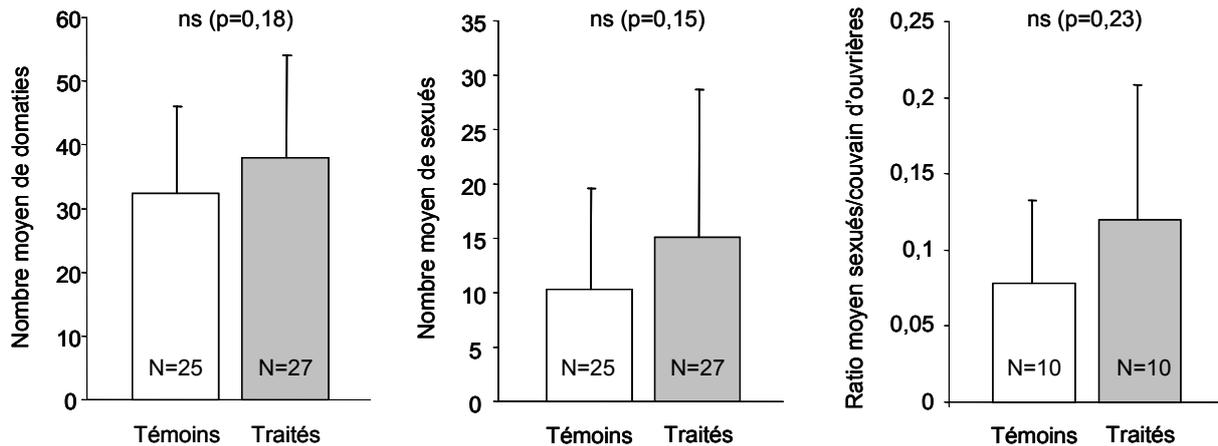


Figure 18. Expérience de nourrissage : caractéristiques des plantes et résultats. **A.** Nombre de domaties moyen par plante dans les lots témoin et traité (l'espace fourni dans les deux lots ne diffère pas significativement). **B.** Nombre total moyen d'individus sexués (adultes et couvain) par plante (\pm ET). **C.** Ratio moyen entre le nombre total de sexués et le nombre de larves et nymphes d'ouvrières (\pm ET). A chaque fois, un test t a été utilisé pour comparer les deux lots.

En conclusion, nos données suggèrent fortement que la croissance végétative des individus d'*H. physophora* affecte la fitness des colonies d'*A. decemarticulatus*, à travers leur croissance (nombre d'ouvrières) et leur reproduction (nombre de sexués). L'espace de nidification est le facteur limitant le plus vraisemblable pour expliquer cette relation.

4.3. Discussion

Les activités des fourmis conférant à leur hôte un moindre taux de défoliation ne semblent pas avoir de coût énergétique élevé pour les colonies. Premièrement, l'aspect de ces activités qui mobilise le plus d'individus (une présence continue sur le feuillage de la plante) n'occupe en fait qu'une très petite part de l'effectif des colonies ($\approx 5\%$). Cela ne signifie pas que la protection de la plante ne repose que sur 5% des colonies, car de nombreuses ouvrières sont à l'affût dans le piège le long des tiges et capturent des proies qui peuvent être des phytophages. En comptabilisant ces dernières, il est probable que l'on se rapproche de la proportion d'ouvrières de *Pseudomyrmex* circulant à la surface de leurs acacias et qui est d'environ un tiers de la colonie (Janzen 1975). Mais les patrouilles des limbes, cruciales vis-à-vis des phytophages qui accèdent à la plante en se posant directement sur les feuilles, n'implique qu'un nombre relativement faible d'ouvrières. Deuxièmement, même sur le feuillage, ces patrouilles s'apparentent au moins en partie à de la recherche de nourriture, ce

qui relativise leur coût. En effet, si l'investissement énergétique est le même entre des ouvrières récoltant de la nourriture sur les feuilles et d'autres n'en trouvant pas, le bilan énergétique final de la patrouille dans son ensemble n'est en revanche pas le même puisqu'il est immédiatement compensé, au moins partiellement, dans le premier cas. Notons que les deux types de ressources identifiés sont susceptibles d'être les facteurs proximaux expliquant non seulement la présence des ouvrières sur le feuillage, mais aussi leur préférence pour les jeunes feuilles vulnérables. En effet, la production de nectar semble ne plus être active sur les vieilles feuilles (voir la fréquentation quasiment nulle de leur face abaxiale), et la rencontre occasionnelle de proies peut être supposée plus probable sur les jeunes feuilles car ces dernières sont celles préférées par les phytophages. La distribution spatiale des patrouilles d'ouvrières semblent donc être dans ce système le résultat d'une sélection sur *A. decemarticulatus* favorisant la maximisation de la récolte de nourriture, plutôt que d'une attraction par des odeurs. La même conclusion a été tirée par Edwards et al. (2007) concernant *A. octoarticulatus* sur *C. nodosa*. Dans ce cas cependant, les ressources en question semblent être exclusivement liées à la production de corps nourriciers par la plante et non pas à la capture de proies sur le feuillage. Ainsi, la protection dont bénéficie *H. physophora* peut être considérée comme étant essentiellement un sous-produit de l'activité de fourragement des fourmis, non seulement sur les tiges avec le piège, mais aussi sur le feuillage (Connor 1995).

Les patrouilles d'*A. decemarticulatus* sur les feuilles de son hôte semblent donc ne pas se différencier beaucoup du comportement ancestral de fourragement chez les fourmis, à l'inverse par exemple de certaines espèces qui ne consomment pas les insectes tués sur leur plante-hôte (Janzen 1966). Cependant, certaines spécialisations existent et il est difficile, en l'état actuel des connaissances, d'exclure totalement l'existence d'un coût lié à la défense de la plante hôte pour *A. decemarticulatus*. Par exemple, les ouvrières recrutent systématiquement sur les sites des dommages foliaires qu'il y ait ou non présence de phytophage, ce qui pourrait constituer un investissement allant au-delà de ses activités de fourragement. Il est en effet possible que certains des phytophages qu'elles découvrent alors ne fassent pas partie de la gamme de proies qu'elles sont capables de capturer à la surface des feuilles. Des insectes trop rapides ou trop gros ne pourront être qu'éloignés et non pas capturés, et n'auraient donc peut-être pas fait l'objet d'un recrutement sans le dommage foliaire. Plus généralement, si l'on sait que ces fourmis sont capables de capturer des insectes à la surface des feuilles, on ne sait pas à quelle fréquence cela arrive. Etant donné l'efficacité du piège qu'elles construisent, il est probable que la proportion de proies capturées sur le feuillage est minime par rapport à celles des proies capturées sur les tiges. Par exemple, nous

avons vu que sur les feuilles juvéniles qui sont les plus intensément patrouillées, les proies les plus susceptibles d'être rencontrées sont vraisemblablement des œufs de lépidoptères, alors que le piège permet la capture d'insectes 2000 fois plus lourds qu'elles. De plus, même si c'est de façon minimale, les vieilles feuilles sont constamment patrouillées alors que le nectar y semble absent et la présence de phytophages très rare. Au vu de la prédation extrêmement efficace dont elles sont capables avec leur piège, il semble peu probable que cette faible probabilité de rencontre suffise à sélectionner le maintien d'un fourragement constant à cet endroit. On peut penser que la fréquentation des vieilles feuilles est plutôt le résultat d'une sélection favorisant une défense contre un risque faible mais pouvant être occasionnellement dommageable pour la plante.

McKey et al. (2005) ont analysé la structure trophique des interactions plantes-fourmis-phytophages au travers d'une approche comparative appliquée aux différentes associations *Leonardoxa*-fourmis. Il en ressort l'hypothèse selon laquelle la fonction adaptative des patrouilles à la surface des jeunes feuilles a changé au cours de la spécialisation évolutive de ces systèmes. Depuis un simple fourragement (proies et nectar) dans les associations non-symbiotiques, elle serait devenue une protection sans récompenses immédiates dans les associations symbiotiques avec les myrmécophytes les plus spécialisés (proies non capturées, pas de nectar). Dans les associations intermédiaires, les patrouilles seraient guidées à la fois par la recherche de nourriture et par la protection.

Au vu de notre analyse ci-dessus, le modèle *H. physophora/A. decemarticulatus* se placerait lui dans cette dernière situation : recherche de nourriture, mais aussi peut-être plus marginalement protection des ressources ultérieures, motiveraient les patrouilles. Mais notre modèle d'étude se différencie nettement des situations intermédiaires décrites chez *Leonardoxa* par le fait qu'*A. decemarticulatus* n'élève pas de trophobiontes et a développé des comportements de chasse extrêmement spécialisés et efficaces lui garantissant un apport en azote régulier. Or la dynamique évolutive de la fonction adaptative des patrouilles peut probablement différer d'une association à l'autre selon que les besoins en azote des fourmis tendent à être comblés par une spécialisation des récompenses alimentaires de la plante ou par une spécialisation du comportement prédateur lui-même.

Enfin, outre les coûts pouvant découler de la défense de son hôte, nos résultats suggèrent que l'espace disponible peut aussi être une source d'effets négatifs. Il semble en effet que ce soit une contrainte marquée, la taille des colonies d'*A. decemarticulatus* étant limitée par le

nombre de domaties portées par les individus d'*H. physophora*. Cela est en accord avec les travaux de Fonseca (1993; 1999) qui fournissent de nombreuses données empiriques soutenant l'hypothèse de limitation par l'espace de nidification (« *nesting space limitation hypothesis* ») dans ce type de système. Cette hypothèse définit l'espace de nidification comme une ressource essentielle et limitante pour les espèces de fourmis associées à des myrmécophytes. Elle se base sur le constat que la plupart d'entre elles nichent exclusivement dans les domaties de leur hôte. Fonseca (1999) a testé les prédictions de cette hypothèse à quatre niveaux d'organisation différents (individu, colonie, population et communauté) ; à chaque fois elles ont été validées. On peut cependant noter que le nombre de plantes utilisées par Fonseca était alors assez faible (cinq seulement pour chacune des huit associations étudiées ; taux d'occupation moyen des domaties = 92% tous systèmes confondus). Dans notre cas, les résultats confirment un taux d'occupation élevé (86,6%) et une limitation par l'espace au niveau colonial, mais sur la base d'un échantillonnage beaucoup plus important (35 colonies).

5. Effets négatifs de l'association sur *Hirtella*

Parmi les impacts négatifs que peut avoir *A. decemarticulatus* se trouvent bien sûr les coûts de production des récompenses qui leur sont destinées, à savoir un abri sous forme de domaties et de la nourriture sous forme de nectar. Mais certaines espèces de fourmis sont connues pour avoir de par leur comportement un effet négatif sur la reproduction des myrmécophytes. Nous avons exploré ces différents effets, évidents ou potentiels.

5.1. Production du nectar et des domaties

La production de nectar représente un coût énergétique pour *H. physophora* dont il est impossible pour l'heure d'évaluer l'importance, la composition de ce nectar étant inconnue. La synthèse des poches foliaires représente aussi nécessairement un coût pour le myrmécophyte, puisqu'il s'agit d'une production de biomasse investie dans l'élaboration de structures spécialisées dans l'accueil des fourmis. Là encore, l'importance du coût est difficile à mesurer. On peut noter que les premières feuilles des jeunes plants d'*H. physophora* ne portent pas de domaties alors que leur limbe porte des nectaires (Fig. 19). Cela pourrait

suggérer que la présence constante des fourmis est coûteuse pour les plants juvéniles et qu'elle ne peut supporter ce coût qu'à un stade ontogénique plus avancé. Leroy et al. (2008) ont d'ailleurs montré que la formation de ces poches foliaires relevait d'un processus de différenciation des tissus bien marqué par rapport à ceux du limbe, avec notamment une capacité photosynthétique réduite et des tissus plus épais. Il ne serait donc pas surprenant qu'elle constitue une part non-négligeable du coût de production des feuilles.

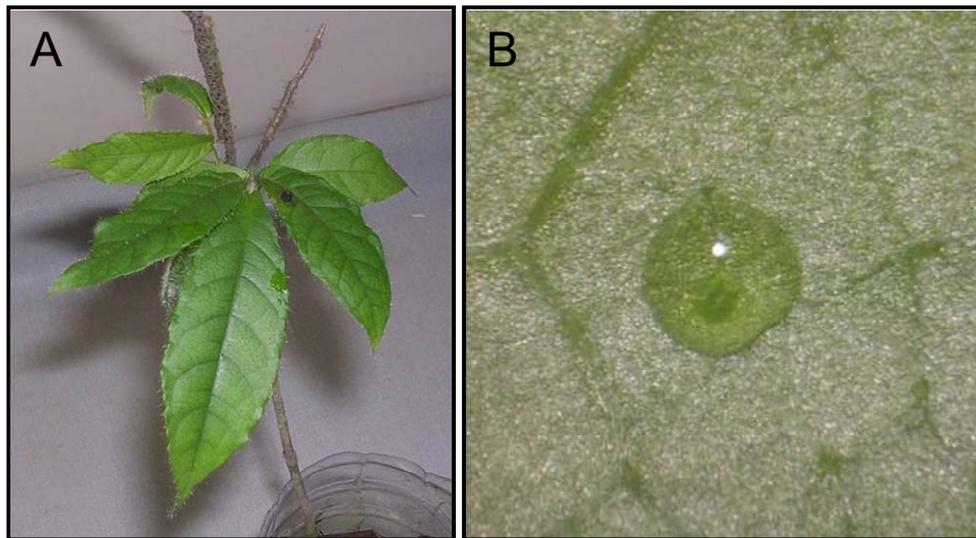


Figure 19. **A.** Nouvelles feuilles sans domaties sur un plant d'*H. physophora* ayant précédemment perdu toutes ses feuilles et la colonie qui l'habitait. **B.** Observation à la loupe binoculaire d'un nectaire extra-floral porté en face abaxiale d'une de ces feuilles. Le nectar que l'on voit a pu s'accumuler pendant plusieurs semaines en l'absence des fourmis.

5.2. Impact des fourmis sur la reproduction

Un individu dispose de ressources énergétiques limitées pour assurer sa croissance et sa reproduction, si bien qu'un compromis est attendu entre ces deux paramètres. Dans le cas des mutualismes plantes-fourmis où un partenaire tire profit de la croissance de l'autre, on peut donc penser que des comportements favorisant l'investissement de la plante dans la croissance plutôt que dans la reproduction aient pu être sélectionnés. Or, il est apparu que certaines fourmis manipulaient bien leur hôte de cette façon, en « castrant » leur plante-hôte (destruction des fleurs ou bourgeons floraux). Dans les cas décrits, cela entraînerait en effet chez le myrmécophyte un détournement de l'investissement énergétique depuis la reproduction vers la croissance, et aboutit à une synthèse accrue de domaties et/ou de

récompenses alimentaires profitables aux fourmis (Yu 2001). Ce comportement a notamment été mis en évidence chez *A. octoarticulatus* sur les plantes *H. myrmecophila* (Izzo et Vasconcelos 2002). Nous avons vu précédemment que l'espace offert par la plante constituait un facteur limitant pour le développement des colonies d'*A. decemarticulatus* (voir paragraphe 4). Ainsi, dans le cadre de nos objectifs, il était donc important de savoir si les ouvrières d'*A. decemarticulatus* présentent ce comportement de castration et induisent de tels effets sur *H. physophora*, car cela pourrait avoir un impact très négatif pour la plante.

Notre approche a été de suivre la reproduction de plantes avec et sans fourmis, pour détecter un éventuel impact de ces dernières sur la reproduction d'*H. physophora*. Les expériences d'exclusion que nous avons mené dans le but d'étudier l'impact de l'herbivorie et la re-colonisation des plantes (Annexe 1.1) n'avaient cependant pas permis d'atteindre cet objectif. La raison en est simple : il s'agissait alors de contrôler les états initiaux et finaux des plantes lors de relevés instantanés ne correspondant pas forcément aux périodes les plus propices à l'étude de la floraison ou de la fructification (ainsi, aucune fleur et un seul fruit avait pu être observé lors de ces relevés sur l'ensemble des plantes utilisées, traitées et témoins groupées).

Par conséquent, une autre expérience d'exclusion a été menée, spécifiquement dédiée à cet objectif. Cinquante plantes habitées par des colonies matures en bonne santé ont été sélectionnées au sein d'un même site. En avril 2006, 25 d'entre elles ont été traitées de façon à exclure complètement leurs hôtes (injection d'insecticide dans les domaties avec une seringue), tandis que les 25 autres étaient désignées comme témoins (3 témoins sont par la suite morts pendant la période de suivi, ce qui ramène leur nombre total à 22). Pour cette expérience, le choix d'un insecticide a été fait dans la mesure où, contrairement aux premières expériences d'exclusion, la re-colonisation ne nous intéressait pas et était même indésirable. Par ailleurs, des tests préliminaires ont permis de vérifier que l'insecticide utilisé (du pyrèthre, à faible durée de vie) n'avait pas d'effets néfastes sur les plantes. Par la suite, une fois par mois jusqu'en septembre 2007, les paramètres suivants ont été relevés sur chaque plante : le nombre total de feuilles, le nombre de nouvelles feuilles apparues depuis le mois précédent, le nombre de boutons floraux, le nombre de fleurs et le nombre de fruits. En cas de recolonisation constatée au cours de la période de suivi, de nouvelles injections d'insecticide ont été réalisées.

Les résultats révèlent tout d’abord les patrons temporels de croissance et de reproduction chez *H. physophora*. L’examen de ce qui a été obtenu pour les plants témoins révèle ainsi que la production de nouvelles feuilles, bien que continue, connaît un pic avec 100% des plantes en produisant au milieu de la grande saison sèche. A l’inverse, la production de boutons floraux semble connaître deux pics dans l’année, au cours des saisons humides, alors qu’elle est nulle à la fin de la saison sèche (Fig. 20).

Pour comparer les résultats des lots traités et témoins, nous avons considéré d’une part les productions des différents organes constatées sur l’ensemble de la période de 18 mois (test de Mann-Whitney), et d’autre part la proportion de plants les produisant mois par mois (test exact de Fisher). Dans les deux cas, il n’apparaît presque aucune différence significative concernant les différents paramètres liés à la reproduction. Les plantes sans fourmis ne produisent pas significativement plus de boutons floraux, de fleurs ou de fruits, que les plants témoins (Tab. 7 et Fig. 20). Au contraire, la seule différence significative est un retard chez le lot traité du pic de production de boutons floraux entre novembre et février 2007 par rapport au lot témoin (Fig. 20). En revanche, la moindre production de feuilles chez les plantes sans fourmis (déjà montrée par les précédentes expériences, voir paragraphe 2.1) est ici confirmée (Tab. 7). Cependant, on constate que cet effet est surtout marqué pendant quatre mois, lors du premier pic de production de feuilles suivant le traitement, pendant la saison sèche (Fig. 20).

Tableau 7. Nombre moyen (\pm écart-type) de nouvelles feuilles, boutons floraux, fleurs et fruits produits par des plants d’*H. physophora* témoins (habités par *A. decemarticulatus*, N=22) et traités (sans fourmis, N=25) sur une période de 18 mois. Les résultats des lots témoins et traités ont été comparés à chaque fois en utilisant le test de Mann-Whitney.

	Témoins	Traités	Test Mann-Whitney
Nouvelles feuilles	24,9 \pm 9,1	17,4 \pm 10,8	U = 134,5; p < 0.01
Boutons floraux	19,8 \pm 16,1	18 \pm 18,5	U = 245; p = 0,53
Fleurs	2,3 \pm 4,2	2,4 \pm 3,4	U = 251,5; p = 0,62
Fruits	0,7 \pm 1,4	0,3 \pm 0,6	U = 237,5; p = 0,42

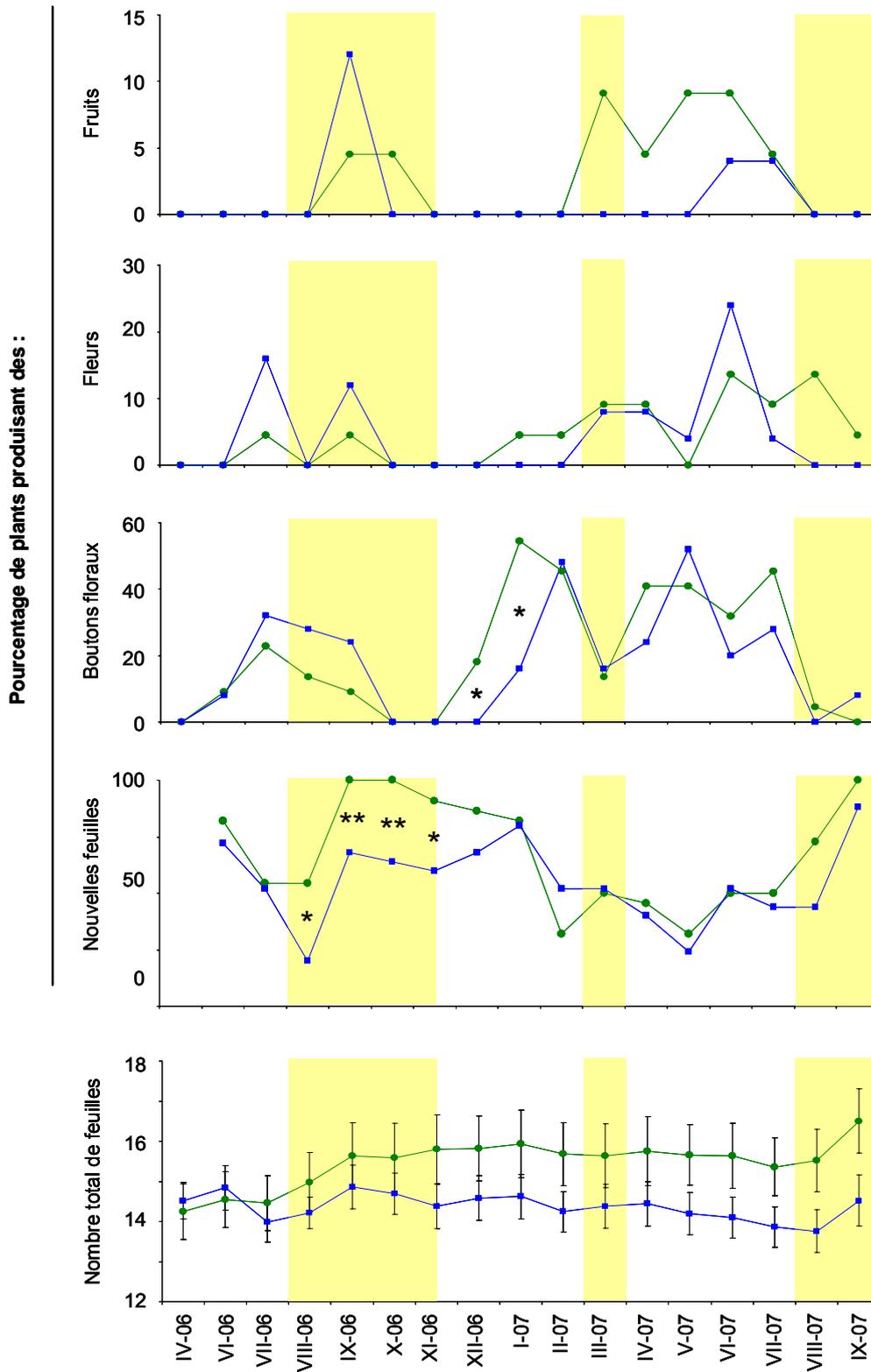


Figure 20. Valeurs de différents paramètres mesurant la croissance végétative et la reproduction d'*H. physophora* en fonction de la date, sur des plants habités par des colonies matures (N=22, courbes vertes) et des plants traités dont les colonies ont été exclues (N=25, courbes bleues). Les périodes de saison sèche sont indiquées en jaune sur les graphiques. * et ** indiquent des différences significatives à $p < 0,05$ et $p < 0,01$ au test exact de Fisher.

5.3. Discussion

Notre travail n'a pas eu pour objectif de quantifier précisément le coût des récompenses offertes : nous discuterons simplement des approches qui peuvent être envisagées pour cela à l'avenir et des quelques observations pouvant les guider. En revanche, nos résultats montrent qu'*A. decemarticulatus* n'a vraisemblablement pas d'effet négatif important sur la reproduction de son hôte.

La question du coût de production des domaties pourrait être avantageusement abordée par le biais de comparaisons entre le développement d'individus portant de telles structures et celui d'individus conspécifiques n'en portant pas. Mais cette situation ne se rencontre que très rarement, dans le cas d'espèces polymorphes dites « semi-myrmécophytes » ou chez qui les domaties sont induites par les fourmis elles-mêmes (Blüthgen et Wesenberg 2001; Gaume et al. 2005b). Une autre approche peut aussi être d'explorer cette question à travers l'ontogénie des individus : l'apparition tardive des domaties peut-elle être reliée à un coût quelconque de production de ces structures ? Par exemple, dans le cas des domaties caulinaires, la production minimale de tissus requise pour garantir la stabilité mécanique de la structure semble représenter un coût trop élevé pour les plants juvéniles de certains myrmécophytes (Brouat et McKey 2000). Dans le cas d'*H. physophora*, Leroy et al. (2008) ont montré que les poches foliaires étaient composées de tissus très différenciés par rapport à ceux des limbes, laissant simplement supposer qu'elles représentent une part non négligeable du coût de production des feuilles. Cela a été mis en évidence à partir de l'examen de feuilles matures. Des travaux complémentaires sont maintenant nécessaires pour connaître les mécanismes de formation et de développement des domaties au cours de la croissance foliaire et de l'ontogénie de la plante, afin de mieux en cerner le coût.

L'évaluation du coût de production des récompenses alimentaires nécessite d'analyser leur composition chimique et de quantifier leur production. En se basant ensuite sur des mesures de l'activité photosynthétique et sur des méthodes de calcul du coût des différents types de tissus, certains auteurs ont pu évaluer la proportion d'énergie que la plante alloue à la synthèse de ces récompenses. Par exemple, 5% de l'énergie totale du myrmécophyte *Macaranga triloba* est allouée à la production de corps nourriciers (Linsenmair et al. 2001). La concentration en sucres et acides aminés du nectar extra-floral variant beaucoup d'une espèce à l'autre (Koptur 1992), le coût qu'il représente pour les myrmécophytes devrait être évalué au cas par cas. De plus, certaines plantes disposent de mécanismes permettant de

réguler ces coûts, par exemple en produisant plus de nectar en cas d'attaque par des phytophages ou moins lorsque les fourmis sont absentes (Heil et al. 2001b; Linsenmair et al. 2001). Tous ces patrons de composition et de production doivent être explorés chez *H. physophora*, chez qui la récolte d'une quantité de nectar suffisante n'a pas encore été possible. Nos données montrent que les fourmis délaissent la face abaxiale des feuilles au fur et à mesure que celles-ci vieillissent (Fig. 10): est-ce bien dû à une production de nectar moindre ? Enfin, la composition du nectar extra-floral peut être différente de celle du nectar floral, ce qui peut être lié aux besoins nutritionnels différents des insectes « protecteurs » et des insectes « pollinisateurs » (Koptur 1992; 1994). Or l'observation d'hypanthiums percés chez *H. physophora* suggère que les ouvrières d'*A. decemarticulatus* volent en quelque sorte du nectar floral a priori destiné aux pollinisateurs (Montembault 2008). Cela pourrait constituer un « coût écologique » qu'il sera intéressant d'explorer à l'avenir.

Le suivi de plants d'*H. physophora* pendant 18 mois suggère qu'il existe une corrélation négative entre croissance végétative et reproduction chez cette espèce, puisque les périodes de production maximale de boutons floraux correspondent globalement aux périodes de production minimale de feuilles. Cependant, cela ne signifie pas forcément qu'un *trade-off* existe entre les deux. Chez des chênes par exemple, Knops et al. (2007) ont montré qu'une telle relation n'était vraisemblablement pas causale et que reproduction et croissance étaient simplement influencées de manière opposée par certaines conditions environnementales. Dans notre cas, il s'avère que les pics de production de feuilles ont lieu en pleine saison sèche et que les pics de production de boutons floraux ont lieu durant les périodes humides. L'identification précise des pollinisateurs et principaux phytophages liés à *H. physophora* aiderait à dévoiler les facteurs écologiques pouvant expliquer ces cycles temporels.

Quoi qu'il en soit, l'absence des fourmis sur les plants traités n'a pas eu d'impact majeur sur ces patrons de croissance et de reproduction, même si deux effets significatifs ont été détectés. Premièrement, les plants traités ont produit moins de feuilles, en particulier durant la saison sèche suivant le traitement. Cela confirme les résultats de nos autres expériences d'exclusion. Deuxièmement, le deuxième pic de production de boutons floraux de l'année a été moins important et plus tardif en l'absence des fourmis. Ces deux effets pourraient être une conséquence indirecte de l'augmentation du taux d'attaque par les phytophages, que nos expériences d'exclusion précédentes ont indiquées être très élevées sur les nouvelles feuilles mais également significatives sur les feuilles matures au bout de quelques mois. Ainsi, ce suivi à long terme confirme la valeur de protection qu'a *A. decemarticulatus* pour *H.*

physophora, et montre que la présence des fourmis n'a pas d'effet négatif sur la production de boutons floraux, de fleurs ou de fruits.

Néanmoins, des observations récentes relativisent cette conclusion : les ouvrières d'*A. decemarticulatus* ont été observées sur le terrain en train de s'attaquer aux boutons floraux (Pierre-Jean Malé, comm. pers.). Ce comportement a été constaté sur de nombreux plants d'*H. physophora*, et consiste en un découpage de la paroi du bouton par les ouvrières, qui pénètrent ensuite à l'intérieur. Par ailleurs, l'examen de boutons floraux récoltés sur des plants abritant des colonies matures a révélé que les filets et les anthères étaient détruits dans environ 10% des cas, possiblement coupés par les fourmis (Montembault 2008). Ce comportement d'attaque des boutons ressemble énormément à ce qui a été décrit au Brésil chez l'espèce proche *A. octoarticulatus* habitant *H. myrmecophila* (Izzo et Vasconcelos 2002). Or dans ce cas, les auteurs ont effectué une expérience d'exclusion similaire à la nôtre, avec un suivi mensuel s'étalant sur neuf mois. Leur étude montre que des dommages foliaires sont plus importants sur les plants inhabités, mais aussi que ces derniers produisent significativement plus d'inflorescences. Les auteurs soulignent aussi n'avoir jamais trouvé ni fleurs pleinement

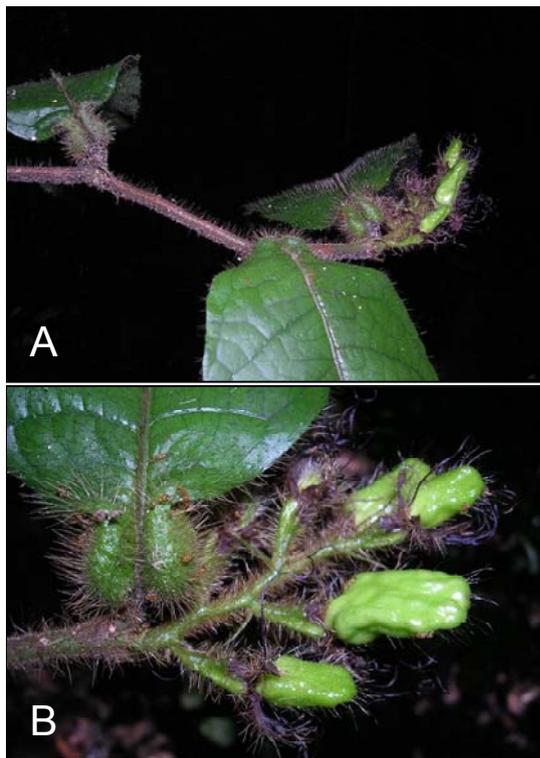


Figure 21. Fruits portés par un plant d'*H. physophora* habité par *A. decemarticulatus*. **A.** Position des fruits sur la branche. **B.** Détail.

développées ni fruits sur des branches habitées. Or, malgré un comportement similaire des fourmis vis-à-vis des boutons, nous n'avons pas trouvé dans notre modèle d'effet positif de l'exclusion des fourmis sur la production de fleurs, et il n'est pas exceptionnel de trouver des fleurs ou des fruits sur des *H. physophora* habités par des colonies matures d'*A. decemarticulatus* (Fig. 21). Par conséquent, en l'état actuel des connaissances, on peut supposer qu'*A. decemarticulatus* s'attaque aux boutons floraux d'une manière moins systématique que ne le fait *A. octoarticulatus* sur ses plantes. La « castration » qui résulte de son comportement n'est que partielle, voire marginale, et n'entraîne pas d'effets visible sur les paramètres que nous avons mesurés chez *H. physophora*.

Le comportement de « castration » des myrmécophytes par des fourmis s'explique habituellement par un supposé détournement vers la croissance de l'énergie initialement allouée par la plante dans la reproduction. Mais dans notre cas, puisqu'aucun effet significatif des fourmis n'a pu être mis en évidence sur la production de fleurs ou de fruits, le bénéfice que peut apporter une destruction partielle des bourgeons est intrigant. Il est possible que l'effet recherché soit plus direct qu'une manipulation de l'allocation d'énergie par la plante. Par exemple certaines pièces florales pourraient être consommées (certaines espèces de fourmis arboricoles sont connues pour manger du pollen, Baroni Urbani et de Andrade 1997). De plus, Montembault (2008) a récemment reporté la présence de larves de Lépidoptères consommant vraisemblablement les pièces florales à l'intérieur de boutons floraux fermés d'*H. physophora* (11% des boutons, N=64), sur des plants habités par *A. decemarticulatus*. Peut-être que les fourmis percent les boutons pour capturer ces chenilles. Des travaux supplémentaires sont nécessaires pour tester ces hypothèses, et confirmer l'absence d'effets significatifs de l'action des fourmis sur la production de fruits (peut-être en menant des études à une échelle temporelle plus fine).

Pour conclure, notons que si les colonies d'*A. decemarticulatus* ne manipulent pas la reproduction de leur hôte, elles ont pu néanmoins développer d'autres stratégies pour faire face à l'espace de nidification limité que leur impose leur mode de vie. L'une d'elles pourrait être, une fois la plante pleinement occupée, de moins investir dans la croissance de la colonie et davantage dans la reproduction et la dispersion (qui s'avère être justement très efficace chez cette espèce, voir 2^{ème} Partie). Une étude de la dynamique de développement des colonies depuis leur fondation jusqu'à leur maturité pourrait en ce sens être riche en enseignements.

6. Discussion générale et conclusion

6.1. Coûts et bénéfices

Récemment, Sachs et al. (2004) ont proposé un cadre général permettant d'organiser les différents modèles théoriques expliquant l'évolution de la coopération et du mutualisme. Trois grands modèles généraux en ressortent : « réciprocité dirigée », « gènes partagés » et « bénéfices indirects ». Dans la réciprocité dirigée, un individu réalise un acte coûteux qui

bénéficie à son partenaire spécifique, et en retour celui-ci lui rend ou compense ce bénéfice. Plus précisément, ce type d'interactions s'insère selon les auteurs dans la composante « *Partner Fidelity Feedback* » de ce modèle général, dans laquelle deux associés peuvent faire des échanges de façon si régulière qu'un changement dans la fitness de l'un peut rapidement affecter celle de l'autre (Fig. 22). Cette situation garantirait ainsi sur le long terme un niveau minimum d'investissement de la part des deux partenaires, puisqu'un tricheur diminuerait non seulement la fitness de l'autre mais aussi ses propres bénéfices en retour. Les auteurs prennent pour exemple un système décrit par Janzen (1966) où des acacias myrmécophytes offrent nourriture et domaties à leurs fourmis associées du genre *Pseudomyrmex*, lesquelles protègent en retour leur hôte contre les phytophages et les plantes compétitrices.

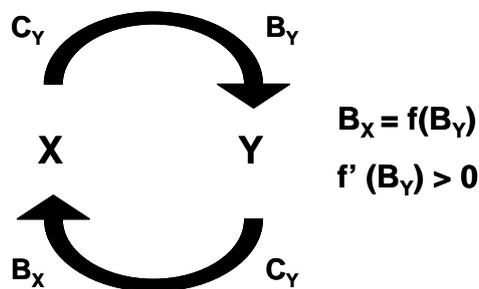


Figure 22. Représentation du modèle « *Partner Fidelity Feedback* », d'après Sachs et al. (2004). X et Y sont les deux partenaires impliqués dans des interactions prolongées. B_X et B_Y sont leurs bénéfices respectifs et C_X et C_Y leurs coûts. $B_X = f(B_Y)$ signifie que les bénéfices de X sont fonction de ceux de Y. $f'(B_Y) > 0$ indique que B_X augmente quand B_Y augmente.

Notre travail suggère que cette vision formelle des facteurs favorisant la stabilité des mutualismes plantes-fourmis ne s'applique que partiellement à l'association entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus*.

Pour la plante, il apparaît qu'un moindre investissement dans les récompenses offertes aux fourmis pourrait bien avoir à court terme des effets négatifs pour elle-même. Par exemple, la production de feuilles sans domaties sur des plants habités par des colonies bien établies pourrait peut-être constituer une économie énergétique substantielle, mais celle-ci serait rapidement contrebalancée par les risques encourus. De telles feuilles bénéficieraient sans doute d'une protection moindre, notamment car le recrutement d'ouvrières sur les sites de dommages foliaires semble se faire à un niveau très local d'après nos observations. De même, une moindre production de nectar affecterait probablement négativement *A. decemarticulatus* pour qui il s'agit de leur seule source de sucres disponible. On peut penser que cela finirait

donc rapidement par diminuer la qualité de la protection offerte par les ouvrières contre les phytophages. Or nos résultats démontrent clairement que la croissance d'*H. physophora* dépend beaucoup de la protection des fourmis. Le système d'effets rétroactifs décrit par le modèle du « *Partner Fidelity Feedback* » pourrait donc bien contribuer à maintenir les investissements mutualistes d'*H. physophora* à un niveau minimum. Par ailleurs, cet équilibre ne semble pas être menacé par les effets négatifs d'*A. decemarticulatus* sur les éléments reproducteurs de la plante, car ceux-ci sont apparemment très limités et sans commune mesure avec les cas de castration décrits jusque-là.

Pour les fourmis, la situation est plus complexe et correspond beaucoup moins bien à ce modèle théorique. Contrairement à son hôte, *A. decemarticulatus* ne semble pas réaliser beaucoup d'investissements « dirigés » vers son partenaire. Nous avons vu que les activités par lesquelles elle assure une défense indirecte à *H. physophora* peuvent être assimilées en grande partie à du fourragement. C'est évident pour les ouvrières chassant à l'affût dans le piège le long des tiges, mais nos résultats montrent que c'est aussi le cas pour les ouvrières, relativement peu nombreuses, patrouillant le feuillage. Elles peuvent venir sur les feuilles pour y trouver du nectar. De plus, elles semblent souvent adopter un comportement prédateur lors des patrouilles, à l'inverse des *Pseudomyrmex* qui ne consomment que très rarement les intrus visitant leur acacia et se contentent souvent de les faire fuir (Janzen 1966). Si le service rendu par *A. decemarticulatus* à son hôte est un sous-produit d'activités « égoïstes », il ne peut pas être soumis à des pressions de sélection favorisant l'apparition de comportements exploités et apparaît donc évolutivement stable en soi.

Néanmoins, nous avons vu qu'il était difficile d'exclure totalement l'existence d'un coût réel en l'état actuel de nos connaissances sur les facteurs proximaux guidant les activités des ouvrières sur les feuilles. Bien que les patrouilles d'*A. decemarticulatus* ne se distinguent pas beaucoup du comportement de fourragement ancestral qu'ont des fourmis non associées à des myrmécophytes, elles présentent tout de même quelques spécialisations susceptibles d'avoir un coût (voir p. 68-69). Mais il s'avère que ces coûts potentiels, en plus d'être faibles, seraient de toute façon fortement sélectionnés par un mécanisme comparable à celui agissant sur les investissements d'*H. physophora*. En effet, si investissement il y a, celui-ci induit à court terme un effet rétroactif positif dont elles peuvent profiter. L'action des fourmis protège non seulement les feuilles existantes, mais favorisent surtout l'apparition et le développement de nouvelles feuilles qui sont pour elles autant de ressources supplémentaires ultérieures (nectaires et domaties). Nous avons démontré que sans protection, la production de nouvelles

feuilles diminuait significativement en quelques semaines seulement, et que celles qui émergeaient souffraient d'un taux d'attaque très élevé limitant leur utilisation par les fourmis. De plus, le développement des colonies, et notamment la production d'individus sexués, est limité par l'espace offert par les domaties. Par conséquent, les comportements favorisant la défense de la plante doivent être fortement sélectionnés. Des comportements tricheurs visant à économiser les éventuels faibles coûts imposés par la défense de la plante seraient donc de toute façon rapidement sanctionnés par ce phénomène de rétroaction agissant à court terme.

Ainsi, les bénéfices réciproques obtenus par *H. physophora* et *A. decemarticulatus* dans le cadre de leur association spécifique semblent être évolutivement stables chez l'un et l'autre, mais pour des raisons globalement différentes. Chez le myrmécophyte, le ratio coûts/bénéfices est équilibré par les effets rétroactifs négatifs qu'aurait à court terme une stratégie de tricherie, sa croissance dépendant étroitement du degré d'activité des fourmis. Chez les fourmis, un mécanisme similaire intervient peut-être mais de façon minoritaire. La stabilité du service rendu vient plutôt du fait que ce dernier consiste essentiellement en des activités non spécifiquement dirigées vers son hôte et probablement pas beaucoup plus coûteuses qu'une simple activité de fourragement.

Cela nous conduit donc à considérer le fonctionnement de l'association entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus* comme un exemple de « **pseudoréciprocité** » plutôt que de « réciprocité dirigée ». Selon Leimar et Connor (2003), le concept de pseudoréciprocité englobe toute interaction mutualiste au sein de laquelle il y a des investissements permettant à son auteur de profiter d'un bénéfice qui est un sous-produit de l'activité du partenaire (« *by-product benefit* »). Un exemple fourni par ces auteurs est l'association entre des fourmis et des chenilles de Lycaenidae, dans laquelle les chenilles investissent dans la production de récompenses alimentaires et bénéficient en retour d'une défense contre les prédateurs qui est le sous-produit du comportement que les fourmis ont à l'égard de toute source de nourriture. Dans notre cas, le myrmécophyte investit dans plusieurs traits coûteux (nectar et domaties) lui assurant en retour une défense contre les phytophages qui est un sous-produit de l'activité de fourragement des fourmis. Ces dernières, quant à elles, ne présentent pas de traits mutualistes très coûteux spécifiquement dirigés vers leur hôte.

A noter qu'outre la protection, d'autres sous-produits de la présence des fourmis sont à explorer dans des travaux ultérieurs car eux aussi pourraient éventuellement bénéficier à la plante. Il s'agit de la respiration des fourmis dans les domaties qui est susceptible de fournir du CO₂ à la plante par le biais des stomates localisés à l'intérieur des poches foliaires, mais

aussi des débris de l'activité des fourmis qui pourraient constituer un apport de nutriments pour la plante (myrmécotrophie).

6.2. Facteurs de facilitation et de limitation

Notre bilan des interactions entre les deux partenaires fait ressortir d'autres types d'effets qui cette fois, ne rentrent pas dans le cadre de la pseudoréciprocité décrite ci-dessus. Ces effets peuvent être positifs ou négatifs : nous les appellerons facteurs de « facilitation » ou de « limitation », respectivement. Ils se différencient des coûts et bénéfices décrits précédemment dans le sens où ils ne résultent pas d'un investissement dirigé, ni directement (comme l'est par exemple le bénéfice que représente les domaties pour les fourmis) ni indirectement (comme l'est par exemple la protection contre les phytophages dont la plante bénéficie suite à la production d'abri et de nourriture pour les fourmis – « *by-product benefit* »). Par définition, ces facteurs de facilitation et de limitation ne concernent donc que les fourmis, puisque pour la plante, tout effet infligé par ses partenaires est le résultat plus ou moins direct de son investissement pour les accueillir.

Ainsi, nous avons identifié comme facteur de facilitation le fait que vivre sur les plants d'*H. physophora* limite les contacts avec les territoires et aires de fourragement des autres colonies de fourmis, et donc le risque de rencontres antagonistes. Il semble bien que l'architecture de la plante et sa distribution dans le sous-bois contribuent directement à cela, même s'il est possible que les fourmis accentuent elles-mêmes cet isolement en élaguant la végétation venant au contact de leur hôte (ce qui est suggéré par certaines observations). Les trichomes peuvent aussi être considérés comme un facteur de facilitation pour *A. decemarticulatus*, puisqu'ils leur permettent de réaliser des constructions favorisant le succès des reines fondatrices et la capture de proies. Il est possible que les trichomes longs et denses présents chez de nombreuses espèces de myrmécophytes fassent partie des traits mutualistes forgés au cours de leur coévolution avec les fourmis. Ils auraient pu être sélectionnés de par le rôle protecteur qu'ils peuvent jouer pour les fourmis mutualistes vis-à-vis de leur compétiteurs de grande taille, auquel cas leur production constituerait un investissement « dirigé » au même titre que les nectaires ou les domaties. Cependant, plusieurs considérations laissent penser le contraire. Il semble ainsi que les trichomes aient souvent précédé les domaties dans l'évolution des plantes, et représentaient alors des caractères pré-adaptant les espèces au myrmécophytisme (Davidson et al. 1989). En effet, dans la plupart des

genres, dont *Hirtella*, des trichomes sont présents chez les espèces non-myrmécophytes. De plus, même sur les myrmécophytes actuels, les trichomes pourraient jouer divers rôles autres que ceux liés à l'occupation des fourmis. Ils pourraient par exemple assurer un certain degré de protection mécanique à l'encontre des phytophages en l'absence des fourmis sur les plants juvéniles. Enfin, nous avons vu qu'un facteur de limitation pour *A. decemarticulatus* était l'espace de nidification fourni par les domaties.

6.3. Conclusion

L'ensemble des effets qu'ont l'un sur l'autre *H. physophora* et *A. decemarticulatus* sont résumés dans la figure 23. Ce bilan fait ressortir leur variété et suggère que les échanges de services et récompenses ne sont pas les seuls à influencer l'effet net de l'association sur les deux partenaires : ils doivent être examinés parallèlement à ce que nous avons appelé ici les facteurs de limitation et de facilitation.

Ces derniers peuvent renforcer les investissements dirigés. Par exemple, au-delà des domaties elles-mêmes, les divers facteurs que nous avons identifiés comme facilitant la défense des colonies contribuent à faire d'*H. physophora* un refuge vis-à-vis des compétiteurs pour *A. decemarticulatus* et accentuent probablement la dépendance de cette dernière à sa plante hôte. Ces facteurs ont d'ailleurs probablement joué un rôle dans la mise en place de ces associations, certains pré-adaptant certainement les plantes à nouer des interactions étroites avec certaines fourmis non dominantes. Ils gardent apparemment leur importance dans les associations spécialisées actuelles.

D'autres facteurs peuvent à l'inverse déstabiliser le ratio coûts-bénéfices. C'est le cas du caractère limitant de l'espace de nidification qui a favorisé la sélection de comportements castrateurs dans certains systèmes. Cependant, dans notre modèle, bien que cette limitation existe, il ne semble pas y avoir de conflits marqués vis-à-vis de la reproduction de la plante. Comme on l'a vu, cette limitation par l'espace a pu au contraire favoriser le développement de certaines spécialisations dans la défense de la plante comme la réaction rapide face aux blessures foliaires. En effet, cette protection a un impact à court-terme sur la croissance de la plante, et donc sur l'obtention de nouvelles ressources pour les fourmis. Il est aussi possible que chez *H. physophora*, la destruction de bourgeons floraux n'entraîne pas d'effets rapides sur la croissance de la plante.

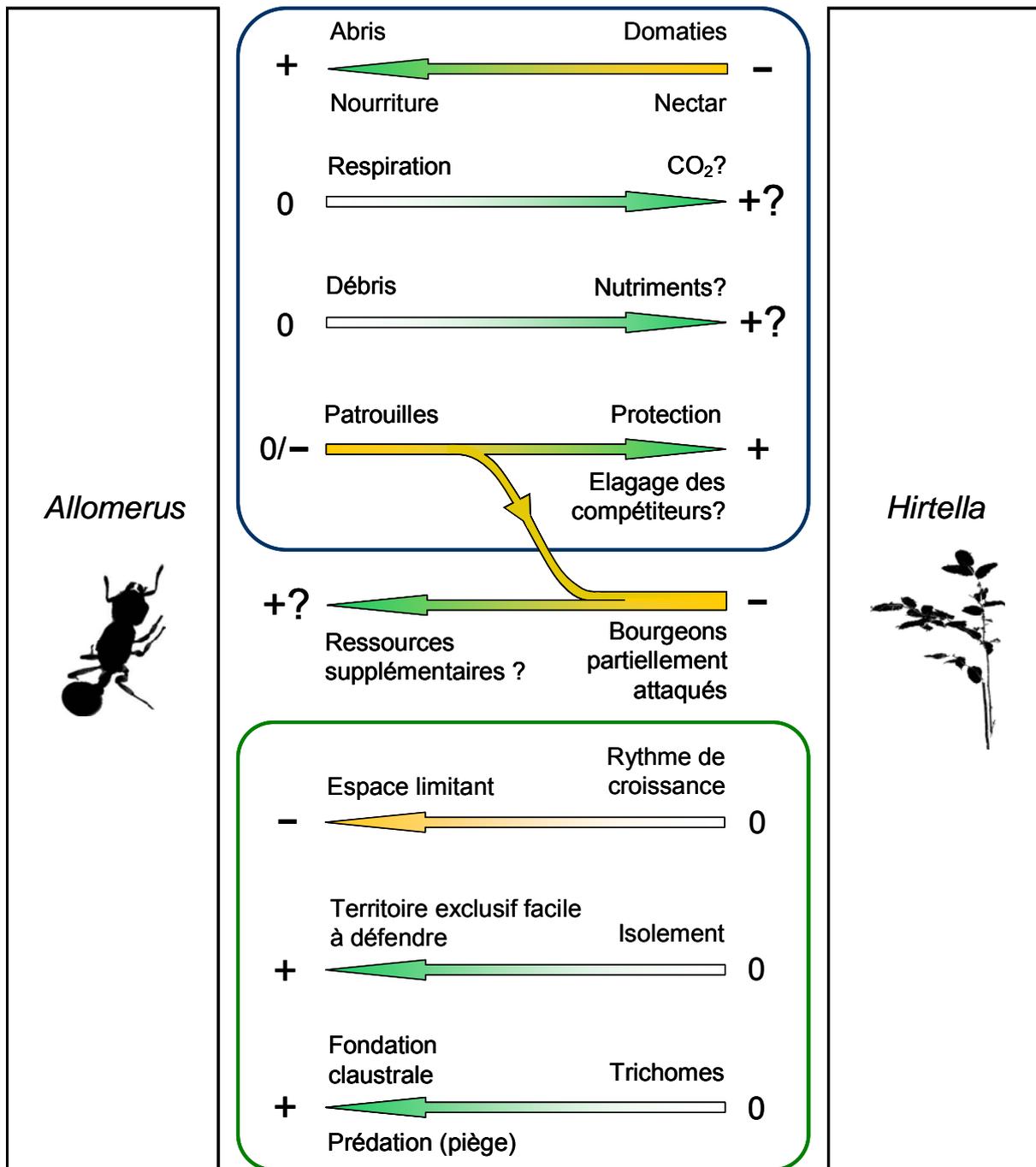


Figure 23. Représentation schématique des effets qu'*H. physophora* et *A. decemarticulatus* produisent l'un sur l'autre dans le cadre de leur association symbiotique. Au départ des flèches, les - désignent un coût (défini comme l'investissement dans un service ou un trait mutualiste) et les 0 indiquent un trait n'étant pas spécifiquement dirigé vers l'autre partenaire, mais qui l'influence tout de même d'une façon ou d'une autre. Au bout des flèches, + et - désignent les effets positifs ou négatifs affectant la croissance ou la reproduction des partenaires. Le **cadre bleu** regroupe les interactions incluses dans le mécanisme de **pseudoréciprocité**. On remarque ainsi que la plante est la seule à faire un investissement clairement dirigé qui profite directement à son partenaire. Les fourmis, elles, ne font pas (ou peu) d'investissements dirigés, mais la plante bénéficie tout de même de l'association de par les sous-produits de leur présence. Le **cadre vert** regroupe les **facteurs de facilitation ou de limitation**. Voir le texte pour les explications.

2^{ème} Partie

Transmission horizontale et spécificité
d'association

1. Introduction

L'exploitation des mutualismes entre myrmécophytes et fourmis par des organismes extérieurs aux associations en place est facilitée par leur mode de transmission de type horizontal. Ce dernier implique en effet que les plantes connaissent des périodes pendant lesquelles elles ne sont pas habitées par leur hôte habituel. C'est le cas des jeunes plantes n'ayant encore jamais été colonisées ou bien des plantes plus âgées dont la colonie en place a périclité et qui n'ont pas encore été recolonisées. Dans ces conditions, les ressources des myrmécophytes normalement destinées au partenaire habituel peuvent attirer divers organismes non mutualistes, fourmis ou autres. Ceux-ci peuvent constituer une pression plus ou moins forte sur le mutualisme en place.

L'exploitation peut être limitée à l'utilisation de ressources alimentaires facilement accessibles et peu spécialisées, comme les nectaires extra-floraux. Dans ce cas, comme pour les associations plantes-fourmis non-symbiotiques, le coût de ces « vols » ponctuels de nourriture va certainement beaucoup varier selon le contexte local et notamment l'identité des organismes en question (fourmis, pouvant éventuellement exercer un certain niveau de protection selon l'espèce, ou autres insectes).

Mais les exploiters peuvent aussi profiter des domaties de la plante, et leur impact sur le mutualisme peut alors devenir beaucoup plus marqué puisque plus durable. Ainsi, de nombreuses espèces de fourmis sont assez opportunistes dans le choix de leur site de nidification et ne sont pas spécialistes d'une plante en particulier. Il n'est donc pas rare de les trouver sur des myrmécophytes dont l'hôte habituel est absent, qu'il s'agisse de plants juvéniles ou abandonnés (Longino 1989; Davidson et Fisher 1991; Davidson et McKey 1993; Yu 2001). Un « coût d'opportunité » peut alors exister pour les partenaires mutualistes, car leur réunion est gênée par ces occupants opportunistes qui, une fois installés, empêchent ou altèrent l'obtention de récompenses pour les fourmis habituelles et de protection pour leur hôte. C'est par exemple le cas de *Pseudomyrmex nigropilosa* qui parasite de cette façon l'association entre un acacia et d'autres espèces de *Pseudomyrmex* qui elles sont mutualistes

(Janzen 1975). Les ouvrières peu nombreuses de *P. nigropilosa* ne protègent pas du tout leur plante. La vie de cette dernière peut donc rapidement être menacée du fait des attaques de phytophages, mais pas celle des colonies qui investissent très tôt dans la production de sexués et qui peuvent ainsi finir leur cycle de vie avant que la plante n'ait subi trop de dommages. De bonnes capacités de dispersion compensent donc en quelque sorte le faible investissement de *P. nigropilosa* dans sa survie, expliquant son maintien dans le système. Une autre espèce de *Pseudomyrmex* parasite très similaire a récemment été décrite (Clement et al. 2008). Et dans une troisième association *Pseudomyrmex*-acacia, ce sont des fourmis du genre *Camponotus* qui exploitent le mutualisme. Dans ce cas, les tricheurs n'ont pas à souffrir de la dégradation de l'hôte qu'ils ne protègent pas, puisqu'ils habitent le même arbre que les mutualistes en utilisant les branches abandonnées par ces dernières. Cependant, elles excluent agressivement les *Pseudomyrmex* des nectaires extra-floraux (Raine et al. 2004).

Dans les exemples précédents, les exploiters sont des espèces pouvant loger ailleurs que sur le myrmécophyte qu'elles parasitent parfois. Mais il existe aussi des parasites plus spécialisés, comme *Cataulacus mckeyi* qui ne vit que sur le myrmécophyte *Leonardoxa africana* (Gaume et McKey 1999). Souvent, cette espèce qui ne protège pas efficacement son hôte colonise des plants ayant perdu leur hôte mutualiste, *Petalomyrmex phylax*. Un quart des plants de *L. africana* sont ainsi parasités. L'histoire de vie des autres espèces du genre *Cataulacus* laisse penser que l'ancêtre de *C. mckeyi* était bien une fourmi arboricole opportuniste s'étant immiscée dans un mutualisme pré-existant. Enfin, notons qu'une grande variété d'organismes autres que des fourmis peut utiliser les ressources offertes par les myrmécophytes, ce qui peut perturber la rencontre des deux partenaires du mutualisme, ou du moins leurs échanges. Là encore, le coût de l'exploitation varie beaucoup et peut être le résultat de comportements opportunistes (Dejean et Djieto Lordon 1996; Rickson et al. 2003; Gaume et al. 2006) ou spécialisés (Letourneau 1991).

Malgré cette large gamme d'exploiteurs externes potentiels, quantité de mutualismes se maintiennent, laissant penser que divers mécanismes limitent l'intrusion ou l'impact de ces tricheurs dans les associations en place. Plusieurs hypothèses ressortent au vu de différents travaux empiriques.

Premièrement, on peut penser qu'au cours de leur évolution, les myrmécophytes ont développé des « **filtres sélectifs** » augmentant leur chance d'être colonisés par le bon partenaire. Par « filtres » sont désignés tous les traits phénotypiques de la plante pouvant empêcher sa colonisation par des espèces autres que l'associé mutualiste (Beattie et Hughes

2002; Palmer et al. 2003). Plusieurs études ont déjà commencé à montrer la réalité et la diversité de ce type de mécanisme. Il existe ainsi des filtres de nature physique, comme par exemple des trichomes barrant le passage aux espèces de trop grande taille, des tiges couvertes de cires glissantes sur lesquelles la plupart des espèces n'arrivent pas à se déplacer, ou encore des entrées de domaties empêchant par leur forme l'entrée des intrus (Davidson et al. 1989; Federle et al. 1997; Brouat et al. 2001). Ils peuvent aussi être de nature alimentaire quand la nourriture fournie par la plante ne convient qu'à certaines espèces de fourmis (Heil et al. 1998; 2005), ou encore comportementaux lorsque la reine fondatrice doit elle-même creuser l'entrée des domaties en des endroits précis de la plante (Benson 1985). Mais d'autres types de filtres sont probablement encore à découvrir, et leur importance par rapport à d'autres mécanismes stabilisateurs des associations reste à préciser.

La **compétition interspécifique** peut aussi influencer l'identité des fourmis majoritairement associées à un myrmécophyte (Palmer et al. 2003). Par exemple, il peut exister une hiérarchie dans les capacités combatives des reines fondatrices ou colonies naissantes de différentes espèces. Cela a été montré dans une communauté d'espèces de fourmis habitant toutes le myrmécophyte africain *Acacia drepanolobium* (Stanton et al. 2005).

Enfin, un troisième mécanisme peut jouer un rôle : les capacités de **reconnaissance de l'hôte** pourraient considérablement varier entre les reines fondatrices de différentes espèces. Il paraît presque évident que les reines puissent facilement localiser leur hôte spécifique chez des espèces de fourmis dont les traits ont été en partie façonnés par un processus coévolutif avec les myrmécophytes, les avantageant par rapport aux autres espèces. Une reconnaissance spécifique sur la base d'indices chimiques est d'ailleurs souvent supposée à partir d'observations de terrain indiquant que des plants isolés ou peu visibles sont malgré tout colonisés par leurs partenaires (Longino 1989; Federle et al. 1998). Or, cela n'a pourtant presque jamais été démontré, et cette étape cruciale des associations symbiotiques plantes-fourmis reste à ce jour celle dont le fonctionnement est encore le plus obscur. A notre connaissance, seuls deux travaux ont montré clairement que des reines pouvaient discriminer leur plante-hôte d'autres espèces de plantes via des odeurs. Celui d'Inui et al. (2001) a démontré que des reines de *Crematogaster* reconnaissaient spécifiquement l'espèce de *Macaranga* qu'elles colonisent grâce à des composés chimiques non volatils et peut-être aussi grâce à la structure de surface des tiges. Edwards et al. (2006) ont quant à eux montré que les partenaires habituels de *C. nodosa* au Pérou, à savoir *A. cf octoarticulatus* var *demerarae* et *Azteca* spp., reconnaissaient leur hôte par le biais de composés volatils.

La spécificité d'association très marquée que l'on observe entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus* suggère que de tels mécanismes pourraient stabiliser l'association. Dans nos sites d'étude, l'inspection des colonies matures a en effet révélé que 98,2% des plants occupés l'étaient par *A. decemarticulatus* (N=278). Or, on peut penser que les exploiters externes potentiels ne manquent pourtant pas dans la zone. La faune entomologique en général et notamment myrmécologique y est d'une très grande diversité. Des espèces de fourmis généralistes aussi bien que spécialistes des myrmécophytes côtoient *H. physophora* (voir Tab. 4 pour les associations sympatriques). De plus, il a été découvert récemment que les plants d'*H. physophora* vivent généralement beaucoup plus longtemps que les colonies d'*A. decemarticulatus* (plus de 200 ans pour les premiers, voir Fig. 24, contre environ 20 ans pour les secondes ; Orivel et al., en préparation). Cette asymétrie dans la durée des cycles de vie des deux partenaires implique qu'une plante sera souvent colonisée, habitée puis quittée plusieurs fois au cours de sa vie. Outre la mort naturelle des colonies en fin de vie, on sait que les plants d'*H. physophora* sont régulièrement cassés par des chutes de branches depuis la canopée. L'arbre ne meurt généralement pas et produit des rejets qui pourront à nouveau être colonisés : la distribution de la hauteur des arbres en fonction de leur âge témoigne de cette dynamique de croissance mouvementée (Fig. 25). Mais la colonie initiale, elle, ne survit souvent pas à l'incident, renforçant encore le caractère temporaire de l'occupation d'un plant par une colonie donnée. Tout cela accroît les risques pour la plante d'être envahie par des exploiters externes puisqu'elle est séparée plusieurs fois de son partenaire au cours de sa vie, et rend donc encore plus paradoxale la spécificité d'association constatée avec les colonies matures. Nous avons donc fait l'hypothèse qu'un ou plusieurs des mécanismes énoncés ci-dessus jouait un rôle dans cette association, et nous avons conduit des expériences visant à les tester et évaluer leur importance dans la stabilité du système. Plus précisément, l'objectif était d'étudier la phase de colonisation des plantes pour explorer les trois hypothèses suivantes, non exclusives :

- 1) La compétition interspécifique est dominée par *A. decemarticulatus*, dont les reines et colonies naissantes parviennent à exclure les autres espèces colonisant *H. physophora*.
- 2) Des filtres sélectifs n'autorisent l'installation que d'*A. decemarticulatus* sur *H. physophora*, et barrent l'accès des domaties aux autres espèces.
- 3) Les reines fondatrices d'*A. decemarticulatus* disposent de capacités de reconnaissance d'*H. physophora* leur conférant un avantage par rapport aux autres espèces.

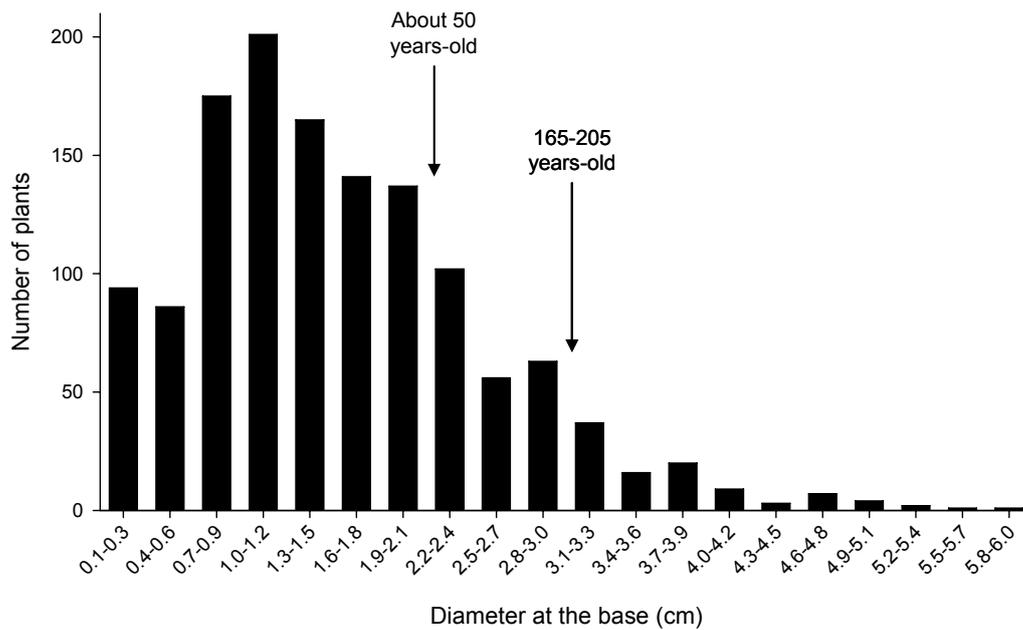


Figure 24. Distribution des diamètres de la base du tronc de 1320 individus d'*H. physophora*. Les âges indiqués ont été calculés sur la base de datations au ^{14}C .

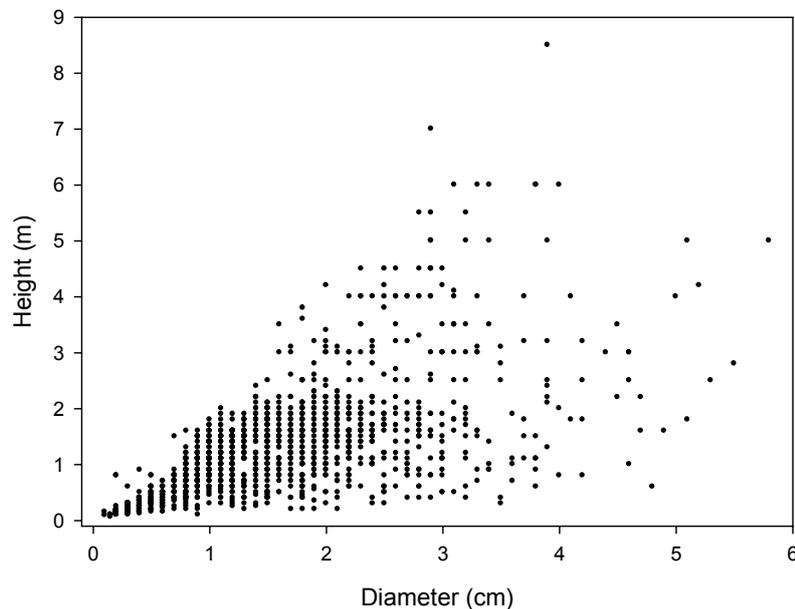


Figure 25. Hauteur de 1320 individus d'*H. physophora* en fonction de leur diamètre à la base. Ce dernier est proportionnel à l'âge des plantes car la base du tronc n'est pas touchée par les chutes de branches pouvant affecter régulièrement *H. physophora* : c'est d'elle que partent les rejets successifs. La hauteur de ces derniers présente une variance qui augmente avec l'âge des plantes, reflétant le caractère régulier de ce type d'incidents tout au long de la vie d'*H. physophora*.

2. Rôle de la compétition interspécifique

Pour connaître l'importance de la compétition interspécifique au cours de la mise en place de l'association entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus*, il était nécessaire de suivre la colonisation de plants inhabités et vérifier la présence éventuelle d'autres espèces à ce stade. Puisqu'il est très rare de trouver des plants juvéniles n'ayant encore jamais été habités, nous avons choisi de suivre la recolonisation de plants desquels les occupants ont été artificiellement exclus. Les individus en question sont les plants traités des expériences d'exclusion mises en place pour étudier le taux de défoliation en l'absence de colonies matures (1^{ère} Partie, et se reporter à l'Annexe 1.1 pour le détail du protocole). Au terme des deux expériences (40 jours et 44 plantes pour la première, huit mois et 27 plantes pour la seconde), toutes les domaties de tous les plants traités étaient récoltées et rapportées au laboratoire dans des sacs plastiques. Immédiatement après, les poches foliaires étaient toutes ouvertes et inspectées en détail, et l'identité de leurs éventuels occupants étaient notée. L'âge de chaque feuille portant les domaties était également indiqué suivant la notation déjà utilisée dans la partie 1: vieille feuille (stade 4), jeune feuille (stade 3) ou nouvelle feuille (c'est-à-dire apparue pendant l'expérience, stade 2). Les feuilles de stade 1 ne sont pas représentées ici car leurs domaties ne sont pas complètement formées.

Les résultats montrent que les plants ont été massivement recolonisés. A la fin des expériences, les plants n'hébergeant aucune fourmi étaient très peu nombreux (un à la fin de l'expérience de court-terme, et deux à la fin de l'expérience de long-terme, Tab. 8). Dans les autres plantes, la très grande majorité des 193 et 130 reines collectées à la fin des expériences de court-terme et de long-terme, respectivement, étaient des *A. decemarticulatus* (Tab. 8). Il n'y a que 11 exceptions, à chaque fois des reines de *Crematogaster* sp. aff. *crucis*. Parfois, les reines des deux espèces étaient trouvées dans deux domaties contigües (Fig. 27). Le nombre moyen de reines d'*A. decemarticulatus* par plante (\pm ET) est de $4,3 \pm 3,3$ et $4,6 \pm 3,6$ à court et long terme, respectivement, et atteint le maximum de 17 reines sur une même plante. Il n'y avait toujours qu'une seule reine par poche foliaire. Les domaties des jeunes et nouvelles feuilles étaient préférentiellement occupées par rapport à celles de vieilles feuilles (Fig. 26).

Cependant, beaucoup d'entre elles étaient encore libres et seulement trois plantes présentaient un taux d'occupation des feuilles jeunes et nouvelles de 100%. Les reines de *Crematogaster* sp. aff. *crucis* ont été trouvées dans les trois types de feuilles, sans que leur petit nombre permette de détecter une quelconque préférence. La plupart des reines des deux

espèces avaient coupé et utilisé des trichomes pour bloquer l'entrée de leur domatie (voir p.37). Enfin, dans trois plantes, nous avons découvert des ouvrières de *Crematogaster* sp. ou de *Wasmannia auropunctata* utilisant les poches foliaires d'*H. physophora* comme une extension de leur nid situé dans la litière (Fig. 28A). Elles y stockaient du couvain, mais aucune reine n'a été trouvée pour ces deux espèces (Tab. 8).

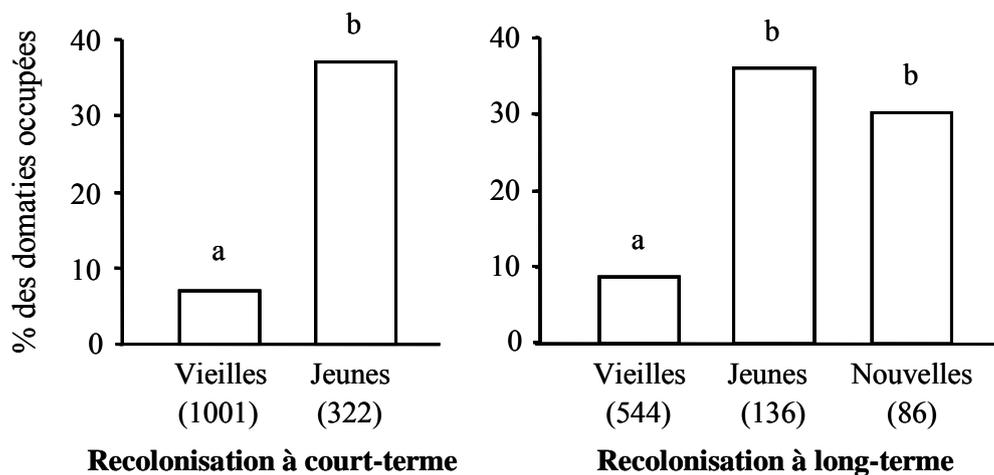


Figure 26. Taux d'occupation des domaties en fonction de l'âge des feuilles qui les portent (vieilles, jeunes ou nouvelles feuilles). Le nombre total de domaties inspectées est indiqué entre parenthèse pour chaque catégorie. Des lettres différentes indiquent une différence significative au test du Chi² (avec correction de Bonferroni dans le cas de l'expérience à long-terme). Expérience à court terme: Vieilles vs. Jeunes: $\chi^2 = 178,6$; $p < 0,0001$. Expérience à long terme: Vieilles vs. Jeunes: $\chi^2 = 65,85$; $p < 0,0001$; Vieilles vs. Nouvelles: $\chi^2 = 32,83$; $p < 0,0001$; Jeunes vs. Nouvelles: $\chi^2 = 0,79$; $p = 0,37$.



Figure 27. Une reine fondatrice d'*A. decemarticulatus* (à gauche) et une autre de *C. sp. aff. crucis* (à droite) occupant deux domaties d'une même feuille. Les deux ont déjà du couvain.

Tableau 8. Identité et effectifs des fourmis occupants les poches foliaires d'*H. physophora* 40 jours (court-terme) et huit mois (long-terme) après l'exclusion des colonies initiales (N = nombre total de reines découvertes, ou de plants et domaties inspectés). Pour *A. decemarticulatus* et *Crematogaster* sp. aff. *crucis*, trois catégories ont été distinguées : reines seules trouvées mortes dans les domaties, reines seules vivantes pouvant déjà être accompagnée par du couvain, et reines accompagnées par du couvain ainsi que par leurs premières ouvrières (=colonies naissantes). Pour *Wasmannia auropunctata* et *Crematogaster* sp., aucun reine n'a été trouvée : il s'agissait simplement d'ouvrières stockant du couvain dans les domaties. Il était fréquent de trouver sur une même plante différents types d'occupants. De plus, certaines colonies naissantes occupaient parfois plusieurs domaties.

	Recolonisation à court-terme			Recolonisation à long-terme		
	Nombre de reines (N=193)	Nombre de plants occupés (N=44)	Nombre de domaties occupées (N=1323)	Nombre de reines (N=130)	Nombre de plants occupés (N=27)	Nombre de domaties occupées (N=766)
<i>Allomerus decemarticulatus</i>						
Reines mortes	21	15	21	20	10	20
Reines seules	151	38	151	17	10	17
Colonies naissantes	17	17	27	86	21	140
Total (% de N)	189 (97.9%)	41 (93.2%)	199 (15%)	123 (94.6%)	24 (89.9%)	177 (23.1%)
<i>Crematogaster</i> sp. aff. <i>crucis</i>						
Reines mortes	0	0	0	1	1	1
Reines seules	4	4	4	3	3	3
Colonies naissantes	0	0	0	3	3	4
Total (% de N)	4 (2.1%)	4 (9.1%)	4 (0.3%)	7 (5.4%)	7 (25.9%)	8 (1%)
<i>Wasmannia auropunctata</i>						
Ouvrières/couvain (% de N)	0	0	0	0	1 (3.7%)	14 (1.8%)
<i>Crematogaster</i> sp.						
Ouvrières/couvain (% de N)	0	1	2	0	1	2
% de N	-	2.3%	0.2%	-	3.7%	0.3%
Plantes sans fourmis (% de N)		1 (1.3%)			2 (7.4%)	

Tableau 9. Identité, effectifs et localisation des intrus autres que fourmis trouvés à l'intérieur des poches foliaires des plants d'*H. physophora* 40 jours (court-terme) et huit mois (long-terme) après l'exclusion des colonies initiales(N = nombre total de domaties ou de plantes inspectées). Les résultats sont donnés pour chaque classe d'âge des feuilles (vieilles, jeunes et nouvelles feuilles). Le nombre de plantes hébergeant au moins un représentant de chaque catégorie d'intrus est également indiqué (plusieurs catégories étant parfois représentées sur une même plante). Les **araignées** adultes étaient rares, et la plupart des recensements concernant cette catégorie correspond essentiellement à ce qui semblait être des restes de cocons. La catégorie « Hymenoptera » regroupe de petites **guêpes solitaires** (voir texte pour leur identification) : un seul adulte a été trouvé lors de l'examen des domaties, et leur présence était le plus souvent indiquée par des cocons ou des larves. Les **lépidoptères** étaient à chaque fois des pupes. Pour les autres taxons, des individus adultes étaient trouvés.

	Recolonisation à court-terme				Recolonisation à long-terme				
	Vieilles domaties (N=1001)	Jeunes domaties (N=322)	Nombre total (N=1323)	Nombre (%) de plantes (N=44)	Vieilles domaties (N=544)	Jeunes domaties (N=136)	Nouvelles domaties (N=86)	Nombre total (N=766)	Nombre (%) de plantes (N=27)
Araneae	10	0	10	8 (18,2%)	18	0	0	18	11 (40,7%)
Blattodea	1	0	1	1 (2,3%)	3	0	0	3	3 (11,1%)
Diplopoda	4	0	4	4 (9,1%)	-	-	-	0	-
Hymenoptera	6	1	7	5 (11,4%)	15	6	1	22	13 (48,1%)
Lepidoptera	-	-	0	-	1	1	2	4	4 (14,8%)
Non identifié	2	0	2	1 (2,3%)	3	0	0	3	3 (11,1%)
Total	23	1	24	-	40	7	3	50	-
(% domaties)	2,3%	0,3%	1,8%	-	7,4%	5,1%	3,5%	6,5%	-

Par ailleurs, des organismes autres que fourmis ont également été trouvés dans les domaties, mais leurs effectifs sont globalement très faibles. Ainsi, si la proportion de plants en abritant au moins un est relativement élevée (32% et 78% à court et long terme, respectivement), celle des domaties qu'ils occupent est extrêmement faible (1,8% et 6,5% à court et long terme respectivement). Les taxons les plus représentés sont les araignées et les guêpes solitaires (Tab. 9). Sur la totalité des 74 intrus ou traces d'intrus recensés, 90,5% occupaient des plantes abritant également des fondations d'*A. decemarticulatus*.

Enfin, parallèlement à ces expériences d'exclusion/recolonisation, l'inspection de très nombreuses plantes au cours de nos quatre missions de terrain a confirmé la rareté des occupants autres qu'*A. decemarticulatus*, même en l'absence de colonie mature. A différentes périodes de l'année et dans une douzaine de sites différents, des domaties de plants non occupés par des colonies matures étaient régulièrement ouvertes pour en vérifier le contenu. Le nombre exact de domaties inspectées est difficile à connaître, car il ne s'agissait pas d'un suivi systématique et que les mêmes plantes étaient souvent inspectées d'une mission à l'autre. Cependant, il se chiffre en plusieurs centaines. Ces observations ont confirmé la présence de certains organismes recensés pendant les expériences d'exclusion/recolonisation, et ont aussi permis d'allonger la liste des occupants potentiels d'*H. physophora*. Mais elles ont néanmoins confirmé la rareté de ces occupants atypiques.

Chez les fourmis, plusieurs espèces n'ont ainsi été trouvées qu'à une seule occasion (Tab. 10 et Fig. 28) (la plupart ont été déterminées par Jacques Delabie). Plusieurs d'entre elles ont été trouvées dans des plants situés au milieu de chablis : même si le nombre de plants concernés est trop petit pour détecter un effet significatif de ce facteur sur l'identité des habitants d'*H. physophora*, cela suggère qu'il pourrait être intéressant de mener des recensements plus complets dans ce type d'habitat pour savoir si de telles perturbations peuvent localement affecter le mutualisme. La seule espèce réellement récurrente est *Crematogaster* sp. aff. *crucis*, déjà notée dans nos expériences d'exclusion/recolonisation. Il est difficile de savoir si cette espèce est strictement inféodée à *H. physophora*, auquel cas elle pourrait être un exploitateur spécialiste de cette plante (les très rares plants d'*H. physophora* hébergeant une colonie mature de *Crematogaster* sont en mauvais état). Des informations sur l'histoire de vie de cette espèce et sa distribution sont nécessaires pour savoir ce qu'il en est réellement.

Parmi les intrus autres que fourmis, la présence rare mais régulière de pupes de lépidoptères a pu être confirmée. De même, on retrouve comme pendant l'expérience

d'exclusion des guêpes solitaires. Cinq adultes ont pu être capturés, appartenant à deux espèces : *Nitela* sp. et *Goniozus* sp. (détermination Claire Villemant). La première semble être une espèce encore jamais décrite, et la présente étude constitue le premier signalement du genre *Nitela* en Guyane française. Il semble que ces guêpes élèvent leur couvain dans les domaties, puisque des cocons sont parfois trouvés, mais la biologie de ces insectes reste à explorer. D'autres intrus ont également été trouvés occasionnellement (Tab. 10 et Fig. 28).

Tableau 10. Organismes trouvés à l'intérieur des domaties de plants d'*H. physophora* non occupés par des colonies matures de fourmis. L'examen de ces domaties a été conduit sur le terrain entre 2004 et 2006, de façon non systématique : toutes les domaties d'une même plante n'étaient pas forcément ouvertes, et leur nombre total est difficile à chiffrer (mais s'élève à plusieurs centaines). Le nombre d'occurrences est donc donné à titre indicatif, seulement pour faire ressortir les grandes tendances.

Fourmis	Occurrences
<i>Allomerus decemarticulatus</i>	>200
<i>Crematogaster</i> sp. aff. <i>crucis</i>	~20
<i>Crematogaster</i> sp.	1
<i>Crematogaster tenuicula</i>	1
<i>Crematogaster limata</i>	1
<i>Solenopsis</i> sp.	2
<i>Pheidole gilva</i> Wilson	1
<i>Pheidole</i> sp.	1
<i>Pheidole otisi</i> Wilson	1
<i>Wasmannia auropunctata</i>	2
Occupants autres que fourmis	
Blattodea	2
Coleoptera (Curculionidae)	1
Hymenoptera	
<i>Nitela</i> sp. (Sphecidae) ^a	2
<i>Goniozus</i> sp. (Bethylidae) ^a	3
Lepidoptera	<10
Pseudoscorpionida	1

^a : seuls les adultes ont été comptabilisés.

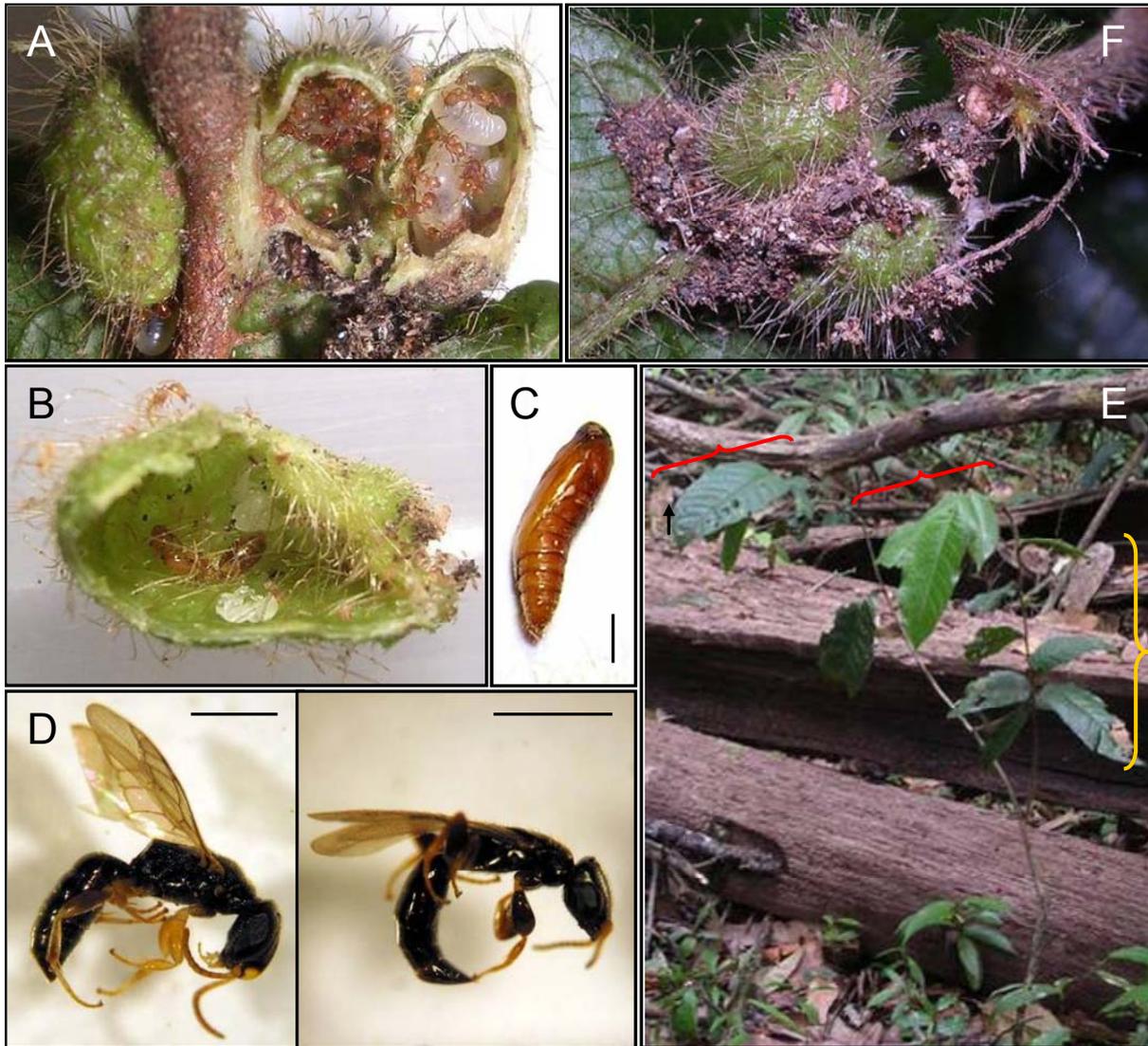


Figure 28. Exemples de rares occupants autres qu'*A. decemarticulatus* dans les poches foliaires de plants d'*H. physophora* dépourvus de colonie mature. **A.** Domatie ouverte montrant des ouvrières de *W. auropunctata* et le couvain de sexués qu'elles y ont stocké. **B.** Domatie ouverte montrant une colonie naissante de *Solenopsis* sp. (noter les trichomes très abondants tapissant l'intérieur de la poche foliaire). **C.** Pupa de Lépidoptère (échelle = 1mm). **D.** Guêpes solitaires qui semblent élever leur couvain dans les domaties. A gauche : *Nitela* sp. A droite : *Goniozus* sp. (dans les deux cas, échelle = 1mm). **E.** Plant d'*H. physophora* situé dans un chablis, abritant plusieurs colonies naissantes d'*A. decemarticulatus* (feuilles indiquées par les accolades rouges) ainsi que des ouvrières de *C. tenuicula* (accolades jaunes). **F.** Détail du plant précédent, montrant une ouvrière de *C. tenuicula* et la construction que cette espèce établit devant l'entrée des domaties. Ce type de structure semble d'ailleurs être courant chez cette espèce dont les ouvrières ont l'habitude de fouiller la végétation basse.

L'ensemble de ces résultats indique que la très forte spécificité d'association observée entre *H. physophora* et les colonies matures d'*A. decemarticulatus* n'est pas le résultat d'une compétition interspécifique entre colonies naissantes de différentes espèces. Pourtant, les reines fondatrices d'*A. decemarticulatus* ne monopolisent pas toutes les domaties. Bien qu'elles colonisent les plants vides en nombre et très rapidement (dans les semaines suivant l'exclusion des colonies, puisque le nombre de reines par plants n'est pas différent à court et à long terme), de nombreuses domaties restent libres sur les feuilles de tous les âges. Or, en dehors des quelques espèces de fourmis qui ne sont qu'exceptionnellement rencontrées sur *H. physophora*, seules deux situations peuvent faire naître des conflits interspécifiques pour l'occupation de la plante entière et elles sont toutes les deux marginales. Ainsi, *Crematogaster* sp. aff. *crucis* peut être présente sur une proportion significative de plantes (26% dans l'expérience de long terme) mais n'occupe que très peu de domaties avec un nombre d'individus très faible (même après huit mois, seulement 3 reines de cette espèce avaient produit leur premières ouvrières, contre 86 pour *A. decemarticulatus*). Quant aux ouvrières de *W. auropunctata* et de *C. tenuicula*, elles peuvent être présentes en plus grand nombre sur le plant qu'elles utilisent comme une extension de leur nid, mais cela ne concerne qu'une infime proportion des plantes et n'est probablement que temporaire. En définitive, **dans la grande majorité des cas, *A. decemarticulatus* n'aura à déloger aucune autre espèce de fourmis pour occuper entièrement les plants d'*H. physophora*.**

Notons en revanche que la compétition intraspécifique est très marquée, puisque plusieurs reines *A. decemarticulatus* colonisent en général un même plant. La préférence marquée de reines pour les jeunes et nouvelles feuilles renforce cette compétition, qui a pour enjeu non seulement l'occupation des plantes mais aussi celle de leurs meilleures domaties (cette préférence pourrait être liée à une production de nectar accrue sur les jeunes feuilles, comme cela a déjà été suggéré par d'autres résultats, voir 1^{ère} Partie). L'ampleur de la compétition est bien illustrée par les résultats de notre expérience de long terme à la fin de laquelle 86 colonies naissantes occupaient 21 plantes. Etant donné que les colonies matures sont invariablement monogynes, cela signifie que 76% des reines ayant fondé avec succès ces petites colonies vont mourir dans les semaines qui suivent. Cette proportion est similaire à celle notée pendant la colonisation de *C. nodosa* par *A. octoarticulatus* (Frederickson 2006). On peut supposer que l'élimination de ces reines a lieu lors de combats entre les différentes colonies naissantes, la plus peuplée prenant l'avantage sur toutes les autres comme cela semble être le cas dans d'autres associations (Federle et al. 1998). Les reines fondatrices

s'enfermant dans leur domatie, leur fécondité pendant cette période claustrale serait alors déterminante pour leur survie ultérieure. Cependant, dans le cas présent, l'agressivité intraspécifique s'étant révélée particulièrement faible chez *A. decemarticulatus* (voir 1^{ère} Partie), la transition entre les stades « colonies naissantes multiples » et « colonie mature unique » reste assez obscure et demande à être examinée de plus près.

3. Rôle des filtres sélectifs

Au vu des filtres sélectifs déjà identifiés dans d'autres systèmes plantes-fourmis, deux traits d'*H. physophora* nous ont semblé être de bons candidats potentiels pour remplir un tel rôle. D'une part, les trichomes particulièrement denses à l'entrée et à l'intérieur des poches foliaires pourraient constituer une barrière physique que seule *A. decemarticulatus* serait capable de franchir (Fig. 29). D'autre part, l'entrée des domaties elle-même pourrait limiter le nombre d'espèces capables de s'y installer en excluant les reines de trop grande taille ou celles incapables de les localiser. Pour tester la première hypothèse, nous avons mené diverses observations sur l'organisation des trichomes dans les poches foliaires d'*H. physophora*, avant de les lier aux données que nous avons sur la façon dont la plante est colonisée. Pour tester la seconde hypothèse, nous avons choisi de conduire une expérience permettant d'observer sur *H. physophora* le comportement de reines fondatrices d'*Azteca* de plus grande taille que celles d'*A. decemarticulatus* et normalement inféodées au myrmécophyte sympatrique *T. guianensis*. De même, des reines fondatrices d'*A. decemarticulatus* ont été placées et observées sur *T. guianensis*. L'annexe 1.6 décrit les protocoles utilisés.



Figure 29. Une reine d'*A. decemarticulatus* entre dans une domatie d'*H. physophora* en écartant les trichomes de la plante.

3.1. Trichomes des domaties

Il apparaît que les trichomes sont extrêmement denses dans les domaties d'*H. physophora* n'ayant encore jamais été habitées, et à l'inverse complètement absents sur les plants occupés par des colonies matures. En effet, la face interne ainsi que l'entrée des poches foliaires des 26 feuilles s'étant développées sans fourmis sont tapissés de longs trichomes très denses, certains orientés vers l'extérieur de l'abri (Fig. 30A). En revanche, les très nombreuses domaties des plants habités par des colonies matures étaient toutes dépourvues de ces trichomes (Fig. 30B). Ceci s'explique non seulement par le comportement des reines qui utilisent ces trichomes pour bloquer l'entrée des domaties au moment de la fondation, mais aussi par l'activité des ouvrières qui coupent les trichomes de toutes les poches utilisées par la colonie (Fig. 30C). Cela leur facilite sans doute l'utilisation des poches foliaires, et un tel aménagement est observé dès que de nouvelles domaties arrivent à maturité (obs. pers., sur le terrain ainsi que sur des plants habités maintenus en laboratoire).

Par conséquent, la barrière physique formée par les trichomes des domaties n'est présente que sur les nouvelles feuilles n'ayant jamais été habitées. La plus grande partie des domaties portées par les plants ayant perdu leur colonie présentent donc une entrée facilement franchissable. C'était le cas des plants utilisés dans nos expériences d'exclusion/recolonisation. Or comme nous l'avons vu, même dans ces conditions, la spécificité d'association avec *A. decemarticulatus* est clairement maintenue et les plantes ne sont pas envahies par d'autres espèces de fourmis. Par ailleurs, même quand elle est présente, cette barrière n'est visiblement pas infranchissable pour tous les intrus. A plusieurs reprises, nous avons constaté que des domaties de nouvelles feuilles hébergeaient des habitants autres qu'*A. decemarticulatus* : une colonie naissante de *Crematogaster* sp. aff. *crucis* (voir Tab. 8), une autre de l'occupant exceptionnel *Solenopsis* sp. (voir Fig. 28B), ou encore des pupes de Lépidoptères et une guêpe solitaire (Tab. 9).

S'ils peuvent probablement empêcher occasionnellement l'entrée de certains intrus de grande taille dans les domaties nouvellement formées, les trichomes ne semblent donc pas constituer un filtre sélectif majeur susceptible d'expliquer la forte spécificité d'association entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus*.



Figure 30. Coupes de domaties d'*H. physophora*. **A.** Domatie inhabitée : parois internes et entrée (flèche blanche) tapissées de trichomes très denses. **B.** Domatie abritant reine et ouvrières : parois internes et entrée (flèche blanche, restes visibles de la structure construite par la reine pour bloquer l'entrée) dépourvues de trichomes. **C.** Trichomes coupés et rassemblés en tas par des ouvrières dans une domatie.

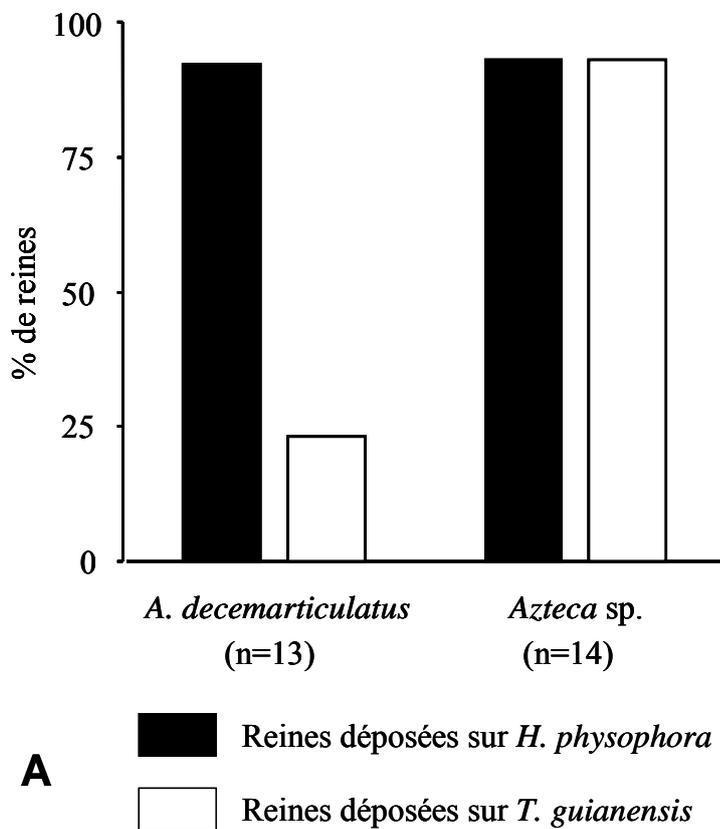


Figure 31. Résultats des tests confrontant des reines fondatrices à leur plante-hôte habituelle puis à une autre espèce de myrmécophyte. **A.** Pourcentage de reines d'*A. decemarticulatus* et d'*Azteca* sp. découvrant l'entrée d'une domatie en moins de 20 minutes après avoir été déposée sur un plant inhabité d'*H. physophora* ou de *T. guianensis*. **B.** Photographies montrant une reine *Azteca* sp. utilisée pendant l'expérience entrant complètement dans une domatie d'un plant d'*H. physophora*, puis en ressortant.

3.2. Localisation et taille de l'entrée des domaties

Les reines fondatrices d'*A. decemarticulatus* et d'*Azteca* sp. étaient potentiellement capables de coloniser les domaties d'*H. physophora* comme celles de *T. guianensis*. Au cours des tests, la proportion de reines d'*Azteca* trouvant l'entrée d'une domatie s'est avérée être la même sur les deux espèces de myrmécophytes. Chez *A. decemarticulatus*, la proportion était bien plus élevée sur *H. physophora*, mais plusieurs reines ont tout de même découvert l'entrée des domaties de *T. guianensis* (Fig. 31A). Les individus autorisés à entrer complètement dans les poches foliaires l'ont fait sans difficulté dans les deux cas (Fig. 31B).

Par ailleurs, le même protocole a été appliqué avec quatre reines fondatrices de *Crematogaster* sp. récoltées sur *T. guianensis* : 3 ont trouvé une domatie en moins de 20 minutes sur *T. guianensis* et 2 sur *H. physophora*. Malgré le faible effectif, cela renforce encore l'idée que les reines des espèces associées aux myrmécophytes sympatriques d'*H. physophora* ont la capacité physique d'entrer dans ses domaties.

La spécificité d'association entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus* n'est donc pas due à une impossibilité pour les autres espèces de fourmis d'entrer dans les domaties, la position de leur entrée sur la plante et leur taille ne semblant pas agir comme des filtres très sélectifs. De même, le fait qu'*A. decemarticulatus* n'ait jamais été trouvée ailleurs que sur *H. physophora* n'est pas dû à son incapacité d'entrer dans des domaties autres que celles de sa plante hôte habituelle.

4. Rôle de la reconnaissance des plantes-hôtes

La rencontre entre *A. decemarticulatus* et *H. physophora* pourrait être facilitée par des mécanismes de reconnaissance d'hôte. Si le partenaire mobile (ici les fourmis) est capable d'identifier efficacement le partenaire fixe (le myrmécophyte) dans son environnement, cela limite le risque que les mutualistes échouent à se rencontrer dans le cadre de la transmission horizontale de l'association.

4.1. Les reines identifient-elles leur plante-hôte habituelle ?

Pour savoir si des capacités de reconnaissance d'*H. physophora* existaient chez les reines d'*A. decemarticulatus*, nous avons mené plusieurs expériences de choix d'hôte. Placées sur

une plate-forme de choix en contact avec deux feuilles appartenant à deux plantes différentes, nous notons sur laquelle les reines choisissaient de monter (voir Annexe 1.7 pour une description du protocole).

Les résultats de ces expériences montrent que les reines d'*A. decemarticulatus* choisissent toujours préférentiellement *H. physophora*, que ce soit face à la plante non myrmécophyte *P. hostmannii* ($\chi^2 = 8,5$; $P < 0,01$), ou bien aux myrmécophytes *C. nodosa* ($\chi^2 = 8,5$; $P < 0,01$), *T. guianensis* ($\chi^2 = 8,5$; $P < 0,01$) et *M. guianensis* ($\chi^2 = 6,5$; $P < 0,05$). Aucune préférence n'a par contre été détectée quand les reines n'avaient le choix qu'entre *M. guianensis* et *T. guianensis* ($\chi^2 = 1,2$; $P > 0,05$) (Fig. 32). Il est important de noter que les reines ne touchaient quasiment jamais l'autre plante avant de choisir la feuille d'*H. physophora*. Cela prouve qu'elles sont capables d'identifier leur hôte sans avoir à le toucher, au moins à courte distance.

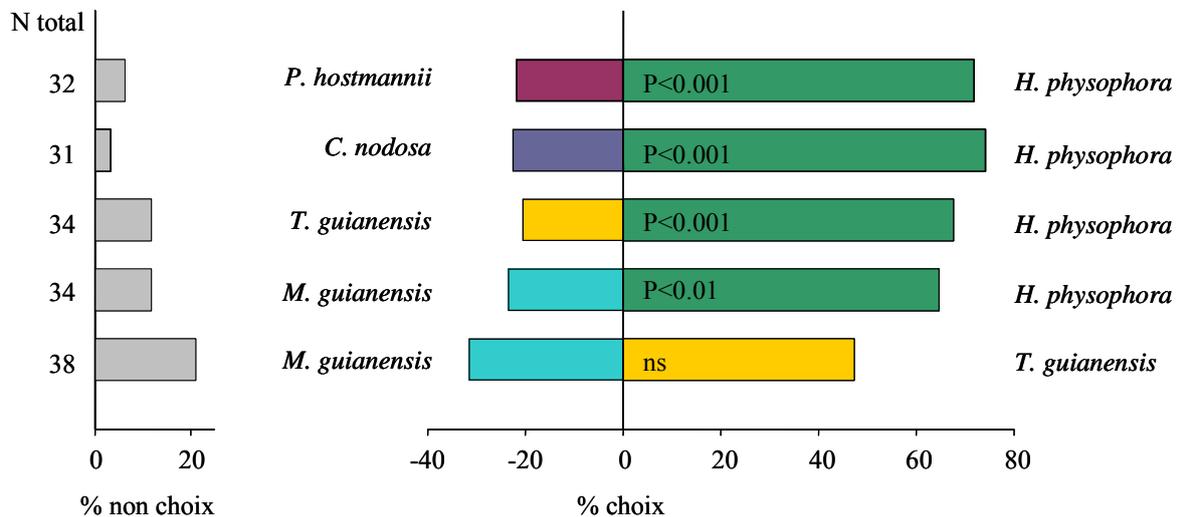


Figure 32. Résultats des expériences de choix d'hôte confrontant des reines d'*A. decemarticulatus* à cinq paires de plantes différentes. Toutes les espèces de plantes sont sympatriques dans nos sites d'étude, et sont toutes des myrmécophytes à l'exception de *P. hostmannii*. Côté gauche : pourcentages de reines n'ayant fait aucun choix (N total = nombre total de reines testées pour chaque paire de plantes). Côté droit : pourcentages de reines ayant fait un choix. Le nombre total de choix est de 30 à chaque fois. Des tests de χ^2 ont été utilisés pour comparer la distribution observée à la celle théorique de 15:15 ; les valeurs de p correspondantes sont indiquées.

Ces expériences prouvent que les reines d'*A. decemarticulatus* sont capables d'identifier à distance leur hôte habituel, et qu'elles le différencient de plantes non myrmécophytes mais aussi des autres plantes myrmécophytes environnantes. Cependant, les facteurs proximaux permettant cette reconnaissance restaient encore à déterminer, d'autant que le protocole utilisé ici autorise les reines à utiliser la vue comme l'odorat.

4.2. Quelle est la nature des indices de reconnaissance ?

Nous avons conduit différents travaux visant à explorer la nature des signaux utilisés par les reines d'*A. decemarticulatus*. Pour savoir si des odeurs émises par *H. physophora* jouaient ce rôle, nous avons d'une part mené des tests d'olfactométrie, et d'autre part tenté de collecter les composés volatils qui pourraient être émis par le myrmécophyte.

4.2.1. Olfactométrie

Des reines fondatrices désaillées récemment arrivées dans leur domatie étaient récoltées sur le terrain, puis installées avec leur poche foliaire dans un tube à essai humidifié. Ces individus étaient utilisés pour des tests d'olfactométrie, visant à savoir si ces reines étaient capables d'identifier *H. physophora* à distance, sans qu'il leur soit possible de voir la plante. Pour cela, les reines étaient placées dans un olfactomètre en Y (dispositif déjà utilisé par plusieurs auteurs sur différentes espèces de fourmis (Vander Meer et al. 2002; Edwards et al. 2006). Après avoir testé différents types de matériel, il a semblé que les reines étaient plutôt perturbées par le verre si bien que nous avons finalement conçu un olfactomètre en utilisant des tubes en plastique reliés par des tuyaux en Tygon (Fig. 34). Tous les tests ont été conduits entre septembre et décembre 2005.

Les sources d'odeur étaient des plantes en pot inhabités, et les tests étaient conduits en semi-extérieur (à l'exception de *C. nodosa* : dans ce cas les tests ont été conduits avec un plant sur pied en forêt, et tout le dispositif adapté en conséquence). A chaque fois, plusieurs jeunes feuilles en bonne santé étaient enfermées dans un sac à cuisson (Fig. 33). Un flux d'air généré par une pompe électrique entraînait dans ce sac après avoir été purifié dans une cartouche de charbon actif, humidifié dans une bonbonne d'eau distillée et réglé par un débitmètre. A la sortie du sac, l'air entraînait dans l'olfactomètre en Y. Tous les tuyaux pour monter ce circuit étaient en Tygon.



Figure 33. Feuilles de *C. nodosa* ensachées. Les flèches rouges indiquent le flux d'air.

A chaque fois, une reine était déposée dans le dispositif, puis sa position contrôlée régulièrement. On estimait qu'un choix avait été fait une fois que la reine était parvenue dans l'un des compartiments « odeurs », ou qu'elle avait parcouru plus de la moitié du tuyau y conduisant (voir Fig. 34). La reine était enregistrée comme n'ayant fait aucun choix si elle était toujours dans le compartiment de départ après une heure. Dans ce dernier cas, la reine pouvait être confrontée encore une ou deux fois à la même paire de plante. Après un choix, la reine en question n'était cependant pas confrontée à nouveau aux mêmes plantes. Les tests étaient réalisés entre 6h et 14h, les reines semblant être plus réactives en début de journée. La position des arrivées d'air 1 et 2 étaient régulièrement interverties au cours des expériences. Les résultats sont présentés dans la figure 35.

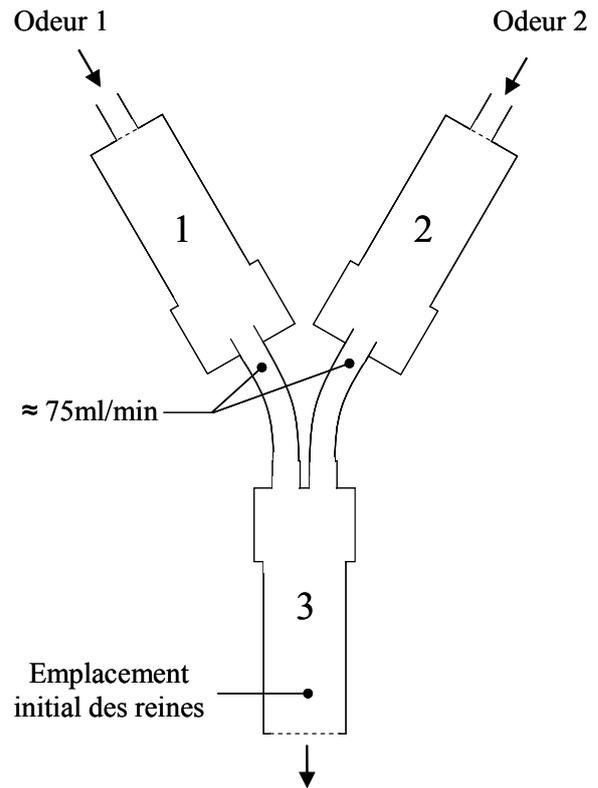


Figure 34. Schéma de l'olfactomètre en Y utilisé. Les reines étaient déposées dans le compartiment 3. Les pointillés indiquent des pièces de tissus laissant passer l'air mais pas les fourmis.

Nombre total de reines (N)	Nombre de non-choix (%N)		Nombre de choix			
			30	15		0
92	43 (46,7%)	<i>H. physophora</i>	30	p<0,001	8	Sac vide
87	49 (56,3%)	<i>T. guianensis</i>	24	p=0,11	14	Sac vide
51	17 (33,3%)	<i>C. nodosa</i>	19	p=0,49	15	Sac vide
86	28 (32,6%)	<i>H. physophora</i>	31	p=0,35	24	<i>C. nodosa</i>
68	38 (55,9%)	<i>H. physophora</i>	16	p>0,05	14	<i>T. guianensis</i>

Figure 35. Résultats des tests de choix en olfactomètre en Y. Les tests impliquant *C. nodosa* ont été réalisés en forêt, et tous les autres en semi-extérieur. Un test de Chi² a été réalisé à chaque fois pour comparer la distribution observée à celle théorique de 50%:50% (les valeurs de p sont présentées sur les graphiques).

L'ensemble de ces données ne permettent pas de trancher quant à l'utilisation de composés volatils par les reines. D'une part, face à un sac vide, les reines ont nettement préféré la source « *H. physophora* » alors qu'il n'y a pas eu de préférence aussi marquée pour *T. guianensis* ou *C. nodosa*. Mais d'autre part, quand elles étaient confrontées à deux plantes en même temps, les reines n'ont montré aucune préférence pour *H. physophora*, que ce soit face à *T. guianensis* ou à *C. nodosa* (Fig. 35).

Ces résultats quelque peu contradictoires peuvent être interprétés de différentes façons. Premièrement, la vision pourrait intervenir dans la reconnaissance de la plante, expliquant pourquoi les reines testées n'ont pu faire la différence entre les myrmécophytes depuis l'olfactomètre. Mais le comportement des reines lorsqu'elles se déplacent ne va pas dans le sens de cette hypothèse, et les tests « plante contre sac vide » semblent bien montrer qu'*H. physophora* peut être détectée sans être vue. Deuxièmement, le signal reconnu par les reines pourrait être constitué de composés semi-volatils qui ne seraient pas ou peu transportés par le flux d'air relativement lent traversant le dispositif. Cela expliquerait pourquoi les reines seraient capables de bien reconnaître leur hôte à très courte distance (comme dans nos tests utilisant les plates-formes de choix triangulaires) mais pas dans cette expérience. Troisièmement, s'il y a signal très volatil, il est clair que ce sont des composés très peu concentrés qui le forment (voir ci-dessous). Or le niveau de concentration dans l'air de ces composés susceptible de faire réagir les reines n'est peut-être pas garanti par le flux d'air continu circulant dans le dispositif, et la façon artificielle dont celui-ci mélange les odeurs des deux plantes testées. Cela serait d'autant plus le cas si les espèces testées émettent pour partie des composés communs, comme on pourrait l'attendre de plantes ayant toutes pour point commun l'échange d'informations avec des fourmis. Enfin, outre le signal lui-même, les conditions expérimentales offertes par ces olfactomètres en Y brouillent peut-être dans une certaine mesure les capacités des reines à les percevoir. Il est important de noter le temps très long (1h) qu'il a fallu fixer comme durée maximale d'un réplicat, ainsi que le taux très élevé de « non-choix » pendant les expériences (Fig. 35). Des valeurs similaires sont mentionnées par Edwards et al. (2006) lors de tests d'olfactométrie avec *A. octoarticulatus*, suggérant que les reines d'*Allomerus* en général sont perturbées par ce milieu artificiel fermé.

Départager ces différentes explications possibles requiert une identification des composés chimiques susceptibles d'agir effectivement comme signal de reconnaissance chez ces différentes plantes.

4.2.2. Collecte des odeurs

Les résultats des différents tests de reconnaissance soulevaient trois questions majeures:

- 1) Les plants d'*H. physophora* émettent-ils des composés volatils pouvant être utilisés comme signaux de reconnaissance par *A. decemarticulatus* ?
- 2) Ces composés diffèrent-ils de ceux émis par les autres myrmécophytes sympatriques ?
- 3) Retrouve-t-on une base commune dans les odeurs émises par les myrmécophytes par rapport aux plantes non-myrmécophytes qui pourrait expliquer certains résultats de nos tests d'olfactométrie ?

Pour répondre à ces questions, nous avons donc utilisé non seulement des plants d'*H. physophora*, mais également ceux des trois myrmécophytes sympatriques (*C. nodosa*, *T. guianensis* et *M. guianensis*) ainsi que ceux de quatre espèces de plantes sympatriques non-myrmécophytes communes dans nos sites d'étude (*Poecilanthe hostmanii* déjà utilisée dans les tests de reconnaissance, *Oxandra asbeckii*, *Memora moringüifolia* et *Bactris aubletiana*). De nombreuses techniques existent pour collecter les composés volatils végétaux (Tholl et al. 2006). Plusieurs d'entre elles ont été testées sur nos différentes plantes, les efforts étant concentrés sur *H. physophora*.

Bains de solvant

Des feuilles étaient collectées sur le terrain puis trempées dans les heures qui suivent dans des bains d'hexane. Plusieurs feuilles étaient placées les unes après les autres dans un tube rempli de 15ml d'hexane. Le nombre de feuilles variait suivant l'espèce de plante, mais elles provenaient de plusieurs individus pour chaque extrait. Chacune était laissée 35 minutes avant d'être remplacée par la suivante dans la même solution, dans le but d'accroître la concentration des composés récupérés. Ce temps d'extraction a été choisi car il s'est révélé suffisant pour récolter des composés volatils dans d'autres études (Bergström et al. 1980; Brouat et al. 2000). Les échantillons étaient ensuite stockés à -20° et analysés par GC-MS au laboratoire « Chimie et biochimie des interactions » du Centre Universitaire Champollion à Albi.

La figure 36 montre une vue d'ensemble des profils chromatographiques obtenus pour les différentes espèces. Beaucoup de pics apparaissent chez plusieurs espèces. Quelques composés volatils ont pu être identifiés chez *H. physophora* à partir de leur spectre de masse

et d'une comparaison avec des composés de référence purs : trans-2-Hexen-1-al, eugénol et méthyl salicylate. Cependant, un problème rencontré avec cette technique est non seulement une concentration souvent trop faible des composés, mais aussi un manque de répliquabilité. Par exemple, nous avons ciblé notre attention sur le méthyl salicylate puisque ce dernier a été signalé comme étant un signal vraisemblablement actif sur les fourmis habitant le myrmécophyte du genre *Leonardoxa*. La figure 37 montre les résultats de la recherche de ce composé dans différents extraits réalisés pour nos quatre espèces myrmécophytes et illustre la variabilité que l'on constate d'un extrait à l'autre.

Pourtant chaque extrait était déjà censé atténuer les variabilités individuelles puisqu'ils étaient issus de plusieurs feuilles provenant de plusieurs plants. Parmi les causes possibles, on peut citer des blessures accidentelles des feuilles pendant les extractions ainsi que tout simplement la présence de composés étrangers à l'espèce ciblée sur les feuilles utilisées, provenant par exemple du lessivage de la canopée par la pluie.

Pour cette raison, et également car les pics en début de chromatogramme semblent tout de même indiquer la présence de composés très volatils, nous avons souhaité appliquer d'autres méthodes d'extraction plus appropriées à la récolte des composés réellement émis par la plante, et non pas présents à sa surface.

Headspace dynamique

Le feuillage de plantes en pot était enfermé dans un sac à cuisson. Une pompe électrique y faisait entrer un flux d'air continu qui à sa sortie passait par une cartouche de produit absorbant (Porapak Q). Un sac vide installé en parallèle et recevant le même flux d'air servait d'échantillon témoin. Divers temps d'extraction et vitesse de flux d'air ont été testés. Les cartouches étaient ensuite soit éluées sur place à l'hexane, soit ramenées au laboratoire à Albi et éluées avec différents solvants (hexane, acétate d'éthyl ou méthanol). Tous les échantillons étaient conservés à -20°.

Nous n'avons quasiment pas trouvé de différences entre les lots « témoins » et « odeurs », et ce qui était présent l'était à l'état de traces. Cela peut venir du fait que les plantes soient trop faiblement émettrices de volatiles pour cette technique impliquant une étape de dilution avec les solvants, ou bien aussi que l'étape de conservation et transport avant analyse affecte les échantillons.

C'est pourquoi nous nous sommes enfin efforcés de rapporter et maintenir des plantes en laboratoire à Toulouse afin de tester une dernière méthode qui élimine à la fois l'étape de dilution et de transport : la SPME.

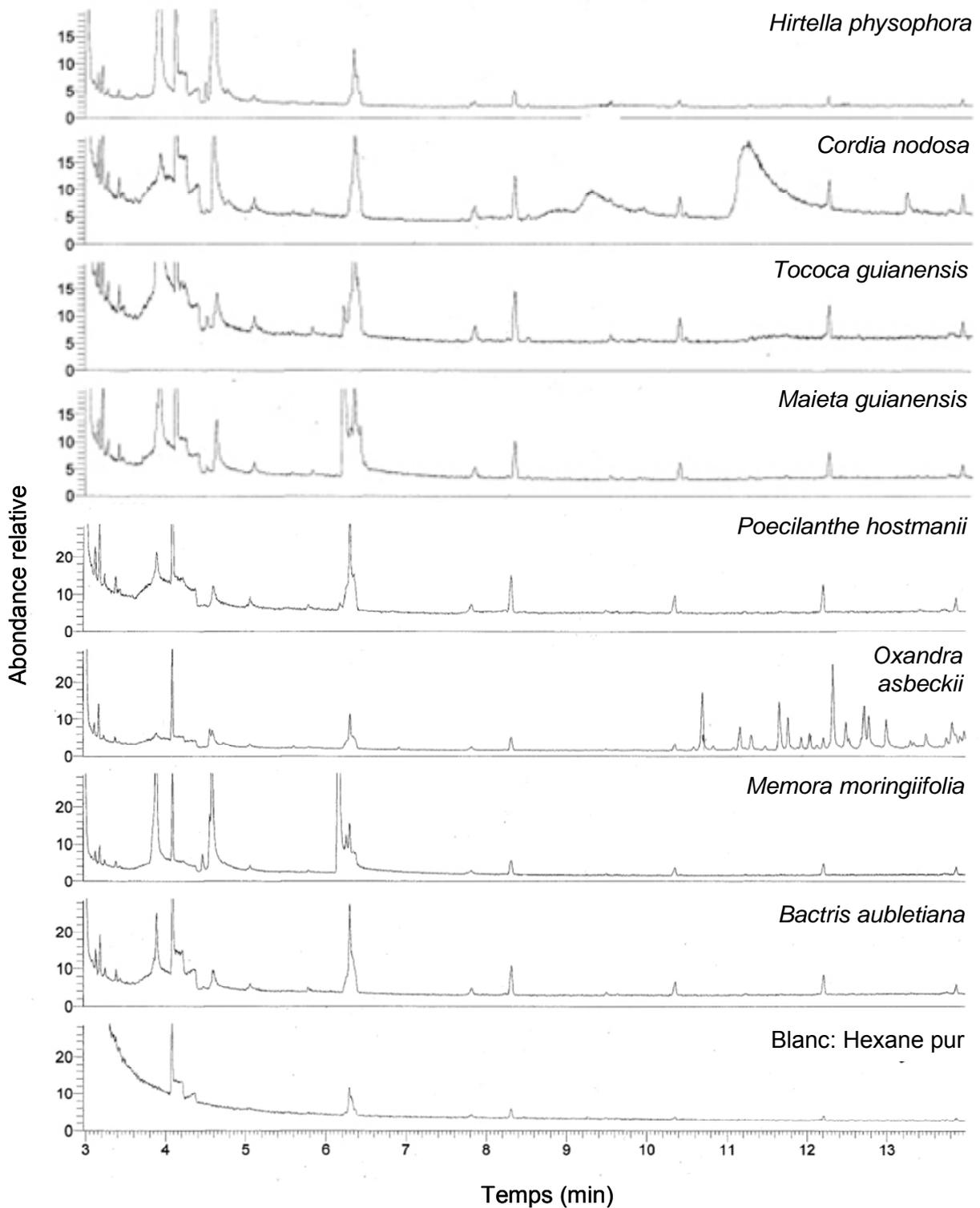


Figure 36. Vue d'ensemble des chromatogrammes réalisés en GC à partir d'extraits de feuilles obtenus par des bains d'hexane. De nombreux pics n'apparaissent pas à cette échelle, car les composés en question sont très peu concentrés. Les quatre premières espèces sont des myrmécophytes, et les quatre dernières n'en sont pas.

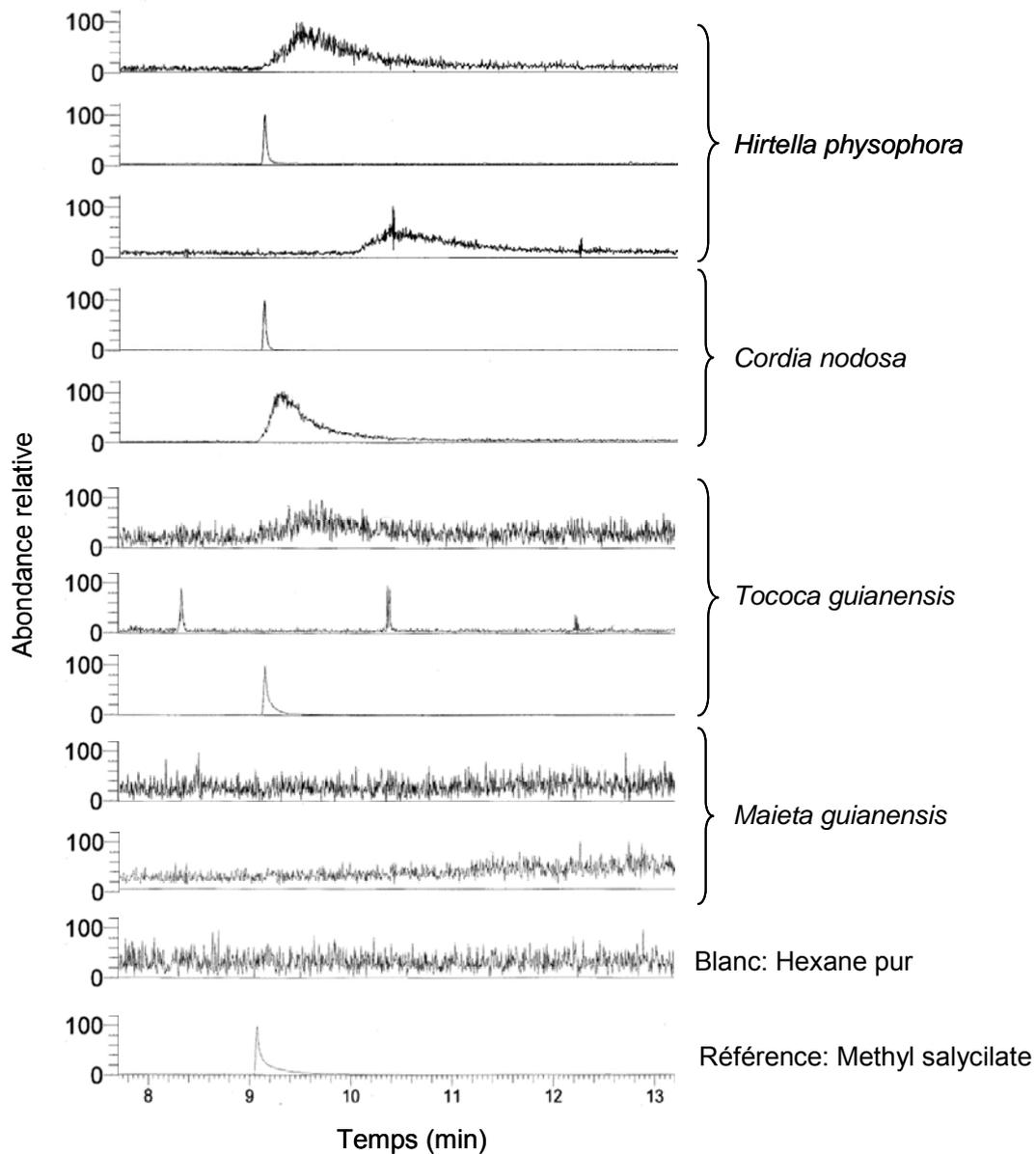


Figure 37. Recherche du composé « Methyl salicylate » dans les chromatogrammes des myrmécophytes. Pour chaque réplicat, plusieurs jeunes feuilles matures provenant de plusieurs individus étaient utilisées. L'échelle de chaque chromatogramme est proportionnelle à l'intensité du pic maximum, si bien qu'en l'absence complète de pic, le graphe indique le bruit de fond. C'est le cas pour le premier réplicat de *T. guianensis*, les deux réplicats de *M. guianensis*, et l'échantillon blanc (hexane pur). On remarque que le méthyl salicylate n'est clairement présent que dans un échantillon sur trois pour *H. physophora*, ou encore un sur trois pour *T. guianensis*.

SPME

Plusieurs plantes ayant pu être rapportées et maintenues au laboratoire de Toulouse, nous avons pu essayer d'extraire les volatils par SPME (Microextraction en phase solide). Les fibres utilisées (PDMS 100µm) étaient d'abord enfermées dans un tube en verre vide pendant 24h afin d'avoir un échantillon témoin. Tout de suite après, la même fibre était enfermée dans le même tube pour 24h encore, cette fois avec une feuille intacte encore portée par la plante. Les feuilles étaient enfermées dans des tubes en verre, et les fibres SPME (fibres PDMS 100µm) y étaient exposées pendant 24 heures puis désorbées en GC.

Les chromatogrammes obtenus suggèrent que quelques composés ont pu être capturés, mais là encore les résultats sont très variables d'un réplicat à l'autre : les très rares pics marqués avec une feuille sont en général absent sur une autre feuille (N=6 feuilles juvéniles pour *H. physophora* par exemple). De plus, il y a beaucoup de composés parasites, l'immense majorité des pics se retrouvent dans les échantillons « témoins » et « odeurs ». Cela complique l'analyse qui nécessiterait l'utilisation d'un spectromètre de masse pour être certain de la provenance des composés.

Parallèlement, pensant que des composés semi-volatils pourraient aussi avoir un rôle dans la reconnaissance par les reines, nous avons utilisé des fibres PDMS 7µm qui étaient frottées pendant 10min à la surface des feuilles (5min de chaque côté). Elles étaient ensuite immédiatement désorbées en GC.

Cette fois des composés ressortent clairement des différents échantillons (Fig. 38). Des différences claires apparaissent entre certaines espèces, et la réplicabilité a l'air meilleure qu'avec les méthodes précédentes. Ces données pourraient donc être intéressantes dans l'optique de trouver des composés susceptibles de permettre aux reines fondatrices une distinction entre les différentes espèces de plante. Mais l'étape suivante est maintenant d'identifier ces composés, pour savoir par exemple s'ils sont suffisamment volatils pour être détectés à très courte distance sans contact, comme dans nos tests de choix. Cela nécessitera de transporter les plantes vers des laboratoires possédant un spectromètre de masse couplé au chromatographe, ce qui pose des problèmes étant donné l'extrême fragilité de certaines des plantes (en particulier *H. physophora* dont les feuilles peuvent mourir en quelques heures si les conditions de température et d'humidité ne conviennent pas).

Plus globalement, des travaux ultérieurs en laboratoire dans des conditions mieux contrôlées que celles de terrain, et du matériel permettant de capter et concentrer des composés à l'état de traces, sont nécessaires.

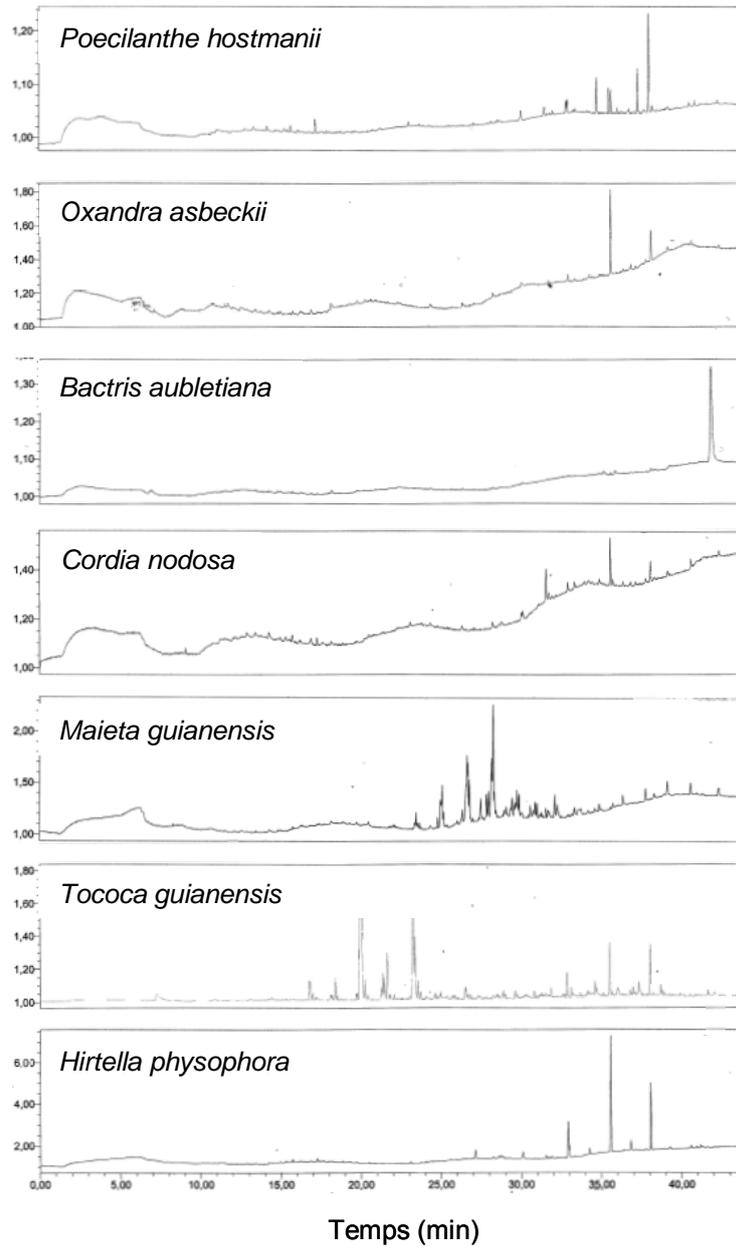


Figure 38. Chromatogrammes obtenus après extraction des composés peu ou pas volatiles de la surface des feuilles de différentes plantes, à l'aide d'une fibre SPME 7 μ m. Les trois premières espèces ne sont pas des myrmécophytes, contrairement aux quatre suivantes. Les deux myrmécophytes Melastomataceae *T. guianensis* et *M. guianensis* sont les plantes dont le profil présente toujours énormément de pics par rapport aux autres. On peut supposer que cela vient du fait que le limbe foliaire porte des trichomes glandulaires chez ces deux espèces.

4. Discussion générale et conclusion

Des différents types de mécanismes envisagés initialement (compétition interspécifique, filtres sélectifs, reconnaissance de l'hôte), c'est le troisième qui joue le rôle prépondérant dans la stabilité écologique de l'association entre *A. decemarticulatus* et *H. physophora*.

La compétition interspécifique pour l'occupation des poches foliaires s'est avérée être faible lors de la recolonisation de plants ayant perdu leur colonie. L'agressivité d'*A. decemarticulatus* ne sera déterminante que dans la minorité de cas où ses colonies naissantes partagent une plante avec d'autres organismes – essentiellement *Crematogaster* sp. aff. *crucis*. Pourtant, les domaties d'*H. physophora* ne sont pas des forteresses imprenables : nous avons pu montrer que diverses fourmis et autres organismes étaient capables d'y entrer. Les trichomes des domaties n'ont probablement qu'une action limitée en tant que filtre sélectif, puisque nous avons montré qu'ils pouvaient être occasionnellement franchis par des intrus et qu'ils étaient de toute façon absents de feuilles précédemment habitées. Mais la rareté de ces événements suggère que tous ces exploiters potentiels (à l'exception peut-être de *Crematogaster* sp. aff. *crucis*) sont des espèces opportunistes capables d'utiliser une grande variété de ressources autres que celles proposées par *H. physophora*. On comprend alors que ces occupants inhabituels ne peuvent réellement perturber la rencontre des deux mutualistes que si la plante reste séparée de son partenaire pendant une longue période : alors seulement des événements de recolonisation improbables pourraient finir par être plus nombreux et avoir des effets conséquents. L'effet du facteur temps sur la présence des intrus est d'ailleurs illustré par nos expériences montrant que la proportion de domaties qu'ils occupent est plus élevée huit mois après l'exclusion des colonies que 40 jours après.

Or, les plants d'*H. physophora* ne restent jamais séparés d'*A. decemarticulatus* très longtemps. Nos résultats montrent que la recolonisation d'un plant vide se fait dans les toutes premières semaines suivant la perte de la colonie. En effet, contrairement aux intrus, leur nombre n'est pas plus élevé après huit mois qu'après 40 jours. De plus, nous avons observé dans certains cas la présence de reines fondatrices seulement une semaine après l'exclusion des colonies initiales. Les capacités de reconnaissance d'hôte dont sont dotées les reines d'*A. decemarticulatus* y sont sans doute pour beaucoup, d'autant que la production de reines chez cette espèce n'est pas très élevée. En effet, les comptages des individus de colonies matures contenant au moins une reine ailée ont révélé que ces dernières ne sont toujours présentes qu'en petit nombre (3,8 reines ailées par colonie en moyenne (n=15), voir aussi 1^{ère} Partie), ce qui exclut les possibilités d'un essaimage massif où les reines chanceuses seraient

suffisamment nombreuses pour coloniser les plantes. Associée au fait que les essaimages ont clairement lieu toute l'année, la capacité d'*A. decemarticulatus* à reconnaître sa plante-hôte dans le sous-bois contribue donc sans aucun doute à une réunion rapide des deux partenaires mutualistes, et limite les risques d'erreur (*A. decemarticulatus* n'a jamais été trouvée ailleurs que sur *H. physophora* dans nos sites d'étude). La pression exercée sur le mutualisme par les exploiters opportunistes, déjà naturellement faible, s'en trouve réduite à un niveau minimal.

L'intrusion d'exploiteurs généralistes apparaît donc comme étant facilement contenue au vu de la spécialisation dont fait preuve *A. decemarticulatus* pendant la colonisation des plantes. Cependant, l'absence d'autres espèces de fourmis vivant typiquement en association avec des myrmécophytes reste frappante. Aucune des espèces associées aux myrmécophytes sympatriques n'a été recensée pendant nos expériences. Pourtant, quoique rapide et massive, la recolonisation des plantes par *A. decemarticulatus* laisse pendant quelques semaines de nombreuses domaties vides. Or, on pourrait s'attendre à ce que des fourmis à plantes soient beaucoup plus promptes que les espèces généralistes à utiliser une ressource qui est en général particulièrement limitante pour elles du fait de leur mode de vie : l'espace de nidification (Fonseca 1999). Elles sont de plus supposées présenter elles-mêmes des adaptations favorisant l'exploitation de ces ressources. Nous avons d'ailleurs montré que des reines d'*Azteca* et *Crematogaster* sp. vivant normalement sur *T. guianensis* sont potentiellement capables d'entrer dans les poches foliaires d'*H. physophora*. Leur absence nous conduit donc à supposer que ces espèces sont, comme *A. decemarticulatus*, strictement inféodées à leur espèce de plante-hôte et disposent elles aussi de capacités leur permettant de la reconnaître efficacement. Il a d'ailleurs déjà été montré qu'*A. octoarticulatus* utilisait des composés volatils pour reconnaître *C. nodosa* (Edwards et al. 2006). Ainsi, il semble que des mécanismes de reconnaissance d'hôtes très efficaces participent au façonnement d'une communauté de fourmis à plantes très compartimentée. Son fonctionnement serait régi par des signaux reconnus entre partenaires spécifiques, limitant considérablement les rencontres antagonistes. Cette idée est en accord avec les résultats de Fonseca et Ganade (1996), qui ont montré qu'une communauté fourmis-myrmécophytes du centre de l'Amazonie était hautement compartimentée et présentait une connectance de seulement 12% (=proportion d'interactions non nulles). Ils montraient notamment que les espèces d'*Hirtella*, de *Cordia* et de *Maieta-Tococa* appartenaient justement à trois compartiments différents.

Enfin, notons qu'outre la reconnaissance d'hôte, l'affiliation à un même habitat précis pour les fourmis et plantes d'une association donnée peut participer au maintien de la spécificité d'interaction, comme cela a été montré au Pérou chez des espèces de *Cecropia* (Yu

et Davidson 1997). Les quatre principales espèces de myrmécophytes présentes dans nos sites d'étude sont distribuées différemment le long des pentes des collines, *H. physophora* étant l'espèce la plus dense sur les sommets et *M. guianensis* la plus dense au fond des vallées près des cours d'eau (Solano et al. 2003). Les différents micro-habitats facilitent probablement la spécificité d'association de certains systèmes (un plant d'*H. physophora* sera peut-être plus rapidement colonisé s'il est en haut d'une colline plutôt que sur son versant). Cependant, les plantes situées dans les habitats intermédiaires, et parfois même loin de leur habitat préférentiel, sont occupées par leurs fourmis habituelles, alors qu'elles côtoient les autres espèces de myrmécophytes et leurs associées. Le même constat avait été fait dans une autre région par Fonseca (1999). Par conséquent, même si l'affiliation des partenaires à un même micro-habitat participe probablement à la stabilité des associations en place, la capacité de reconnaissance d'hôte par les reines fondatrices apparaît bien comme le mécanisme prépondérant.

En conclusion, la stabilité de l'association entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus* face à l'exploitation externe peut être attribuée à une combinaison de deux facteurs : 1) les exploiters potentiels n'exercent pas une forte pression pour l'occupation des plantes vides, car ils sont le plus souvent des organismes généralistes cherchant une cavité disponible sans qu'il y ait spécificité ; et 2) *A. decemarticulatus* est à l'inverse particulièrement efficace dans la colonisation de ces plantes. Des espèces généralistes, fourmis ou autres, sont en effet capables de profiter des ressources offertes par le myrmécophyte, mais leur rythme de colonisation des plantes est infiniment plus lent que celui des reines d'*A. decemarticulatus*. Ces dernières opèrent une colonisation massive et très rapide car elles sont capables de localiser spécifiquement leur plante hôte, vraisemblablement par le biais de signaux chimiques. Les espèces de fourmis spécialisées associées aux autres myrmécophytes sympatriques, qu'on aurait pu croire être la menace la plus importante, n'essaient jamais de coloniser *H. physophora*. Le mécanisme de reconnaissance spécifique mis en évidence dans notre modèle et les adaptations sur lesquelles il repose pourraient donc être très répandus dans les différentes associations sympatriques. Il en résulte une communauté d'espèces spécialistes très compartimentée, qui favorise encore plus la stabilité des mutualismes en présence.

Conclusions générales et perspectives

1. Conclusions générales

Notre étude a permis d'élaborer une vision globale du fonctionnement de l'association entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus*, à travers l'examen détaillé de deux aspects pouvant avoir un impact crucial sur son évolution : les multiples échanges structurant le mutualisme et la rencontre entre les deux partenaires. Pour conclure, nous allons dans un premier temps unir les informations fournies par ces deux pans du travail pour décrire le cycle de vie complet de l'association, avant de résumer les facteurs qui la stabilisent et de confronter ces résultats à des questions d'ordre plus général sur les mutualismes.

1.1. Cycles de vie des partenaires

Contrairement aux myrmécophytes pionniers dont le cycle de vie coïncide approximativement avec celui de la colonie qu'ils hébergent, ceux de sous-bois ont une croissance beaucoup plus lente et peuvent vivre nettement plus longtemps que leurs hôtes. *Hirtella physophora*, qui est la seule espèce pour laquelle des données précises existent à ce sujet, peut ainsi vivre bien plus de 200 ans, soit au moins dix fois plus qu'une colonie d'*A. decemarticulatus*.

Les jeunes plants d'*H. physophora* commencent à produire des feuilles sans domaties. Les moyens de défense dont disposent alors les plants juvéniles contre les phytophages sont inconnus, comme d'ailleurs chez la plupart des myrmécophytes. Les quelques études menées à ce sujet suggèrent que certaines espèces présentent des défenses directes (chimiques/physiques), alors que d'autres adopteraient une stratégie de tolérance avec un taux de croissance compensant la défoliation (Nomura et al. 2001; Del Val et Dirzo 2003). Les premières poches foliaires sont produites vers deux ans (Dejean, comm. pers.). Dans les semaines qui suivent, ces plants sont ensuite rapidement colonisés par des reines fondatrices d'*A. decemarticulatus* provenant des colonies environnantes. Selon nos données, on peut estimer qu'il se passe au moins un an entre le stade « fondations claustrales multiples » et le stade « colonie monogyne unique » à partir duquel la protection biotique peut être efficace pour la plante. Dans les années qui suivent, la colonie se développe, construisant notamment des galeries le long des tiges de son hôte. L'espace devient limitant une fois qu'elle occupe

toutes les domaties, mais l'essaimage des sexués se fait tout au long de l'année si bien que de l'espace se libère régulièrement indépendamment de la croissance continue des plantes. La colonie peut vivre une vingtaine d'années, après quoi elle périclité. Les plants entrent alors dans une courte phase solitaire qui durera tout au plus quelques semaines avant d'être re-colonisés. Durant cette période puis l'année qui suit, leur croissance stagne, la production de nouvelles feuilles étant plus faible car ces dernières sont très attaquées en l'absence de colonie mature. Puis les colonies naissantes atteignent la maturité et le cycle se poursuit ainsi (Fig. 39). La production de fruits par les plants d'*H. physophora* commence à un âge indéterminé (mais au plus tard vers 15 ans). Par la suite, contrairement à leur croissance, leur reproduction ne semble pas affectée par la présence ou l'absence des fourmis (du moins à l'échelle de quelques mois). Enfin, il y a de fortes chances qu'au cours de leur vie, les plantes d'*H. physophora* soient cassés par des chutes d'arbres ou de branches. Ils survivent souvent et tout se passe comme si le cycle repartait de zéro, avec un rejet assez vigoureux partant de la base du tronc au niveau du sol.

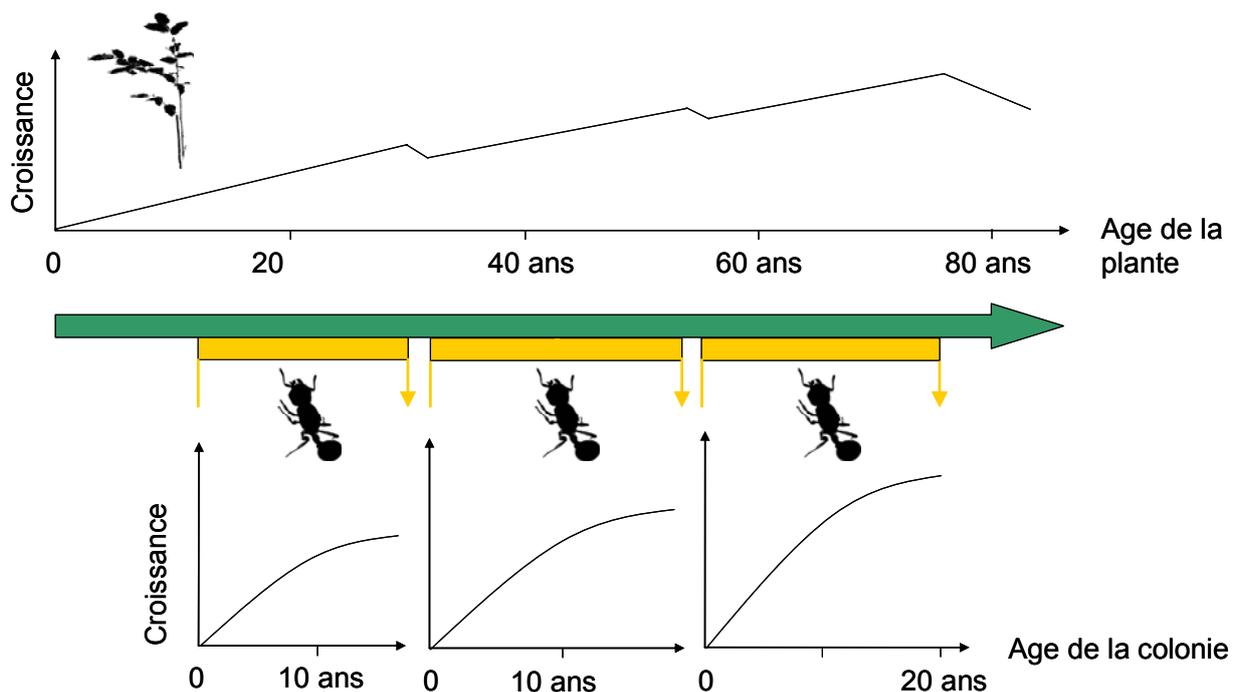


Figure 39. Représentation schématique des cycles de vie d'un plant d'*H. physophora* (segment vert) et des colonies successives d'*A. decemarticulatus* qui l'habitent (segments jaunes), ainsi que de leur dynamique de croissance respective. Celle de la plante est caractérisée par un ralentissement prononcé pendant les périodes d'un an minimum au cours desquelles elle n'héberge pas de fourmis, ou seulement des reines fondatrices et petites colonies naissantes. Celle des colonies est caractérisée par un ralentissement qui commencera plus ou moins tôt en fonction de la taille de la plante (et donc du nombre de domaties).

1.2. Stabilité de l'association

Notre travail met en lumière un mutualisme obligatoire plante-fourmis présentant un degré de spécificité d'association inhabituel dans ce type d'association. Le myrmécophyte *H. physophora* est en effet toujours habité par la même espèce de fourmi, *A. decemarticulatus*, indépendamment de l'âge du plant, du fait qu'il ait ou non déjà été occupé, et du stade de développement de ses hôtes (fondations ou colonies matures). Notre étude allonge donc la liste des quelques cas connus où un myrmécophyte n'est habité, au moins localement, que par une espèce de fourmi (Yu et Davidson 1997; Fiala et al. 1999; Brouat et al. 2001), et elle a permis d'identifier les facteurs favorisant le maintien d'une telle spécificité dans ce cas précis.

1.2.1. Exploitation interne

En dépit d'intérêts reproductifs non alignés, les fitness des deux partenaires semblent assez liées puisque leur croissance respective dépend beaucoup de celle de leur associé. La présence de fourmis conditionne l'émergence et le développement des nouvelles feuilles, et le nombre de poches foliaires limite la croissance des colonies. Cette association semble être un exemple de pseudoréciprocité, où la plante est la seule à investir de façon clairement dirigée vers les fourmis. Les possibilités d'exploitation interne apparaissent très limitées.

La tricherie est freinée chez la plante du fait des effets rétroactifs négatifs qu'une telle stratégie entraînerait. Un moindre investissement de sa part dans les récompenses pour les fourmis (par le biais de feuilles sans nectaires ou sans domaties par exemple) priverait sans doute certaines feuilles de la protection biotique dont elles ont besoin pour se développer correctement, au vu des facteurs proximaux guidant les activités constitutives et inductibles des fourmis.

Quant au service de protection rendu par les fourmis, il est essentiellement un sous-produit de leurs activités de fourragement, ce qui empêche la possibilité de tricherie de leur part vis-à-vis de la défense contre les phytophages. Quelques coûts potentiels de la protection de la plante sont difficiles à exclure totalement, mais ils seraient de toute façon faibles et fortement sélectionnés par le même mécanisme de rétroactions qui stabilise les coûts de la plante. Un moindre investissement dans certains aspects de la défense de leur hôte renforcerait en effet rapidement la limitation par l'espace subie par les fourmis puisque la production de nouvelles feuilles et domaties en serait affectée.

Enfin, le maintien d'un bilan net positif pour les deux partenaires est renforcé par le fait qu'aucun conflit d'intérêt lié à leur reproduction ne semble exister. En effet, contrairement à d'autres espèces d'*Allomerus*, *A. decemarticulatus* ne castre pas systématiquement son hôte en réponse à la limitation par l'espace.

1.2.2. Exploitation externe

La réunion des deux partenaires à chaque génération est très rapide et efficace, principalement grâce à la capacité qu'ont les reines fondatrices d'*A. decemarticulatus* de distinguer *H. physophora* des autres espèces de plantes sympatriques. Une intense compétition intraspécifique marque l'occupation des plants, mais la compétition interspécifique est, elle, beaucoup plus rare. Pourtant, l'occupation massive des plants par les reines fondatrices d'*A. decemarticulatus* laisse beaucoup de domaties libres, et les filtres sélectifs potentiels que nous avons testés ne semblent pas être très actifs. Il semble que la colonisation des plants par des intrus ne peut devenir significative que sur une longue période car elle est le fait d'organismes très généralistes. Ainsi, le contexte écologique dans lequel se trouve l'association rend la pression exercée par les organismes autres que la fourmi mutualiste beaucoup trop faible pour qu'elle puisse perturber la colonisation très spécialisée d'*H. physophora* par *A. decemarticulatus*. Les exploiters externes ne représentent donc pas de menaces à court terme pour l'équilibre de l'association et ce en dépit du fait que la séparation et la réunion des partenaires a lieu plusieurs fois au cours de la vie d'un plant d'*H. physophora*.

1.3. Importance du modèle *Hirtella* / *Allomerus* dans l'étude du mutualisme

Notre étude du système *H. physophora*/*A. decemarticulatus* contribue à l'étude du mutualisme en général de deux façons principales.

Premièrement, elle valide expérimentalement certaines prévisions théoriques récentes au sujet des conditions permettant la stabilité des mutualismes à transmission horizontale. Wilkinson et Sherratt (2001) pensent que la transmission horizontale a été exagérément associée à l'instabilité évolutive par opposition à la transmission verticale : si la seconde est

par définition plus stable que la première, cela ne veut pas dire pour autant que la première est intrinsèquement instable. Par une approche théorique, ils proposent plusieurs conditions qui peuvent selon eux suffire à stabiliser une association mutualiste à transmission horizontale : 1) une dispersion locale des partenaires hétérospécifiques, 2) la possibilité de riposter aux tentatives d'exploitation, 3) la possibilité de choisir son partenaire.

Notre travail va dans le sens de leurs remarques puisqu'il prouve expérimentalement que les associations à transmission horizontale ne s'accompagnent pas nécessairement de conflits d'intérêt majeurs et n'excluent pas le maintien d'un haut degré de spécificité d'association. Plus spécifiquement, il tend à valider les conditions de stabilités énoncées ci-dessus : si le point 1 ne peut être que supposé au vu de la distribution en patches d'*H. physophora* (aux sommets des collines), la réalité des points 2 et 3 a pu être mise en évidence (par les effets rétroactifs négatifs dont souffriraient à court terme les tricheurs et par les capacités de reconnaissance des reines vis-à-vis de leur hôte, respectivement).

Deuxièmement, notre étude documente un facteur peu commun participant avec les conditions précédentes à la stabilité de l'association : la faible compétition interspécifique à tous les stades de l'association. Cette caractéristique est frappante car la compétition interspécifique pour l'occupation des plantes marque profondément le cycle de vie des nombreuses espèces de fourmis associées à des myrmécophytes. Divers mécanismes favorisant la coexistence des espèces d'ailleurs ont été décrits (Palmer et al. 2003). Chez le myrmécophyte amazonien *Tachigali* par exemple, une succession ontogénétique de huit espèces de fourmis a été mise en évidence, les premières présentant un cycle de vie très court avec un investissement précoce dans la dispersion (Fonseca et Benson 2003). Dans d'autres systèmes, c'est un trade-off compétition/colonisation ou dispersion/fécondité qui semble permettre la coexistence de différents habitants potentiels d'une même espèce de myrmécophyte (Yu et Davidson 1997; Stanton et al. 2002). Notre modèle d'étude se distingue donc nettement de ces situations. Les communautés myrmécophytes-fourmis semblent souvent être compartimentées : il apparaît ici que certains compartiments peuvent se réduire à une espèce de plante et une espèce de fourmi. Cela montre que le fonctionnement des mutualismes à transmissions horizontales peut, au moins localement, ne pas être sous l'influence de la compétition interspécifique entre associés potentiels.

2. Perspectives

Cette thèse ouvre trois pistes de travail pouvant être explorées dans les études à venir sur *A. decemarticulatus* et *H. physophora*. D'une part, elle indique comment des travaux complémentaires peuvent approfondir encore notre compréhension de la stabilité de ce mutualisme. Mais elle suggère aussi que ce modèle d'étude pourrait contribuer de façon fructueuse à l'exploration de deux autres thèmes importants dans la connaissance de ce type d'interaction : les variations temporelles et spatiales de la dynamique coévolutive.

2.1. Stabilité de l'association : éléments complémentaires

Nous avons identifié de la façon la plus large possible les effets négatifs et positifs que les deux partenaires exercent l'un sur l'autre. Mais tous n'ont pas pu être quantifiés ou même vérifiés. C'est le cas par exemple de la myrmécotrophie, dont l'existence reste encore incertaine.

Par ailleurs, la reconnaissance de la plante-hôte par les reines fondatrices demande des travaux supplémentaires pour comprendre le fonctionnement proximal de ce mécanisme qui s'est avéré crucial dans notre système. La démonstration comportementale de cette reconnaissance pose déjà plusieurs difficultés inhérentes à ces associations plantes-fourmis : notre étude n'est à notre connaissance que la quatrième à la documenter, alors qu'il s'agit d'un mécanisme clé dans ces mutualismes à transmission horizontale. Mais l'identification des signaux chimiques impliqués dans ce comportement est une étape supplémentaire encore moins explorée et qui n'en est qu'à ses balbutiements. Dans les relations plantes-arthropodes en général, cela constitue d'ailleurs un champ de recherche très vaste qui demande encore beaucoup de progrès (D'Alessandro et Turlings 2006). Dans notre cas, cela nécessite l'utilisation de techniques permettant la concentration de composés émis par des plantes très faiblement émettrices. On peut par ailleurs se demander par quel biais pourraient être émis de tels signaux : s'agit-il d'une émission diffuse par différents tissus de la plante ou par des structures spécialisées ? Il a été montré dans un mutualisme de pollinisation spécifique que des structures spécialisées localisées sur les feuilles remplissaient ce rôle (Dufaÿ et al. 2003). Dans notre cas, une observation pourrait être intéressante de ce point de vue : il semble que les stipules d'*H. physophora* portent des trichomes glandulaires (Fig. 40). Bien que nous ne sachions rien du rôle de ces structures, il sera intéressant de s'y pencher à l'avenir pour

déterminer s'ils peuvent intervenir dans la reconnaissance de la plante, dans l'identification des jeunes feuilles préférées par les reines (les stipules sèchent en effet sur les parties les plus âgées), ou bien s'ils sécrètent du nectar ou ont une toute autre fonction.

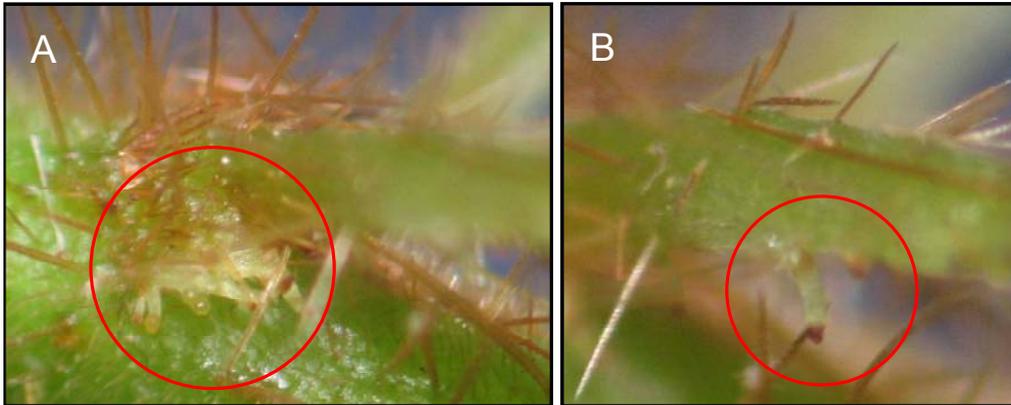


Figure 40. Structures ressemblant à des trichomes glandulaires à la base des stipules d'*H. physophora* (A) et le long des stipules (B).

Par ailleurs, si nous avons étudié en détail la nature des exploiters externes potentiels, certains autres organismes vivant sur *H. physophora* pourraient eux aussi s'insérer dans les interactions que nous avons décrites et les influencer d'une façon ou d'une autre, sans pour autant utiliser ni les nectaires ni les domaties.

En premier lieu, des études sont clairement nécessaires pour connaître le rôle exact du champignon croissant le long des galeries construites par les ouvrières d'*A. decemarticulatus*. Est-il spécifiquement associé aux constructions de cette fourmi (auquel cas on aurait une association tripartite, plante-fourmis-champignon)? Joue-t-il plus qu'un rôle de consolidation de l'édifice ? Est-il apporté par les reines fondatrices au moment de la colonisation, ou est-il déjà présent sur les plants juvéniles d'*H. physophora* ? S'agit-il d'une ou de plusieurs espèces ?

Deuxièmement, divers insectes sont trouvés de façon récurrente à la surface de plants d'*H. physophora* pourtant occupés par des colonies matures d'*A. decemarticulatus*. C'est le cas par exemple de plusieurs espèces de guêpes construisant leurs nids sur la face inférieure des feuilles (Fig. 41). La présence relativement fréquente de ces voisins constitue-t-elle un coût pour *A. decemarticulatus*, par exemple à travers des vols de proies (voir LaPierre et al. 2007)? Des punaises sont aussi régulièrement rencontrées à la surface des limbes foliaires : elles se tiennent en général à l'écart des domaties et du piège (même si certaines peuvent parfois se faire capturer) et se cachent en face abaxiale quand on les dérange. Il ne s'agit pas

de prédateurs spécialisés d'*A. decemarticulatus*, contrairement par exemple à certaines araignées vis-à-vis d'*A. octoarticulatus* sur *H. myrmecophila* (Izzo et Vasconcelos 2005)? Par contre, elles ont un impact négatif sur les fourmis car elles capturent des proies venues sur la plante, en volent parfois aux fourmis et s'attaquent aux ouvrières si ces dernières sont agressives avec elles (Fig. 41). Ces exemples soulèvent bien sûr des questions quant à la persistance de tels organismes sur des territoires normalement agressivement défendus par *A. decemarticulatus*. Mais ils conduisent aussi à s'interroger sur l'impact d'organismes qui sont impliqués dans des relations vraisemblablement antagonistes pour les fourmis mais commensales pour la plante (voire mutualistes si les guêpes chassent certains phytophages) : peuvent-ils devenir une source de déstabilisation de l'association ?

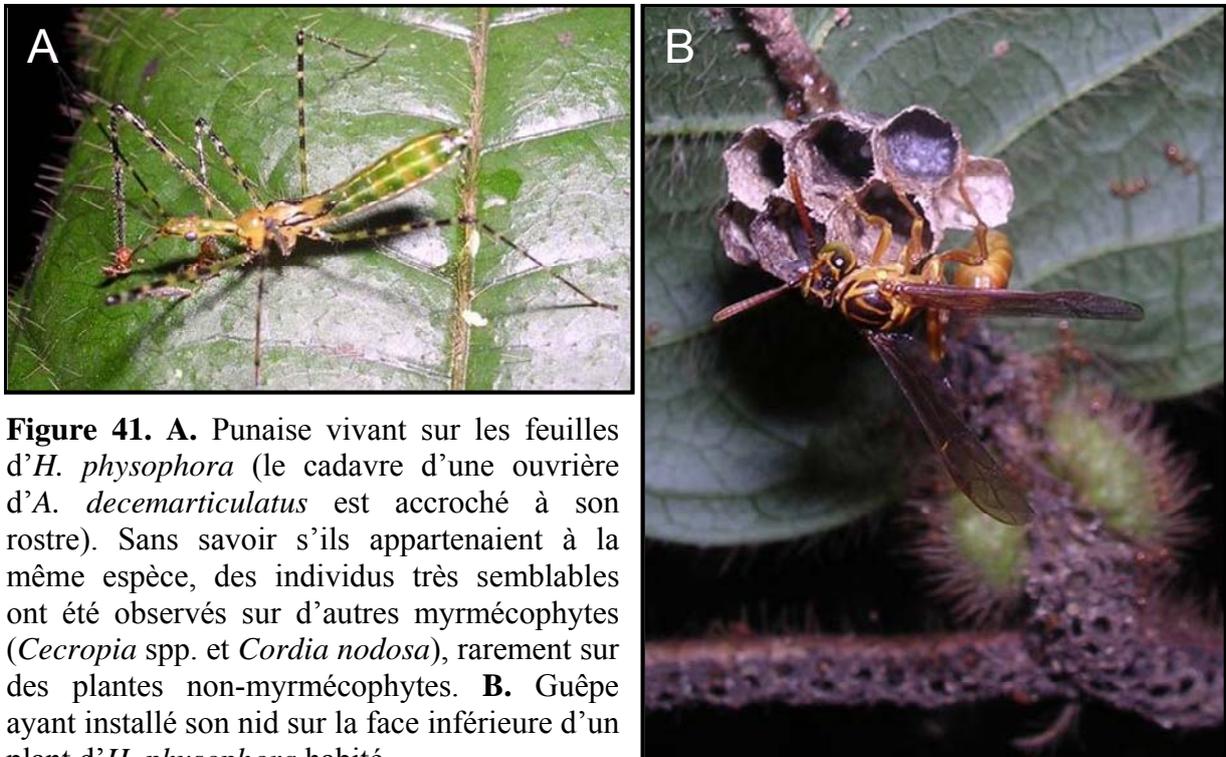


Figure 41. A. Punaise vivant sur les feuilles d'*H. physophora* (le cadavre d'une ouvrière d'*A. decemarticulatus* est accroché à son rostre). Sans savoir s'ils appartenaient à la même espèce, des individus très semblables ont été observés sur d'autres myrmécophytes (*Cecropia* spp. et *Cordia nodosa*), rarement sur des plantes non-myrmécophytes. **B.** Guêpe ayant installé son nid sur la face inférieure d'un plant d'*H. physophora* habité.

2.2. Variations temporelles de la dynamique coévolutive

On appelle coévolution le processus par lequel des espèces qui interagissent subissent des changements évolutifs réciproques à travers la sélection naturelle. Comme dans toutes les associations obligatoires plante-fourmis, plusieurs traits mutualistes des deux partenaires de notre modèle d'étude suggèrent qu'un processus coévolutif a façonné l'association telle qu'on

la décrit aujourd'hui. Mais ce processus a pu s'opérer de façon tantôt spécifique entre les deux partenaires, tantôt diffuse entre les guildes de fourmis et de myrmécophytes sympatriques.

Ainsi, la reconnaissance à distance de la plante-hôte par les reines fondatrices d'*A. decemarticulatus* ou la distribution spatiale des ouvrières assurant une défense optimale constituent vraisemblablement des spécialisations issues d'un processus coévolutif spécifique. Mais la production de poches foliaires ou de nectar extra-floral pourrait très bien être issue d'un processus de coévolution diffuse entre *H. physophora* et les différentes espèces de la guildes de fourmis que la plante a pu côtoyer au cours de son histoire évolutive. De même, la capacité des ouvrières à reconnaître les composés émis par les blessures foliaires pourraient résulter d'une coévolution diffuse avec diverses espèces de plantes. Il est d'ailleurs intéressant de remarquer qu'*A. octoarticulatus* recrute avec la même intensité vers des extraits de feuilles blessées réalisés à partir d'une plante hôte habituelle (*H. myrmecophila*) et vers ceux réalisés à partir d'une plante sympatrique non myrmécophyte et phylogénétiquement éloignée des Chrysobalanaceae (Romero et Izzo 2004). De plus, il a récemment été montré que des fourmis arboricoles non associées à des myrmécophytes disposaient aussi d'une telle capacité (Dejean et al. 2008). Cela suggère que les composés émis par les blessures des plantes et servant de signaux pour les fourmis sont proches d'une espèce de plante à l'autre, et que leur reconnaissance a parfois pu être une pré-adaptation aux associations obligatoires.

D'une façon générale, la coévolution spécifique entre une espèce de fourmi et une espèce de myrmécophyte est communément admise comme étant rare, et même les associations spécifiques semblent majoritairement trouver leurs origines dans une correspondance écologique entre partenaires pré-adaptés (Davidson et McKey 1993; Chenuil et McKey 1996). Itino et al. (2001a) signalent cependant une exception avec des preuves de cospéciation entre les *Macaranga* et leurs fourmis associées. Ainsi, les changements d'hôtes et des colonisations secondaires (remplacement d'une espèce par une autre) semblent être fréquents dans l'histoire évolutive des associations obligatoires plantes-fourmis et ont probablement grandement contribué à leur diversification.

Dans le cas des fourmis *Allomerus* de tels événements sont suggérés par le fait que toutes les espèces connues sont des fourmis à plantes spécialisées, mais dont la gamme d'hôtes inclut des plantes d'au moins sept genres et cinq familles différentes (Davidson et McKey 1993). Des travaux phylogénétiques aideraient non seulement à clarifier les zones d'ombre subsistant dans la systématique de ce genre, mais permettraient aussi de mieux comprendre l'histoire des associations dans lesquelles ces fourmis sont impliquées.

Par ailleurs, outre les fluctuations écologiques dans les communautés environnant l'association, un autre facteur a pu avoir une influence dans le temps sur la dynamique coévolutive entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus* : l'asymétrie des temps de génération des deux partenaires. La plante peut vivre plus de deux siècles, soit dix fois plus que son partenaire : quelle influence cela peut-il avoir sur l'évolution de l'association ?

Le modèle du « Roi rouge » prédit que dans les mutualismes, contrairement à ce qui se passe dans les relations antagonistes, l'espèce évoluant le plus lentement profite de façon disproportionnée des bénéfices générés par l'association (Bergstrom et Lachmann 2003). Un tel mécanisme existe-t-il dans les associations entre les myrmécophytes de sous-bois à croissance lente et leurs fourmis associées ? Autre prédiction théorique : une forte asymétrie entre les temps de génération des partenaires est supposée conduire à une compétition interspécifique accrue entre les partenaires à courte vie pour l'accès au partenaire à longue vie (Stanton 2003). Or dans notre cas la compétition interspécifique entre fourmis est extrêmement réduite : comment l'expliquer ?

Ces questions pourraient sans doute être plus facilement abordées si les connaissances au sujet de la croissance, mais surtout de la reproduction des partenaires, étaient mieux connues à l'échelle d'une portion plus significative, à défaut d'être complète, de leur cycle de vie. Notre travail expérimental a expliqué le fonctionnement du mutualisme entre *H. physophora* et *A. decemarticulatus* sur la base de mécanismes agissant à très court, court ou moyen terme (quelques minutes concernant le recrutement défensif, quelques jours concernant l'installation de reines fondatrices et quelques mois concernant la dynamique de recolonisation des plantes, le niveau de protection assuré par les colonies matures ou leur effet sur la floraison). Cependant, il serait intéressant de pouvoir étudier l'effet de l'asymétrie des temps de générations à une échelle plus large.

2.3. Variations spatiales de la dynamique coévolutive

Il est reconnu que les interactions entre deux espèces n'induisent pas forcément les mêmes effets réciproques dans toute leur aire de répartition. Différentes régions peuvent donc être le théâtre de dynamiques coévolutives différentes : on parle de « mosaïques géographiques de coévolution » (Thompson 1999; 2005).

Les mutualismes obligatoires plante-fourmis constituent un excellent modèle pour explorer ce concept, du fait de leur caractère très dynamique à l'échelle évolutive aussi bien

qu'écologique. De plus, en tant que mutualismes de protection, ils sont par définition conditionnés par la pression d'un troisième intervenant qui elle-même peut fluctuer géographiquement: celle des phytophages. Dans le cas de notre modèle d'étude, plusieurs points suggèrent que l'exploration de ce thème pourrait être particulièrement fructueuse pour la compréhension de l'origine des variations spatiales de la dynamique coévolutive. Tout d'abord, nous avons vu que les fourmis du genre *Allomerus* ont probablement changé d'hôtes de nombreuses fois au cours de leur histoire évolutive. Ensuite, les quelques données concernant les variations géographiques des associations dans lesquelles *A. decemarticulatus* est impliquée sont intrigantes. Un très haut degré de spécificité d'association entre *A. decemarticulatus* et *H. physophora* existe dans nos sites d'étude en Guyane française, mais cette espèce est signalée sur *H. myrmecophila* au Brésil (Bruna et al. 2005). De même, *H. physophora* n'est habitée que par *A. decemarticulatus* dans nos sites d'étude, mais d'autres espèces d'*Allomerus* s'y ajoutent au Brésil, dont *A. octoarticulatus* (voir Introduction).

Plusieurs approches pourraient donc être développées pour étudier l'influence de la structure spatiale sur cette association et les possibilités que des adaptations locales participent à son évolution. Premièrement, il est nécessaire de conduire des études sur la dispersion des deux associés, afin de définir l'échelle spatiale correspondant à une population. Dans nos sites d'étude, *H. physophora* se trouve principalement au sommet des collines : y a-t-il échange de graines et de sexués ailés entre les différentes collines ou est-on déjà à ce niveau en présence d'une structure en méta-populations ? Deuxièmement, des études détaillées sur l'association *H. physophora/A. decemarticulatus* dans d'autres régions seraient probablement très riches en enseignements. Les facteurs de stabilité qui semblent prépondérants dans nos sites d'étude sont-ils les mêmes ailleurs ? Par exemple, les filtres sélectifs comme les trichomes à l'entrée des domaties n'auraient-ils pas une importance plus forte dans d'autres communautés présentant une myrmécofaune différente de nos sites d'étude ? La compétition interspécifique pour l'occupation des plantes serait-elle plus forte dans d'autres communautés ? Ce genre d'approche comparative contribuera certainement à la compréhension du fonctionnement des communautés de mutualismes obligatoires plante-fourmis et de la stabilité des associations qui les composent.

Références bibliographiques

- Adams ES, Balas MT (1999) Worker discrimination among queens in newly founded colonies of the fire ant *Solenopsis invicta*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45:330-338
- Agrawal AA (1998) Leaf damage and associated cues induce aggressive ant recruitment in a neotropical ant-plant. *Ecology* 79:2100-2112
- Agrawal AA, Dubin-Thaler BJ (1999) Induced responses to herbivory in the Neotropical ant-plant association between *Azteca* ants and *Cecropia* trees: response of ants to potential inducing cues. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45:47-54
- Agrawal AA, Rutter MT (1998) Dynamic anti-herbivore defense in ant-plants: the role of induced responses. *Oikos* 83:227-236
- Alvarez G, Armbrrecht I, Jimenez E, Armbrrecht H, Ulloa-Chacon P (2001) Ant-plant association in two *Tococa* species from a primary rain forest of Colombian Choco (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 38:585-602
- Baroni Urbani C, de Andrade ML (1997) Pollen eating, storing, and spitting by ants. *Naturwissenschaften* 84:256-258
- Beattie AJ, Hughes L (2002) Ant-plant interactions. In: Herrera CM, Pellmyr O (eds) *Plant-animal interactions*. Blackwell Publishing, Oxford, pp 211-235
- Beattie AJ, Turnbull C, Hough T, Jobson S, Knox RB (1985) The vulnerability of pollen and fungal spores to ant secretions: evidence and some evolutionary implications. *American Journal of Botany* 72:606-614
- Benson WW (1985) Amazon ant-plants. In: Prance GT, Lovejoy TE (eds) *Key environments. Amazonia*. Pergamon Press, Oxford. xiv + 442 p., pp 239-266
- Bergstrom CT, Lachmann M (2003) The Red King effect: when the slowest runner wins the coevolutionary race. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 100:593-598
- Bergström G, Appelgren M, Borg-Karlson A-K, Groth I, Strömberg S (1980) Studies on natural odoriferous compounds. XXII. Techniques for the isolation/enrichment of plant volatiles in the analyses of *Ophrys* orchids (Orchidaceae). *Chemica Scripta* 16:173-180
- Blüthgen N, Stork NE (2007) Ant mosaics in a tropical rainforest in Australia and elsewhere: a critical review. *Austral Ecology* 32:93-104

- Blüthgen N, Wesenberg J (2001) Ants induce domatia in a rain forest tree (*Vochysia vismiaefolia*). *Biotropica* 33:637-642
- Boucher DH (1985) The biology of mutualism. Oxford University Press, New York
- Boucher DH, James S, Keeler KH (1982) The ecology of mutualism. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13:315-347
- Bourke AFG, Franks NR (1995) Social evolution in ants. Princeton University Press
- Bronstein JL (1994a) Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Trends in Ecology & Evolution* 9:214-217
- Bronstein JL (1994b) Our current understanding of mutualism. *Quarterly Review of Biology* 69:31-51
- Bronstein JL (1998) The contribution of ant-plant protection studies to our understanding of mutualism. *Biotropica* 30:150-161
- Bronstein JL (2001a) The costs of mutualism. *American Zoologist* 41:825-839
- Bronstein JL (2001b) The exploitation of mutualisms. *Ecology Letters* 4:277-287
- Bronstein JL, Alarcón R, Geber M (2006) The evolution of plant–insect mutualisms. *New Phytologist* 172:412-428
- Brouat C, Garcia N, Andary C, McKey D (2001) Plant lock and ant key: pairwise coevolution of an exclusion filter in an ant-plant mutualism. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences* 268:2131-2141
- Brouat C, McKey D (2000) Origin of caulinary ant domatia and timing of their onset in plant ontogeny: evolution of a key trait in horizontally transmitted ant-plant symbioses. *Biological Journal of the Linnean Society* 71:801-819
- Brouat C, McKey D, Bessière JM, Pascal L, Hossaert-McKey M (2000) Leaf volatile compounds and the distribution of ant patrolling in an ant-plant protection mutualism: preliminary results on *Leonardoxa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and *Petalomyrmex* (Formicidae: Formicinae). *Acta Oecologica* 21:349-357
- Bruna EM, Lapola DM, Vasconcelos HL (2004) Interspecific variation in the defensive responses of obligate plant-ants: experimental tests and consequences for herbivory. *Oecologia* 138:558-565
- Bruna EM, Vasconcelos HL, Heredia S (2005) The effect of habitat fragmentation on communities of mutualists: Amazonian ants and their host plants. *Biological Conservation* 124:209-216
- Bruno JF, Stachowicz JJ, Bertness MD (2003) Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution* 18:119-125

- Bull JJ, Rice WR (1991) Distinguishing mechanisms for the evolution of co-operation. *Journal of Theoretical Biology* 149:63-74
- Cabrera M, Jaffe K (1994) A trophic mutualism between the myrmecophytic Melastomataceae *Tococa guianensis* Aublet and an *Azteca* ant species. *Ecotropicos* 72:1-10
- Chenuil A, McKey D (1996) Molecular phylogenetic study of a myrmecophyte symbiosis: did *Leonardoxa*/ant associations diversify via cospeciation? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 6:270-286
- Christianini AV, Machado G (2004) Induced biotic responses to herbivory and associated cues in the Amazonian ant-plant *Maieta poeppigii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 112:81-88
- Clement LW, Köppen SCW, Brand WA, Heil M (2008) Strategies of a parasite of the ant-*Acacia* mutualism. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62:953-962
- Coley PD (1983) Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53:209-234
- Coley PD, Barone JA (1996) Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:305-335
- Connor RC (1995) The benefits of mutualism: a conceptual framework. *Biological Reviews* 70:427-457
- Connor RC (2007) Invested, extracted and byproduct benefits: a modified scheme for the evolution of cooperation. *Behavioural Processes* 76:109-113
- Cushman JH, Beattie AJ (1991) Mutualisms: assessing the benefits to hosts and visitors. *Trends in Ecology & Evolution* 6:193-197
- D'Alessandro M, Turlings TCJ (2006) Advances and challenges in the identification of volatiles that mediate interactions among plants and arthropods. *The Analyst* 131:24-32
- Davidson DW (1988) Ecological studies of neotropical ant-gardens. *Ecology* 69:1138-1152
- Davidson DW, Cook SC, Snelling RR, Chua TH (2003) Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies. *Science* 300:969-972
- Davidson DW, Fisher BL (1991) Symbiosis of ants with *Cecropia* as a function of the light regime. In: Huxley CR, Cutler DF (eds) *Ant-plant interactions*. Oxford University Press, Oxford, pp 289-309
- Davidson DW, Longino JT, Snelling RR (1988) Pruning of host plant neighbors by ants: an experimental approach. *Ecology* 69:801-808

- Davidson DW, McKey DB (1993) The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. *Journal of Hymenoptera Research* 2:13-83
- Davidson DW, Snelling RR, Longino JT (1989) Competition among ants for myrmecophytes and the significance of plant trichomes. *Biotropica* 21:64-73
- de la Fuente MAS, Marquis RJ (1999) The role of ant-tended extrafloral nectaries in the protection and benefit of a Neotropical rainforest tree. *Oecologia* 118:192-202
- Debout G, Provost E, Renucci M, Tirard A, Schatz B, McKey D (2003) Colony structure in a plant-ant: behavioural, chemical and genetic study of polydomy in *Cataulacus mckeyi* (Myrmicinae). *Oecologia* 137:195-204
- Dejean A, Corbara B (2003) Review on mosaics of dominant ants in rainforests and plantations. In: Basset Y, Novotny V, Miller SE, Kitching RL (eds) *Arthropods of tropical forests. Spatio-temporal dynamics and resource use in the canopy*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 341-347
- Dejean A, Corbara B, Orivel J, Leponce M (2007) Rainforest canopy ants: the implications of territoriality and predatory behavior. *Functional Ecosystems and Communities* 1:105-120
- Dejean A, Delabie J, Cerdan P, Gibernau M, Corbara B (2006) Are myrmecophytes always better protected against herbivores than other plants ? *Biological Journal of the Linnean Society* 89:91-98
- Dejean A, Djieto Lordon C (1996) Ecological studies on the relationships between ants (Hymenoptera, Formicidae) and the myrmecophyte *Scaphopetalum thonneri* (Sterculiaceae). *Sociobiology* 28:91-102
- Dejean A, Grangier J, Leroy C, Orivel J, Gibernau M (2008) Nest site selection and induced response in a dominant arboreal ant species. In: *Naturwissenschaften*, vol sous presse, DOI 10.1007/s00114-008-0390-z
- Dejean A, Solano PJ, Ayroles J, Corbara B, Orivel J (2005) Arboreal ants build traps to capture prey. *Nature* 434:973
- Dejean A, Solano PJ, Belin-Depoux M, Cerdan P, Corbara B (2001) Predatory behavior of patrolling *Allomerus decemarticulatus* workers (Formicidae; Myrmicinae) on their host plant. *Sociobiology* 37:571-578
- Del Val E, Dirzo R (2003) Does ontogeny cause changes in the defensive strategies of the myrmecophyte *Cecropia peltata*? *Plant Ecology* 169:35-41
- Djiéto-Lordon C, Dejean A, Gibernau M, Hossaert-McKey M, McKey D (2004) Symbiotic mutualism with a community of opportunistic ants: protection, competition, and ant

- occupancy of the myrmecophyte *Barteria nigritana* (Passifloraceae). *Acta Oecologica* 26:109-116
- Doebeli M, Hauert C (2005) Models of cooperation based on the Prisoner's Dilemma and the Snowdrift game. *Ecology Letters* 8:748-766
- Doebeli M, Knowlton N (1998) The evolution of interspecific mutualisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 95:8676-8680
- Douglas AE (1994) *Symbiotic interactions*. Oxford University Press, New York
- Dufaÿ M, Hossaert-McKey M, Anstett MC (2003) When leaves act like flowers: how dwarf palms attract their pollinators. *Ecology Letters* 6:28-34
- Edwards DP, Arauco R, Hassall M, Sutherland WJ, Chamberlain K, Wadhams LJ, Yu DW (2007) Protection in an ant-plant mutualism: an adaptation or a sensory trap ? *Animal Behaviour* 74:377-385
- Edwards DP, Yu DW, Hassall M, Sutherland WJ (2006) Assembling a mutualism: ant symbionts locate their host plants by detecting volatile chemicals. *Insectes Sociaux* 53:172-176
- Elias TS (1983) Extra-floral nectaries: their structure and distribution. In: Bentley B, Elias T (eds) *The biology of nectaries*. Columbia University Press, New York, pp 174-203
- Fáveri SB, Vasconcelos HL (2004) The *Azteca-Cecropia* association: are ants always necessary for their host plants ? *Biotropica* 36:641-646
- Federle W, Maschwitz U, Fiala B (1998) The two-partner ant-plant system of *Camponotus (Colobopsis)* sp. 1 and *Macaranga puncticulata* (Euphorbiaceae): natural history of the exceptional ant partner. *Insectes Sociaux* 45:1-16
- Federle W, Maschwitz U, Fiala B, Fiederer M, Hölldobler B (1997) Slippery ant-plants and skillful climbers: selection and protection of specific ant partners by epicuticular wax blooms in *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Oecologia* 112:217-224
- Ferdy J-B, Godelle B (2005) Diversification of transmission modes and the evolution of mutualism. *American Naturalist* 166:613-627
- Fernandez F (2007) The myrmicine ant genus *Allomerus* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Caldasia* 29:159-175
- Fiala B, Jakob KE, Maschwitz U, Linsenmair KE (1999) Diversity, evolutionary specialization and geographic distribution of a mutualistic ant-plant complex *Macaranga* and *Crematogaster* in South East Asia. *Biol. J. Linn. Soc.* 66:305-331

- Fiala B, Maschwitz U (1990) Studies on the South East Asian ant-plant association *Crematogaster borneensis/Macaranga*: adaptations of the ant partner. *Insectes Sociaux* 37:212-231
- Fisher RC, Richter A, Wanek W, Mayer V (2002) Plants feed ants: food bodies of myrmecophytic *Piper* and their significance for the interaction with *Pheidole bicornis* ants. *Oecologia* 133:186-192
- Fonseca CR (1993) Nesting space limits colony size of the plant-ant *Pseudomyrmex concolor*. *Oikos* 67:473-482
- Fonseca CR (1994) Herbivory and the long-lived leaves of an Amazonian ant-tree. *Journal of Ecology* 82:833-842
- Fonseca CR (1999) Amazonian ant-plant interactions and the nesting space limitation hypothesis. *Journal of Tropical Ecology* 15:807-825
- Fonseca CR, Benson WW (2003) Ontogenetic succession in Amazonian ant trees. *Oikos* 102:407-412
- Fonseca CRF, Ganade G (1996) Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. *Journal of Animal Ecology* 65:339-347
- Foster KR, Wenseleers T (2006) A general model for the evolution of mutualisms. *Journal of Evolutionary Biology* 19:1283-1293
- Frederickson ME (2005) Ant species confer different partner benefits on two neotropical myrmecophytes. *Oecologia* 143:387-395
- Frederickson ME (2006) The reproductive phenology of an Amazonian ant species reflects the seasonal availability of its nest sites. *Oecologia* 149:418-427
- Frederickson ME, Greene MJ, Gordon DM (2005) "Devil's gardens" bedevilled by ants. *Nature* 437:495-496
- Funk V, Hollowell T, Berry P, Kelloff C, Alexander SN (2007) Checklist of the Plants of the Guiana Shield (Venezuela: Amazonas, Bolivar, Delta Amacuro; Guyana, Surinam, French Guiana). *Contributions from the United States National Herbarium* 55:1-584
- Gaume L, Matile Ferrero D, McKey D (2000) Colony foundation and acquisition of coccoid trophobionts by *Aphomyrmex afer* (Formicinae): co-dispersal of queens and phoretic mealybugs in an ant-plant-homopteran mutualism? *Insectes Sociaux* 47:84-91
- Gaume L, McKey D (1999) An ant-plant mutualism and its host-specific parasite: activity rhythms, young leaf patrolling, and effects on herbivores of two specialist plant-ant inhabiting the same myrmecophyte. *Oikos* 84:130-144

- Gaume L, Shenoy M, Zacharias M, Borges RM (2006) Co-existence of ants and an arboreal earthworm in a myrmecophyte of the Indian Western Ghats: anti-predation effect of the earthworm mucus. *Journal of Tropical Ecology* 22:341-344
- Gaume L, Zacharias M, Borges R (2005a) Ant-plant conflicts and a novel case of castration parasitism in a myrmecophyte. *Evolutionary Ecology Research* 7:435-452
- Gaume L, Zacharias M, Grosbois V, Borges RM (2005b) The fitness consequences of bearing domatia and having the right ant partner: experiments with protective and non-protective ants in a semi-myrmecophyte. *Oecologia* 145:76-86
- Genkai-Kato M, Yamamura N (1999) Evolution of mutualistic symbiosis without vertical transmission. *Theoretical Population Biology* 55:309-323
- Giladi I (2006) Choosing benefits or partners: a review of the evidence for the evolution of myrmecochory. *Oikos* 112:481-492
- Grainger A, Rose S, Trisurat Y, Brockelman WY (1995) A GIS approach to mapping spatial variation in tropical rain forest biodiversity. In: Boyle TJB, Boontawee B (eds) *Measuring and Monitoring Biodiversity in Tropical and Temperate Forests*. Centre for International Forestry Research, Bogor, pp 335-353
- Groc S (2007) Structure taxonomique et application de la notion de minimalisme taxonomique à la myrmécofaune des Nouragues, Guyane française. Mémoire de Master 2, Université Pierre et Marie Curie, pp 32
- Haber WA, Frankie GW, Baker HG, Baker I, Koptur S (1981) Ants like flower nectar. *Biotropica* 13:211-214
- Heil M, Feil D, Hilpert A, Linsenmair K (2004) Spatiotemporal patterns in indirect defence of a South-East Asian ant-plant support the optimal defence hypothesis. *Journal of Tropical Ecology* 20:573-580
- Heil M, Fiala B, Kaiser W, Linsenmair KE (1998) Chemical contents of *Macaranga* food bodies: adaptations to their role in ant attraction and nutrition. *Functional Ecology* 12:117-122
- Heil M, Fiala B, Maschwitz U, Linsenmair KE (2001a) On benefits of indirect defence: short- and long-term studies of antiherbivore protection via mutualistic ants. *Oecologia* 126:395-403
- Heil M, Koch T, Hilpert A, Fiala B, Boland W, Linsenmair KE (2001b) Extrafloral nectar production of the ant-associated plant, *Macaranga tanarius*, is an induced, indirect, defensive response elicited by jasmonic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* 98:1083-1088

- Heil M, McKey D (2003) Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34:425-453
- Heil M, Rattke J, Boland W (2005) Postsecretory hydrolysis of nectar and specialization in ant/plant mutualism. *Science* 308:560-563
- Heinze J, Foitzik S, Hippert A, Hölldobler B (1996) Apparent dear-enemy phenomenon and environment-based recognition cues in the ant *Leptothorax nylanderi*. *Ethology* 102:510-522
- Herre EA, Knowlton N, Mueller UG, Rehner SA (1999) The evolution of mutualisms: exploring the paths between conflict and cooperation. *Trends in Ecology & Evolution* 14:49-53
- Hoeksema JD, Bruna EM (2000) Pursuing the big questions about interspecific mutualism: a review of theoretical approaches. *Oecologia* 125:321-330
- Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The ants*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Holzer B, Chapisat M, Kremer N, Finet C, Keller L (2006) Unicoloniality, recognition and genetic differentiation in a native *Formica* ant. *Journal of Evolutionary Biology* 19:2031-2039
- Hulley PE (1988) Caterpillar attacks plant mechanical defense by moving trichomes before feeding. *Ecological Entomology* 13:239-241
- Huxley CR (1991) Ants and plants: a diversity of interactions. In: Huxley CR, Cutler DF (eds) *Ant-plant interactions*. Oxford University Press, Oxford, pp 1-11
- Inui Y, Itioka T, Murase K, Yamaoka R, Itino T (2001) Chemical recognition of partner plant species by foundress ant queens in *Macaranga-Crematogaster* myrmecophytism. *Journal of Chemical Ecology* 27:2029-2040
- Itino T, Davies SJ, Tada H, Hieda Y, Inoguchi M, Itioka T, Yamane S, Inoue T (2001a) Cospeciation of ants and plants. *Ecological Research* 16:787-793
- Itino T, Itioka T, Hatada A, Hamid AA (2001b) Effects of food rewards offered by ant-plant *Macaranga* on the colony size of ants. *Ecological Research* 16:775-786
- Itioka T, Nomura M, Inui Y, Itino T, Inoue T (2000) Difference in intensity of ant defense among three species of *Macaranga* myrmecophytes in a Southeast Asian dipterocarp forest. *Biotropica* 32:318-326
- Izzo TJ, Vasconcelos HL (2002) Cheating the cheater: domatia loss minimizes the effects of ant castration in an Amazonian ant-plant. *Oecologia* 133:200-205

- Izzo TJ, Vasconcelos HL (2005) Ants and plant size shape the structure of the arthropod community of *Hirtella myrmecophila*, an Amazonian ant-plant. *Ecological Entomology* 30:650-656
- Janzen DH (1966) Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution* 20:249-275
- Janzen DH (1974) Epiphytic myrmecophytes in Sarawak: mutualism through the feeding of plants by ants. *Biotropica* 6:237-259
- Janzen DH (1975) *Pseudomyrmex nigropilosa*: a parasite of a mutualism. *Science* 188:936-937
- Jürgens A, Feldhaar H, Feldmeyer B, Fiala B (2006) Chemical composition of leaf volatiles in *Macaranga* species (Euphorbiaceae) and their potential role as olfactory cues in host-localization of foundress queens of specific ant partners. *Biochemical Systematics and Ecology* 34:97-113
- Keeler KH (1985) Cost:benefit models of mutualism. In: Boucher DH (ed) *The biology of mutualism*. Oxford University Press, New York, pp 100-127
- Kempf WW (1972) *Catalogo abreviado das formigas da Regiao Neotropical*. *Studia Entomologica* 15:3-344
- Kempf WW (1975) Miscellaneous studies on Neotropical ants. VI. (Hymenoptera: Formicidae). *Studia Entomologica* 18:341-380
- Knops JMH, Koenig WD, Carmen WJ (2007) Negative correlation does not imply a tradeoff between growth and reproduction in California oaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 104:16982-16985
- Koptur S (1992) Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. In: Bernays E (ed) *Insect-plant interactions*, vol 4. CRC Press, pp 81-129
- Koptur S (1994) Floral and extrafloral nectars of Costa Rican *Inga* trees: a comparison of their constituents and composition. *Biotropica* 26:276-284
- LaPierre L, Hespénheide H, Dejean A (2007) Wasps robbing food from ants: a frequent behaviour? *Naturwissenschaften* 94:997-1001
- Lapola DM, Bruna EM, Vasconcelos HL (2003) Contrasting responses to induction cues by ants inhabiting *Maieta guianensis* (Melastomataceae). *Biotropica* 35:295-300
- Le Breton J (2003) *Etude des interactions entre la fourmi *Wasmannia auropunctata* et la myrmécofaune. Comparaison d'une situation en zone d'introduction : la Nouvelle-Calédonie et d'une situation en zone d'origine : la Guyane Française*. Thèse de doctorat, Université Toulouse III, pp 230

- Lee DW, Gould KS (2002) Anthocyanins in leaves and other vegetative organs: an introduction. *Advances in Botanical Research* 37:1-16
- Lehmann L, Keller L (2006) The evolution of cooperation and altruism - a general framework and a classification of models. *Journal of Evolutionary Biology* 19:1365-1376
- Leimar O, Connor RC (2003) By-product benefits, reciprocity, and pseudoreciprocity in mutualism. In: Hammerstein P (ed) *Genetic and cultural evolution of cooperation*. MIT Press, pp 203-222
- Leroy C, Jauneau A, Quilichini A, Dejean A, Orivel J (2008) Comparison between the anatomical and morphological structure of leaf blades and foliar domatia in the ant-plant *Hirtella physophora* (Chrysobalanaceae). *Annals of Botany* 101:501-507
- Letourneau DK (1991) Code of ant-plant mutualism broken by parasite. *Science* 248:215-217
- Levin DA (1973) The role of trichomes in plant defense. *Quarterly Review of Biology* 48:3-15
- Levings SC, Traniello JFA (1981) Territoriality, nest dispersion, and community structure in ants. *Psyche* 88:265-321
- Linsenmair KE, Heil M, Kaiser WM, Fiala B, Koch T, Boland W (2001) Adaptations to biotic and abiotic stress: *Macaranga*-ant plants optimize investment in biotic defence. *Journal of Experimental Botany* 52:2057-2065
- Longino J (1989) Geographic variation and community structure in an ant-plant mutualism: *Azteca* and *Cecropia* in Costa Rica. *Biotropica* 21:126-132
- MacMahon JA, Mull JF, Crist TO (2000) Harvester ants (*Pogonomyrmex* spp.): their community and ecosystem influences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:265-291
- Mayr G (1878) Formiciden gesammelt in Brasilien von Professor Trail. *Verhandlungen der K.K. Zoologisch-Botanischen Gesellschaft Wien* 27:867-878
- McKey D (1974) Adaptive patterns in alkaloid physiology. *American Naturalist* 108:305-320
- McKey D, Gaume L, Brouat C, Digiusto B, Pascal L, Debout G, Dalecky A, Heil M (2005) Multitrophic interactions among tropical plants, ants and plant herbivores. In: Burslem D, Pinard M, Hartley S (eds) *Biotic interactions in the Tropics. Their role in the maintenance of species diversity*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 386-413
- Michelangeli FA (2003) Ant protection against herbivory in three species of *Tococa* (Melastomataceae) occupying different environments. *Biotropica* 35:181-188

- Mody K, Linsenmair KE (2004) Plant-attracted ants affect arthropod community structure but not necessarily herbivory. *Ecological Entomology* 29:217-225
- Montembault S (2008) Biologie de la reproduction chez *Hirtella physophora*: morphologie et développement floral. Mémoire de Master 1, Université Toulouse III, pp 20
- Moreau CS, Bell CD, Vila R, Archibald SB, Pierce NE (2006) Phylogeny of the ants: diversification in the age of angiosperms. *Science* 312:101-104
- Nery AS, Vasconcelos HL (2003) Growth and survival of incipient ant colonies in two Amazonian ant-plants: effects of habitats, host-plant, and mode of colony founding (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 42:151-162
- Noë R, Hammerstein P (1995) Biological markets. *Trends in Ecology & Evolution* 10:336-339
- Nomura M, Itioka T, Murase K (2001) Non-ant antiherbivore defenses before plant-ant colonization in *Macaranga* myrmecophytes. *Population Ecology* 43:207-212
- Ohnmeiss TE, Baldwin IT (2000) Optimal defense theory predicts the ontogeny of an induced nicotine defense. *Ecology* 81:1765-1783
- Orivel J, Dejean A, Errard C (1998) Active role of two ponerine ants in the elaboration of ant gardens. *Biotropica* 30:487-491
- Palmer TM, Stanton ML, Young TP (2003) Competition and coexistence: exploring mechanisms that restrict and maintain diversity within mutualist guilds. *American Naturalist* 162:S63-79
- Passera L, Aron S (2005) Les fourmis: comportement, organisation sociale et évolution. Les Presses scientifiques du CNRC, Ottawa, Canada
- Prance GT (1982) Forest refuges: evidence from woody angiosperms. In: Prance GT (ed) *Biological diversification in the Tropics*. Columbia University Press, pp 137-158
- Prance GT, Sothers CA (2003) *Species plantarum: flora of the world. Part 9. Chrysobalanaceae, 1, Chrysobalanus to Parinari*. ABRS for the Species Plantarum Steering Committee of the International Organization for Plant Information, Canberra
- Prance GT, White F (1988) The genera of Chrysobalanaceae: a study in practical and theoretical taxonomy and its relevance to evolutionary biology. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 320:1-184
- Raine NE, Gammans N, Macfadyen IJ, Scrivner GK, Stone GN (2004) Guards and thieves: antagonistic interactions between two ant species coexisting on the same ant-plant. *Ecological Entomology* 29:345-352

- Renner SS, Ricklefs RE (1998) Herbicidal activity of domatia-inhabiting ants in patches of *Tococa guianensis* and *Clidemia heterophylla*. *Biotropica* 30:324-327
- Rhoades DF (1979) Evolution of plant chemical defense against herbivores. In: Rosenthal GA, Janzen DH (eds) *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. New York/London: Academic, pp 4-53
- Rice WR (1989) Analysing tables of statistical tests. *Evolution* 43:223-225
- Rickson FR, Rickson MM, Ghorpade K, Norden BB, Krombein KV (2003) Invertebrate biodiversity (ants, bees, and others) associated with stem domatia of the Indian myrmecophyte *Humboldtia bruonis* Wallich (Magnoliophyta: Fabaceae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 105:73-79
- Rico-Gray V, Oliveira P (2007) *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. The University of Chicago Press, Chicago and London
- Rish SJ, Rickson FR (1981) Mutualism in which ants must be present before plants produce food bodies. *Nature* 291:149-150
- Romero GQ, Izzo TJ (2004) Leaf damage induces ant recruitment in the Amazonian ant-plant *Hirtella myrmecophila*. *Journal of Tropical Ecology* 20:675-682
- Rostás M, Eggert K (2008) Ontogenetic and spatio-temporal patterns of induced volatiles in *Glycine max* in the light of the optimal defence hypothesis. *Chemoecology* 18:29-38
- Roth I (1976) Estructura interna de los domacios foliares en *Tococa* (Melastomataceae). *Acta Biologica Venezuelica* 9:227-258
- Sachs JL, Mueller UG, Wilcox TP, Bull J (2004) The evolution of cooperation. *Journal of Theoretical Biology* 79:135-160
- Servigne P (2003) Association entre la fourmi *Azteca chartifex* Forel (Hymenoptera; Dolichoderinae) et la guêpe *Polybia rejecta* (Fab.) (Vespidae, Polistinae) en Guyane française. Mémoire de DEA, Université Paris XIII, Villetaneuse, pp 25
- Solano P-J (2000) Etude comparative de quatre associations strictes plantes-fourmis dans le milieu forestier guyanais. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, pp 328
- Solano PJ, Dejean A (2004) Ant-fed plants: comparison between three geophytic myrmecophytes. *Biological Journal of the Linnean Society* 83:433-439
- Solano PJ, Durou S, Corbara B, Quilichini A, Cerdan P, Belin-Depoux M, Delabie JHC, Dejean A (2003) Myrmecophytes of the understory of French Guianian rainforests: their distribution and their associated ants. *Sociobiology* 41:605-614
- Stachowicz JJ (2001) Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities. *Bioscience* 51:235-246

- Stanton ML (2003) Interacting guilds: moving beyond the pairwise perspective on mutualisms. *American Naturalist* 162:S10-S23
- Stanton ML, Palmer TM, Young TP (2002) Competition-colonization trade-offs in a guild of African acacia-ants. *Ecological Monographs* 72:347-363
- Stanton ML, Palmer TM, Young TP (2005) Ecological barriers to early colony establishment in three coexisting acacia-ant species in Kenya. *Insectes Sociaux* 52:393-401
- Stanton ML, Palmer TM, Young TP, Evans A, Turner ML (1999) Sterilization and canopy modification of a swollen thorn acacia tree by a plant-ant. *Nature* 401:578-581
- Steiner FM, Schlick-Steiner BC, Moder K, Stauffer C, Arthofer W, Buschinger A, Espadaler X, Christian E, Einfinger K, Lorbeer E, Schafellner C, Ayasse M, Crozier RH (2007) Abandoning aggression but maintaining self-nonsel self discrimination as a first stage in ant supercolony formation. *Current Biology* 17:1903-1907
- Styrsky JD, Eubanks MD (2007) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* 274:151-164
- Tholl D, Boland W, Hansel A, Loreto F, Röse USR, Schnitzler JP (2006) Practical approaches to plant volatile analysis. *The Plant Journal* 45:540-560
- Thompson JN (1999) The evolution of species interactions. *Science* 284:2116-2118
- Thompson JN (2005) *The geographic mosaic of coevolution*. University of Chicago Press
- Vander Meer RK, Morel L (1998) Nestmate recognition in ants. In: Vander Meer RK, Breed M, Winston M, Espelie KE (eds) *Pheromone communication in social insects*. Westview Press, Boulder, CO. 368 p., pp 79-103
- Vander Meer RK, Slowik TJ, Thorvilson HG (2002) Semiochemicals released by electrically stimulated red imported fire ants, *Solenopsis invicta*. *Journal of Chemical Ecology* 28:2585-2600
- Vasconcelos HL (1991) Mutualism between *Maieta guianensis* Aubl., a myrmecophytic melastome, and one of its inhabitants: ant protection against insect herbivores. *Oecologia* 87:295-298
- Vasconcelos HL, Casimiro AB (1997) Influence of *Azteca alfari* ants on the exploitation of *Cecropia* trees by a leaf-cutting ant. *Biotropica* 29:84-92
- Vasconcelos HL, Davidson DW (2000) Relationship between plant size and ant associates in two Amazonian ant-plants. *Biotropica* 32:100-111
- West SA, Griffin AS, Gardner A (2007) Social semantics: altruism, cooperation, mutualism, strong reciprocity and group selection. *Journal of Evolutionary Biology* 20:415-432

- West SA, Toby Kiers E, Pen I, Denison RF (2002) Sanctions and mutualism stability: when should less beneficial mutualists be tolerated? *Journal of Evolutionary Biology* 15:830-837
- Wheeler WM (1942) Studies of neotropical ant-plants and their ants. In: *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, vol 90, pp 1-262
- Wilkinson DM, Sherratt TN (2001) Horizontally acquired mutualisms, an unsolved problem in ecology? *Oikos* 92:377-384
- Wilson EO, Hölldobler B (2005) The rise of ants: a phylogenetic and ecological explanation. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 102:7411-7414
- Yu DW (2001) Parasites of mutualisms. *Biological Journal of the Linnean Society* 72:529-546
- Yu DW, Davidson DW (1997) Experimental studies of species-specificity in *Cecropia*-ant relationships. *Ecological Monographs* 67:273-294
- Yu DW, Pierce NE (1998) A castration parasite of an ant-plant mutualism. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* 265:375-382
- Yu DW, Wilson HB, Frederickson ME, Palominos W, de la Colina R, Edwards DP, Balareso AA (2004) Experimental demonstration of species coexistence enabled by dispersal limitation. *Journal of Animal Ecology* 73:1102-1114
- Yu DW, Wilson HB, Pierce NE (2001) An empirical model of species coexistence in a spatially structured environment. *Ecology* 82:1761-1771
- Zangerl AR, Rutledge CE (1996) The probability of attack and patterns of constitutive and induced defense: a test of optimal defense theory. *American Naturalist* 147:599-608

Photographies : Toutes sont de l'auteur, à l'exception des Fig. 3E, 12B et 47 (P-J. Malé), des Fig. 6B-C (J. Orivel), des Fig. 30A-B (P-J. Solano) et de la Fig. 42A (S. Groc).

ANNEXE 1 : METHODES

1.1. Expériences d'exclusion

1.1.1. Objectifs et choix de la méthode

Les expériences d'exclusion consistent à séparer artificiellement les deux partenaires d'un mutualisme. Il s'agit d'une manipulation de terrain très classique dans l'étude des associations entre myrmécophytes et fourmis. Après avoir été utilisée avec succès par Janzen (1966) sur des acacias, de nombreux auteurs l'ont par la suite appliquée à divers modèles en utilisant des protocoles variés. On peut citer l'injection d'insecticides à faible rémanence (Vasconcelos 1991; Fonseca 1994; Federle et al. 1998; Itioka et al. 2000; Heil et al. 2001a; Bruna et al. 2004; Fáveri et Vasconcelos 2004), la mise en place de pièges collants (Tanglefoot®) empêchant les ouvrières d'accéder aux branches expérimentales (Mody et Linsenmair 2004; Frederickson 2005; Gaume et al. 2005b), l'injection de solution savonneuse (Alvarez et al. 2001), ou même l'ouverture des domaties (Michelangeli 2003).

Dans le cadre de notre étude, nous avons souhaité utiliser un protocole qui puisse non seulement garantir une mesure fiable du taux de défoliation subi par les plantes traitées (voir Partie 1), mais aussi permettre la recolonisation de ces mêmes plantes par des reines (voir Partie 2). C'est pourquoi nous avons choisi d'exclure les fourmis en procédant à des injections d'eau répétées à l'intérieur des domaties, en y introduisant une seringue via leur entrée naturelle. Ainsi, puisqu'il ne nécessite ni substances chimiques artificielles ni ouverture des domaties, notre protocole s'affranchit des biais potentiels pouvant résulter des méthodes énoncées ci-dessus, c'est-à-dire un effet répulsif ou léthal des insecticides sur les reines recolonisatrices ou sur certains insectes phytophages, ou bien leur attraction vers les parties blessées de la plante. La recolonisation des plants traités n'a pu représenter qu'un biais marginal vis-à-vis de la protection contre les attaques de phytophages. En effet, même au bout de plusieurs mois, seules des reines fondatrices et de petites colonies naissantes étaient présentes. Leur impact sur les insectes visitant les plantes ne pouvaient qu'être minimal en comparaison de celui que peut avoir une colonie mature de plusieurs centaines d'individus entretenant un piège bien développé. Nos deux objectifs ont ainsi pu être atteints par le biais de cette expérience d'exclusion.

1.1.2. Protocole détaillé

Afin de séparer des individus d'*H. physophora* de leur colonie de fourmis, nous avons procédé à des expériences d'exclusion en utilisant une technique non-destructive et ne nécessitant pas l'utilisation d'insecticide. Une fois testées avec succès sur quelques plants, les étapes suivantes étaient appliquées à chaque fois :

- 1) Les galeries construites par les fourmis le long des tiges étaient toutes retirées.
- 2) Les ouvrières présentes à la surface de la plante étaient toutes prélevées à l'aide d'un aspirateur à bouche (Fig. 42A).
- 3) A l'aide de seringues à pointes arrondies, de l'eau était injectée sous pression et de façon répétée à l'intérieur des poches foliaires *via* leur entrée naturelle. Le flux ainsi créé entraînait les occupants des domaties vers l'extérieur, qu'il s'agisse d'ouvrières, de couvain ou de sexués (Fig. 42B).

Notez qu'à chaque étape, tous les individus exclus étaient récoltés, de façon à les empêcher de recoloniser leur plante à partir du sol. De plus, toutes les plantes étaient visitées au moins une fois dans les 10 jours suivant l'exclusion, afin de vérifier l'efficacité du traitement et de procéder à de nouvelles injections si besoin.

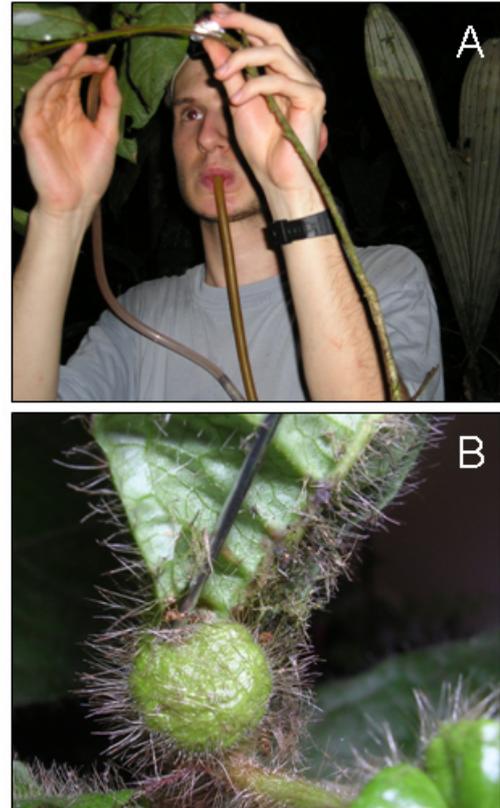


Figure 42. Expérience d'exclusion. **A.** Récolte des fourmis présentes en surface de la plante. **B.** Insertion de la seringue dans une domatie.

1.1.3. Sites d'étude et plantes utilisées

Ce protocole a été appliqué sur deux lots expérimentaux : l'un de 45 plantes suivi à court terme (40 jours, de Décembre 2004 à Février 2005), l'autre de 30 plantes suivi à long terme (huit mois, de Février 2005 à Octobre 2005). Un lot de 45 plantes non traitées a fourni des

individus témoins pour ces deux expériences. Toutes ces plantes étaient situées sur les sommets de trois collines, les plus distantes étant séparées de 1,2km environ (voir Fig. 43 à 46). Plantes traitées et témoins ont toutes été sélectionnées au hasard parmi celles hébergeant des colonies matures en bonne santé, condition indiquée par l'état du piège (stade de construction avancé, grande surface de tige couverte) et par le niveau d'activité des fourmis (marqué, avec des ouvrières circulant et chassant à l'affût dans les galeries, et d'autres patrouillant les feuilles) (Tab. 11).

Tableau 11. Taille et nombre de feuilles des plants traités et témoins au début des expériences d'exclusion.

	Expérience d'exclusion courte ($N_{\text{traités}} = N_{\text{témoins}} = 45$)		Expérience d'exclusion longue ($N_{\text{traités}} = N_{\text{témoins}} = 30$)	
	Hauteur en cm (moy \pm ET)	Nombre de feuilles (moy \pm ET)	Hauteur en cm (moy \pm ET)	Nombre de feuilles (moy \pm ET)
Plants traités	105,6 \pm 40,1	16,6 \pm 6,3	134,7 \pm 90,7	14,3 \pm 5,3
Plants témoins	105,9 \pm 48,9	16,2 \pm 7,7	100,3 \pm 42,5	14,5 \pm 5,6
U-test	U = 964; p = 0,98	U = 935; p = 0,53	U = 357; p = 0,17	U = 382; p = 0,55

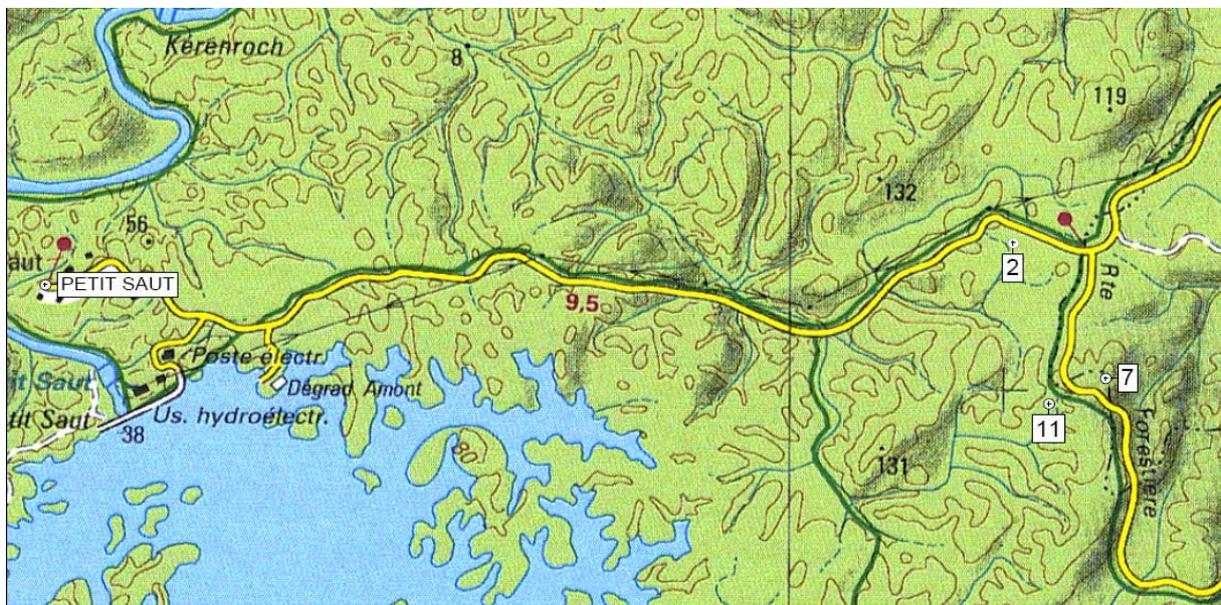


Figure 43. Localisation dans la région de Petit Saut des trois zones d'études où ont été menées les expériences d'exclusion.

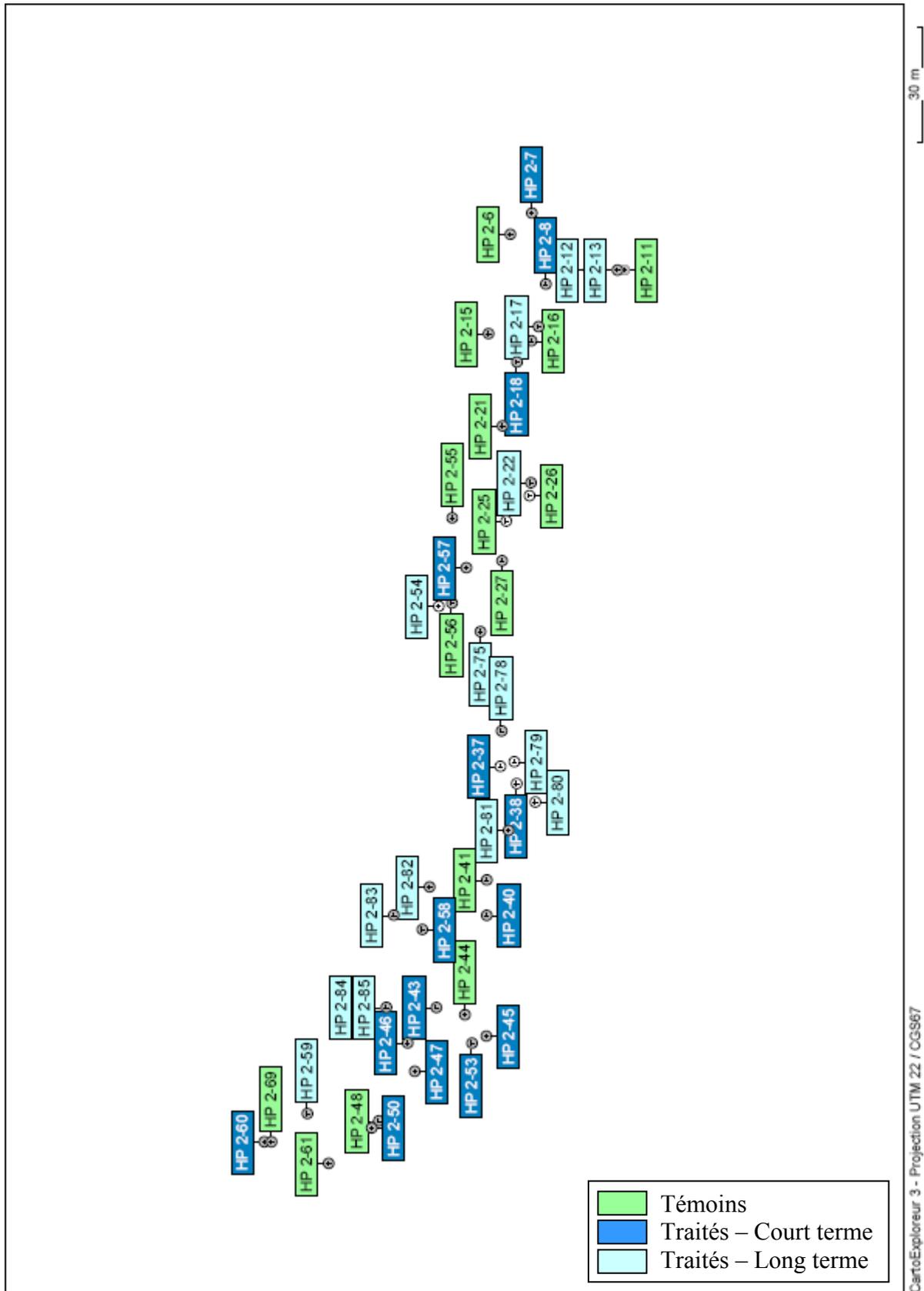


Figure 44. Identité et distribution des plants utilisés pour les expériences d'exclusion dans la Zone 2.

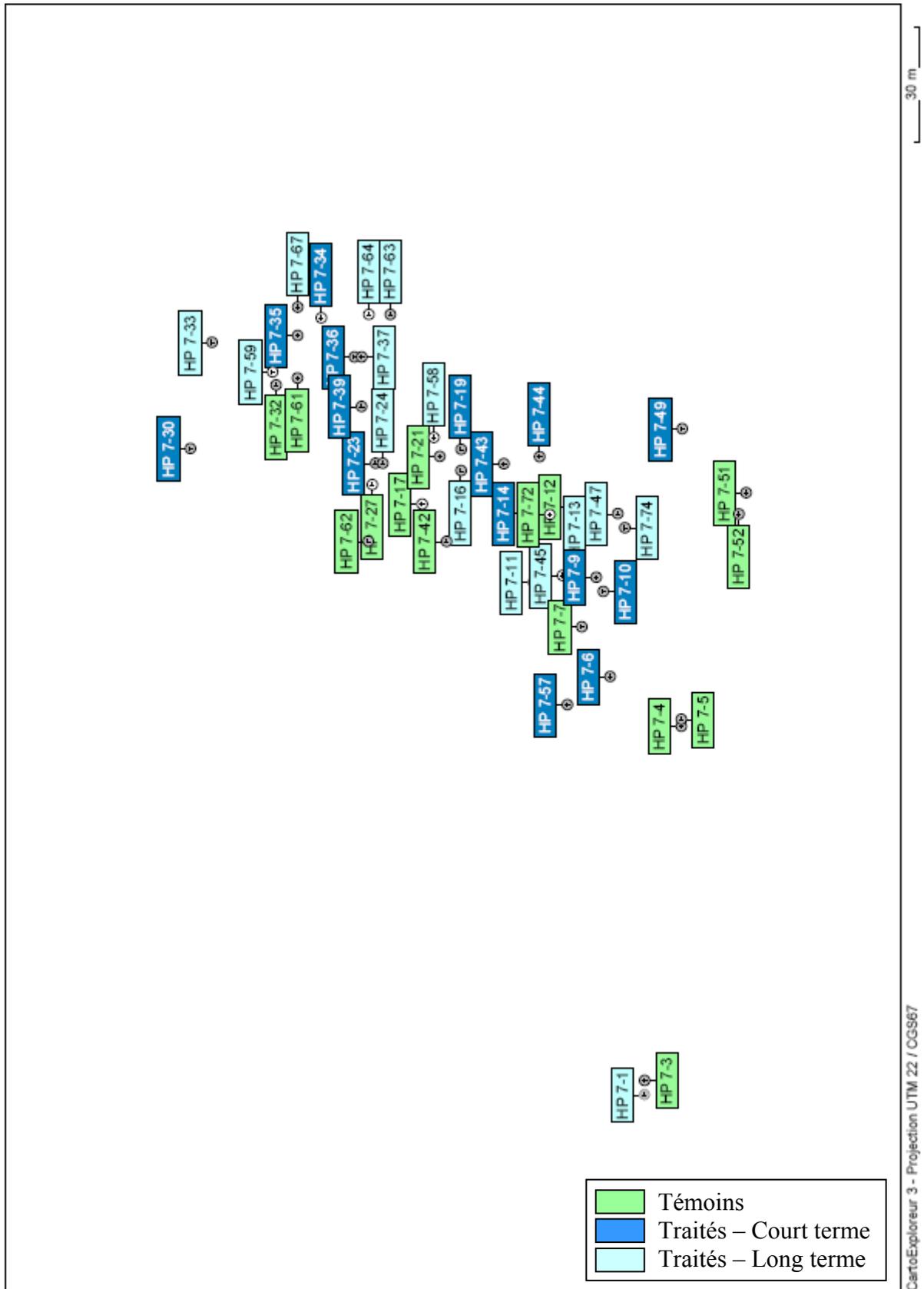


Figure 45. Identité et distribution des plants utilisés pour les expériences d'exclusion dans la Zone 7.

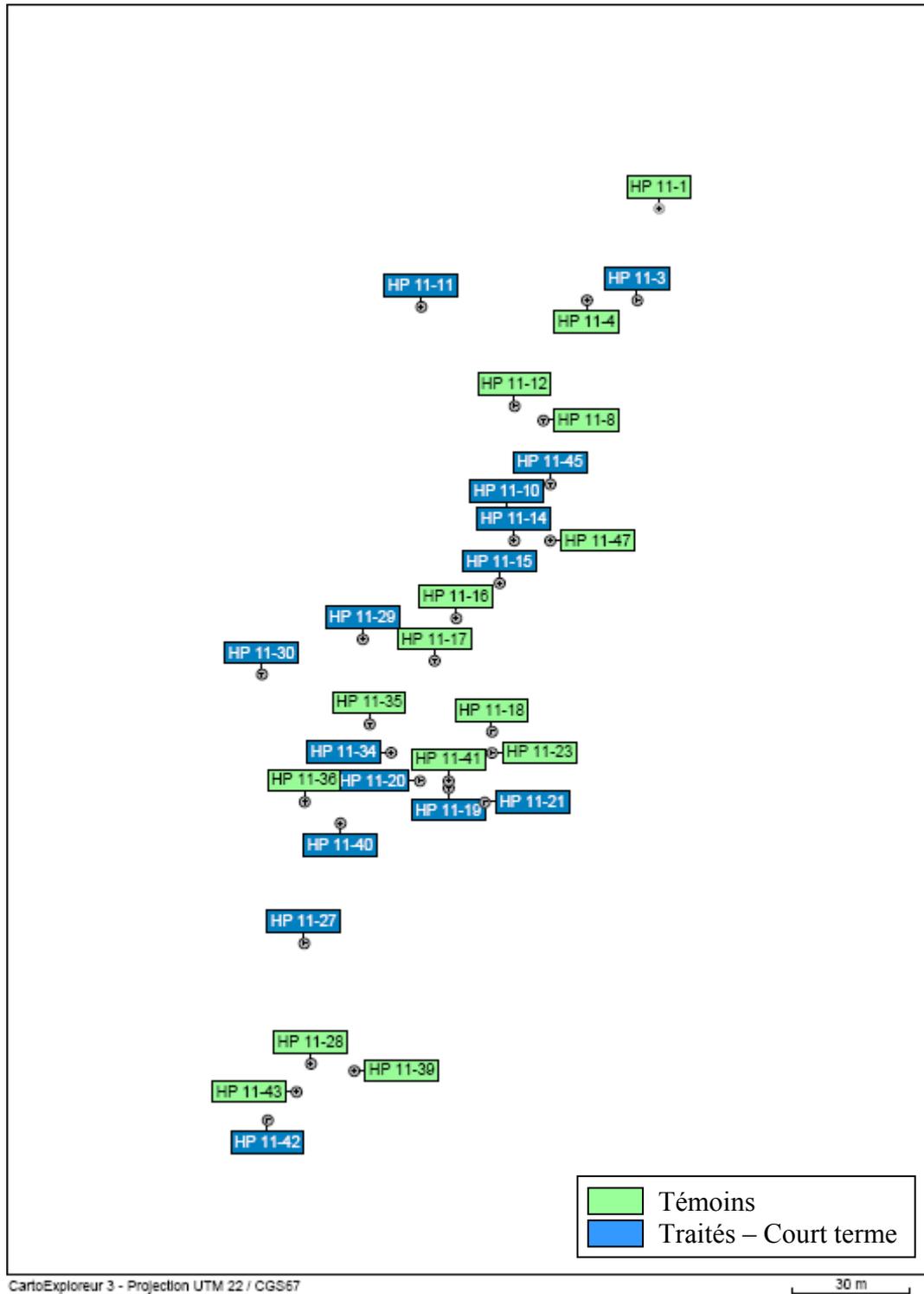


Figure 46. Identité et distribution des plants utilisés pour les expériences d'exclusion dans la Zone 11.

1.2. Mesure du taux de défoliation lors des expériences d'exclusion

1.2.1. Feuilles présentes au début des expériences

Au début de chaque expérience, trois feuilles par plant étaient choisies en bout de branche parmi celles présentant le moins de dommages. Ces feuilles étaient toutes matures, et pouvaient se classer en « jeunes feuilles » (stade 3) et « vieilles feuilles » (stade 4) (voir Fig. 9). Lors du lancement de l'expérience, juste après l'exclusion, ces feuilles étaient marquées en face inférieure du limbe, puis photographiées à l'aide d'une plaque en plexiglas permettant de standardiser les prises de vue et de fournir sur chacune d'elles un repère de taille. A la fin de l'expérience, soit après 40 jours ou huit mois, selon l'expérience, ces mêmes feuilles ont été à nouveau photographiées. Analysées à l'aide du logiciel Optimas, l'ensemble de ces photos a permis d'obtenir de façon très précise le pourcentage de surface foliaire manquante au début et à la fin des expériences. La soustraction des deux a permis de connaître le pourcentage de surface foliaire perdu pendant la durée de l'expérience.

1.2.2. Feuilles apparues au cours de l'expérience de long-terme

A la fin de l'expérience de long-terme, nous avons constaté que de nombreuses nouvelles feuilles avaient été produites. Nous avons donc profité de la présence de ces feuilles ayant émergé en l'absence de fourmis pour avoir des informations sur les dommages soufferts avant la maturité foliaire, complétant ainsi les résultats concernant les stades matures 3 et 4. Nous avons classé ces feuilles en deux catégories, « feuilles juvéniles » (stade 1) et « feuilles en expansion » (stade 2) (voir Fig. 9). Toutes ces nouvelles feuilles ont été photographiées à la fin de l'expérience, et leur pourcentage de surface foliaire manquante mesuré avec le logiciel Optimas. La valeur obtenue correspond au pourcentage de surface foliaire perdu pendant la durée de l'expérience.

Dans les deux cas, une fois la moyenne du pourcentage de surface foliaire manquante ayant été calculée pour chaque plant et pour chaque type de feuille, les résultats obtenus sur les plants traités et témoins ont été comparés.

1.3. Recrutement induit par les blessures foliaires

Notre objectif était de savoir si des blessures foliaires pouvaient induire un recrutement chez les ouvrières et si cette réponse était influencée par l'âge de la feuille. Nous avons utilisé un protocole basé sur le suivi du nombre de fourmis sur deux feuilles d'une même plante : une expérimentale artificiellement blessée et une intacte servant de témoin (voir Agrawal 1998; Lapola et al. 2003; Romero et Izzo 2004). Nous avons choisi 34 plants d'*H. physophora* habités par des colonies matures et en bon état, chacun n'étant utilisé qu'une fois pour chaque catégorie de feuille. Vingt-huit répliquats ont été réalisés sur des feuilles de stade 3 et 31 sur des feuilles de stade 4, les plants n'étant utilisés qu'une fois au sein de chaque catégorie de feuilles. A chaque répliquat, une feuille était aléatoirement désignée comme « témoin » et l'autre comme « expérimentale ». Avant chaque expérience, nous comptons le nombre de fourmis déjà présentes sur les feuilles. Nous simulons ensuite une attaque de phytophage sur la feuille expérimentale en découpant un morceau triangulaire ($\approx 1 \text{ cm}^2$) dans la moitié proximale du limbe (Fig. 47), tandis que la feuille témoin n'était que légèrement secouée.

Nous commençons alors immédiatement à compter le nombre de fourmis présentes sur le limbe des deux feuilles, et ce toutes les minutes. Nous notons alors le moment où la première ouvrière entrait physiquement en contact avec la blessure sur la feuille expérimentale, et nous utilisons ce moment comme le premier point d'une série de 20 comptages. Le suivi s'étendait donc jusque 20 minutes après la découverte de la blessure, période jugée suffisante pour enregistrer correctement un éventuel recrutement lors de tests préliminaires.



Figure 47. Une feuille expérimentale.

Toutes les feuilles utilisées ont été photographiées, et leur surface mesurée : ne trouvant pas de différence significative entre témoin et traitées de stade 3 ou 4 (ANOVA: $F = 1,68$; $p = 0,18$), nous avons directement comparé le nombre de fourmis présentes sur les feuilles sans avoir à travailler sur leur densité. Les nombres de fourmis sur les feuilles expérimentales et témoins ont été transformés [$\sqrt{(x+0,5)}$] puis comparés avec le logiciel SPSS 11.5 par le biais d'une ANOVA à mesures répétées, dans laquelle le temps était considéré comme le facteur de répétition. Pour tenir compte de la violation des conditions de sphéricité constatée sur nos données, la correction de Greenhouse-Geisser a été appliquée aux degrés de liberté.

1.4. Tests d'agressivité entre ouvrières d'*Allomerus*

Les tests d'agressivité ont été conduits en décembre 2005 et octobre 2007. Les fourmis étaient prélevées sur le terrain juste avant les tests, en découpant et ramenant au laboratoire des branches de myrmécophytes habités. Les fourmis utilisées pour l'expérimentation étaient toujours des fourmis circulant à la surface des feuilles ou des branches, jamais celles étant à l'intérieur des domaties. Pour *A. decemarticulatus* comme pour *A. octoarticulatus*, trois types de tests intraspécifiques ont été réalisés en confrontant des ouvrières provenant: 1) de la même plante ; 2) de deux plants situés dans la même zone, distantes d'au moins 50m ; et 3) de deux plants situés dans deux zones différentes distantes d'au moins 2km. De plus, des tests interspécifiques entre ouvrières des deux espèces ont aussi été menés. Ainsi, au total, ce sont sept types de rencontres qui ont été menés : trois types de rencontres intraspécifiques par espèce plus les rencontres interspécifiques. Pour chacun d'eux, entre 9 et 15 paires de nids ont été testées.

A chaque fois, les tests consistaient en des interactions un-contre-un dans une arène neutre (\emptyset : 1.5cm; hauteur: 1cm) dont les parois étaient recouvertes de Fluon® pour empêcher les fourmis de s'échapper. Pendant cinq minutes, nous avons noté toutes les interactions entre les deux ouvrières en utilisant les niveaux suivants :

- 1 = contact** (contact physique sans agressivité décelable, comme les antennations).
- 2 = agressivité** (attaque physique de courte durée par une des ouvrières ou les deux, ce qui inclut morsures et traction des antennes ou des pattes de l'autre individu).
- 3 = combat** (agressivité prolongée, ce qui inclut les actes précédents appliqués pendant une longue durée ainsi que l'utilisation de l'aiguillon par l'une des ouvrières ou les deux).

Entre 10 et 15 réplicats étaient réalisés pour chaque paire de nid testée, chaque ouvrière n'étant utilisée qu'une fois. Le score le plus haut était retenu pour chaque réplicat. La valeur retenue pour chaque paire de nid était la moyenne de ces scores maximums. Les sept jeux de données obtenus (correspondant aux sept types de rencontres) ont été comparés par le biais de tests non-paramétriques (tests de Kruskal-Wallis, puis tests de Mann-Whitney avec une correction séquentielle de Bonferroni pour les comparaisons deux-à-deux ; (Rice 1989).

1.5. Développement des colonies en fonction de celui des plantes

1.5.1. Mesures de la taille des plantes et des effectifs des colonies

Au total, 35 plantes ont été échantillonnées, en février et juillet 2005, ainsi qu'en septembre 2006. Ces plantes ont été choisies selon deux critères : (1) toutes abritaient un piège bien développé et une activité marquée des ouvrières (signes de la vigueur des colonies), et (2) le nombre de feuilles qu'elles portaient devait s'inscrire dans l'objectif visé d'obtenir une large gamme dans le nombre de domaties (ce dernier varie de 7 à 96). Pour chaque plante, la totalité des feuilles était récoltée, de même que le piège renfermant de nombreuses ouvrières, puis le tout était conservé dans de l'alcool à 70°. En laboratoire, tout le matériel était disséqué (domaties ouvertes et piège décortiqué) et les individus de chaque caste dénombrés par comptage direct sous loupe binoculaire.

1.5.2. Expérience de nourrissage des colonies

Notre objectif était de tester l'hypothèse selon laquelle l'apport en azote (donc en proies) était limitant pour la production d'individus sexués dans les colonies matures d'*A. decemarticulatus*. Une fois par semaine pendant trois mois (avril à juillet 2006), nous avons fourni des proies (papillons) à 27 colonies expérimentales ; 25 colonies situées dans la même zone ne recevaient pas de proies autres que celles qu'elles pouvaient chasser et servaient ainsi de témoins. Toutes ces colonies avaient été choisies suivant les mêmes critères de vigueur que ceux cités ci-dessus, et les plantes expérimentales et témoins offraient des nombres de domaties ne différant pas significativement (moyenne \pm ET = 32,3 \pm 13,7 et 38 \pm 16,1 pour les témoins et traités, respectivement ; test t : p=0,17). A la fin de l'expérience, les colonies étaient toutes récoltées et examinées comme expliqué ci-dessus. Cette fois cependant, seuls les individus sexués ont été dénombrés (couvain et adultes), permettant de comparer les effectifs absolus de cette caste. Pour 10 colonies expérimentales et 10 témoins, le nombre de larves et de nymphes d'ouvrières a également été compté afin de pouvoir étudier les effectifs relatifs de sexués (proportion du couvain de sexués par rapport à celui des ouvrières).

1.6. Etude des filtres sélectifs potentiels

1.6.1. Les trichomes des domaties

Nous avons examiné l'occurrence et l'arrangement des trichomes tapissant l'entrée et l'intérieur des poches foliaires d'*H. physophora*. Premièrement, des plants inhabités ont été transplantés dans des serres. Après un an, 26 nouvelles feuilles avaient été produites, ce qui a permis de connaître l'état initial, intact, des poches foliaires d'*H. physophora* à travers l'examen de toutes leurs domaties. Deuxièmement, lors du dénombrement exhaustif des effectifs de colonies matures d'*A. decemarticulatus* (voir p. 54), la totalité des domaties d'une vingtaine de plantes a été inspectée pour connaître l'état des trichomes une fois le myrmécophyte habité.

1.6.2. La position et la taille de l'entrée des domaties

Nous avons réalisé une expérience de tests croisés pour savoir si d'autres espèces qu'*A. decemarticulatus* étaient potentiellement capables de pénétrer dans les domaties d'*H. physophora*, mais aussi si *A. decemarticulatus* était potentiellement capable de coloniser d'autres espèces de myrmécophytes. Pour cela, nous avons collecté des reines d'*A. decemarticulatus* (N=13) et d'*Azteca* sp. (probablement *A. bequaerti*) (N=14) sur des plants d'*H. physophora* et de *T. guianensis*, respectivement. Il s'agissait à chaque fois de reines fondatrices désailées récemment installées dans leur domatie. Maintenu quelques jours dans un tube à essai, chaque reine était ensuite confrontée successivement à un plant en pot d'*H. physophora* puis de *T. guianensis*. Les colonies qui habitaient initialement les plants utilisés avaient été exclues par des injections d'eau quelques jours auparavant, et l'ordre dans lequel on les présentait aux reines variait régulièrement selon les réplicats. A chaque fois, la reine était déposée sur la face supérieure d'une jeune feuille, et ses mouvements étaient suivis jusqu'à ce qu'elle découvre l'entrée d'une domatie quelque part sur la plante. Le test était interrompu si la reine quittait la plante sans avoir trouvé de domaties, ou si elle n'en avait toujours pas trouvées au bout de 20 minutes. Lorsqu'une reine découvrait l'entrée d'une poche foliaire, elle était rapidement retirée de la plante à l'aide d'une pince juste avant qu'elle ait pu entrer complètement. Seule une reine par espèce a été autorisée à entrer entièrement dans la domatie pour savoir si elles en étaient capables.

1.7. Reconnaissance de la plante-hôte

Afin de savoir si les reines d'*A. decemarticulatus* étaient capables de reconnaître *H. physophora* à distance, nous avons conduit des tests de choix en adaptant un protocole décrit par (Jürgens et al. 2006). Puisqu'il nous était impossible de collecter des reines fondatrices pendant leur vol nuptial, nous avons utilisé des reines fondatrices désaillées récemment installées dans leur domatie (pas de couvain). A chaque fois, les reines étaient confrontées à deux plantes en pot, de taille similaire et vidées préalablement de leurs fourmis : *H. physophora* et un autre myrmécophyte (pouvant être *C. nodosa*, *T. guianensis* ou *M. guianensis*) ou une plante non-myrmécophyte (*Poecilanthe hostmannii*, Fabaceae). Un dernier type de test offrait aux reines le choix entre *T. guianensis* et *M. guianensis*.

Pour chaque réplicat, nous découpons un triangle équilatéral de 6cm de côté dans du papier cartonné. Une épingle était plantée à 2cm de l'un des angles et fichée dans un support de manière à maintenir le papier à l'horizontale, les deux autres angles reposant chacun sur une feuille des deux plantes à tester (Fig. 48). Une reine était alors déposée sur la tête de l'épingle, et ses déplacements étaient suivis. Nous considérons qu'elle avait fait un choix lorsqu'elle montait complètement sur l'une des feuilles, et qu'aucun choix n'avait été fait lorsqu'elle était toujours sur le triangle 10 minutes après le début du test.

Au total, 139 reines ont été utilisées dans le but d'obtenir 30 choix par paire de plantes testées (chaque reine n'a été confrontée qu'une seule fois à la même paire de plante). Les triangles et les épingles étaient changés à chaque réplicat, et la position des deux plantes testées était régulièrement intervertie tout au long des expériences. Les résultats ont été analysés par un test du Chi², une préférence étant considérée comme significative quand la distribution des choix déviait de la distribution théorique 15:15 à $p < 0,05$.



Figure 48. Dispositif utilisé dans les tests de choix. Une reine d'*A. decemarticulatus* vient d'être déposée sur l'épingle.

ANNEXE 2 : ARTICLES

- **Article 1** : Grangier J., Orivel J., Negrini M. & Dejean A. 2008. Low intraspecific aggressiveness in two obligate plant-ant species. *Insectes Sociaux* 55:238-240.
- **Article 2** : Grangier J., Dejean A., Malé P-J. & Orivel J. 2008. Indirect defense in a highly specific ant-plant mutualism. *Naturwissenschaften* 95:909-916.
- **Article 3** : Grangier J., Dejean A., Malé P-J., Solano P-J. & Orivel J. Mechanisms driving the specificity of a myrmecophyte-ant association. *Biological Journal of the Linnean Society*, sous presse.

Research article

Low intraspecific aggressiveness in two obligate plant-ant species

J. Grangier¹, J. Orivel¹, M. Negrini¹ and A. Dejean^{1,2}

¹ Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, UMR-CNRS 5174, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne 31062 Toulouse cedex 9, France, e-mail: grangier@cict.fr.

² CNRS-Guyane, UPS 2561, Résidence "Le Relais" – 16 avenue André Aron, 97300 Cayenne, France

Received 18 December 2007; revised 12 March 2008; accepted 13 March 2008.

Published Online First 11 April 2008

Abstract. Little is known about the aggressiveness of plant-ants typically living in isolated trees nor about how that aggressiveness varies based on this isolation. Here, we examine intra- and interspecific aggressiveness between workers of two *Allomerus* species associated with two different myrmecophytes. In both cases, the level of intraspecific aggressiveness is very low whatever the distance separating the tested nests, while interspecific conflicts are always violent. Similar patterns of aggressiveness have been reported in various ant species, but the strictly arboreal life of *Allomerus* ants associated with the isolation of their adult colonies highlight different ecological conditions that might explain the lack of aggressiveness between conspecifics.

Keywords. Aggressiveness, *Allomerus*, myrmecophytes, plant-ants, recognition ability.

Introduction

Numerous ant species known as "plant-ants" are the obligate associates of myrmecophytes (i.e., plants sheltering their guest ants in specialized, hollow structures called domatia). In these ant species, one colony generally occupies one tree that serves as its distinct foraging and nesting area, constituting cases of true territoriality (Levings and Traniello, 1981; Dejean et al., 2007). Contiguity between ant-plant territories can lead to conflicts between their host colonies, and defensive strategies such as canopy pruning are known to exist (Stanton et al., 1999). But when the distribution of myrmecophytes leads their guest colonies to be isolated from each other most of the time, one wonders how territoriality and aggressiveness are expressed by the resident ants.

In this study, we examined the pattern of aggressiveness in two myrmicine plant-ant species, *Allomerus decemarticulatus* and *A. octoarticulatus*, associated with the understorey myrmecophytic shrubs *Hirtella physophora* (Chrysobalanaceae) and *Cordia nodosa* (Boraginaceae), respectively. The domatia are leaf-pouches in the first species and stem nodes in the second. In our study sites, the two ant species are monogynous and strictly associated with their respective host-plant (Solano et al., 2003). Since we never saw workers leaving the leaf-bearing crown of their plant, we assume that they never foraged on the soil surface or on other trees. Moreover, their host myrmecophytes are rarely close enough to enter into contact, especially as they grow very slowly. Consequently, contact between different, mature, conspecific colonies or between the two *Allomerus* species is extremely rare. These conditions prompted us to investigate the level of both intra- and interspecific aggressiveness in these two *Allomerus* species.

Materials and methods

This study took place in December 2005 and October 2007 near the field station at Petit Saut, Sinnamary, French Guiana (5° 03' 39" N; 53° 02' 36" W). Just before conducting the tests we gathered the workers by cutting the foliage of different trees with pruning scissors and transported it to the laboratory in plastic bags. Each time, we selected workers patrolling on the branches or the leaves (never workers from the domatia). For both ant species, we tested workers coming (1) from the same tree; (2) from trees situated in the same area but separated by a distance of more than 50 m (intra-area tests); and (3) from trees situated in different areas separated from each other by more than 2 km (inter-area tests). We also conducted interspecific aggressiveness tests between *A. decemarticulatus* and *A. octoarticulatus*. Thus, in total, seven types of encounters were set up: three intraspecific ones for each species plus the interspecific one. Based on the type of encounter, we tested between 9 and 15 nest pairs. One-on-one confrontation tests consisted of pairing two individual workers together in a neutral arena (Ø: 1.5 cm; height: 1 cm) whose walls were coated with Fluon® to

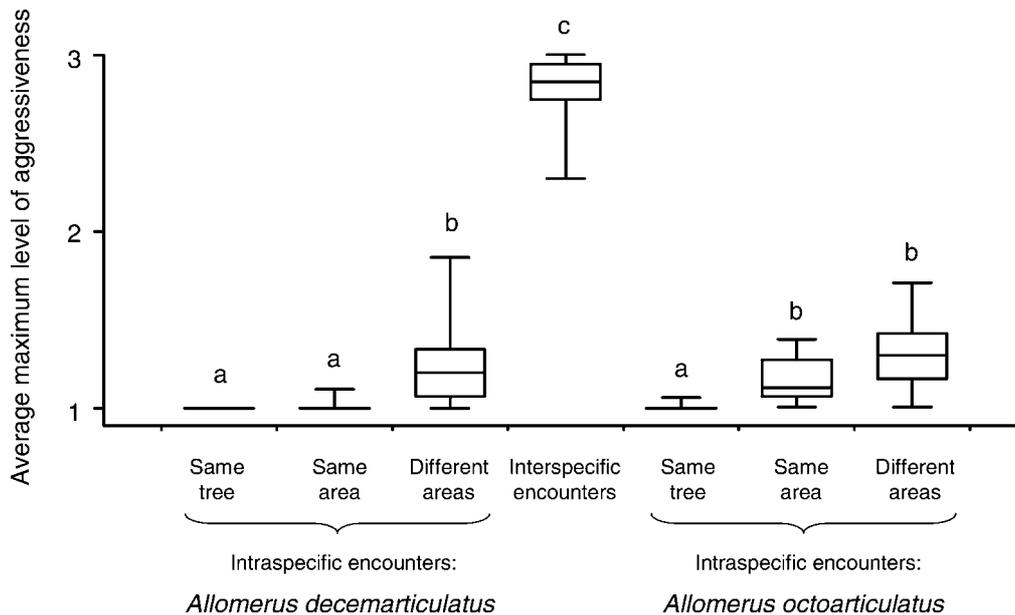


Figure 1. Comparisons of the average maximum level of aggressiveness during confrontations between *Allomerus* workers. The results for both *A. decemarticulatus* (from *H. physophora* plants) and *A. octoarticulatus* (from *C. nodosa* plants) are presented for encounters between workers coming from (1) the same tree (intra-colonial control), (2) two trees from the same area but situated more than 50 m from each other, and (3) two trees from two different areas situated more than 2 km from each other. The results of interspecific encounters are also presented. The box plot with error bars indicates the median and the 10th, 25th, 75th and 90th percentiles. A Kruskal-Wallis test indicates that the results of the seven types of aggressiveness tests differ significantly ($H = 57.12$; $df = 6$; $p < 0.001$). Different letters indicate significant differences based on a Mann-Whitney U test ($P < 0.05$ after a sequential Bonferroni correction).

prevent the ants from climbing out. During five minutes we scored interactions between the workers on a scale from 1 to 3: 1 = touch (physical contact such as antennations, but no aggressive response), 2 = aggressiveness (a short physical attack by one or both of the workers, including lunging, biting, or pulling legs or antennae), 3 = fighting (prolonged aggressiveness, including prolonged biting and pulling and the use of the sting by one or both ants). Between 10 and 15 replicates were conducted for each nest pair, using different workers each time. The highest escalation score for each trial was averaged across trials within each nest pair. The resulting values formed the seven datasets (corresponding to the seven types of encounters) that we then compared by using the Kruskal-Wallis test followed by pairwise Mann-Whitney U tests with a sequential Bonferroni correction (Rice, 1989).

Results and discussion

The major finding of this study is that despite some ability to recognize non-nestmates, *Allomerus* workers showed a very low level of intraspecific aggressiveness at all of the scales investigated. The level of intraspecific, inter-colonial aggressiveness was significantly higher than the intra-colonial control cases in both intra-area and inter-area tests for *A. octoarticulatus*, and only in inter-area tests for *A. decemarticulatus* (Fig. 1). This suggests some ability by the workers to discriminate between nestmates and non-nestmates (or at least distant non-nestmates). But the level of aggressiveness was very low even in the inter-area tests (mean \pm SD equal to only 1.29 ± 0.30 and 1.31 ± 0.21 for *A. decemarticulatus* and *A. octoarticulatus*; respectively; Fig. 1). Comparatively, the level of aggres-

siveness recorded during interspecific encounters was much higher (mean \pm SD = 2.80 ± 0.22 ; Fig. 1).

This absence or very low level of intraspecific aggressiveness could be a neutral by-product of a symbiotic way of life wherein the recognition cues between workers become homogenized. In ants, it is generally accepted that nestmate recognition cues are chemical in nature. The colony odor is known to be a combination of odors derived from physiological, genetically determined sources and odors from the environment (Vander Meer and Morel, 1998). The respective importance of these two categories of odor greatly varies according to the species. This has not yet been studied in *Allomerus*, but the homogenization of both endogenous and exogenous cues seems possible. First, founding *Allomerus* queens could be limited in their ability to disperse, thus resulting in the genetic isolation by distance of their colonies and a gradually increasing level of aggressiveness over our different spatial scales. Second and not exclusively, the strict association with a single plant species could homogenize the environmental component of colony odour, inducing an overall low level of aggressiveness (see Heinze et al., 1996). A thorough study integrating both genetic and chemical analyses would reveal the respective importance of heritable and environment-based recognition cues in these systems (for such an approach, see Debout et al., 2003).

Also, low intraspecific aggressiveness may be under selection if it offers advantages to *Allomerus* colonies.

Such benefits need to be investigated during the period when several founding queens and incipient colonies share the same tree because this is the only period during which contact with conspecific, non-nestmates can be frequent. Do the workers of incipient colonies fight, or is there tolerance between them followed by the execution of supernumerary queens as in some pleometrotic ant species (Adams and Balas, 1999)?

It is interesting to note that the spatial pattern of aggressiveness we found is very similar to some others observed under entirely different ecological conditions, where the interactions between adult colonies often seem to play a major role. An example can be seen in some unicolonial, polygynous ant species. This is the case for the wood ant *Formica paralugubris*, whose level of intraspecific aggressiveness increases with the geographic distance between nests but is always considerably lower than the level of interspecific aggressiveness, even over very large geographical scales (Holzer et al., 2006). In this species, most queens are recruited within their parental or from a neighbouring nest, and workers from distant nests mix freely. It is thought that such characteristics may have led the workers to evolve a high acceptance threshold towards non-nestmates. This is not, however, relevant to the present situation where monogyny is the rule and regular exchanges of workers are impossible between adult colonies. Furthermore, it is already known that in a few ant species there is a lack of intraspecific aggressiveness between the workers of single-queened colonies. Steiner et al. (2007) listed them, and gave a possible scenario concerning the subterranean *Lasius austriacus*. These ants do not need to forage far from their subterranean nests, resulting in low levels of conflict between colonies. In such circumstances, intraspecific aggressiveness appears costly relative to its potential benefits, and peaceful interactions with an occasional exchange of workers seems to be a more advantageous solution. However, intraspecific contacts between mature colonies of *Allomerus* ants, and the eventual costs of subsequent conflicts, seem too rare for their aggressive behaviour to be counter-selected this way. Compared to previously reported cases, our study thus highlights different ecological conditions under which ants are not aggressive towards conspecific colonies.

Acknowledgements

We are grateful to Andrea Dejean for proofreading the manuscript and to the "Laboratoire Environnement de Petit Saut, HYDRECO" for logistical support. This work was supported by grants from the French Agence Nationale de la Recherche (research agreement n°ANR-06-JCJC-0109-01) to JO and from the Programme Amazonie of the French CNRS to AD.

References

- Adams E.S. and Balas M.T., 1999. Worker discrimination among queens in newly founded colonies of the fire ant *Solenopsis invicta*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **45**: 330–338
- Debout G., Provost E., Renucci M., Tirard A., Schatz B. and McKey D., 2003. Colony structure in a plant-ant: behavioural, chemical and genetic study of polydomy in *Cataulacus mckeyi* (Myrmicinae). *Oecologia* **137**: 195–204
- Dejean A., Corbara B., Orivel J. and Leponce M., 2007. Rainforest canopy ants: the implications of territoriality and predatory behavior. *Func. Ecosyst. Commun.* **1**: 105–120
- Heinze J., Foitzik S., Hippert A. and Hölldobler B., 1996. Apparent dear-enemy phenomenon and environment-based recognition cues in the ant *Leptothorax nylanderii*. *Ethology* **102**: 510–522
- Holzer B., Chapuisat M., Kremer N., Finet C. and Keller L., 2006. Unicoloniality, recognition and genetic differentiation in a native *Formica* ant. *J. Evol. Biol.* **19**: 2031–2039
- Levings S.C. and Traniello J.F.A., 1981. Territoriality, nest dispersion, and community structure in ants. *Psyche* **88**: 265–321
- Rice W.R., 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution* **43**: 223–225
- Solano P.J., Durou S., Corbara B., Quilichini A., Cerdan P., Belin-Depoux M., Delabie J.H.C. and Dejean A., 2003. Myrmecophytes of the understory of French Guianian rainforests: their distribution and their associated ants. *Sociobiology* **41**: 605–614
- Stanton M.L., Palmer T.M., Young T.P., Evans A. and Turner M.L., 1999. Sterilization and canopy modification of a swollen thorn acacia tree by a plant-ant. *Nature* **401**: 578–581
- Steiner F.M., Schlick-Steiner B.C., Moder K., Stauffer C., Arthofer W., Buschinger A., Espadaler X., Christian E., Einfinger K., Lorbeer E., Schafellner C., Ayasse M. and Crozier R.H., 2007. Abandoning aggression but maintaining self-nonsel discrimination as a first stage in ant supercolony formation. *Curr. Biol.* **17**: 1903–1907
- Vander Meer R.K. and Morel L., 1998. Nestmate recognition in ants. In: *Pheromone communication in social insects* (R.K. Vander Meer, M. Breed, M. Winston and K.E. Espelie, Eds), Westview Press, Boulder, CO. pp. 79–103

To access this journal online:
<http://www.birkhauser.ch/IS>

Indirect defense in a highly specific ant–plant mutualism

Julien Grangier · Alain Dejean · Pierre-Jean G. Malé · Jérôme Orivel

Received: 23 October 2007 / Revised: 24 April 2008 / Accepted: 29 April 2008 / Published online: 22 May 2008
© Springer-Verlag 2008

Abstract Although associations between myrmecophytes and their plant ants are recognized as a particularly effective form of protective mutualism, their functioning remains incompletely understood. This field study examined the ant–plant *Hirtella physophora* and its obligate ant associate *Allomerus decemarticulatus*. We formulated two hypotheses on the highly specific nature of this association: (1) Ant presence should be correlated with a marked reduction in the amount of herbivory on the plant foliage; (2) ant activity should be consistent with the "optimal defense" theory predicting that the most vulnerable and valuable parts of the plant are the best defended. We validated the first hypothesis by demonstrating that for ant-excluded plants, expanding leaves, but also newly matured ones in the long term, suffered significantly more herbivore damage than ant-inhabited plants. We showed that *A. decemarticulatus* workers represent both constitutive and inducible defenses for their host, by patrolling its foliage and rapidly recruiting nestmates to foliar wounds. On examining how these activities change according to the leaves' developmental stage, we found that the number of patrolling ants dramatically decreased as the leaves matured, while leaf wounds induced ant recruitment regardless of the leaf's age. The resulting level of these indirect defenses was roughly proportional to leaf vulnerability and value during its

development, thus validating our second hypothesis predicting optimal protection. This led us to discuss the factors influencing ant activity on the plant's surface. Our study emphasizes the importance of studying both the constitutive and inducible components of indirect defense when evaluating its efficacy and optimality.

Keywords *Allomerus decemarticulatus* · *Hirtella physophora* · Indirect defense · Myrmecophytes · Optimal defense theory

Introduction

Myrmecophytes shelter mutualistic plant ants in "domatia" (i.e., hollow branches, thorns, and leaf pouches) and generally provide them with food in the form of extrafloral nectar or food bodies. As a counterpart, plant ants protect them from competitors, encroaching vines, fungal pathogens and herbivores, and can furnish them with nutrients. Myrmecophytes can be associated with several ant species, each of which can often find shelter in any of several myrmecophytic species (Davidson and McKey 1993; Heil and McKey 2003). As a result, the protection provided by plant ants can be strong, slight or even non-existent since ant species differ with respect to both the magnitude and type of benefits they provide to the same plant species (Bruna et al. 2004; Debout et al. 2005; Dejean et al. 2006; Frederickson 2005; Gaume and McKey 1999; Lapola et al. 2003; Raine et al. 2004).

Because the transmission of ant–plant associations is horizontal, it is assumed that over the course of evolution myrmecophytes have acquired several types of "selective filters" enabling them to host only those ant species most favorable to their fitness (Beattie and Hughes 2002; Heil et

J. Grangier (✉) · A. Dejean · P.-J. G. Malé · J. Orivel
Laboratoire Evolution et Diversité Biologique,
UMR-CNRS 5174, Université Paul Sabatier,
118 Route de Narbonne,
31062 Toulouse cedex 9, France
e-mail: grangier@cict.fr

A. Dejean
CNRS-Guyane,
UPS 2561, Résidence "Le Relais", 16 Avenue André Aron,
97300 Cayenne, France

al. 2005). For example, to shelter in the domatia of certain myrmecophyte species, founding queens must gnaw an entrance hole in the prostoma of the plant; however, these prostoma are only recognizable to the queens of a few ant species (Benson 1985). As a result, one might suppose that the few existing species-specific systems result from a variety of tight adaptations leading to an unusually high degree of phenotype matching between the two partners and major benefits for both. These examples are useful when examining how the indirect defenses provided by plant ants work in conjunction with the ways in which the myrmecophytes protect themselves *via* direct defenses, which is still poorly understood (see Heil et al. 2002; Heil and McKey 2003; Rico-Gray and Oliveira 2007).

The means by which plants defend themselves from herbivores include physical barriers (e.g., trichomes, thorns, and leaf toughness) and the production of toxic compounds. These defenses can be: (1) “constitutive” (i.e., permanent) or (2) “inducible” when they develop as a reaction to herbivory (e.g., longer trichomes and/or the production of toxic chemicals or even volatiles to attract the natural enemies of herbivorous insects) (Tollrian and Harvell 1999). Plant ants can act as both a constitutive defense (workers constantly patrolling the foliage) and an induced one (the responses of ant workers to foliar damage) for their host-myrmecophyte (Heil and McKey 2003).

In the present study, we investigated this issue more thoroughly by examining the indirect defense provided by the myrmicine plant ant *Allomerus decemarticulatus* Mayr to its obligate host myrmecophyte *Hirtella physophora* Martius & Zuccharini (Chrysobalanaceae). The aim was to test the following two hypotheses on the highly specific nature of this association: (1) Ant presence is correlated with a marked reduction in the amount of herbivory; (2) The activities undertaken by the workers to protect their plant are consistent with the optimal defense theory predicting that plant defenses are concentrated on the most valuable and vulnerable parts of the plant (Heil et al. 2004; McKey 1974; Rhoades 1979). Whereas, this theory has been tested on the direct defenses of plants, it has only rarely been tested on their indirect defenses (Rostás and Eggert 2008). In the particular case of myrmecophytes, it is still generally the one referred to because plant ants often preferentially patrol the young, vulnerable leaves of their host (Heil and McKey 2003). In fact, very few studies have been specifically aimed at quantifying the pattern of ant defense as a whole (i.e., considering its constitutive and inducible components) according to the value or vulnerability of the different plant parts (but see Heil et al. 2004).

We therefore conducted short- and long-term exclusion experiments to verify the impact of ant protection on leaves of different ages. We also determined the spatial pattern of

both constitutive and induced ant defense and compared it to the pattern of leaf vulnerability.

Materials and methods

Study site and model system

The four surveys included in this study were conducted between 2004 and 2006 in zones of pristine forest situated around the field station at Petit Saut, Sinnamary, French Guiana (5°03'39" N; 53°02'36" W). *Hirtella physophora* is an understory myrmecophytic shrub whose ant-domatia consist of two leaf pouches situated at the base of the leaf blade, on both sides of the petiole. The leaf blades bear extra-floral nectaries on their abaxial surface (Leroy et al. 2008). In French Guiana, *H. physophora* is specifically associated with the plant ant *A. decemarticulatus* (Myrmicinae). We have never found this ant species on other sympatric myrmecophytes, and, except for rare occasions, it is the only occupant of *H. physophora* whatever the age of the plant, showing an unusual degree of specificity (Solano et al. 2003). The *A. decemarticulatus* colonies are monogynous, and, for those plants taller than 0.7 m, there is usually only one mature colony per plant (personal observation, $N > 150$ cases). The workers build a gallery-shaped trap along the stems and the petioles (including up to the domatia) to capture prey, and also patrol the plant's surface (Dejean et al. 2005); moreover, the condition of the trap provides a good indication of the health of the colony.

Impact of ant exclusion on leaf herbivory

To assess the influence of the presence of *A. decemarticulatus* colonies on the degree of herbivory sustained by their host plant, we performed a short-term (40 days, from December 2004 to February 2005) ant-exclusion experiment on 90 *H. physophora* individuals located on the tops of three hills (15 experimental plants and 15 control plants per site). This was followed by a long-term experiment (8 months, from February to October 2005) on 60 plants located on two hills (15 experimental plants and 15 control plants, per site). Four plants selected initially were discarded because they died for reasons other than herbivory. In both experiments, the plants were chosen based on their size and the total number of leaves so that these parameters were similar in both the experimental and control groups. All of the plants were initially occupied by mature *A. decemarticulatus* colonies.

We employed a non-destructive and insecticide-free method of exclusion, permitting us to avoid creating the potential biases caused by such things as the repulsive or

lethal effect some insecticides have on certain phytophagous insects, or the insects' eventual attraction to wounded parts of the plants. First, we brushed away the galleries built by the ants along the plant's stems, and then we collected all of the workers patrolling on the plant's surfaces with an aspirator. Then, by inserting the round-tipped needle of a syringe into the natural entrances of the leaf pouches and repeatedly injecting water, we were able to eliminate brood, workers, and queens. Because it is always possible that a plant will be re-colonized during the course of an experiment, we checked all of the plants at the end of both the short- and long-term experiments. The effectiveness of our method was confirmed in both cases because these controls only revealed the presence of some claustral founding queens and small incipient colonies whose impact on herbivores is minimal compared to that of mature colonies.

Leaf production is continuous and foliar growth is slow in *H. physophora* (it can take several weeks for a leaf to reach maturity), and leaves can live for several years. We decided to monitor four developmental leaf stages. We measured the amount of herbivory on: (1) leaves already formed at the beginning of each experiment ("initial leaves"; three were chosen per plant among the less damaged leaves at the tips of the branches) and (2) those leaves that developed during the long-term experiment ("new leaves"). Among the initial leaves, "young leaves" (referred to as stage 3 hereafter; from 15 to 25 cm long; positioned horizontally, mature but still relatively tender, and light green in color) were opposed to "old leaves" (referred to as stage 4 hereafter) corresponding to older, non-senescent, mature leaves (up to 30 cm in length, positioned horizontally, stiff, and dark green in color). Among the new leaves that formed during the long-term experiment, "juvenile leaves" (stage 1) were the youngest (less than 5 cm long, positioned vertically; the domatia were not fully developed), while "expanding leaves" (stage 2) often had fully developed domatia and a blade that was immature, although longer than in the previous stage.

Using a standardized method with a leaf-fixing board, the leaves were photographed at the beginning of the experiments, and then 40 days (short-term experiment) or 8 months later (long-term experiment). Digital photographs were analyzed using Media Cybernetics Optimas 6.5 software to determine the percentage of missing leaf area. When necessary (i.e., damage located at the edges of the lamina), we drew hypothetical outlines of the leaves thanks to their symmetrical shape or to the small size of the damaged area. By subtracting the initial value from the final one, we were able to evaluate the amount of area missing. For new leaves, we noted the percentage of area missing at the end of the experiment. In ant-excluded plants, some of these new leaves were heavily damaged (more than the half

of the leaf area), so that it was sometimes impossible to estimate the total leaf area. In these cases, we considered these leaves to be missing 50% of their area; in reality, this is probably a slight underestimation.

The amount of herbivory was averaged for each plant. Then, for both the short- and the long-term exclusion experiments, we compared the percentages of missing leaf areas for the different categories of leaves between the control and experimental groups using the Mann–Whitney *U* test (GraphPad Prism 4.03 software).

Density of patrolling ants according to the developmental stage of the leaf

We counted the patrolling workers on leaves at each of the four developmental stages described above: stage 1 ($N=40$), stage 2 ($N=12$), stage 3 ($N=40$), and stage 4 ($N=40$). These instantaneous counts were made during the day when *A. decemarticulatus* activity is at its peak (Dejean et al. 2001). Each plant was occupied by a mature, active colony, and no more than one leaf per plant from each category was used. To be able to make comparisons among categories, we photographed each leaf to obtain its exact surface, as described above, and we converted the results to densities (number of ants per square centimeter of lamina). These densities were $\log(x \times 1,000 + 1)$ transformed to meet assumptions of normality and homoscedasticity (D'Agostino and Pearson omnibus test and Bartlett's test), and then compared using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by a Tukey's *post hoc* test for multiple comparisons. We also distinguished the number of ants patrolling on the adaxial and abaxial surfaces of the leaf blades. These numbers were $\sqrt{(x+0.5)}$ transformed and compared within each leaf category using the paired *t* test. For clarity of presentation, all of the graphs were generated using non-transformed data.

Ant responses to foliar damage

To test if plant wounds can induce workers to recruit nestmates and whether this depends on the age of the leaf, we counted the workers on experimental leaves (i.e., artificially damaged) and control leaves, using a well-known paired-leaf design (see Agrawal 1998; Lapola et al. 2003; Romero and Izzo 2004). We selected 34 *H. physophora* inhabited by mature and healthy *A. decemarticulatus* colonies and possessing at least two young or two old leaves, using each plant only once for each leaf category. For each test (28 on young leaves and 31 on old ones), one leaf was randomly assigned as "control", the other as "experimental". All of the leaves were photographed and their surfaces compared. As their surfaces did not differ significantly (ANOVA: $F=1.68$; $p=0.18$), we

compared the number of ants recorded (i.e., without having to compare their densities). Before each experiment we counted the number of ants patrolling on the leaves. We simulated herbivory by cutting out a triangular piece ($\approx 1 \text{ cm}^2$) of the proximal half of the lamina, and we slightly shook the “control” leaf. We immediately began to count the ants present on both leaves, and then again every minute. While doing so, we noted when the first worker entered into physical contact with the wound and used this as the starting point for a 20-min counting period so designed to allow enough time to record recruitment, if any. We compared the $\sqrt{(x+0.5)}$ transformed number of ants between the two treatments using SPSS 11.5 software to perform a repeated-measures ANOVA (in which time is considered as the factor of repetition). To account for violations of the sphericity assumption of variances, the Greenhouse–Geisser correction was applied to the degrees of freedom. For clarity of presentation, all of the graphs were generated using non-transformed data.

Results

Impact of ant exclusion on leaf herbivory

During the short-term experiment, the ant-excluded plants did not sustain a significantly greater rate of herbivory than those from the control group for either stage 3 or stage 4 leaves. The same was true only for stage 4 leaves during the long-term experiment, but stage 3 leaves on the experimental plants were significantly more damaged than those from the control lot (Table 1). Stage 1 leaves were always completely intact on both control and ant-excluded plants, while the stage 2 leaves were highly damaged only on ant-excluded plants (Table 1). As a result, stage 2 leaves and, to a lesser extent, stage 3 leaves, are the most vulnerable to herbivory. They correspond to the only stages during which the presence of the ants significantly reduces the damage sustained by the leaf blade (Fig. 1b).

In a corollary to this experiment, we noted that control plants produced more new leaves than ant-excluded plants (mean number per plant \pm SD: 2.9 ± 1.3 vs 2 ± 1.5 ; t test: $t=2.4$; $df=55$; $p=0.018$). This shows the importance of the presence of ants for this plant species.

Although leaf-cutting ants are the main defoliators in the Neotropics, they rarely attack *H. physophora* devoid of associate ants; the same is true for caterpillars (only one Lepidoptera species was noted). Locusts, tettigonids, and adult chrysomelid beetles are the most frequent defoliators. They even attack trees with ants, risking capture, but large items generally jump away when attacked by *Allomerus* workers (personal observation).

Density of patrolling ants according to the developmental stage of the leaf

We noted a striking decrease in the density of patrolling workers as the leaves developed (one-way ANOVA: $F_{3, 128}=183.9$; $p<0.0001$). Stage 1 leaves were by far the most patrolled; stage 4 leaves were less frequently patrolled, while stage 2 and stage 3 leaves constituted intermediary steps (Fig. 1c). This cannot be explained only by the greater leaf area, which is 23 times larger in the last stage than in the first, while the ant density is more than 500 times lower at the same time (see Fig. 1a and c). The location of the workers on the lamina also changed during the course of leaf development from significantly more ants patrolling the abaxial surface of stage 1 leaves (paired t test: $t=5.78$; $df=39$; $p<0.0001$) to the reverse for stage 3 and stage 4 leaves (paired t tests: $t=3.87$; $df=39$; $p=0.0004$; and $t=6.37$; $df=39$; $p<0.0001$, respectively). Note that both sides of stage 2 leaves were equally patrolled (paired t test: $t=1.45$; $df=11$; $p=0.18$) (Fig. 1d).

Ant responses to leaf wounds

Before experimentation, the number of ants was not significantly different between “control” and “damaged”

Table 1 Percentages of missing leaf area (mean \pm SE) on plants used for the short-term and the long-term experiments (N =number of plants; n =number of leaves)

	Control plants		Ant-excluded plants		Mann–Whitney test	
	Percent missing leaf area	N (n)	Percent missing leaf area	N (n)	Statistic	p value
Short-term experiment						
Initial stage 3 leaves	0.03 \pm 0.02	45 (114)	0.13 \pm 0.12	44 (112)	$U=968$	$p=0.85$
Initial stage 4 leaves	0.06 \pm 0.04	14 (19)	0.06 \pm 0.06	11 (13)	$U=74$	$p=0.89$
Long-term experiment						
New stage 1 leaves	0	16 (18)	0	8 (11)	-	-
New stage 2 leaves	2.79 \pm 1.37	27 (70)	32.69 \pm 3.89	18 (43)	$U=14$	$p<0.0001$
Initial stage 3 leaves	0.11 \pm 0.05	30 (77)	4.59 \pm 2.42	25 (56)	$U=228$	$p=0.01$
Initial stage 4 leaves	0.13 \pm 0.11	10 (12)	5.95 \pm 5.94	16 (22)	$U=70.5$	$p=0.62$

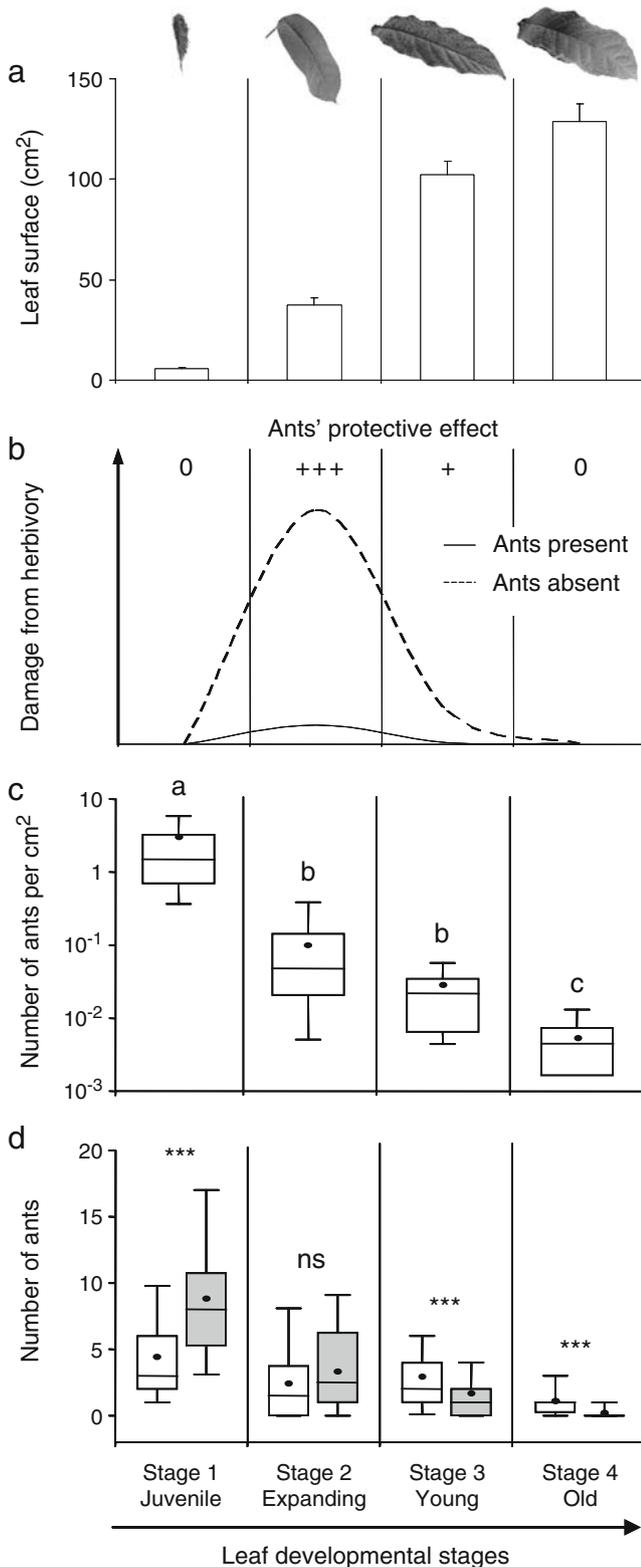


Fig. 1 Changes in *Hirtella physophora* leaves during the course of their development. **a** Leaf area and position. **b** Schematic representation of leaf damage due to herbivory with respect to the presence or absence (exclusion experiments) of ants. The resulting benefits of ant presence for the plant are indicated above. **c** Density of ants (number of workers per square centimeter). Box and whisker plots represent, top to bottom, the 90th percentile, 75th percentile, median, 25th percentile, and 10th percentile. A black dot represents the mean. Different letters indicate significant differences at $p < 0.001$ (Tukey's *post-hoc* test). **d** Total number of ants per leaf on both the adaxial (white boxes) and abaxial (gray boxes) surfaces of the laminas. Box and whisker plots represent, top to bottom, the 90th percentile, 75th percentile, median, 25th percentile, and 10th percentile. A black dot represents the mean. The triple asterisk indicates a significant difference at $p < 0.001$ (paired *t*-test). In **a**, **c**, and **d**, the sample sizes are $N = 40$ for stages 1, 3, and 4, and $N = 12$ for stage 2

leaves for either stage 3 or stage 4 leaves (*t* tests: $t = 0.31$; $df = 46$; $p = 0.76$; and $t < 0.0001$; $df = 46$; $p = 1$, respectively). In a few cases, the ants did not find the foliar wound after 30 min, on either stage 3 or stage 4 leaves (four out of 28 and seven out of 31 trials, respectively; *Chi*-square test: $\chi^2 = 0.67$; $df = 1$; $p = 0.41$). In the other cases, the worker discovering the wound antennated its edges for more than 10 s. Then, the discovering workers returned to the leaf pouches to recruit nestmates. A few seconds after several of the recruited workers left the pouches, heading directly to the wounds in most cases, all of the ants antennated the edges of the wound. They later patrolled the entire leaf.

As a result, the number of workers increased over time for both stage 3 and stage 4 damaged leaves, while this was not the case for the control leaves (Fig. 2a and b, Table 2). The mean increase in the number of ants (ratio between the maximum value and the initial value) was similar on stage 3 and stage 4 leaves (4.2 and 4.9 times, respectively), but the initial number was lower on the less-frequented stage 4 leaves (see Fig. 2a,b).

Discussion

This study demonstrates that the highly specific association between *H. physophora* and *A. decemarticulatus* is a protective mutualism. The results of our exclusion experiments confirmed our expectations of a markedly reduced degree of herbivory on inhabited myrmecophytes, which, in addition, show a higher rate of leaf production. This indirect protection results from the efficiency of the *A. decemarticulatus* workers in patrolling the foliage of their host plant, and rapidly recruiting nestmates to foliar wounds. The spatial pattern of those activities roughly matches the areas of leaf vulnerability consistent with the optimal defense theory and raising questions about what directs the patrolling of the ants.

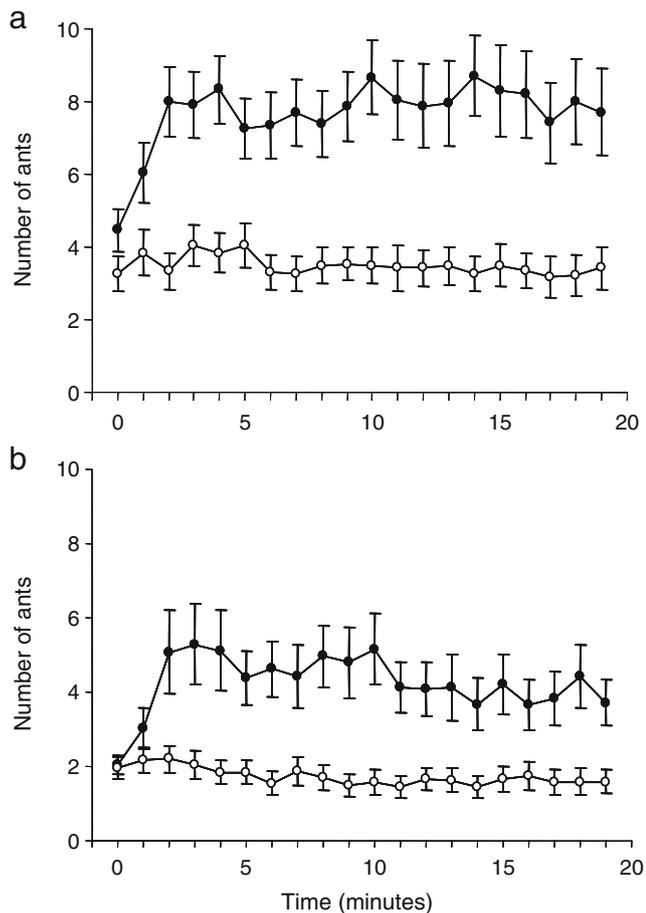


Fig. 2 Change over time of the mean (\pm SE) number of *A. decemarticulatus* workers patrolling artificially wounded leaves (filled circles) and undamaged control leaves (empty circles). **a** Young leaves ($N=24$). **b** Old leaves ($N=24$). In both cases, t_0 corresponds to the discovery (i.e., the first physical contact) with the wound

Efficacy of protection of *H. physophora* by ants

Allomerus decemarticulatus workers protect their host plant through two types of activities that together make this ant species a very efficient mutualist for *H. physophora*. First, as in most ant–myrmecophyte associations (Heil and McKey 2003), patrolling workers provide a constitutive defense. In our study, workers were relatively dense on the vulnerable parts of plant foliage. On the average, there were six workers on stage 2 leaves, a number that is probably dissuasive for many herbivorous insects given the predatory abilities of this ant species (Dejean et al. 2001). Second, the ants also provide an inducible defense, as *A. decemarticulatus* workers recruited nestmates to artificially inflicted leaf wounds, as do several other obligate plant ant species (Agrawal 1998; Agrawal and Dubin-Thaler 1999; Christianini and Machado 2004; Romero and Izzo 2004).

The efficiency of the ants' protection of *H. physophora* is above all illustrated by its crucial importance for stage 2,

Table 2 A repeated-measures ANOVA examining the effect of experimentation (damaged vs control leaves) on ant-recruitment (increase in the number of workers) on (a) young (stage 3) leaves after the first physical contact between a worker and the foliar wound, (b) the same for older (stage 4) leaves

Source of variation	<i>df</i>	MS	<i>F</i>	<i>p</i> value	G–G
a) Leaf cut (in stage 3 leaves)					
Treatment	1	169.815	18.455	<0.001	
Error	46	9.202			
Time	19	0.436	2.349	0.001	0.025
Time x Treatment	19	0.409	2.207	0.002	0.035
Error	874	0.185			
b) Leaf cut (in stage 4 leaves)					
Treatment	1	90.041	11.93	0.001	
Error	46	7.547			
Time	19	0.396	2.711	<0.001	0.01
Time x Treatment	19	0.432	2.959	<0.001	0.005
Error	874	0.146			

Probabilities corrected for sphericity are provided using the Greenhouse–Geisser correction (G–G).

MS mean square.

expanding leaves, which are the major target of herbivores, as for most tropical plant species (Coley and Barone 1996). In the absence of associated ants, numerous new leaves (except for the domatia) are entirely eaten; while the others reach maturity, but with a heavy loss in biomass resulting in low photosynthetic capacities. Stage 3 leaves also benefit from the ants' presence, but to a lower extent than expanding leaves. This shows that other defenses rapidly become effective after the leaf reaches maturity. The weak level of herbivory sustained by these leaves was detected only during our long-term study, which confirms the inadequacy of short-term experiments in obtaining a realistic picture of the efficacy of anti-herbivore defense as pointed out by Heil et al. (2001).

Is an indirect defense optimal in *H. physophora*?

Our results highlight a pattern of indirect defense that is globally consistent with the predictions of the optimal defense theory. First, we found that the number of ants patrolling the *H. physophora* leaves dramatically and constantly decreased with leaf age, as in many other myrmecophytes (reviewed in Heil and McKey 2003). This clearly accompanied the decrease in leaf vulnerability from stage 2 to 4, which is probably partly linked to the increase in toughness during this period (toughness appears to be a major defensive trait for mature leaves; Coley 1983). Patrolling workers consequently represent a spatially optimal constitutive defense. On the other hand, *A. decemarticulatus* workers recruited nestmates to foliar wounds at a rate that appeared to be constant over the

lifespan of the leaf (although this still needs to be confirmed for the youngest leaves). This enhances both the spatial and temporal adaptiveness of patterns of indirect defense, allowing the number of ants to increase whenever and wherever constitutive defenses are not sufficient to prevent foliar wounds.

The intensively patrolled stage 1 leaves constitute the only short developmental stage (the first 2 weeks of a several-year leaf lifespan) during which the observed pattern is seemingly contrary to the one predicted based on the vulnerability of these organs. Indeed, looking at the null rate of herbivory that they sustained over the course of the exclusion experiment, one could hypothesize that they do not rely on ants for defense and rather benefit from efficient direct defenses, such as their very dense trichomes, as is known for other plant species (Karabourniotis and Fasseas 1996; Valkama et al. 2004). However, stage 1 is the most valuable developmental stage because the leaves have a higher potential photosynthetic value resulting from a longer expected lifespan. As the optimal defense theory predicts that the defenses should be concentrated on the most vulnerable and valuable parts of the plants, indirect defenses on stage 1 leaves can be considered as in accordance with the theory.

Moreover, because herbivorous insects often prefer to deposit their eggs on the youngest leaves, we cannot exclude that these leaves sometimes suffer from this form of vulnerability. Later, the caterpillars that hatch from these eggs will damage the then expanding or mature leaf. In addition, their very small size can subject them to an “all-or-nothing” risk, increasing the potential consequences of the slightest predation event. Given the slow growth of *H. physophora* and the relatively short duration of stage 1, the energetic costs for ants to patrol these leaves may be, in fact, rather low. Therefore, indirect protection for these valuable plant parts could have been easily selected: its low energetic cost allows ants to protect the plant from low-risk events. Altogether, these considerations lead one to assume that ant patrolling of stage 1 leaves is more likely another confirmation of optimality rather than a slight deviation from the theoretical predictions.

Proximal factors contributing to optimality

Optimality in a protective mutualism raises questions about the proximal factors that guide the acts of the defending partner. In many ant–plant mutualisms, the proximate cues enabling the preferential patrolling of young plant parts remain poorly known (Heil and McKey 2003). However, Edwards et al. (2007) rejected the hypothesis of a sensory trap (i.e., chemical compounds mimicking ant brood or alarm pheromones) to explain the attraction of *A. octoarticulatus* workers to new *Cordia nodosa* shoots. They

concluded that this was rather the result of a selection on ants to directly patrol the plant parts that maximize the acquisition of rewards, something also suggested in the present study because on stage 1 leaves there were significantly more workers on the abaxial surface, which bears extra-floral nectaries. Note that by using a magnifying video camera, we noted that workers insert themselves between the trichomes to reach the leaf surface.

The absence of such a preference for the abaxial surface in the subsequent developmental stages could reflect the decreasing production of nectar over the lifespan of the leaf that is responsible for the parallel decrease in ant frequentation. Other factors could also influence ant distribution, such as the orientation of the leaves (from vertical in juvenile leaves to horizontal in older ones), which can affect whether or not flying insects can easily land and thereby also the probability for ants to encounter herbivorous insects on the different sides of the leaf. Also, we cannot exclude the possibility that volatile compounds stimulate differences in the number of patrolling ants over the lifespan of the leaf, as has been observed in an African myrmecophyte (Brouat et al. 2000).

Finally, chemical cues likely play a part in the response induced in *A. decemarticulatus* by foliar wounds. Non-volatile compounds are probably involved because the workers intensively antennated the wounds before recruiting nestmates. Romero and Izzo (2004) made the same observation in the association *A. octoarticulatus*–*H. myrmecophila*. However, on an interesting note, contrary to what we observed with *A. decemarticulatus*, they also found that the workers’ response was higher on young than on older leaves. This possibly reflects the fact that older domatia are aborted in *H. myrmecophila* and not in *H. physophora* (Izzo and Vasconcelos 2002). A non-exclusive hypothesis is that the chemical cues emitted by wounds do not change with leaf age in *H. physophora*, but they do in *H. myrmecophila*.

In conclusion, our study emphasizes the interest of examining both the constitutive and inducible components of indirect defense, and of paying greater attention to their variations over the course of leaf development. Further studies are necessary to clarify the complex combination of factors governing these variations, and to know how the plant’s means of self-protection through physical and/or chemical defenses vary at the same time. As suggested by Amsellem and McKey (2006), such a comprehensive approach will help us construct a single conceptual framework integrating all of the various means by which myrmecophytes are protected from herbivorous insects.

Acknowledgments We are grateful to Andrea Dejean for proofreading the manuscript, to Doyle McKey, Douglas Yu and two anonymous referees for their in-depth reading and relevant remarks, to Michaël

Negrini and Jean-Michel Martin for their help in the field, and to the *Laboratoire Environnement de Petit Saut* for logistical support. This work was provided support by the *Programme Amazonie* of the *CNRS-Guyane* to AD and a research program of the French *Agence Nationale de la Recherche* (research agreement no. ANR-06-JCJC-0109-01) to JO.

References

- Agrawal AA (1998) Leaf damage and associated cues induce aggressive ant recruitment in a neotropical ant-plant. *Ecology* 79:2100–2112
- Agrawal AA, Dubin-Thaler BJ (1999) Induced responses to herbivory in the Neotropical ant-plant association between *Azteca* ants and *Cecropia* trees: response of ants to potential inducing cues. *Behav Ecol Sociobiol* 45:47–54
- Amsellem L, McKey D (2006) Integrating phenological, chemical and biotic defences in ant-plant protection mutualisms: a case study of two myrmecophyte lineages. *Chemoecology* 16:223–234
- Beattie AJ, Hughes L (2002) Ant-plant interactions. In: Herrera CM, Pellmyr O (eds) *Plant-animal interactions*. Blackwell, Oxford, pp 211–235
- Benson WW (1985) Amazon ant-plants. In: Prance GT, Lovejoy TE (eds) *Key environments. Amazonia*. Pergamon, Oxford, pp 239–266
- Brouat C, McKey D, Bessi re JM, Pascal L, Hossaert-McKey M (2000) Leaf volatile compounds and the distribution of ant patrolling in an ant-plant protection mutualism: preliminary results on *Leonardoxa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and *Petalomyrmex* (Formicidae: Formicinae). *Acta Oecol* 21:349–357
- Bruna EM, Lapola DM, Vasconcelos HL (2004) Interspecific variation in the defensive responses of obligate plant-ants: experimental tests and consequences for herbivory. *Oecologia* 138:558–565
- Christianini AV, Machado G (2004) Induced biotic responses to herbivory and associated cues in the Amazonian ant-plant *Maieta poeppigii*. *Entomol Exp Appl* 112:81–88
- Coley PD (1983) Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecol Monogr* 53:209–234
- Coley PD, Barone JA (1996) Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annu Rev Ecol Syst* 27:305–335
- Davidson DW, McKey D (1993) The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. *J Hym Res* 2:13–83
- Debout G, Schatz B, McKey D (2005) Behavioural traits mediating effects of two plant-ants on their specific myrmecophyte host. *Insect Soc* 52:205–211
- Dejean A, Solano PJ, Belin-Depoux M, Cerdan P, Corbara B (2001) Predatory behavior of patrolling *Allomerus decemarticulatus* workers (Formicidae: Myrmicinae) on their host plant. *Sociobiology* 37:571–578
- Dejean A, Solano PJ, Ayroles J, Corbara B, Orivel J (2005) Arboreal ants build traps to capture prey. *Nature* 434:973
- Dejean A, Delabie J, Cerdan P, Gibernau M, Corbara B (2006) Are myrmecophytes always better protected against herbivores than other plants? *Biol J Linn Soc* 89:91–98
- Edwards DP, Arauco R, Hassall M, Sutherland WJ, Chamberlain K, Wadhams LJ, Yu DW (2007) Protection in an ant-plant mutualism: an adaptation or a sensory trap? *Anim Behav* 74:377–385
- Frederickson ME (2005) Ant species confer different partner benefits on two neotropical myrmecophytes. *Oecologia* 143:387–395
- Gaume L, McKey D (1999) An ant-plant mutualism and its host-specific parasite: activity rhythms, young leaf patrolling, and effects on herbivores of two specialist plant-ant inhabiting the same myrmecophyte. *Oikos* 84:130–144
- Heil M, McKey D (2003) Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:425–453
- Heil M, Fiala B, Maschwitz U, Linsenmair KE (2001) On benefits of indirect defence: short- and long-term studies of antiherbivore protection via mutualistic ants. *Oecologia* 126:395–403
- Heil M, Delsinne T, Hilpert A, Sch rkens S, Andary C, Linsenmair KE, Sousa M, McKey D (2002) Reduced chemical defense in ant-plants? A critical re-evaluation of a widely accepted hypothesis. *Oikos* 99:457–468
- Heil M, Feil D, Hilpert A, Linsenmair K (2004) Spatiotemporal patterns in indirect defence of a South-East Asian ant-plant support the optimal defence hypothesis. *J Trop Ecol* 20:573–580
- Heil M, Rattke J, Boland W (2005) Postsecretory hydrolysis of nectar and specialization in ant/plant mutualism. *Science* 308:560–563
- Izzo TJ, Vasconcelos HL (2002) Cheating the cheater: domatia loss minimizes the effects of ant castration in an Amazonian ant-plant. *Oecologia* 133:200–205
- Karabourniotis G, Fasseas C (1996) The dense indumentum with its polyphenol content may replace the protective role of the epidermis in some young xeromorphic leaves. *Can J Bot* 74:347–351
- Lapola DM, Bruna EM, Vasconcelos HL (2003) Contrasting responses to induction cues by ants inhabiting *Maieta guianensis* (Melastomataceae). *Biotropica* 35:295–300
- Leroy C, Jauneau A, Quilichini A, Dejean A, Orivel J (2008) Comparison between the anatomical and morphological structure of leaf blades and foliar domatia in the ant-plant *Hirtella physophora* (Chrysobalanaceae). *Ann Bot* 101:501–507
- McKey D (1974) Adaptive patterns in alkaloid physiology. *Am Nat* 108:305–320
- Raine NE, Gammans N, Macfadyen IJ, Scrivner GK, Stone GN (2004) Guards and thieves: antagonistic interactions between two ant species coexisting on the same ant-plant. *Ecol Entomol* 29:345–352
- Rhoades DF (1979) Evolution of plant chemical defense against herbivores. In: Rosenthal GA, Janzen DH (eds) *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. Academic, New York/London, pp 4–53
- Rico-Gray V, Oliveira P (2007) *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. The University of Chicago, Chicago and London
- Romero GQ, Izzo TJ (2004) Leaf damage induces ant recruitment in the Amazonian ant-plant *Hirtella myrmecophila*. *J Trop Ecol* 20:675–682
- Rostás M, Eggert K (2008) Ontogenetic and spatio-temporal patterns of induced volatiles in *Glycine max* in the light of the optimal defence hypothesis. *Chemoecology* 18:29–38
- Solano PJ, Durou S, Corbara B, Quilichini A, Cerdan P, Belin-Depoux M, Delabie JHC, Dejean A (2003) Myrmecophytes of the understory of French Guianan rainforests: their distribution and their associated ants. *Sociobiology* 41:605–614
- Tollrian R, Harvell CD (1999) *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, Princeton
- Valkama E, Salminen J-H, Koricheva J, Pihlaja K (2004) Changes in leaf trichomes and epicuticular flavonoids during leaf development in three birch taxa. *Ann Bot* 94:233–242

Mechanisms driving the specificity of a myrmecophyte-ant association

Julien Grangier^{1*}, Alain Dejean², Pierre-Jean G. Malé¹, Pascal-Jean Solano², Jérôme Orivel¹

Accepted in **Biological Journal of the Linnean Society**

¹ Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, UMR-CNRS 5174, Université Paul Sabatier 31062 Toulouse cedex 9, France.

² Écologie des Forêts de Guyane (UMR-CNRS 8172), Campus agronomique, BP 709, 97379 Kourou cedex, France.

* Corresponding author: e-mail: grangier@cict.fr; fax: 33 (0) 5 61 55 73 27.

Abstract

In the understory of pristine Guianese forests, the myrmecophyte *Hirtella physophora* almost exclusively shelters colonies of the plant-ant *Allomerus decemarticulatus* in its leaf pouches. We experimentally tested three non-mutually exclusive hypotheses concerning phenomena that can determine the species specificity of this association throughout the foundation stage of the colonies: 1) interspecific competition results in the overwhelming presence of *A. decemarticulatus* queens or incipient colonies; 2) exclusion filters prevent other ant species from entering the leaf pouches; and 3) host-recognition influences the choice of founding queens, especially *A. decemarticulatus*. Neither interspecific competition nor the purported exclusion filters we examined play a major role in maintaining the specificity of this association. Unexpectedly, the plant trichomes lining the domatia appear to serve as construction material during claustral foundation rather than as a filter. Finally, *A. decemarticulatus* queens are able to identify their host plant from a distance through chemical and/or visual cues, something rarely demonstrated in studies on obligatory ant-plant associations. We discuss the possibility that this specific host-recognition ability could participate in shaping a compartmentalized plant-ant community where direct competition between ant symbionts is limited.

Key-words: *Allomerus decemarticulatus*, *Hirtella physophora*, horizontal transmission, host recognition, exclusion filters, mutualism.

Introduction

It is a challenge to identify the mechanisms that maintain interspecific mutualisms in spite of destabilizing factors such as multi-species interactions and horizontally-transmitted associations (Wilkinson & Sherratt, 2001; Stanton, 2003). These factors are susceptible to favoring the intrusion of non-mutualistic species. Myrmecophyte-ant mutualisms constitute a suitable model for exploring these broad questions. Myrmecophytes provide their associate ants, or plant-ants, with shelter in hollow structures (domatia: leaf pouches, hollow stems or thorns) and, often, extra-floral nectar and/or food bodies. In turn plant-ants protect them from herbivores, competitors and pathogens and/or provide them with nutrients. For a given myrmecophyte species, the magnitude of benefits can be great, slight or even non-existent depending on the associated ant species (Heil & McKey, 2003).

Because the transmission of these associations is horizontal (each generation of founding queens leaves its host to colonize new plants), it is supposed that over the course of evolution, myrmecophytes have acquired several types of “exclusion filters” to avoid being parasitized by non-protective ant species. Different plant traits like trichomes, slippery waxy surfaces or prostomatal morphology are all capable of influencing the selection of plant-ant associates (Davidson & McKey, 1993; Heil & McKey, 2003). Nevertheless, it is necessary to grasp the exact nature of these filters in several cases, and to assess to what extent filters stabilize these mutualisms compared to other possible mechanisms. Indeed, interspecific competition can influence which ant species will be the primary inhabitant, for instance, when a hierarchy in fighting abilities exists between founding queens or incipient colonies (Stanton, Palmer & Young, 2005). Also the poorly-known recognition abilities of the host by plant-ant queens can differ between species, affecting the identity of the associate (Inui *et al.*, 2001).

The present study focuses on the myrmecophyte *Hirtella physophora* (Chrysobalanaceae) and *Allomerus decemarticulatus* (Myrmicinae). Their highly specific association in the understory of pristine Guianese forests is surprising considering the diversity of sympatric ant species including, presumably, other species of competitive plant-ants. We tested three non-mutually exclusive hypotheses to explain such a specificity: 1) interspecific competition between incipient colonies is dominated by *A. decemarticulatus* thanks to its superior competitiveness; 2) exclusion filters prevent the presence of other ant species; and 3) the ability of founding *A. decemarticulatus* queens to rapidly locate *H. physophora* in the understory gives them an advantage over the queens of other plant-ant species.

Materials and methods

Study site and model

This study was conducted between 2001 and 2007 in zones of pristine forest situated around the field station at Petit Saut, Sinnamary, French Guiana (5° 03' 39" N; 53° 02' 36" W). Four sympatric myrmecophytes are common in the understory of this area: *Tococa guianensis*, *Maieta guianensis* (both Melastomataceae), *Cordia nodosa* (Boraginaceae) and *H. physophora*. The latter species forms shrubs whose long-lived leaves bear a pair of pouches at

the base of each lamina; extra-floral nectaries are situated on the abaxial part of the lamina as well as inside of the domatia (Leroy *et al.*, 2008). The specific associate, *A. decemarticulatus*, is an obligate plant-ant. In our study site, it has never been found in association with other myrmecophytes and nearly all of the mature colonies inspected on *H. physophora* belong to this species (Solano *et al.*, 2003). The colonies are monogynous (one queen per colony; $N > 150$ colonies), with usually only one mature colony per plant. New plants can be colonized throughout the year due to the constant production of alates (JG, pers. obs.). The workers protect their host plants from herbivores by constantly patrolling the foliage, by recruiting nestmates to sites of foliar damage, and through a very efficacious predatory behavior that includes constructing spongy galleries along the stems to trap large prey (Dejean *et al.*, 2005; Grangier *et al.*, 2008).

On the very few occasions where *H. physophora* sheltered mature *Crematogaster* colonies, the plants presented a high level of defoliation (JO, pers. obs.) suggesting that these *Crematogaster* do not defend their host as efficiently as *A. decemarticulatus*.

Testing the role of interspecific competition

To know the identity of *H. physophora* colonizers and to assess the possibility of interspecific competition during the foundation stage, we conducted both short- (40 days, from December 2004 to February 2005) and long-term (8 months, from February to October 2005) recolonization experiments on 44 and 27 *H. physophora* individuals, respectively. All of the plants (mean height \pm SD: 117 ± 67 cm) were occupied by mature *A. decemarticulatus* colonies that were subsequently removed in a non-destructive manner. After removing the galleries built by the ants along the plants' stems, we collected all of the workers patrolling the plants' surfaces with an aspirator. Then, by inserting the round-tipped needle of a syringe into the natural entrances of the leaf pouches and repeatedly injecting water, we were able to eliminate brood, workers and queens. This technique has minimal effect on the plant if compared with other known methods (injecting insecticide or a soapy solution, using Tanglefoot®, or opening the domatia).

At the end of the experiments all of the leaves of each plant were collected to verify if the leaf pouches had been recolonized. They were assigned to three categories: young leaves (which have a distinct, light green color), old leaves (darker and with a different texture) and new leaves (i.e., those that appeared after the start of the experiments). The first two categories were defined at the beginning of the experiments; the third was defined only at the end of the long-term experiment. The preference of the queens for one category was explored through *Chi*-square tests.

Testing the exclusion filter hypothesis

We examined the occurrence of trichomes and their arrangement at the entrances to and inside of the leaf pouches, based on the hypothesis that they could act as a physical barrier or "filter". Given that *A. decemarticulatus* workers cut the trichomes (especially during the construction of the galleries), we examined both occupied and unoccupied plants. All of the domatia from 32 *H. physophora* plants sheltering large colonies were inspected, as well as all

of those on new leaves produced by five ant-excluded plants transplanted and successfully raised in a greenhouse (26 leaves were produced after one year in the absence of ants).

While searching for other potential physical and behavioral filters, we wanted to know if the queens can locate and enter into the domatium entrance of other sympatric myrmecophyte species. We collected dealate, founding *A. decemarticulatus* (N=13) and *Azteca bequaerti* queens (N=14) from *H. physophora* and *T. guianensis*, respectively (note that the body of the former is smaller than that of the latter). Using one *H. physophora* and one *T. guianensis* ant-excluded, potted plants, we cross-tested the queens' reactions to each plant species by placing them on the adaxial surface of a healthy, young leaf. Their movements were recorded until they found a domatium entrance somewhere on the plant, or left the plant; each test lasted 20 minutes. If the tested queens found the entrance to a domatia, they were removed with forceps just before completely entering it. Only one individual per species was allowed to completely enter a leaf pouch to verify if they were potentially able to pass through the entrance.

Testing the 'attractive cues' hypothesis

To know if the attractive cues that draw ants to their host plants can be perceived from a distance, we performed host-choice experiments by adapting a protocol described by Jürgens et al. (2006). Because we were unable to collect a sufficient number of queens during their nuptial flights (they are not attracted to light traps), we used dealate *A. decemarticulatus* queens recently installed in the domatia (absence of brood). Each time, these founding queens were placed in front of two, ant-free, potted plants of the same size: *H. physophora* and one of three other myrmecophytic species (*C. nodosa*, *T. guianensis* and *M. guianensis*) and a very frequent sympatric, non-myrmecophytic tree species (*Poecilanthe hostmannii*, Fabaceae). We also offered the queens a choice between *M. guianensis* and *T. guianensis*. For each trial, we cut a triangle (6 cm on all sides) from a piece of cardboard that we then pinned to keep it in place horizontally so that two of the three corners touched the plant leaves being compared. The tested queens were deposited one after another onto the head of the pin. We considered that they had made a choice when they climbed onto one of the leaves, and that no choice had been made when the queens were still on the cardboard triangle 10 minutes after the start of the experiment. In total, 139 queens were used to obtain 30 replicates per pair of plants (i.e. 30 queens that made a choice); each of the queens was confronted only once with a given pair of plants. Each cardboard triangle was used only once and the position of the two tested plants was regularly inverted over the course of experiments. The results were analyzed using *Chi-square* tests, with a preference being considered significant when the distribution deviated from 15 : 15 at $P < 0.05$.

Results

Testing the role of interspecific competition

At the end of the recolonization experiments only three *H. physophora* were devoid of ants (one after the short-term experiment; two after the long-term experiment; Table 1). For the other plants, most of the 193 and 130 queens collected during the short- and long-term

experiments, respectively, were *A. decemarticulatus* (Table 1). The 11 exceptions were *Crematogaster* sp. aff. *crucis* queens, but nine of them were found on plants that also sheltered *A. decemarticulatus* queens. The mean number of *A. decemarticulatus* queens per plant (\pm SD) was 4.3 ± 3.3 and 4.6 ± 3.6 . The maximum attained was 17 queens for one plant, and there was always only one queen per leaf pouch. They occupied significantly more foliar pouches on young and new leaves than on old leaves (Fig. 1). Even on the preferred leaves many domatia remained ant-free (the pouches of young leaves were saturated on only three plants). The few *Crematogaster* sp. aff. *crucis* queens were found indifferently in pouches on old, young or new leaves (their small number did not allow us to discern any detectable preference). For three plants, we also noted workers from an additional species of *Crematogaster* and of *Wasmannia auropunctata* that used the domatia as an extension of their litter nest to store brood (no queens were noted in these cases; Table 1).

Finally, the proportion of plants sheltering at least one arthropod other than ants (interlopers) was rather high (32% and 78%, after the short- and long-term experiments, respectively); however, the proportion of leaf pouches sheltering them was very low (1.8% and 6.5%). Among the 74 interlopers found in total, 67 (90.5%) occurred in plants sheltering *A. decemarticulatus* founding queens or incipient colonies in other domatia. The main taxa were spiders (most often cocoons), solitary wasps raising offspring in the domatia, and lepidopterans (four pupae).

Testing the exclusion filter hypothesis

Role of trichomes

The inner surfaces of the walls and the entrances to the 26 well-developed leaf pouches on the ant-free *H. physophora* raised in the laboratory were lined with trichomes. Both the entrances to and the inner walls of the leaf pouches on the *H. physophora* sheltering ant colonies were completely devoid of trichomes because the *A. decemarticulatus* workers had cut them. Thus, it is likely that these trichomes do not influence the plant's recolonization, as the plants used for the exclusion-recolonization experiments were all initially occupied by mature colonies.

It took the founding queens approximately 30 minutes to enter into recently-formed leaf pouches. They use their forelegs to slowly separate the trichomes (N = 15 cases observed in the field). In addition, both *A. decemarticulatus* and *Crematogaster* sp. aff. *crucis* founding queens completely obstruct the entrances to their leaf pouches with a structure made of unidentified debris reinforced with severed trichomes, which permits them to found their colonies claustrally. The leaf pouch entrances remain plugged until the emergence of the first workers that perforate this material when they begin to forage.

Role of the location of the domatia and entrance size

The founding queens from the two tested ant species were potentially able to colonize leaf pouches on both *H. physophora* and *T. guianensis*. When placed on their usual host-plant, 11 out of 13 *A. decemarticulatus* and 12 out of 14 *Az. bequaerti* queens found a leaf pouch entrance in less than 20 minutes and began to enter. The *Az. bequaerti* queens maintained the same rate of success on the *H. physophora*, while only three (out of 13) *A. decemarticulatus* queens found an entrance to the domatium on *T. guianensis*. The individuals allowed to

completely enter their non-specific plant did so easily.

When placed on an *H. physophora* leaf, *A. decemarticulatus* queens slowly moved onto the leaf surface, persistently antennating the lamina until they reached the entrance to a leaf pouch; they then immediately began to enter into it. They were able to very rapidly enter into the leaf pouches of plants that had previously been inhabited (i.e., without trichomes).

Testing the 'attractive cues' hypothesis

In host-choice experiments, *A. decemarticulatus* queens significantly preferred *H. physophora* to *P. hostmannii* ($\chi^2 = 8.5$; $P < 0.01$), *C. nodosa* ($\chi^2 = 8.5$; $P < 0.01$), *T. guianensis* ($\chi^2 = 8.5$; $P < 0.01$) and *M. guianensis* ($\chi^2 = 6.5$; $P < 0.05$) (Fig. 2). When confronted with two new myrmecophytes, *T. guianensis* and *M. guianensis*, they did not show any significant preference ($\chi^2 = 1.2$; $P > 0.05$) (Fig. 2). Because the queens nearly never touched the other plant before making their choice, these results strongly suggest that they can recognize *H. physophora* from a distance.

Discussion

Competition is largely intraspecific

Despite the high number of domatia available for colonization in both experiments, queens from species other than *A. decemarticulatus* (e.g., *Crematogaster* sp. aff. *crucis* foundresses) were extremely rare, greatly limiting potential conflicts among ant species. Consequently, the high specificity between *H. physophora* and the plant-ant *A. decemarticulatus* is not likely due to interspecific competition during the foundation stage (i.e., the elimination of other species by *A. decemarticulatus* queens or incipient colonies after co-occupation of the same plant individual). The fact that numerous domatia remained unoccupied raises the question of the varying degrees to which plant-ant queens are attracted to one myrmecophytic species rather than another (see Djiéto Lordon & Dejean, 1999; Inui et al., 2001). The colonization of available *H. physophora* individuals by *A. decemarticulatus* founding queens occurred during the first weeks following ant exclusion (the number of founding queens per plant was no greater after 8 months than after 40 days).

However, intraspecific competition exists when several founding queens shelter in different domatia on a single individual of the host plant, and later incipient colonies (86 incipient *A. decemarticulatus* colonies recorded on 21 *H. physophora* individuals during the long-term exclusion experiment). Given that mature colonies are monogynous, this means that 76% of the queens that successfully found an incipient colony will later die, most likely during intraspecific conflicts. This rate is similar to that noted during the colonization of *C. nodosa* saplings by *A. octoarticulatus* (Frederickson, 2006). The fact that foundresses selected domatia from young leaves reinforces the idea of intraspecific competition because there are many fewer young leaves than old ones. This preference might be related to the presence of extrafloral nectaries in the domatia (nectaries are generally active on young tissues; Koptur, 1992).

No evidence for exclusion filters

The size and location of the entrances to the domatia are not efficacious exclusion filters since the tested *Azteca* queens were able to easily find and enter into the domatia. Also, the specificity of the association has been maintained in the absence of trichomes at the entrance and inside of domatia that were previously occupied by ants in our exclusion-recolonization experiments. Hence, these trichomes are not, or only slightly, responsible for the selection of the queens of one ant species. Other potential parasites of myrmecophytes are non-ant interlopers, which have been reported in several systems (Rickson et al., 2003; Stanton et al., 2005). But in the present association, it is unlikely that the very weak pressure exerted by such organisms on *A. decemarticulatus* queens contributes to the selection of exclusion filters such as the trichomes of the domatia. Therefore, there is no evidence in the present study that the trichomes play any role in ant or interloper exclusion.

More evident is the importance these trichomes can have in the survival of founding queens freshly installed in *H. physophora* domatia. The trichomes lining the inner walls of the domatia constitute the readily available basic material that the ants need to rapidly obstruct the entrances; this habit limits the risk of predation and probably enhances the survival rate of the founding queens. And because each plant individual shelters several founding queens and, later, their incipient colonies, this also keeps other *A. decemarticulatus* founding queens from entering into already occupied domatia. Note that *A. decemarticulatus* founding queens are able to sever and manipulate the trichomes to fabricate a composite material very similar to that of the galleries built by the workers along the *H. physophora* stems (Dejean et al. 2005).

Does host recognition favor a compartmentalized ant community?

Since neither interspecific competition nor selective filters can explain the specificity of the *A. decemarticulatus*-*H. physophora* association, one can suppose that the key mechanism responsible comes into play even before the founding queens arrive on the plant surface. This hypothesis is supported by the results of our choice experiments showing the ability of *A. decemarticulatus* foundresses to recognize their host from a distance, something often proposed but rarely demonstrated in studies on obligatory ant-plant associations. Such a capacity relies on attractive cues that potentially include short- and long-distance chemical and/or visual cues, and probably makes *A. decemarticulatus* a very rapid colonizer in comparison with non-mutualistic ant or non-ant species incapable of recognizing *H. physophora* as a suitable host. Moreover, other sympatric plant-ants could benefit from similar mechanisms, which would explain their absence during the recolonization of *H. physophora*. For instance, founding *A. octoarticulatus* queens use volatiles to identify their host *C. nodosa* (Edwards et al., 2006). Therefore, it seems that efficient host-recognition is a predominant mechanism in this plant-ant community and contributes to its compartmentalization (i.e. the formation of cohesive groups of interacting species with relatively few interactions between groups), something consistent with the results found by Fonseca & Ganade (1996).

Besides partner specificity, habitat specificity can also contribute to the specificity of an association before the queens arrive on the plants (Yu & Davidson, 1997). Such a mechanism could play a role in the present situation because the four main myrmecophytes present in our

study sites, although sympatric, are distributed differently on the slopes of the hills (Solano *et al.*, 2003). For example, *H. physophora* is overrepresented on the tops of the hills, where some ant species may not search for hosts. However, habitat specificity cannot be the only factor responsible for the very distinct results of our recolonization experiments because it is not all that rare to find individuals from the different myrmecophytic species in close proximity with *H. physophora*. In conclusion, of the three hypotheses examined, the existence of a specific host-recognition mechanism between *A. decemarticulatus* and *H. physophora* is the best explanation for the maintenance of a high specificity of association. Such a mechanism could be widespread in the studied community of myrmecophytes and plant-ants, and contribute to its compartmentalization.

Acknowledgements

We would like to thank the staff of the “*Laboratoire Environnement de Petit Saut*” for logistical support, Dr Jacques H.C. Delabie for identifying the ants, Andrea Dejean for proofreading the manuscript, and three anonymous referees for their helpful comments and suggestions. We are grateful to Sarah Groc, Jean-Michel Martin and Michaël Negrini for field assistance. This work was supported by the *Programme Amazonie II* of the French *Centre National de la Recherche Scientifique* (project *2ID*) and the *Programme Convergence 2007-2013, Région Guyane* from the European Community (project *DEGA*) to AD, and by a research program of the French *Agence Nationale de la Recherche* (research agreement n°ANR-06-JCJC-0109-01) and a project of the ESF-Eurocores Programme TECT (The Evolution of Cooperation and Trading) to JO.

References

- Davidson DW, and McKey D. 1993. The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. *Journal of Hymenoptera Research* **2**: 13-83.
- Dejean A, Solano PJ, Ayroles J, Corbara B, and Orivel J. 2005. Arboreal ants build traps to capture prey. *Nature* **434**: 973.
- Djiéto Lordon C, and Dejean A. 1999. Innate attraction supplants experience during host plant selection in an obligate plant-ant. *Behavioural Processes* **46**: 181-187.
- Edwards DP, Yu DW, Hassall M, and Sutherland WJ. 2006. Assembling a mutualism: ant symbionts locate their host plants by detecting volatile chemicals. *Insectes Sociaux* **53**: 172-176.
- Fonseca CRF, and Ganade G. 1996. Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. *Journal of Animal Ecology* **65**: 339-347.
- Frederickson ME. 2006. The reproductive phenology of an Amazonian ant species reflects the seasonal availability of its nest sites. *Oecologia* **149**: 418-427.
- Grangier J, Dejean A, Malé P-J, and Orivel J. 2008. Indirect defense in a highly specific ant-plant mutualism. *Naturwissenschaften* DOI: 10.1007/s00114-008-0398-4.

- Heil M, and McKey D. 2003.** Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **34**: 425-453.
- Inui Y, Itioka T, Murase K, Yamaoka R, and Itino T. 2001.** Chemical recognition of partner plant species by foundress ant queens in *Macaranga-Crematogaster* myrmecophytism. *Journal of Chemical Ecology* **27**: 2029-2040.
- Jürgens A, Feldhaar H, Feldmeyer B, and Fiala B. 2006.** Chemical composition of leaf volatiles in *Macaranga* species (Euphorbiaceae) and their potential role as olfactory cues in host-localization of foundress queens of specific ant partners. *Biochemical Systematics and Ecology* **34**: 97-113.
- Koptur S. 1992.** Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. In: Bernays E, ed. *Insect-plant interactions*. CRC Press, 81-129.
- Leroy C, Jauneau A, Quilichini A, Dejean A, and Orivel J. 2008.** Comparison between the anatomical and morphological structure of leaf blades and foliar domatia in the ant-plant *Hirtella physophora* (Chrysobalanaceae). *Annals of Botany* **101**: 501-507.
- Rickson FR, Rickson MM, Ghorpade K, Norden BB, and Krombein KV. 2003.** Invertebrate biodiversity (ants, bees, and others) associated with stem domatia of the Indian myrmecophyte *Humboldtia bruonis* Wallich (Magnoliophyta: Fabaceae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* **105**: 73-79.
- Solano PJ, Durou S, Corbara B, Quilichini A, Cerdan P, Belin-Depoux M, Delabie JHC, and Dejean A. 2003.** Myrmecophytes of the understory of French Guianian rainforests: their distribution and their associated ants. *Sociobiology* **41**: 605-614.
- Stanton ML. 2003.** Interacting guilds: moving beyond the pairwise perspective on mutualisms. *American Naturalist* **162**: S10-S23.
- Stanton ML, Palmer TM, and Young TP. 2005.** Ecological barriers to early colony establishment in three coexisting acacia-ant species in Kenya. *Insectes Sociaux* **52**: 393-401.
- Wilkinson DM, and Sherratt TN. 2001.** Horizontally acquired mutualisms, an unsolved problem in ecology? *Oikos* **92**: 377-384.
- Yu DW, and Davidson DW. 1997.** Experimental studies of species-specificity in *Cecropia*-ant relationships. *Ecological Monographs* **67**: 273-294.

Figure Legends

Figure 1. Location of the founding *Allomerus decemarticulatus* queens in the *Hirtella physophora* domatia according to the age of the leaves (the three developmental stages are old, young and new leaves; in parenthesis is the total number of domatia). Different letters indicate significant differences (*Chi*-square test; probabilities adjusted by applying a Bonferroni correction in the case of the long-term experiment). Short-term exclusion experiment; Old vs. Young: $\chi^2 = 178.6$; $p < 0.0001$. Long-term exclusion experiment; Old vs. Young: $\chi^2 = 65.85$; $p < 0.0001$; Old vs. New: $\chi^2 = 32.83$; $p < 0.0001$; Young vs. New: $\chi^2 = 0.79$; $p = 0.37$.

Figure 2. Results of the choice experiments testing dealate *Allomerus decemarticulatus* queens with five different pairs of plant species. All plant species are sympatric in the study sites, and all are myrmecophytic except for *Poecilanthe hostmannii*. Histograms represent the percentages of queens that made a choice. The total number of choices was 30 each time, and χ^2 tests were used to compare the observed with the theoretical (15 : 15) distributions. The percentages of queens that did not make any choice and the total number of queens used for each pair of plants are also indicated.

Table 1. Identity (species) and distribution of the ants occupying the domatia after the short- and long-term recolonization experiments. Occupants from several categories were frequently found on the same *Hirtella physophora* individual, explaining why the sum of the plants sheltering each kind of occupant can be higher than the total number of plants (N). Also, incipient colonies, including the first workers, sometimes occupied more than one domatium.

Occupant	Short-term recolonization experiment			Long-term recolonization experiment		
	Number of queens (N=193)	Number of plants occupied (N=44)	Number of domatia occupied (N=1323)	Number of queens (N=130)	Number of plants occupied (N=27)	Number of domatia occupied (N=766)
<i>Allomerus decemarticulatus</i>						
Dead queens	21	15	21	20	10	20
Queens (alone)	151	38	151	17	10	17
Incipient colonies	17	17	27	86	21	140
All (% of N)	189 (97.9%)	41 (93.2%)	199 (15%)	123 (94.6%)	24 (89.9%)	177 (23.1%)
<i>Crematogaster</i> sp. aff. <i>crucis</i>						
Dead queens	0	0	0	1	1	1
Queens (alone)	4	4	4	3	3	3
Incipient colonies	0	0	0	3	3	4
All (% of N)	4 (2.1%)	4 (9.1%)	4 (0.3%)	7 (5.4%)	7 (25.9%)	8 (1%)
<i>Wasmannia auropunctata</i>						
Workers storing brood	0	0	0	0	1	14
% of N	-	-	-	-	3.7%	1.8%
<i>Crematogaster</i> sp.						
Workers storing brood	0	1	2	0	1	2
% of N	-	2.3%	0.2%	-	3.7%	0.3%
Plants devoid of ants (% of N)		1 (1.3%)		2 (7.4%)		

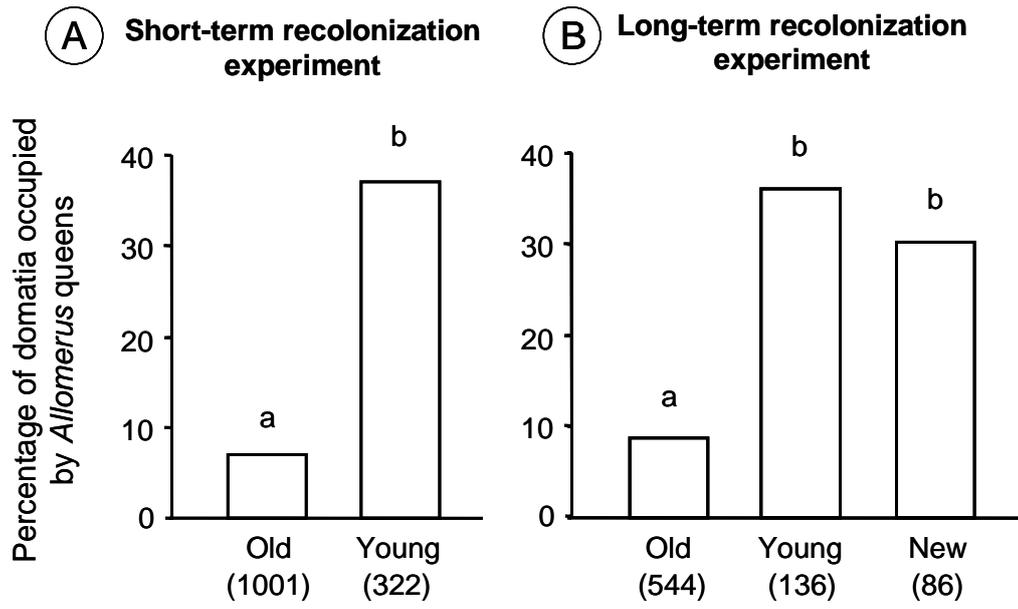


Figure 1

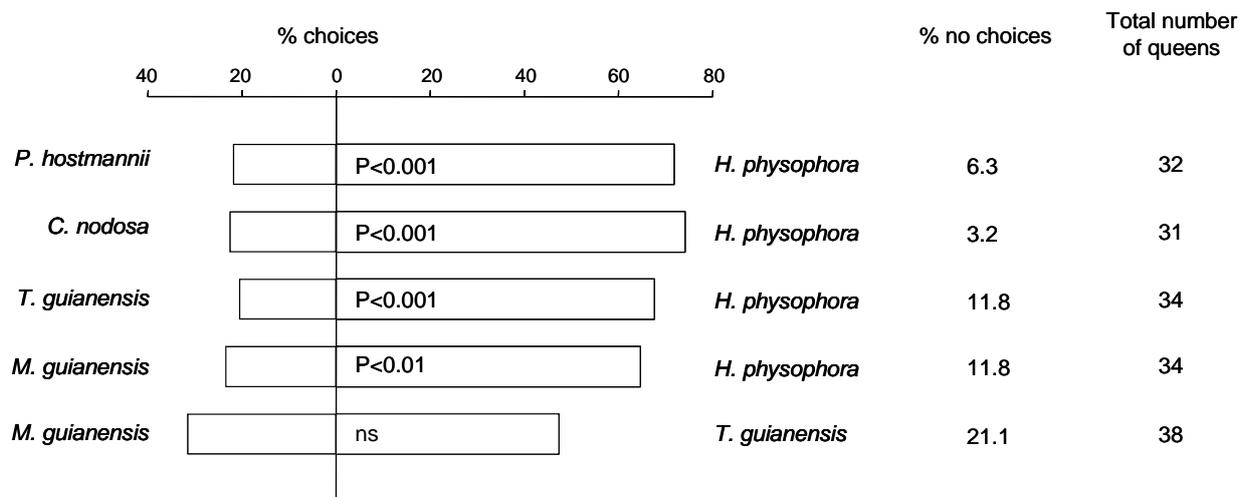


Figure 2

Title : Evolutionary stability of a specific and obligatory ant-plant mutualism

Abstract

In theory, shifts to unidirectional exploitation are often possible in mutualisms as former mutualists evolve towards parasitism or because external organisms interfere with established associations. Paradoxically, mutualisms are everywhere. How can they persist in the face of these destabilizing pressures? We explored this question in the Guianian myrmecophyte *Hirtella physophora* and its almost exclusive inhabitant, the ant *Allomerus decemarticulatus*.

First, we examined all the effects that the partners have on each other. For the plant, the ants represent an optimal, indirect defence against herbivores, mainly as a by-product of their foraging activity. For the ants, the plant offers shelter and some nectar, and also conditions favouring their use of an exclusive territory. Thus the global functioning of this mutualism corresponds to the concept of pseudoreciprocity, a situation limiting the possibilities of conflict between partners. Moreover, contrary to other congeneric species, *A. decemarticulatus* does not systematically castrate its host in response to the nesting space limitation.

Besides, we studied the encounter of the partners to determine what prevents the presence of intruders. We experimentally tested the role interspecific competition, selective filters and host recognition by the queens could have. The last mechanism, rarely demonstrated, proved to be prominent and could contribute to the structuring of a compartmentalized community that favours the perpetuation of very specific associations.

Key words : *Allomerus decemarticulatus*, ants, French Guiana, *Hirtella physophora*, indirect defense, horizontal transmission, host recognition, mutualism, myrmecophyte, selective filters.

Auteur : Julien Grangier

Titre : Stabilité évolutive d'un mutualisme plante/fourmis obligatoire et spécifique

Directeurs de thèse : Pr. Alain Dejean et Dr. Jérôme Orivel

Lieu et date de soutenance : Toulouse, le 27 juin 2008

Résumé

En théorie, les dérives vers l'exploitation unidirectionnelle sont fréquemment possibles dans les mutualismes, du fait d'anciens mutualistes évoluant vers le parasitisme ou d'organismes extérieurs s'immiscant dans les associations. Paradoxalement, les mutualismes sont partout. Comment perdurent-ils face à ces pressions déstabilisatrices ? Nous avons exploré cette question chez le myrmécophyte guyanais *Hirtella physophora* et son associé quasiment exclusif, la fourmi *Allomerus decemarticulatus*.

Premièrement, les divers effets exercés l'un sur l'autre par les deux partenaires ont été examinés. Pour la plante, les fourmis constituent une défense indirecte optimale contre les phytophages, essentiellement comme sous-produit de leur activité de fourragement. Pour les fourmis, la plante offre des poches foliaires et du nectar, ainsi que des conditions facilitant l'exploitation d'un territoire exclusif. Le fonctionnement global de ce mutualisme correspond donc à la pseudoréciprocité, situation limitant la possibilité de conflits entre partenaires. De plus, contrairement à d'autres espèces congénériques, *A. decemarticulatus* ne castre pas systématiquement son hôte en réponse à l'espace de nidification limitant.

Par ailleurs, nous avons étudié la phase de rencontre des partenaires pour savoir ce qui empêchait l'intrusion d'exploiteurs externes. Les rôles potentiels de la compétition interspécifique, des filtres sélectifs et de la reconnaissance de la plante-hôte par les reines ont été testés. Le dernier mécanisme, jusqu'ici rarement démontré, est prépondérant et pourrait contribuer à la structuration d'une communauté compartimentée favorisant le maintien d'associations spécifiques.

Mots-clés : *Allomerus decemarticulatus*, défense indirecte, filtres sélectifs, fourmis, Guyane française, *Hirtella physophora*, mutualisme, myrmécophyte, reconnaissance de l'hôte, transmission horizontale.

Discipline: Ecologie

Laboratoire : Laboratoire Evolution et Diversité Biologique - UMR 5174 CNRS/UPS