

Montpellier SupAgro

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO

**Discipline :** Biologie des Organismes et des Populations

**Ecole Doctorale :** Systèmes intégrés en Biologie, Agronomie, Géosciences, Hydrosociences et Environnement

**Formation Doctorale :** Evolution, Ecologie, Ressources Génétiques, Paléontologie

**BIOLOGIE EVOLUTIVE D'UNE FOURMI ENVAHISSANTE**

**A LA SEXUALITE INSOLITE,**

*Wasmannia auropunctata*

présentée et soutenue publiquement par

**Julien Foucaud**

Le 14 décembre 2007

*Jury*

**Sarah SAMADI**

**Jacques DAVID**

**Arnaud ESTOUP**

**Alain LENOIR**

**Michel RAYMOND**

**Jean-Christophe SIMON**

Chargée de Recherches, IRD

Directeur de Recherches, INRA

Directeur de Recherches, INRA

Professeur Emérite, Université de Tours

Directeur de Recherches, CNRS

Directeur de Recherches, INRA

Rapporteur

Examineur

Directeur

Examineur

Examineur

Rapporteur



« Aujourd'hui, il s'agit de faire mieux qu'une oeuvre de policier... *mieux que ce qu'enseigne l'expérience ! ... il s'agit d'être logique*, mais logique, entendez-moi bien, comme le bon Dieu a été logique quand il a dit :  $2 + 2 = 4$ ...! Il s'agit de prendre la raison par le bon bout ! »

Rouletabille

Gaston Leroux, *Le Mystère de la Chambre Jaune*



# Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Sarah Samadi, Jacques David, Alain Lenoir, Michel Raymond et Jean-Christophe Simon d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse et d'être rapporteurs.

Je tiens à remercier très vivement Arnaud Estoup d'avoir accepté de me prendre en DEA, puis en thèse, sur un sujet aussi exaltant. En plus d'avoir consacré un temps inimaginable à écouter mes digressions, il aura tenté de m'inculquer, je l'espère avec succès, la rigueur scientifique exceptionnelle qui est la sienne. Nos échanges scientifiques auront toujours été littéralement passionnants. D'autre part, il n'aura jamais manqué une occasion de m'enseigner l'humilité, notamment sur les shoots à 3 points. Merci également à Finn Kjellberg d'avoir été un co-encadrant toujours disponible et enthousiaste.

Je tiens à remercier très chaleureusement Anne Loiseau, dont la gentillesse est apparemment sans limites. Elle m'a appris toutes les techniques de biologie moléculaire que je connaisse, et aura démontré par là même l'étendue de sa patience. De plus, elle aura toujours été un compagnon de terrain solidaire, célèbre à la fois pour ses dressages de mygales et pour sa compétence spéciale « je retrouve les clefs de bagnole dans la forêt primaire ».

Le panorama ne serait pas complet sans remercier Jérôme Orivel, sans qui très peu de choses auraient concrètement pu se faire dans cette thèse. J'aurais bien aimé emmener tous les lecteurs de cette thèse dans les marigots guyanais pour leur faire comprendre une infime partie de l'importance de Jérôme dans notre travail, mais, à la tête d'Arnaud, je ne suis pas sûr que ce soit envisageable...

Bien évidemment, de nombreuses autres personnes ont permis ce travail : Jean Chazeau, Hervé Jourdan, Djoël Konghouleux, Julien Le Breton, Julien Grangier, Jacques Delabie, José Raimundo Maia dos Santos, José Crispim Soares do Carmo, Riviane Hora, Gaël Kergoat, Laurent Crespim et bien d'autres qui me pardonneront de ne pas les citer. Leurs qualités personnelles ont été des appuis considérables à ce travail et je leur en suis très reconnaissant.

Je tiens également à remercier les membres de mon comité de thèse, Tatiana Giraud, Jacqui Shykoff, Patrice David et Doyle McKey, pour leur compétence et leur enthousiasme à participer à ce travail.

Pour bien comprendre le plaisir que j'ai eu à travailler durant ces quatre années, je recommande au lecteur de venir faire un tour au CBGP, et plus

encore à en découvrir les habitants. En effet, le CBGP n'est pas une UMR, mais bel et bien une conception du travail, efficace, chaleureuse et décontractée. Il serait illusoire de tenter d'établir une liste des chercheurs, techniciens ou étudiants du CBGP avec qui de très bons moments se sont accumulés au fil des années. J'aimerais néanmoins citer mes « partenaires » de bureau : Bertrand Gauffre, avec qui, contrairement à ce qu'on peut lire dans les remerciements d'une certaine thèse soutenue le 26 octobre 2007, je ne parle pas que de football (il y a quand même beaucoup plus de sports que ça dans la vie !), qui m'aura beaucoup aidé à comprendre le système *Wasmannia* et encouragé quand qu'il le fallait, et qui aura notamment été le fondateur de la Coupe du Monde de Ping-Pong du CBGP, à la renommée internationale ; Julie Deter, qui m'aura démontré tout ce que j'aurais pu faire en quatre ans avec un peu de volonté (et aussi quatre bras, douze jambes, et trois cerveaux dont un pour l'agenda), et qui aura été d'une patience et d'une gentillesse impressionnante ; enfin, Karine Berthier, qui aura inspiré nos thèses respectives par son dynamisme et sa générosité (y compris dans les sautes d'humeur !), valeurs qu'elle a désormais le courage de tenter d'instaurer en Suisse.

Le rôle de l'ombre dans cette thèse a été tenu collectivement par tous mes potes : Matthieu, Yohann, Ludovic, Jérôme, Paul, Franck, Guillaume, Jonas, Jean-Marc, Vincent, Max, Bertrand, Anne-Vio, Charlotte et tous les autres. Je souhaite à tout le monde d'avoir des amis tels que les miens, et j'en profite pour leur témoigner toute mon amitié, mon admiration et mon respect. Respect notamment pour ces nombreuses occasions (réussies) de faire signer des pétitions à la moitié des habitants de mon quartier (ma connaissance du système judiciaire français n'en est que meilleure).

J'en profite également pour embrasser publiquement et néanmoins fougueusement Aude. S'il est quelqu'un qui m'aura supporté plus que quiconque, c'est elle. Ceux qui me connaissent bien apprécieront la performance.

Enfin, je souhaite remercier très vivement ma famille (et embrasser ma grand-mère). Plus spécialement, je tiens à remercier mes parents de m'avoir toujours poussé à aller de l'avant dans mes passions. Si j'ai acquis le goût de la recherche, c'est avant tout parce qu'ils m'ont transmis leur immense curiosité. Je tiens à leur témoigner toute ma reconnaissance, et bien au-delà, mon amour. Merci Maman, merci Papa !

# Table des Matières

## INTRODUCTION

### LES INVASIONS BIOLOGIQUES ..... 9

1. Invasion biologique : définition .....	11
2. Processus écologiques et évolutifs des invasions biologiques .....	15
2.1 Les trois étapes des invasions biologiques .....	15
2.2 Tentatives de définition d'un cadre conceptuel éco-évolutif générique .....	18
2.3 Paradoxes évolutifs .....	19
3. Les fourmis envahissantes .....	21
4. Le modèle biologique de cette thèse, <i>Wasmannia auropunctata</i> .....	25
5. Objectifs et organisation de la thèse .....	29

## CHAPITRE I : WASMANNIA AUROPUNCTATA DANS SON AIRE

### NATIVE ..... 31

1. Problématique .....	33
2. Caractéristiques des populations des zones non-envahies .....	33
2.1 Système de reproduction .....	37
2.2 Structure sociale et génétique .....	41
2.3 Infection par <i>Wolbachia</i> .....	45
3. Caractéristiques des populations des zones envahies .....	45
3.1 Système de reproduction .....	45
3.2 Structure sociale et génétique .....	47
3.3 Infection par <i>Wolbachia</i> .....	51
4. Evolution du système de reproduction chez <i>W. auropunctata</i> .....	53
4.1 Relations génétiques entre populations clonales et sexuées .....	53
4.2 Origine et mécanisme de la parthénogenèse thélytoque .....	57
4.3 Origine et mécanisme de la clonalité mâle .....	61
4.4 Détermination génétique de la caste .....	65
5. Facteurs de l'invasion de <i>W. auropunctata</i> dans son aire native .....	67
5.1 Structure sociale .....	67
5.2 Système de reproduction .....	69
5.3 Facteurs environnementaux .....	75
5.4 Conclusion .....	75
6. Etude d'une zone de transition entre habitats envahis et non-envahis .....	77
7. Synthèse .....	81

## CHAPITRE II : WASMANNIA AUROPUNCTATA DANS SON AIRE

### D'INTRODUCTION ..... 83

1. Patron général des invasions en zone d'introduction .....	87
2. Etude détaillée de deux zones d'introduction .....	92
2.1 Invasion en zone insulaire : la Nouvelle-Calédonie .....	93
2.2 Invasion en zone continentale : Gabon et Cameroun .....	103
3. Synthèse .....	111

**CHAPITRE III : ETUDE DE TRAITS D'HISTOIRE DE VIE EN  
CONDITIONS CONTROLEES ..... 113**

1. Polymorphisme du système de reproduction .....	115
1.1 Production des gynés .....	115
1.2 Production des mâles .....	119
1.3 Production des ouvrières.....	119
1.4 Déterminisme génétique de la caste.....	121
2. Tolérance abiotique des ouvrières de populations clonales envahissantes et de populations sexuées non-envahissantes .....	123
3. Synthèse .....	127

**CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES..... 131**

1. Déroulement de l'invasion : trois étapes principales .....	133
2. De la conjugaison des approches « clef-serrure » et « par étape » dans l'étude des invasions biologiques. ....	139
3. Principales questions théoriques soulevées par notre modèle biologique.....	141
3.1 Où se déroulent les invasions biologiques ? .....	141
3.2 Invasions biologiques contemporaines : une conséquence évolutive de l'impact humain ?	142
3.3 Recombiner ou ne pas recombiner ?.....	145
4. Quelques perspectives appliquées : comment lutter contre les invasions de <i>W.</i> <i>auropunctata</i> ?.....	147

**BIBLIOGRAPHIE ..... 152**

**ANNEXE 1 : METHODES..... 164**

1. Echantillonnage .....	164
2. Tests comportementaux.....	164
3. Méthodes de Biologie Moléculaire .....	165
3.1 Extraction d'ADN et génotypage de locus microsatellites .....	165
3.2 Tests individuels d'infection par <i>Wolbachia</i> .....	167
3.3 Séquençage .....	168
4. Etudes sur nids maintenus en laboratoire.....	169
4.1 Ponte de reines clonales et sexuées.....	169
4.2 Tolérance des ouvrières aux conditions température x humidité.....	171
5. Méthodes informatiques et statistiques .....	173
5.1 Statistiques de génétique des populations.....	173
5.2 Reconstructions phylogénétiques .....	174
5.3 Construction de dendrogrammes à partir de génotypes microsatellites individuels .....	175
5.4 Simulations d'accouplement aléatoire .....	175
5.5 Analyses de contingence et factorielle.....	177
5.6 Modèles linéaires généralisés mixtes.....	178

**ANNEXE 2 : ARTICLES ..... 179**





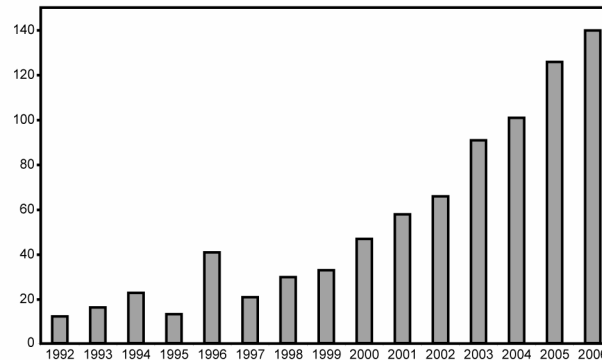
**INTRODUCTION**

**LES INVASIONS BIOLOGIQUES**

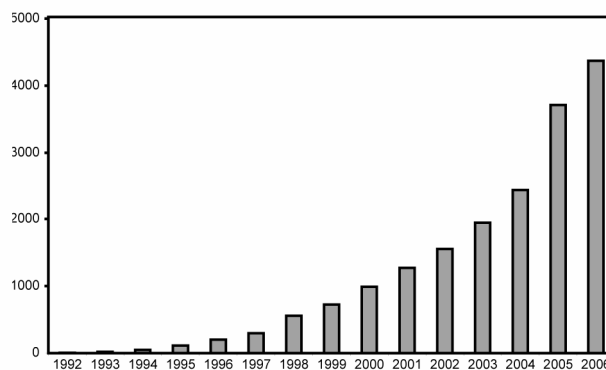
**Figure 1 :** Evolution du nombre de publications et du nombre de citations traitant des invasions biologiques dans les revues scientifiques référencées d'écologie et d'évolution depuis 1992.

Note : Source ISI Web of Science; formule utilisée pour le nombre de publications et de citation: TS = (invasi\* OR bioinvasi\*) AND SO = (ecolog\* OR evoluti\*) ; formule utilisée pour le dénominateur du ratio (C) : SO = (ecolog\* OR evoluti\*).

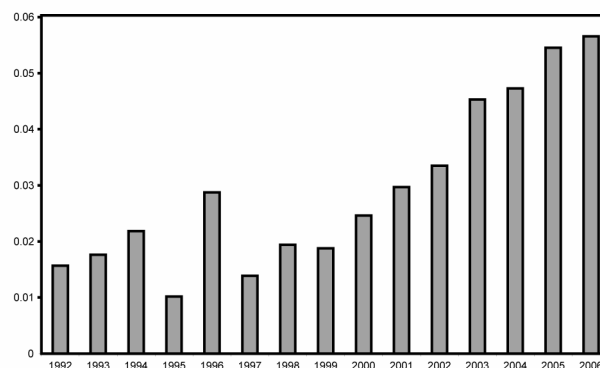
(A) Nombre de publications



(B) Nombre de citations



(C) Ratio du nombre de publications traitant d'invasions biologiques sur le nombre total de publications traitant d'écologie et/ou d'évolution



L'intérêt de la société humaine pour son environnement se développe très fortement depuis quelques décennies. Les causes de cet intérêt sont notamment l'apparition des premiers signes visibles du changement global opéré par l'activité humaine depuis environ deux siècles (Vitousek et al. 1997a). Les invasions biologiques constituent l'un des composants majeurs de ce changement global (Vitousek et al. 1997b), et leur étude s'est logiquement développée exponentiellement depuis une quinzaine d'année (Figure 1). Le présent travail s'inscrit dans cet effort de compréhension des causes et conséquences proximales et ultimes des invasions biologiques.

## **1. Invasion biologique : définition**

Malgré le grand nombre d'études traitant des invasions biologiques, les termes « invasion biologique » et « espèce envahissante » ne font eux-mêmes pas l'objet d'un consensus parmi les scientifiques. Le terme « invasion » a été utilisé pour la première fois dans son sens biologique strict par Goeze dès 1882 (Rejmanek et al. 2002). Depuis l'essor de l'étude scientifique des invasions biologiques (et la parution de l'ouvrage « *The Ecology of Invasions by Animals and Plants* », de C. S. Elton, en 1958), de très nombreuses définitions d'« espèce envahissante » ont été élaborées (Tableau 1). Si l'on note un consensus sur le fait qu'une espèce envahissante est une espèce dont l'aire de répartition s'étend dans l'espace, l'importance relative de paramètres démographiques, géographiques et surtout fonctionnels reste en revanche ardemment débattus (Davis & Thompson 2000; Daehler 2001; Davis & Thompson 2001; 2002; Rejmanek et al. 2002).

Dans cette thèse, nous considérons que le caractère envahissant est avant tout populationnel et non spécifique (i.e. une espèce peut avoir des populations envahissantes et non-envahissantes). Nous définissons une population comme étant envahissante lorsqu'elle satisfait trois conditions : (i) cette population s'étend dans un écosystème précédemment inoccupé par l'espèce, (ii) cette population devient abondante dans l'écosystème receveur, et (iii) cette population a un impact fonctionnel important sur l'écosystème receveur. En bref, une invasion biologique correspond à l'expansion spatiale, la croissance démographique et la dominance fonctionnelle d'une population au sein d'un ou plusieurs nouveaux écosystèmes. Nous n'incluons pas de cadre temporel dans notre définition, qui englobe donc également des phénomènes comme des recolonisations post-glaciaires supposément plus lentes que des invasions selon plusieurs définitions précédentes.

**Tableau 1 : Définitions d' « espèce envahissante » : dix exemples issus de la littérature scientifique et définition choisie dans cette thèse.**

Elton 1958	espèce explosant démographiquement dans un pays différent de son pays d'origine, principalement transportée par l'homme, avec de graves impacts écologiques.
Di Castri 1990	espèce qui, habituellement transportée intentionnellement ou non par l'homme, colonise et s'étend dans de nouveaux territoires éloignés de son territoire d'origine.
Williamson 1996	espèce qui augmente son aire de répartition.
Mooney & Hobbs 2000	espèce qui réussit à s'installer dans un nouvel environnement et y devient agressive, entraînant des pertes de biodiversité ou en modifiant le fonctionnement des écosystèmes.
Richardson et al. 2000	espèce (i) présente dans un nouvel environnement grâce à l'action humaine, (ii) qui s'y reproduit et y maintient une population viable sans intervention humaine, (iii) qui s'y étend spatialement, souvent grâce à une augmentation démographique, et (iv) qui n'a pas nécessairement d'impact important sur le fonctionnement des écosystèmes.
Davis & Thompson 2000	espèce, native ou introduite, qui colonise un nouvel environnement et y a un large impact.
Kolar & Lodge 2001	espèce non-indigène qui s'étend à partir de son point d'introduction et devient abondante.
Colautti & MacIsaac 2004	espèce transportée dans une nouvelle région par un vecteur et qui s'y établit, s'y étend et y devient démographiquement dominante.
Vermeij 2005	espèce qui se disperse hors d'un environnement donneur et s'établit dans un nouvel environnement, où ses performances accrues se traduisent souvent par une abondance plus grande et un rôle écologique plus important que dans son environnement d'origine.
Falk-Petersen et al. 2006	espèce présente en-dehors de son aire de distribution passée et hors de portée de ses capacités de dispersion, transportée par l'homme dans une nouvelle aire, où elle s'établit et s'étend dans l'espace.
<i>Définition utilisée dans cette thèse</i>	<i>population qui (i) s'étend dans un écosystème précédemment inoccupé par l'espèce, (ii) devient abondante dans l'écosystème receveur, et (iii) a un impact fonctionnel important sur l'écosystème receveur.</i>

Il est essentiel de remarquer que cette définition correspond à un événement biologique qui ne nécessite pas d'intervention humaine. En effet, les invasions biologiques sont un phénomène aussi vieux que la vie elle-même (Vermeij 2005). Il est toutefois important de noter que le terme « invasion » est loin d'être sans connotations (négatives) dans le langage courant. Le phénomène biologique strict pourrait être aussi bien décrit par un autre terme, « colonisation », très connoté également, mais plutôt positivement (Davis & Thompson 2000). Dans le langage courant, la seule différence entre un colonisateur et un envahisseur semble se situer dans la « légitimité » de l'étranger à émerger et dominer dans son nouvel espace (Figure 2). La « loi » dont il est question n'est évidemment pas objective et biologique, mais subjective et humaine. La terminologie et l'étude même des invasions biologiques sont toujours fortement influencées par cette vision anthropocentrique de la différence entre des organismes colonisateurs et envahissants (Elton 1958). Il est important de reconnaître que la construction de cette représentation anthropocentrique des bioinvasions a elle-même une origine biologique (i.e. le besoin d'accomplir les activités qui nous sont vitales). D'autre part, cette vision anthropocentrique a d'importantes conséquences biologiques, comme la facilitation de certains organismes (bovins, céréales, ...) et la lutte contre d'autres (les espèces considérées comme nuisibles). Nous pouvons considérer que la terminologie et la conceptualisation des autres espèces par l'espèce humaine sont le reflet objectif de sa biologie (i.e. les espèces qui lui sont bénéfiques sont appelées « domestiques », alors que les espèces qui lui sont préjudiciables sont appelées « envahissantes »).

Notre définition d'une invasion biologique (cf. Tableau 1) a le mérite d'être suffisamment large pour ne faire objectivement référence qu'à un phénomène biologique, tout en incluant cette vision anthropocentrique (selon le sens donné à « l'importance » de l'impact fonctionnel). Il me semble essentiel de conserver au moins en partie cette vision anthropocentrique car la science est avant tout humaine et doit pouvoir dialoguer avec la société (Davis & Thompson 2001; 2002). L'autre mérite de notre définition est qu'elle ne se focalise pas sur l'existence d'un événement de dispersion lointain et ne fait pas allusion à une aire d'introduction obligatoirement « éloignée » de l'aire native, contrairement à de nombreuses définitions actuelles (Tableau 1). Comme nous allons le voir au cours de cette thèse, l'étude de l'invasion de *W. auropunctata* illustre particulièrement l'importance des processus éco-évolutifs touchant les populations de l'aire native de l'espèce dans l'émergence d'invasions biologiques.

**Figure 2 :** Illustration des termes « invasion » et « colonisation », dans le langage courant.

**(A) « Invasion »**



Les Huns contre les Alains (Geiger 1873)  
[peuple utilisé comme mercenaires par l'Empire Romain  
contre Attila en 451]

**(B) « Colonisation »**



Prise de Thiassalé, Côte-d'Ivoire, 1893, par  
le commandant Jean-Baptiste Marchand  
lors de la Mission Congo-Nil.

## 2. Processus écologiques et évolutifs des invasions biologiques

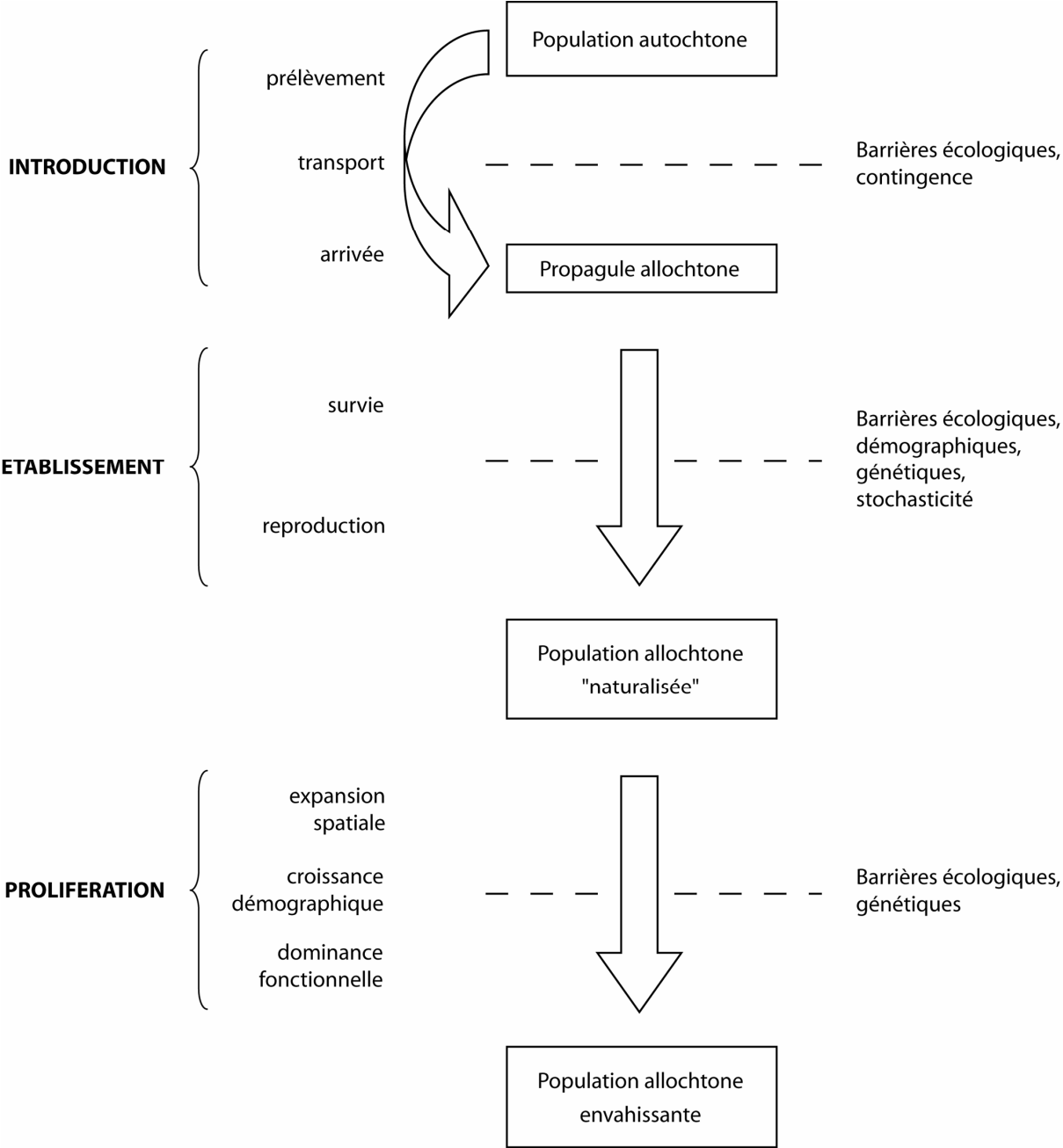
### 2.1 Les trois étapes des invasions biologiques

On considère traditionnellement qu'une invasion biologique se déroule en trois étapes principales : introduction, établissement et prolifération (Figure 3), qui correspondent chacune au franchissement de plusieurs barrières (Richardson et al. 2000; Sakai et al. 2001; Colautti & MacIsaac 2004).

L'étape d'introduction correspond à l'arrivée d'une espèce dans un lieu qu'elle n'occupait pas préalablement. Elle se décompose elle-même en trois points (Figure 3). Le prélèvement est l'échantillonnage de la population d'origine qui participe à l'évènement de migration. Ensuite, le transport est l'évènement de migration proprement dit. En biologie des invasions, il est souvent considéré que ce transport doit s'effectuer sur une grande distance, supérieure aux capacités intrinsèques de migration de l'espèce (et donc à l'aide d'un vecteur ou par contingence ; Vermeij 2005), pour que l'on puisse parler d'une véritable introduction (Colautti & MacIsaac 2004; Falk-Petersen et al. 2006). Nous n'utiliserons pas ce terme dans ce sens, mais, en accord avec Facon et al. (2006), au sens plus large de la migration dans un nouvel habitat (i.e. même sur de « courtes » distances, accessibles par les capacités de migration de l'espèce). Nous ne considérerons donc pas ici que les vecteurs de dispersion, comme l'homme, soient des éléments nécessaires de l'étape d'introduction. Enfin, l'étape d'introduction se termine par l'arrivée proprement dite de l'espèce dans son nouvel environnement. Les barrières à franchir durant l'étape d'introduction sont une barrière à la dispersion et éventuellement une barrière à la survie si le transport est lointain. On considère que la plupart des étapes d'introduction sont le fait de propagules de petite taille, et l'évolution subséquente de ces propagules est donc probablement contrainte par un effet de fondation et une dérive génétique importante, deux phénomènes susceptibles de réduire la variabilité génétique de la population introduite. Ces attendus ne sont pourtant pas toujours réalisés du fait du transport de propagules parfois très importantes (par exemple via des eaux de ballast ; Roman & Darling 2007), ou par des introductions multiples (e.g., Durka et al. 2005).

L'étape d'établissement correspond à la survie et la reproduction de la propagule d'origine dans son nouvel environnement, qui forme alors une population viable (Figure 3). On peut distinguer la survie dans le nouvel environnement de la reproduction, car les facteurs influençant ces deux étapes peuvent être différents (Heger & Trepl 2003). Lorsqu'une espèce

**Figure 3 :** Schéma des différentes étapes d'une invasion biologique.





introduite a réussi à s'établir avec succès, on parle alors de « naturalisation » de l'espèce (*sensu* De Candolle, Richardson et al. 2000). La plupart des espèces introduites dans un nouvel environnement n'arriverait pas à s'établir (Williamson 1996). En effet, beaucoup de propagules sont introduites dans des environnements auxquels elles ne sont pas adaptées, et ne peuvent survivre aux nouvelles pressions abiotiques et/ou biotiques auxquelles elles sont soumises, comme la présence de nouveaux prédateurs, compétiteurs ou parasite (Maron & Vila 2001), l'absence de mutualistes habituels (Olesen et al. 2002), ou la présence de conditions abiotiques défavorables (Mack et al. 2000). Le fait que les propagules introduites soient généralement de petite taille représente également une forte contrainte à l'établissement de populations viables. Ces populations de petite taille sont en effet particulièrement sensibles à la stochasticité démographique (i.e. aux variations individuelles de fitness), à la stochasticité environnementale (i.e. aux fluctuations de l'environnement), et à la difficulté de trouver un partenaire pour leur reproduction (i.e. effet Allee). De plus, leurs spécificités génétiques (liées aux effets de fondation, dérive génétique, et éventuellement dépression de consanguinité dû à une propagule constituée d'individus apparentés) peuvent menacer leur établissement, en limitant leur potentiel adaptatif. Le potentiel adaptatif des espèces introduites peut cependant augmenter, grâce à des introductions multiples augmentant la diversité génétique de la population introduite (Bossdorf et al. 2005; Lavergne & Molofsky 2007), ou encore par l'intégration de gènes par hybridation avec des espèces présentes localement (Ellstrand & Schierenbeck 2000).

Finalement, l'étape de prolifération correspond à l'expansion spatiale de la population introduite dans son nouvel environnement, y compris dans de nouveaux habitats, à sa croissance démographique, souvent explosive, et, selon notre définition, à l'augmentation de son importance fonctionnelle au sein des écosystèmes envahis (Figure 3). La prolifération de la population introduite se heurte à des barrières de capacité démographiques (croissance et dispersion) et génétiques similaires à celles décrites précédemment. On observe parfois un temps de latence important entre les phases d'établissement et de prolifération durant certaines invasions (Kowarik 1995; Sakai et al. 2001; Wangen & Webster 2006). Les espèces capables d'adaptation locale rapide (Reznick & Ghalambor 2001; Lee et al. 2007), ou présentant une importante plasticité phénotypique (i.e. capacité d'un génotype à produire des phénotypes alternatifs en réponse aux conditions environnementales ; West-Eberhard 1989; Fordyce 2006) sont plus particulièrement aptes à proliférer dans leur nouvel environnement, et donc à devenir envahissantes. Par exemple, l'espèce *Eurytemora affinis*, un copépode marin, a régulièrement envahi des milieux d'eau douce depuis un siècle très probablement

grâce à sa capacité d'adaptation locale rapide (Lee et al. 2007). D'autre part, le meilleur exemple de plasticité phénotypique est sans doute fourni par l'invasion des lacs africains par un seul génotype clonal hybride de *Daphnie* (Mergeay et al. 2006).

## 2.2 Tentatives de définition d'un cadre conceptuel éco-évolutif générique

En-dehors d'une vision descriptive « par étapes » telle que détaillée dans la section précédente, l'autre type d'approche couramment utilisé en biologie des invasions consiste à étudier soit (i) les caractéristiques biologiques des espèces envahissantes (Kolar & Lodge 2001), soit (ii) les caractéristiques des écosystèmes envahis (Lonsdale 1999). Ces approches ont pour l'instant donné des résultats peu généralisables (Heger & Trepl 2003; Facon et al. 2006). La mise en évidence des caractéristiques spécifiques des espèces envahissantes est rendue difficile par la rareté des observations d'invasions infructueuses, et donc l'impossibilité de comparer les caractéristiques d'espèces envahissantes avec des espèces n'ayant pas réussi à envahir. Par ailleurs, de nombreuses études confondent les différentes étapes des invasions biologiques en un seul processus, alors que le franchissement de ces différentes étapes nécessite des qualités parfois contradictoires. Par exemple, l'étape d'établissement peut requérir une migration limitée des individus introduits (pour éviter un effet Allee prononcé, et/ou afin de s'adapter aux conditions locales), alors que l'étape suivante de prolifération pourrait au contraire bénéficier d'une migration importante, afin de saturer de nouveaux milieux. Les résultats de ces études se résument souvent à une liste de caractéristiques qui s'interprètent comme celles d'une espèce envahissante « idéale », plutôt que comme des caractéristiques nécessaires ou suffisantes pour envahir (Heger & Trepl 2003). La recherche des caractéristiques biologiques des écosystèmes envahis ne s'est pour l'instant penchée que sur quelques caractéristiques présumées, comme la biodiversité (ou résistance biotique), l'âge des écosystèmes ou la présence de perturbations (anthropogéniques), avec un succès limité (Heger & Trepl 2003).

Une approche alternative récente consiste à comparer les caractéristiques de l'espèce envahissante à celles de l'écosystème envahi (modèle « clef-serrure », Heger & Trepl 2003; Facon et al. 2006). En effet, une invasion réussie résulte plus probablement d'une adéquation entre la biologie de l'espèce envahissante d'une part et la composition, la structure et la dynamique de l'écosystème envahi d'autre part, que des caractéristiques privées de chacun. Cette approche met donc l'accent sur les changements écologiques et évolutifs de l'espèce

envahissante et/ou de l'écosystème envahi qui ont permis l'expansion géographique, démographique et fonctionnelle de l'espèce envahissante (Facon et al. 2006). Elle permet de tracer un cadre éco-évolutif simple et générique autour de la question des invasions biologiques, cadre qui manquait à la discipline il y a encore quelques années.

### 2.3 Paradoxes évolutifs

Les invasions biologiques soulèvent clairement deux « paradoxes évolutifs ». Premièrement, *comment expliquer que des populations soient capables d'envahir un écosystème auxquelles elles n'ont pas été confrontées précédemment et ne sont donc a priori pas ou peu adaptées, tout en déplaçant les populations natives qui sont elles a priori adaptées localement* (Sax & Brown 2000) ? Plusieurs phénomènes peuvent expliquer ce paradoxe. Tout d'abord, l'environnement d'introduction est nouveau, mais pas forcément différent de l'environnement d'origine de l'espèce envahissante, qui peut profiter d'une niche vide ou disponible pour proliférer (Shea & Chesson 2002; Facon et al. 2006). On parle alors de « pré-adaptation » de l'espèce envahissante. D'autre part, l'environnement receveur peut évoluer vers des conditions favorables à l'espèce envahissante, un cas souvent observé avec les perturbations écologiques liées aux activités humaines (Foley et al. 2005). Une autre catégorie d'arguments postule que le changement même d'environnement pourrait se révéler bénéfique, par un relâchement de la pression biotique exercée sur l'espèce introduite. En effet, prédateurs, compétiteurs, parasites peuvent être perdus au cours de l'étape d'introduction. On parle alors de « relâchement de la pression des bioagresseurs » (*enemy release hypothesis*, Keane & Crawley 2002; Colautti et al. 2004). Enfin, l'espèce envahissante elle-même peut évoluer, et s'adapter à son nouvel environnement (Lee et al. 2007).

Ce dernier point représente en soi un deuxième paradoxe évolutif soulevé par au moins une partie des cas d'invasion biologique : *comment une population introduite, possédant a priori une faible diversité génétique (due à un effet de fondation et à la dérive génétique), et donc un faible potentiel adaptatif, arrive-t-elle à s'adapter dans un nouvel environnement* (Frankham 2005a) ? Premièrement, il existe des cas pour lesquels même une réduction extrême de la diversité génétique n'empêche pas une adaptation locale, ceci grâce à la plasticité phénotypique (Mergeay et al. 2006). Un second type de réponse à ce paradoxe peut être que les *a priori* concernant la diversité génétique disponible suite à l'étape d'introduction ne sont pas respectés. En effet, si la pression de propagule est assez élevée, la

## Tableau 2 : Liste des 100 « pires » espèces envahissantes, d'après Lowe et al. 2000.

Note : Ces espèces ont été sélectionnées sur deux critères : l'importance de leur impact sur la biodiversité et/ou les activités humaines, et leur illustration de questions importantes en biologie des invasions. Une seule espèce de chaque genre a été sélectionnée (www.iissg.org/database).

### MICRO-ORGANISMES

paludisme des oiseaux (*Plasmodium relictum*)  
virus bunchy top (*Banana bunchy top virus*)  
virus rinderpest (*Rinderpest virus*)

### MACRO-CHAMPIGNONS

chancre du chatagner (*Cryphonectria parasitica*)  
peste de l'écrevisse (*Aphanomyces astaci*)  
graphiose (*Ophiostoma ulmi*)  
chytridiomycose (*Batrachochytrium dendrobatidis*)  
mildiou (*Phytophthora cinnamomi*)

### PLANTES AQUATIQUES

caulerpe (*Caulerpa taxifolia*)  
spartine d'Angleterre (*Spartina anglica*)  
wakame (*Undaria pinnatifida*)  
Jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*)

### PLANTES TERRESTRES

tulipier du Gabon (*Spathodea campanulata*)  
acacia noir (*Acacia mearnsii*)  
poivrier du Brésil (*Schinus terebinthifolius*)  
impératrice cylindrique (*Imperata cylindrica*)  
pin maritime (*Pinus pinaster*)  
figuier de Barbarie (*Opuntia stricta*)  
Myrica faya (*Myrica faya*)  
canne de Provence (*Arundo donax*)  
ajonc d'Europe (*Ulex europaeus*)  
liane de cerf (*Hiptage benghalensis*)  
renouée du Japon (*Fallopia japonica*)  
longose (*Hedychium gardnerianum*)  
tabac-boeuf (*Clidemia hirta*)  
puénaire (*Pueraria montana var. lobata*)  
thé de Gambie (*Lantana camara*)  
euphorbe érule (*Euphorbia esula*)  
faux mimosa (*Leucaena leucocephala*)  
niaouli (*Melaleuca quinquenervia*)  
mezquite (*Prosopis glandulosa*)  
cancer vert (*Miconia calvescens*)  
Liane américaine (*Mikania micrantha*)  
amourette (*Mimosa pigra*)

aleurode du tabac (*Bemisia tabaci*)

### AMPHIBIENS

grenouille taureau (*Rana catesbeiana*)  
crapaud buffle (*Bufo marinus*)  
grenouille des Caraïbes (*Eleutherodactylus coqui*)

### POISSONS

Truite commune européenne (*Salmo trutta*)  
carpe (*Cyprinus carpio*)  
Achigan à grande bouche (*Micropterus salmoides*)  
tilapia du Mozambique (*Oreochromis mossambicus*)  
perche du Nil (*Lates niloticus*)  
truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*)  
silure grenouille (*Clarias batrachus*)  
gambusie (*Gambusia affinis*)

### OISEAUX

martin triste (*Acridotheres tristis*)  
bulbul à ventre rouge (*Pycnonotus cafer*)  
étourneau sansonnet (*Sturnus vulgaris*)

### REPTILES

serpent brun arboricole (*Boiga irregularis*)  
tortue à tempes rouges (*Trachemys scripta*)

### MAMMIFERES

phalanger renard (*Trichosurus vulpecula*)  
chat domestique (*Felis catus*)  
chèvre domestiques (*Capra hircus*)  
écureuil gris (*Sciurus carolinensis*)  
macaque erabier (*Macaca fascicularis*)  
souris commune (*Mus musculus*)  
ragondin (*Myocastor coypus*)  
sanglier (*Sus scrofa*)  
lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*)  
cerf élaphe (*Cervus elaphus*)  
renard roux (*Vulpes vulpes*)  
rat noir (*Rattus rattus*)  
petite mangouste indienne (*Herpestes javanicus*)  
hermine (*Mustela erminea*)

### INVERTEBRES TERRESTRES

fourni d'Argentine (*Linepithema humile*)  
longicorne asiatique (*Anoplophora glabripennis*)  
moustique tigre (*Aedes albopictus*)  
fourni à grosse tête (*Pheidole megacephala*)  
moustique commun du paludisme (*Anopheles quadrimaculatus*)  
guêpe commune (*Vespa vulgaris*)  
fourni folle (*Anoplolepis gracilipes*)  
puçeron du cyprès (*Cinara cupressi*)  
ver plat (*Platydemus manokwari*)  
termite de Formose (*Coptotermes formosanus shiraki*)  
escargot géant africain (*Achatina fulica*)  
bombyx disparate (*Lymantria dispar*)  
dermeste des grains (*Trogoderma granarium*)  
petite fourmi de feu (*Wasmannia auropunctata*)  
fourni de feu rouge (*Solenopsis invicta*)  
escargot cannibale (*Euglandina rosea*)

population introduite peut ne pas subir les effets de la fondation et de la dérive (Lockwood et al. 2005; Roman & Darling 2007). Un autre type de réponse peut être que la population envahissante a pu bénéficier par hybridation introgressive de l'apport génétique d'espèces locales, d'autres espèces introduites, ou plus couramment de populations différentes de la même espèce (Abbott et al. 2003; Kolbe et al. 2004). Enfin, les taux de recombinaison, soumis à sélection, peuvent évoluer et permettre une adaptation rapide dans certains contextes, y compris dans de petites populations (Otto & Barton 2001).

### **3. Les fourmis envahissantes**

La famille des Formicidés compte plus de 12 000 espèces, réparties en 358 genres et 20 sous-familles (Agosti & Johnson 2005). Le succès écologique des fourmis est illustré par leur présence dans la quasi-totalité des habitats terrestres et la proportion importante de la biomasse animale qu'elles constituent (Hölldobler & Wilson 1990). Les fourmis tiennent une place importante dans le fonctionnement de la plupart des écosystèmes, car elles peuvent significativement modifier à la fois leurs caractéristiques abiotiques (comme par exemple la transformation chimique et physique des sols ; Folgarait 1998) et biotiques (via des relations de compétition et de prédation, mais aussi des mutualismes variés avec d'autres animaux, plantes ou champignons ; Hölldobler & Wilson 1990).

Peu d'espèces de fourmis ont été décrites comme « transférées » hors de leur habitat d'origine (environ 150 espèces, McGlynn 1999), et encore moins peuvent être qualifiées d'envahissantes (environ une dizaine, McGlynn 1999; Holway et al. 2002 ; Tableaux 2 et 3). Mais si le nombre d'espèce de fourmis envahissantes peut paraître relativement faible, notamment par rapport à leur importance fonctionnelle générale et leur ubiquité dans les écosystèmes terrestres, il faut noter que cinq d'entre elles font partie des 100 « pires » espèces envahissantes recensées actuellement (Tableaux 2 et 3, Figure 4 ; Lowe et al. 2000). Ces dernières occasionnent des dommages directs aux humains, au bétail, aux machines et aux écosystèmes naturels, en constituant de sérieux compétiteurs et prédateurs d'invertébrés et de vertébrés locaux, et en modifiant profondément les mutualismes présents (par exemple, en supprimant la pollinisation ou la dispersion de graines, ou par l'élevage d'Homoptères ; Holway et al. 2002). Par exemple, depuis son introduction aux Etats-Unis dans les années 1930, *Solenopsis invicta* y occupe plus de 128 millions d'hectares (Morrison et al. 2004) et y occasionne plus d'un milliard de dollars de dégâts chaque année (Pimentel et al. 2001).

**Tableau 3 : Liste des 10 espèces de fourmis considérées comme envahissantes.**

Note : Fourmis envahissantes d'après McGlynn 1999, « vagabondes » (V) d'après Passera 1994, et « pires envahissantes » (WW) d'après Lowe et al. 2000. Les abréviations des différentes aires géographiques, natives et introduites, sont les suivantes : AC = Amérique Centrale, AdN = Amérique du Nord, AdS = Amérique du Sud, AF = Afrique, AS = Asie, AU = Australie, CA = Caraïbes, EU = Europe et bassin méditerranéen, OA = Océan Atlantique (îles), OI = Océan Indien (îles) et OP = Océan Pacifique (îles) ; d'après Holway et al. 2002. Certaines espèces possèdent parfois le même continent dans leur aire native et introduite du fait de l'éloignement des deux types de populations ou du fait de notre définition qui autorise ce cas.

Sous-Famille	Espèce	Nom Vernaculaire	Vagabondes	"Pires"	Aire Native	Aire Introduite
Dolichoderinae	<i>Linepithema humile</i>	Fourmi d'Argentine	V	WW	AdS	AC, AdN, AdS, AF, AS, AU, CA, EU, OA, OP
Formicinae	<i>Anoplolepis custodiens</i>				AF	AC, AdN, AdS
Formicinae	<i>Anoplolepis gracilipes</i>	Fourmi folle	V	WW	AF / AS ?	AdS, AF, AS, AU, CA, OI, OP
Formicinae	<i>Paratrechina fulva</i>				AdS	AC, AdN, AdS
Formicinae	<i>Paratrechina longicornis</i>				AF ?	AC, AdN, AdS, AF, AS, AU, CA, EU, OI, OP
Myrmicinae	<i>Pheidole megacephala</i>	Fourmi à grosse tête	V	WW	AF ?	AC, AdN, AdS, AF, AS, AU, CA, EU, OI, OP
Myrmicinae	<i>Solenopsis geminata</i>	Fourmi gingembre			AC, AdS	AdN, AF, AS, AU, OI, OP
Myrmicinae	<i>Solenopsis invicta</i>	Fourmi de feu rouge		WW	AdS	AdN, AU, CA, OP
Myrmicinae	<i>Solenopsis richteri</i>				AdS	AdN
Myrmicinae	<i>Wasmannia auropunctata</i>	Petite fourmi de feu	V	WW	AC, AdS	AdN, AdS, AF, AU, CA, EU, OA, OP

**Figure 4 :** Les cinq « pires » espèces de fourmis envahissantes (d'après Lowe et al. 2000).

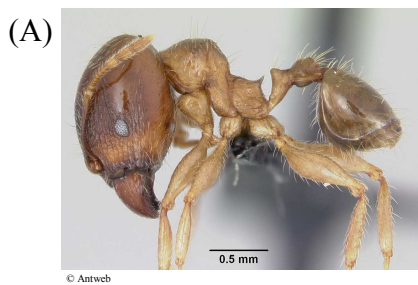
*Anoplolepis gracilipes* : profil d'une ouvrière (A) et ouvrières en fourragement (B).



*Linepithema humile* : profil d'une ouvrière (A) et ouvrières élevant une cochenille (B).



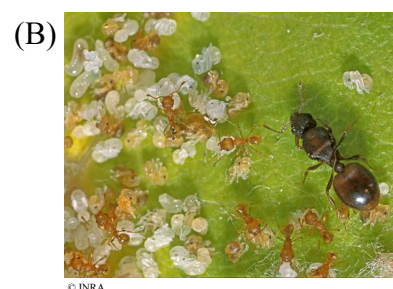
*Pheidole megacephala* : profil d'une ouvrière major (A) et reine avec ouvrières (B).



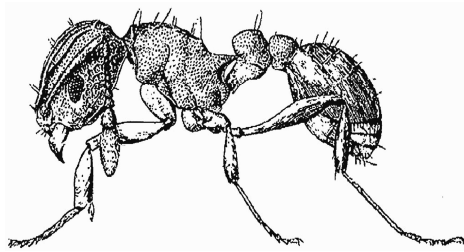
*Solenopsis invicta* : profil d'une ouvrière (A) et gyne (reine vierge) avec ouvrières (B).



*Wasmannia auropunctata* : profil d'une ouvrière (A) et reine, ouvrières et couvain (B).



**Figure 5 :** Dessin d'une ouvrière de *W. auropunctata* (Hölldobler & Wilson 1990).

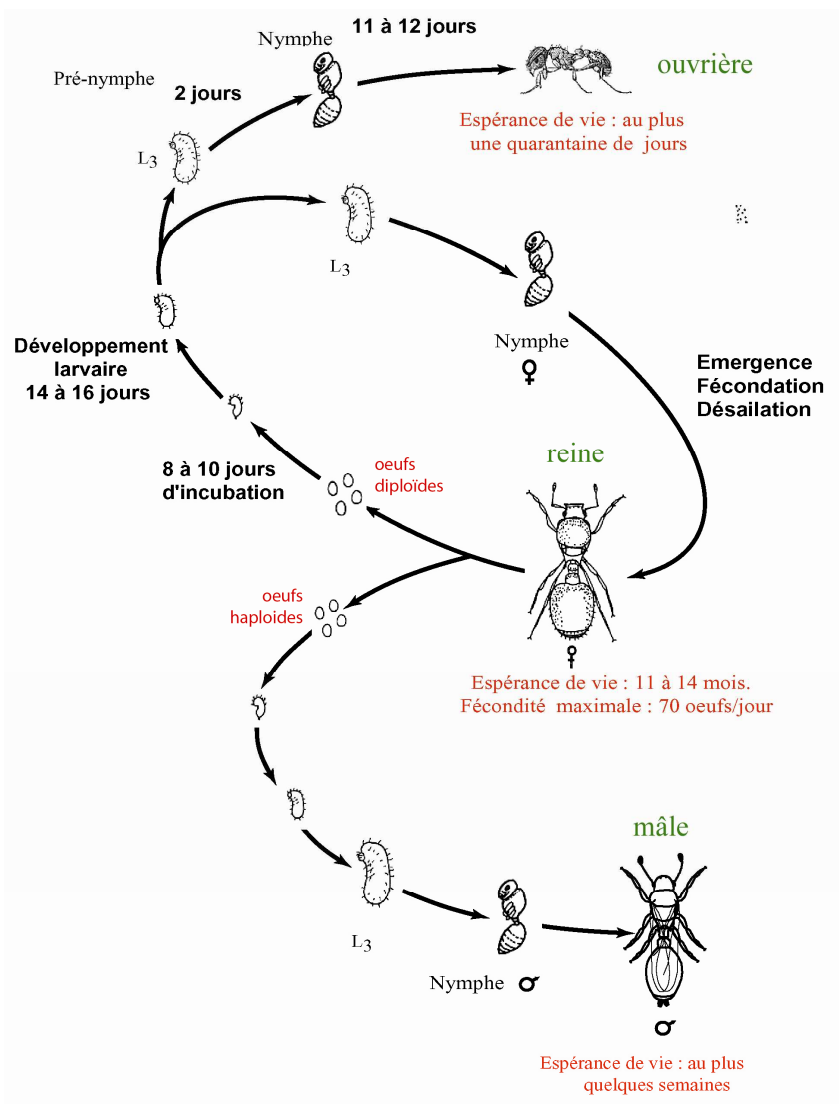


1,2 à 2 mm

**Figure 6 :** Reine et ouvrière de *W. auropunctata*.



**Figure 7 :** Cycle de développement de *W. auropunctata* (d'après Jourdan 1999)





On remarque qu'en dehors de trois espèces du genre *Solenopsis*, les espèces de fourmis envahissantes appartiennent à différentes tribus, voire sous-familles, et sont d'une manière générale phylogénétiquement éloignées. Quelques auteurs ont suivi la démarche qui consiste à essayer d'identifier les caractéristiques biologiques des espèces envahissantes. Certaines des espèces de fourmis envahissantes ont été ainsi dénommées espèces « vagabondes » (*tramp species*, Wilson 1971), sur la base de neuf traits biologiques principaux (Passera 1994).

Les espèces vagabondes sont des fourmis capables de vivre en association étroite avec les humains, notamment grâce à la grande mobilité de leurs nids, leur permettant de faire face à un milieu instable et d'optimiser l'utilisation des ressources présentes. Elles sont polygynes (i.e. plusieurs reines sont présentes dans les nids) et unicoloniales (forment des supercolonies, i.e. des réseaux de nids pouvant échanger des reines, des ouvrières et du couvain, sans agressivité intraspécifique à l'échelle de la supercolonie ; Markin 1968). Le vol nuptial est réduit, voire absent, les accouplements sont intra-nidaux et la dispersion des nouvelles reines, d'une durée de vie plutôt courte, se produit par bourgeonnement (i.e. à pieds, avec ou sans un petit contingent d'ouvrières). Les ouvrières des espèces vagabondes sont généralement de petite taille, monomorphiques, stériles et très agressives vis-à-vis des autres espèces de fourmis.

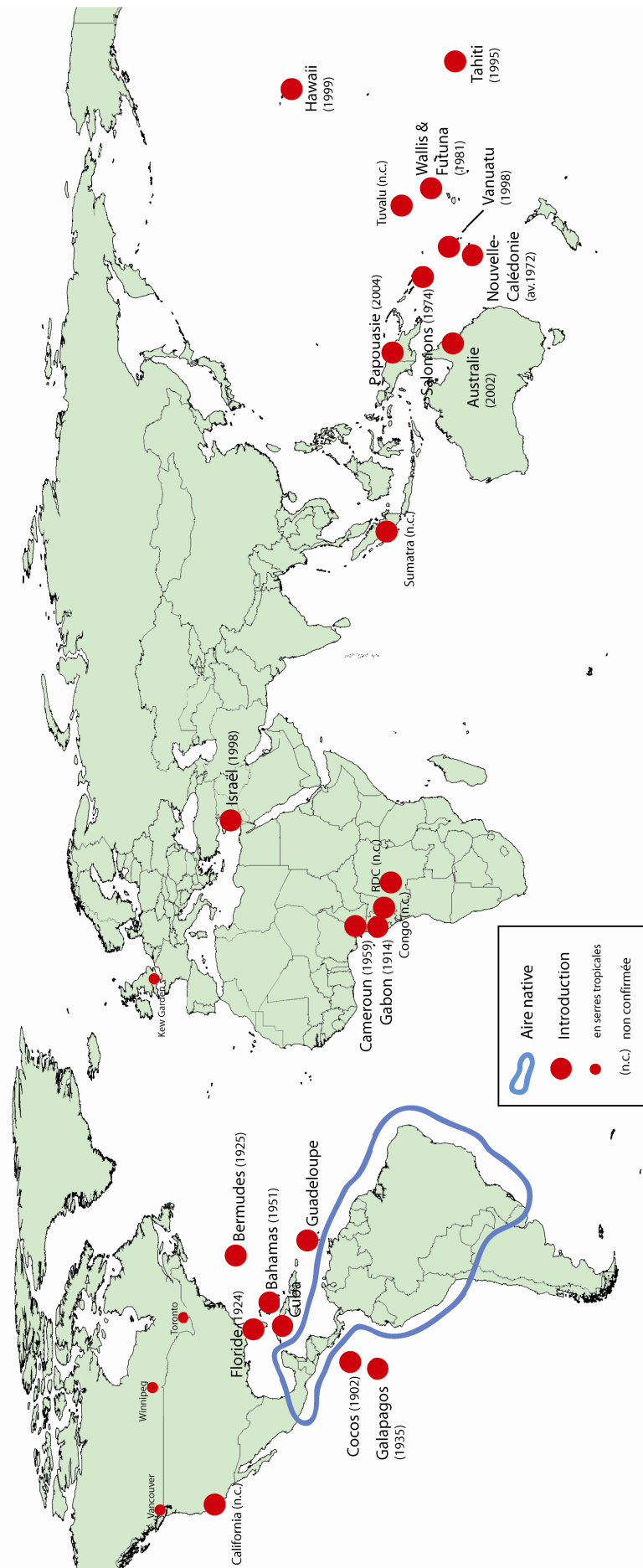
Toutes les espèces envahissantes de fourmis ne sont pourtant pas des vagabondes, ce qui a conduit Holway et al. (2002) à ne proposer que trois traits biologiques pour caractériser les espèces de fourmis envahissantes les plus préoccupantes : leur organisation sociale unicoloniale, leur régime alimentaire omnivore et leur compétitivité interspécifique importante, à la fois individuellement et collectivement (acquisition de ressources et recrutement efficaces, moyens d'attaque et de défense élaborés, grande agressivité).

Malgré leur importance écologique et économique considérable, les espèces de fourmis envahissantes n'ont été que relativement peu étudiées, en-dehors des deux espèces modèles que sont *Solenopsis invicta* et *Linepithema humile*. Cette thèse porte sur l'une des cinq « pires » espèces de fourmis envahissantes peu étudiée jusqu'à présent, au moins dans le domaine de la biologie évolutive, la petite fourmi de feu *Wasmannia auropunctata*.

#### **4. Le modèle biologique de cette thèse, *Wasmannia auropunctata***

*Wasmannia auropunctata*, ou petite fourmi de feu, est une espèce de fourmi appartenant à la tribu des Blepharidattini de la sous-famille des Myrmicines (Bolton 1995).

**Figure 8 :** Distribution mondiale de *W. auropunctata* et dates estimées d'introduction (d'après Le Breton 2003; Wetterer & Porter 2003, Jourdan, com. pers., Vonshak, com. pers.).



Elle possède l'ensemble des caractéristiques biologiques des espèces de fourmis vagabondes. Ses ouvrières sont de petite taille (de 1,2 à 2 mm, Figure 5), monomorphiques et stériles, d'une couleur variant du jaune doré au brun foncé. Les reines et les mâles sont beaucoup plus grands (de 4 à 5 mm), et plus sombres que les ouvrières (Figure 6).

Le cycle de développement de *W. auropunctata* est représenté Figure 7. Les ouvrières émergent en une quarantaine de jours et leur durée de vie est d'environ 45 jours. La durée de vie des reines est de 11 à 14 mois, et celle des mâles de quelques jours à quelques semaines (Ulloa-Chacon & Cherix 1988). La ponte des reines est élevée (jusqu'à 73 œufs par jour), peut varier selon la présence de couvain ou d'autres reines dans la colonie, et diminue avec l'âge (Ulloa-Chacon 1990). Ces chiffres sont toutefois à prendre avec prudence car nos propres élevages ont parfois démontré des différences étonnantes (par exemple, une reine ayant vécu plus de deux ans et des ouvrières plus de deux mois).

La petite fourmi de feu est une espèce généraliste et opportuniste à la fois pour son régime alimentaire et son choix de sites de nidification (Clark 1982; Ulloa-Chacon & Cherix 1988; Tennant 1994). L'essentiel de l'alimentation de *W. auropunctata* est assuré par la consommation d'exudats d'Homoptères (pucerons, cochenilles) et de nectars floraux ou extra-floraux pour les sucres (Schemske 1980; Delabie et al. 1994; de la Fuente & Marquis 1999) et de prédation d'arthropodes, voire de consommation de graines, pour les protéines (Clark 1982). L'espèce possède également une grande tolérance pour ses sites de nidification. Typiquement, les ouvrières de *W. auropunctata* ne construisent pas de structures complexes pour abriter reines et couvain, mais utilisent des cavités naturelles (branches creuses, feuilles agrégées), aussi bien au sol que dans la végétation jusqu'à plusieurs mètres de hauteur (Clark 1982; Tennant 1994). Leur capacité à déplacer les nids en continu permet aussi aux ouvrières de garantir aux reines et au couvain des conditions de température et d'humidité convenables, ainsi qu'un rapprochement des sources de nourriture. Ce comportement leur permettrait également de tolérer des conditions de perturbations élevées (Feitosa 2007).

L'aire native de *W. auropunctata* est constituée des forêts tropicales d'Amérique du Sud et d'Amérique Centrale (Figure 8). La zone d'introduction la plus ancienne de *W. auropunctata*, quoique parfois discutée, est sans doute la zone Caraïbes, datant d'au moins 150 ans pour Cuba (Wetterer & Porter 2003). Au cours du XXème siècle, *W. auropunctata* a été introduite avec succès dans une grande partie de la zone tropicale. La Floride, l'ouest de l'Afrique équatoriale, de nombreuses îles des océans Pacifique et Atlantique et plus récemment, le bassin méditerranéen, ont été touchés par des invasions de *W. auropunctata* (Tableau 4, Figure 8 ; Wetterer & Porter 2003). Toutes ces invasions ont eu, ou auront

**Tableau 4 :** Zones d'introduction de *W. auropunctata* classée par date estimée d'introduction (hors zone des Caraïbes pour cause de dates incertaines, d'après Le Breton 2003; Wetterer & Porter 2003, Jourdan, com. pers., Vonshak, com. pers.).

Lieu	Année	Référence
Iles Cocos	1902	Forel 1908
Gabon	1914	Santschi 1914
Floride	1924	Wheeler 1929
Bermudes	1925	Hilburn et al. 1990
Galápagos	1935	Silberglied 1972
Bahamas	1951	Smith 1954
Cameroun	1959	Bruneau de Miré 1969
Nouvelle-Calédonie	1972	Fabres & Brown 1978
Salomons	1974	Ikin 1984
Wallis-et-Futuna	1981	Jourdan 1997
Iles Santa Cruz	1995	Wetterer & Porter 2003
Tahiti	1995	Jourdan, com. pers.
Vanuatu	1998	Jourdan et al. 2002
Israël	1998	Vonshak, com. pers.
Hawaii	1999	Conant & Hirayama 2000
Australie	2002	Jourdan, com. pers.
Papouasie	2004	Jourdan, com. pers.

probablement, des impacts majeurs sur l'activité humaine et les écosystèmes naturels (Silberglie 1972; Clark 1982; Wetterer et al. 1999; Le Breton et al. 2003; Solomon & Mikheyev 2005; Walker 2006). Par exemple, son impact négatif sur la biodiversité néo-calédonienne est majeur, qu'il s'agisse de la myrmécofaune, ou de la faune en général (Jourdan 1999; Jourdan et al. 2001; Le Breton et al. 2003). Son impact sur les activités humaines y est également considérable, notamment car cette espèce à la piqûre très urticante rend difficile la vie quotidienne des populations locales et l'exploitation de certaines ressources agricoles (principalement les filières basées sur la cueillette manuelle, telles que les agrumes ou le café).

## 5. Objectifs et organisation de la thèse

L'objectif principal de cette thèse est d'améliorer notre connaissance des processus évolutifs et écologiques liés aux invasions biologiques, à travers l'étude de *W. auropunctata*.

Pour ce faire, nous avons choisi d'adopter une démarche qui conjugue les approches « clef-serrure » et « par étapes ». En effet, l'étude des invasions par l'approche « clef-serrure » permet d'identifier les adéquations entre traits de l'espèce envahissante et de l'écosystème envahi ayant permis l'invasion (Facon et al. 2006). Pourtant, l'approche « clef-serrure » telle que présentée par Facon et al. (2006) se focalise essentiellement sur l'étape d'établissement, et relègue les étapes d'introduction et de prolifération au second plan. En ne s'inscrivant pas explicitement dans le temps, une telle approche risque toutefois d'ignorer ou d'amalgamer des changements parfois contradictoires pouvant se produire au cours de l'invasion, comme, par exemple, un changement rapide de stratégie reproductrice au cours de l'invasion (e.g., Devine et al. 2000; Bohn et al. 2004). D'autre part, si les études se basant sur une approche « par étapes » peuvent discriminer la séquence des modifications ayant permis l'invasion, ces études restent souvent descriptives et centrées sur les changements ayant eu lieu chez l'espèce envahissante (Sakai et al. 2001), ignorant les éventuelles modifications de l'environnement envahi (Facon et al. 2006). La conjonction des deux approches pourrait être plus à même de détecter les différents changements éco-évolutifs pouvant s'opérer séquentiellement durant l'invasion. Nous nous proposons donc d'utiliser cette démarche comme cadre de recherche afin de mieux comprendre l'invasion de *W. auropunctata*, la localisation géographique de ses différentes étapes et les transitions éco-évolutives associées.

Le premier chapitre de cette thèse concernera spécifiquement l'étude de l'aire native de *W. auropunctata*. Nous y étudierons (i) l'adéquation entre deux caractéristiques des

populations de l'aire native de *W. auropunctata* —leur système de reproduction et leur structure sociale— et deux caractéristiques de leur environnement —la prévalence d'infection aux bactéries endosymbiontes du genre *Wolbachia* et la présence de perturbations anthropiques dans les différents milieux colonisés— et (ii) les relations entre ces quatre facteurs et le statut envahissant des différentes populations échantillonnées.

Le deuxième chapitre de cette thèse concernera l'étude de l'aire introduite de *W. auropunctata*. Nous y étudierons (i) quelques caractéristiques biologiques —notamment le système de reproduction et la prévalence d'infection par *Wolbachia*— de onze populations envahissantes de l'aire introduite de *W. auropunctata*, puis (ii), de manière plus détaillée, deux populations introduites (Nouvelle-Calédonie et Afrique équatoriale), afin de tenter d'évaluer la stabilité évolutive des populations envahissantes introduites de *W. auropunctata*.

Les résultats de cette approche « clef-serrure » menée séquentiellement (dans chacune des deux aires de l'espèce) nous ont amené dans un troisième chapitre à étudier plus spécifiquement deux traits d'histoire de vie. Nous avons tout d'abord confirmé en laboratoire nos résultats concernant l'existence de deux types de système de reproduction chez *W. auropunctata*, l'un clonal et l'autre sexué. Nous avons ensuite évalué en laboratoire la tolérance d'ouvrières issues de nids clonaux et sexués à des conditions de température et d'humidité extrêmes, ceci afin d'estimer l'importance du type de système de reproduction dans la capacité de *W. auropunctata* à envahir des environnements anthropisés.

Dans la dernière partie « conclusions et perspectives » de ce rapport, nous réaliserons une synthèse des connaissances éco-évolutives produites durant cette thèse, évaluerons l'efficacité de la conjugaison des démarches « clef-serrure » et « par étapes » dans l'étude des invasions biologiques, et tenterons de répondre aux principales questions théoriques et appliquées soulevées par notre modèle biologique.

## CHAPITRE I :

# *WASMANNIA AUROPUNCTATA* DANS SON AIRE NATIVE

Rouletabille avait pensé que ce mystère, qui liait d'une façon si terrible Larsan à Mlle Stangerson, mystère dont il ne trouvait, lui, Rouletabille, aucune explication dans la vie de Mlle Stangerson, « en France », il avait pensé, dis-je, que ce mystère « devait avoir son origine dans la vie de Mlle Stangerson, en Amérique ». Et il avait pris le bateau !

M. Sainclair





# 1. Problématique

*Wasmannia auropunctata* est surtout connue pour ses invasions dans son aire d'introduction, en Floride, en Afrique ou dans le Pacifique Sud (Wetterer & Porter 2003). Dans de nombreuses zones de son aire native, ses populations ne sont pas dominantes, et ne constituent qu'une très faible partie de la myrmécofaune (Tennant 1994). Ces populations sont par définition des populations non-envahissantes. Cependant, il existe également dans son aire native des populations très denses de *W. auropunctata* modifiant profondément le fonctionnement d'écosystèmes où elles n'étaient précédemment pas présentes (Majer et al. 1994; Majer & Delabie 1999). Selon notre définition, ces dernières populations sont donc envahissantes.

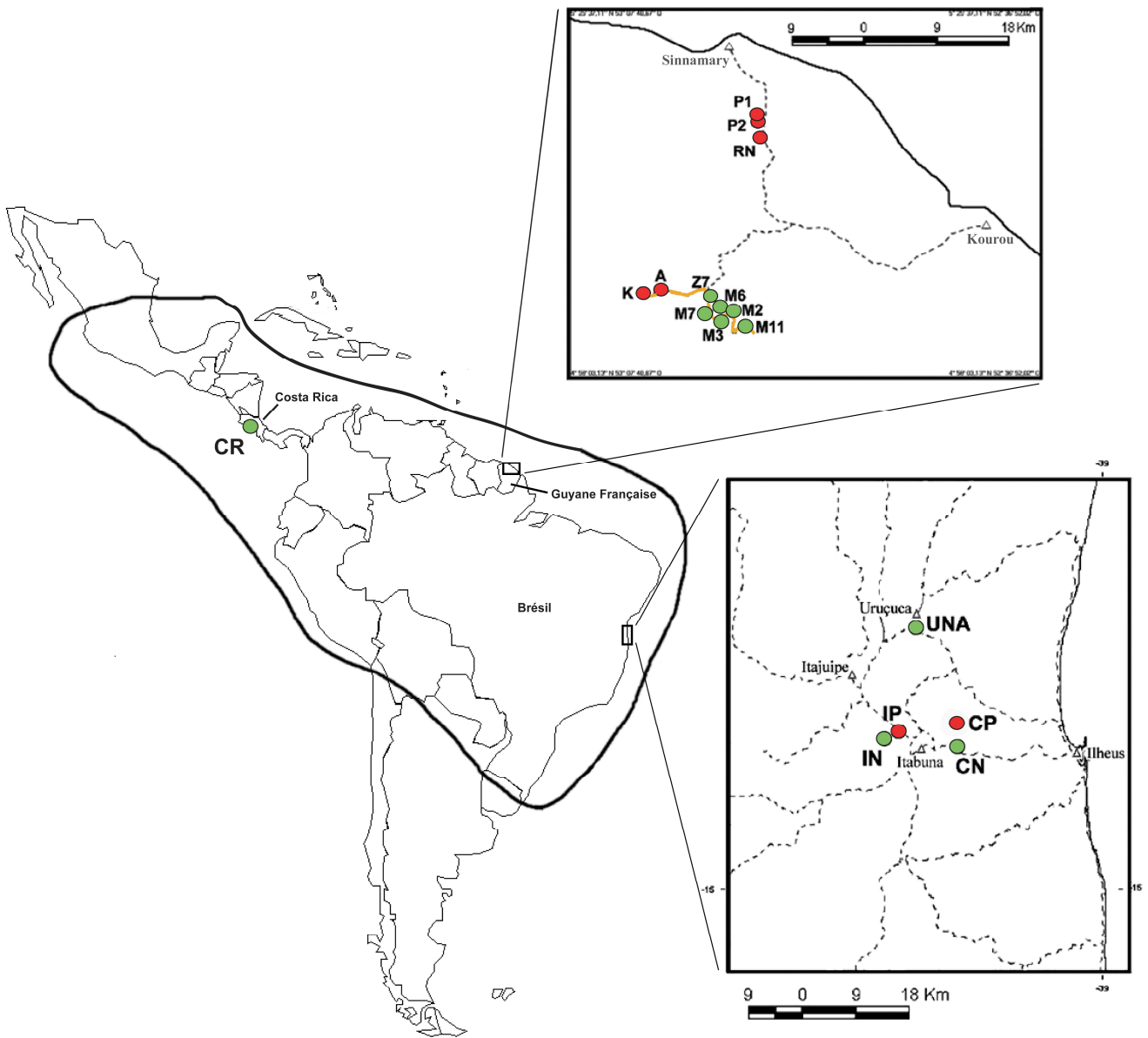
L'objectif de ce chapitre est de comprendre quels sont les facteurs et les mécanismes à l'origine de la transition de certaines populations natives d'un statut non-envahissant à un statut envahissant. Notre démarche se déroule en plusieurs étapes. Nous avons tout d'abord étudié le système de reproduction, la structure sociale et génétique, l'infection par *Wolbachia*, et le type de milieu occupé dans les populations de zones non-envahies, puis dans celles de zones envahies. La comparaison de ces différentes populations nous a permis d'étudier à la fois l'évolution du système de reproduction chez *W. auropunctata*, et les facteurs explicatifs de ces invasions dans son aire native. Nous avons ensuite étudié finement la biologie d'une population établie dans une zone de transition entre zones envahies et non-envahies.

## 2. Caractéristiques des populations des zones non-envahies

Nous avons échantillonné 10 sites non-envahis dans l'aire native de *W. auropunctata* (Tableau 5, Figure 9 ; Annexe 1.1). Une étude spécialement dédiée à la description de populations envahissantes en Guyane, utilisant des mesures objectives de densité et d'impact (Orivel et al., soumis), nous a servi de base pour la classification de nos différentes populations selon leur statut envahissant. Pour les populations n'ayant pas participé à cette étude (brésiliennes, costariciennes et quelques guyanaises), comme nous n'avons pas d'*a priori* sur la distribution passée de *W. auropunctata* et que nous n'avons pas estimé leur impact sur l'écosystème, nous avons estimé qu'un site était envahi ou non-envahi à partir d'une estimation visuelle de la densité en *W. auropunctata*. Cette méthode demeure objective dans la mesure où les différences de densité entre les sites envahis et non-envahis sont très prononcées. En effet, alors que les nids de *W. auropunctata* sont très nombreux dans les sites

**Figure 9 :** Localisation des dix sites non-envahis et des sept sites envahis échantillonnés dans l'aire native de *W. auropunctata*.

Note : Les sites non-envahis et envahis sont marqués d'un point vert et d'un point rouge, respectivement. La route guyanaise surlignée en jaune correspond à la zone de transition entre habitats naturels et perturbés étudiée section I.6.



**Tableau 5** : Sites envahis et non-envahis échantillonnés dans l'aire native de *W. auropunctata*.

Note : Les sites envahis et non-envahis sont dénotés E et NE, respectivement. Les sites perturbés par l'activité humaine et les sites non-perturbés sont dénotés D et ND, respectivement.

Site	Pays	Nombre de nids	Nombre d'individus génotypés			Habitat	Statut Envahissant	Perturbation Humaine
			Femelles	Mâles	Ouvrières			
CP	Brésil	16	144	58	128	plantation de cacao	E	D
IP	Brésil	10	50	30	80	plantation de cacao	E	D
A	Guyane	3	11	8	24	bord de route	E	D
K	Guyane	3	22	20	24	carrière	E	D
P1	Guyane	4	40	11	32	Plantation	E	D
P2	Guyane	17	62	57	136	Plantation	E	D
RN	Guyane	6	11	11	48	bord de route	E	D
CN	Brésil	20	47	39	159	forêt secondaire	NE	D
IN	Brésil	10	9	8	80	forêt secondaire	NE	D
UNA	Brésil	10	0	0	80	forêt primaire	NE	ND
CR	Costa Rica	8	25	6	63	forêt primaire	NE	ND
M2	Guyane	8	27	16	126	marigot	NE	ND
M3	Guyane	23	32	11	248	marigot	NE	ND
M6	Guyane	8	31	47	173	marigot	NE	ND
M7	Guyane	15	24	25	168	marigot	NE	ND
M11	Guyane	10	3	3	80	marigot	NE	ND
Z7	Guyane	6	3	1	48	forêt primaire	NE	ND
<b>Total</b>		<b>177</b>	<b>541</b>	<b>351</b>	<b>1697</b>			

**Tableau 6 : Illustration des génotypes des reines, mâles et ouvrières d'un nid clonal et d'un nid sexué.**

Locus	Waur1166	Waur1gam	Waur2164	Waur225	Waur275	Waur3176	Waur418	Waur521	Waur566	Waur680	Waur716	Waur730
Nid CN5 : reproduction clonale (i.e. parthénogenèse thélytoque pour les reines, clonalité pour les mâles, reproduction sexuée pour les ouvrières)												
Reines												
Q-1	096 097	288 316	275 292	225 227	117 122	226 226	108 108	205 205	259 259	165 165	194 204	195 195
Q-2	096 097	288 316	275 292	225 227	117 122	226 226	108 108	205 205	259 259	165 165	194 204	195 195
Q-3	096 097	288 316	275 292	225 227	117 122	226 226	108 108	205 205	259 259	165 165	194 204	195 195
Q-4	096 097	288 316	275 292	225 227	117 122	226 226	108 108	205 205	259 259	165 165	194 204	195 195
Mâles féconds (i.e. spermathèques)												
M-1	102	284	300	231	124	230	142	223	261	183	202	189
M-2	102	284	300	231	124	230	142	223	261	183	202	189
M-3	102	284	300	231	124	230	142	223	261	183	202	189
M-4	102	284	300	231	124	230	142	223	261	183	202	189
Ouvrières												
w-1	096 102	284 288	292 300	225 231	122 124	226 230	108 142	205 223	259 261	165 183	194 202	189 195
w-2	097 102	284 316	275 300	225 231	122 124	226 230	108 142	205 223	259 261	165 183	202 204	189 195
w-3	096 102	284 316	292 300	225 231	122 124	226 230	108 142	205 223	259 261	165 183	202 204	189 195
w-4	096 102	284 288	275 300	227 231	117 124	226 230	108 142	205 223	259 261	165 183	194 202	189 195
w-5	096 102	284 288	292 300	225 231	122 124	226 230	108 142	205 223	259 261	165 183	194 202	189 195
w-6	096 102	284 316	275 300	227 231	117 124	226 230	108 142	205 223	259 261	165 183	202 204	189 195
w-7	096 102	284 288	275 300	227 231	117 124	226 230	108 142	205 223	259 261	165 183	194 202	189 195
w-8	096 102	284 316	275 300	225 231	122 124	226 230	108 142	205 223	259 261	165 183	202 204	189 195
Nid CP5 : reproduction sexuée (i.e. reproduction sexuée pour les reines et ouvrières, parthénogenèse arrhénotoque pour les mâles)												
Reines												
Q-1	095 095	283 283	279 296	223 223	115 117	232 234	104 106	205 205	249 249	143 143	188 188	173 173
Q-2	093 095	283 283	279 279	223 223	117 119	232 238	104 104	207 211	249 269	169 175	182 184	173 178
Q-3	095 097	283 283	280 303	223 223	113 122	238 238	104 104	207 207	249 249	143 143	186 186	172 175
Q-4	099 099	283 283	279 307	223 223	119 119	232 238	104 104	205 207	249 249	153 165	186 190	173 180
Q-5	091 099	283 283	279 303	223 223	117 117	232 232	104 104	207 209	249 249	165 169	188 188	175 175
Q-6	093 095	283 283	279 279	223 223	117 117	234 234	104 106	205 207	249 249	151 167	182 190	176 178
Q-7	095 099	283 283	279 311	223 223	115 119	232 234	104 104	205 205	249 249	143 159	188 192	172 178
Mâles féconds (i.e. spermathèques)												
M-3	099	283	311	223	122	234	104	205	249	165	206	162
M-4	091	283	294	223	119	230	104	203	249	163	188	158
M-5	099	283	279	223	120	238	104	207	249	167	188	187
Ouvrières												
w-1	099 099	283 283	279 311	223 223	124 128	226 230	104 106	205 205	249 265	157 159	186 194	172 173
w-2	095 097	283 283	284 311	223 223	117 117	232 234	104 104	205 207	249 265	149 167	186 188	175 175
w-3	091 099	283 283	279 296	223 223	117 119	230 238	104 106	205 209	269 269	149 161	184 184	173 181
w-4	091 099	283 283	279 280	223 223	115 119	232 232	104 106	205 207	249 249	143 167	186 186	173 173
w-5	097 099	283 283	279 279	223 223	113 119	230 236	104 106	205 207	249 265	151 167	188 192	172 173
w-6	091 097	283 283	279 296	223 223	122 124	226 238	104 106	205 207	249 249	157 161	186 188	173 175
w-7	099 099	283 283	279 279	223 223	117 119	228 232	106 106	205 205	249 249	143 161	188 206	172 178
w-8	091 095	283 283	280 307	223 223	115 117	232 234	104 106	205 207	249 249	143 153	180 188	173 173

envahis et que leur échantillonnage ne prend au maximum que quelques heures, l'échantillonnage des sites non-envahis a toujours pris plusieurs jours tant les densités de population y sont faibles. Cette classification visuelle a été validée sur les sites envahis et non-envahis ayant bénéficié de mesures de densité et d'impact des populations de *W. auropunctata*. En effet, la densité moyenne estimée des nids dans les zones non-envahies est de 0,014 nids/m<sup>2</sup>, alors qu'elle est supérieure à 2 nids/m<sup>2</sup> dans tous les sites envahis mesurés (et peut dépasser les 4 nids/m<sup>2</sup> ; Orivel et al., soumis)

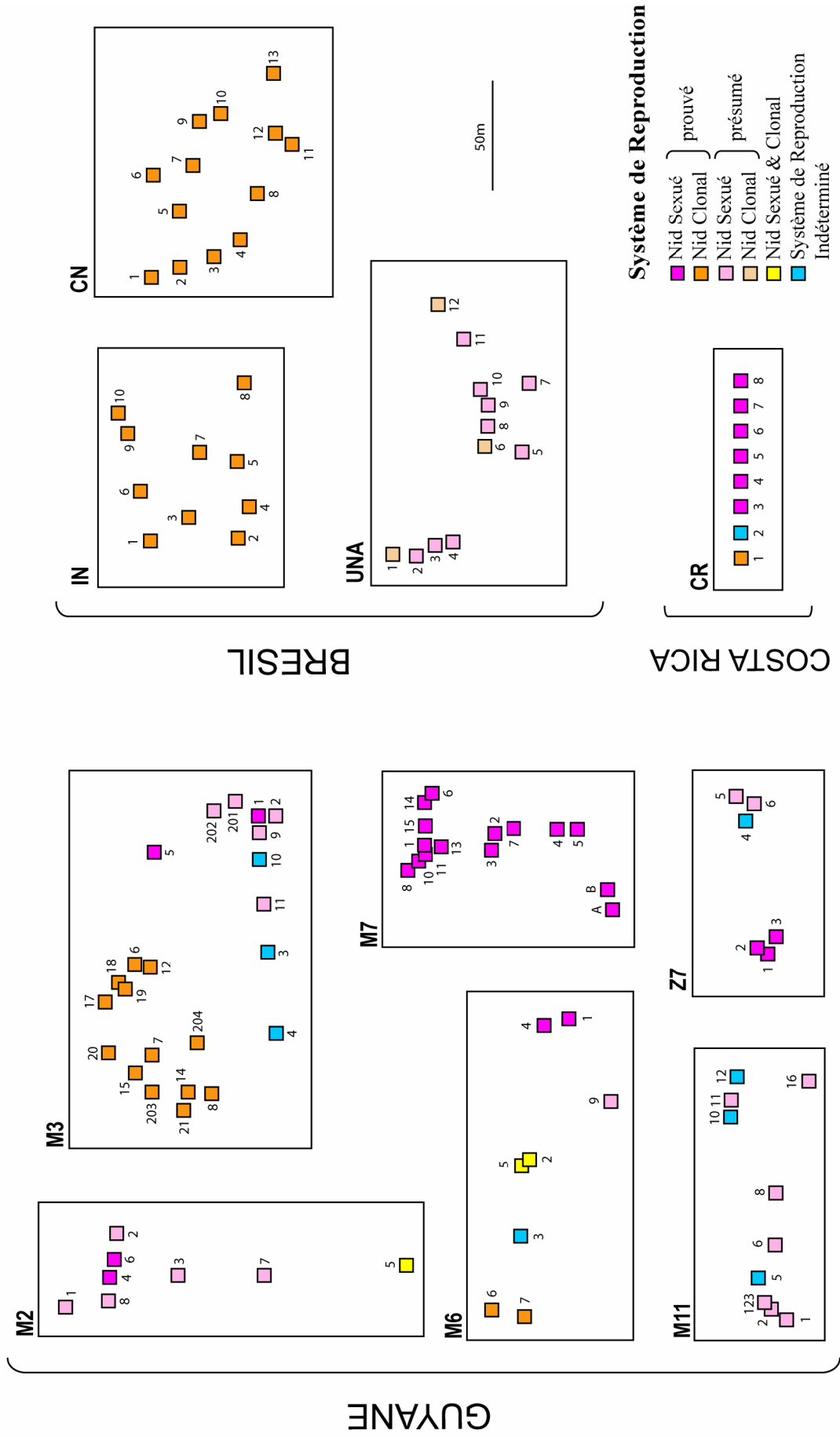
## 2.1 Système de reproduction

Pour inférer le système de reproduction des populations des 10 sites non-envahis échantillonnés, nous avons génotypé les reines, mâles et ouvrières de 118 nids brésiliens, guyanais et costariciens à 12 locus microsatellites (Tableau 5; Annexe 1.3.1). Sur les 201 reines génotypées, 75 reines appartenant à 22 nids montrent une preuve directe de parthénogenèse thélytoque (i.e. identiques à tous les locus à au moins une autre reine ; Tableau 6 ; voir illustration ci-après). Sur les 156 mâles génotypés, 64 mâles appartenant à 24 nids montrent une preuve directe de clonalité (i.e. identiques à tous les locus à au moins un autre mâle ; Tableau 6). Nous avons également pu inférer de manière indirecte la présence de clonalité mâle et femelles dans 21 autres nids. Cela a été le cas lorsque des génotypes de sexués diffèrent de génotypes de sexués clonaux soit (i) par un motif microsatellite en plus ou en moins à l'un des 12 locus microsatellites (ce pattern correspondant probablement à une mutation au locus microsatellite), soit (ii) par l'homozygotie d'un locus hétérozygote d'une reine clonale (ce pattern correspondant probablement à un événement de recombinaison ou de conversion génique pendant une parthénogenèse automictique ou apomictique, respectivement). Nous avons également considéré un nid comme étant clonal lorsque, en l'absence de sexués échantillonnés, les génotypes du mâle et de la reine inférés des génotypes des ouvrières étaient identiques à des génotypes de sexués identifiés comme clonaux. Au total, nous avons dénombré 47 nids clonaux sur 118 échantillonnés dans les sites non-envahis. Ces nids clonaux de zones non-envahies sont présents en Guyane, au Brésil et au Costa Rica. Dans tous les nids échantillonnés à l'exception de trois d'entre eux, lorsqu'un sexe était clonal, l'autre l'était aussi.

Nous avons également prouvé l'occurrence de production sexuée des mâles et des reines dans 33 nids, présents dans tous les pays échantillonnés. Les reines et gyènes (i.e. reines

**Figure 10 :** Localisation et système de reproduction des nids de zones natives non-envahies.

Note : Les chiffres correspondent aux numéros des nids. Les nids brésiliens échantillonnés en 2004 n'ont pas été représentés. La localisation relative des différents nids n'étant pas disponibles pour le Costa Rica, la représentation pour ce site est schématique.



vierges) de ces nids ne présentent jamais de génotypes identiques mais des patterns de recombinaison sexuée d'un même pool allélique (Tableau 6). Par exemple, certaines de ces reines montrent un pattern génotypique classique d'une relation de pleines sœurs chez les haplodiploïdes (i.e. partagent 75% de leurs allèles). Les génotypes des mâles de ces nids portent les allèles des reines et gynes du même nid, en accord avec leur production par parthénogenèse arrhénotoque (i.e. à partir d'œufs non fécondés se développant en mâles haploïdes). Dans ces nids, la production sexuée des reproducteurs est aussi évidente car les reines et les ouvrières sont indiscernables d'après leurs génotypes (au contraire des nids clonaux). Enfin, les pools alléliques mâle et femelle sont mélangés comme attendu sous l'hypothèse de reproduction sexuée. Nous n'avons quasiment jamais échantillonné de reproducteurs clonaux dans un nid sexué. Les nids sont donc soit clonaux, soit sexués. Seuls trois nids sur 118 font exception avec la preuve directe de production des reines par sexualité et la preuve directe de production des mâles à la fois par sexualité et par clonalité.

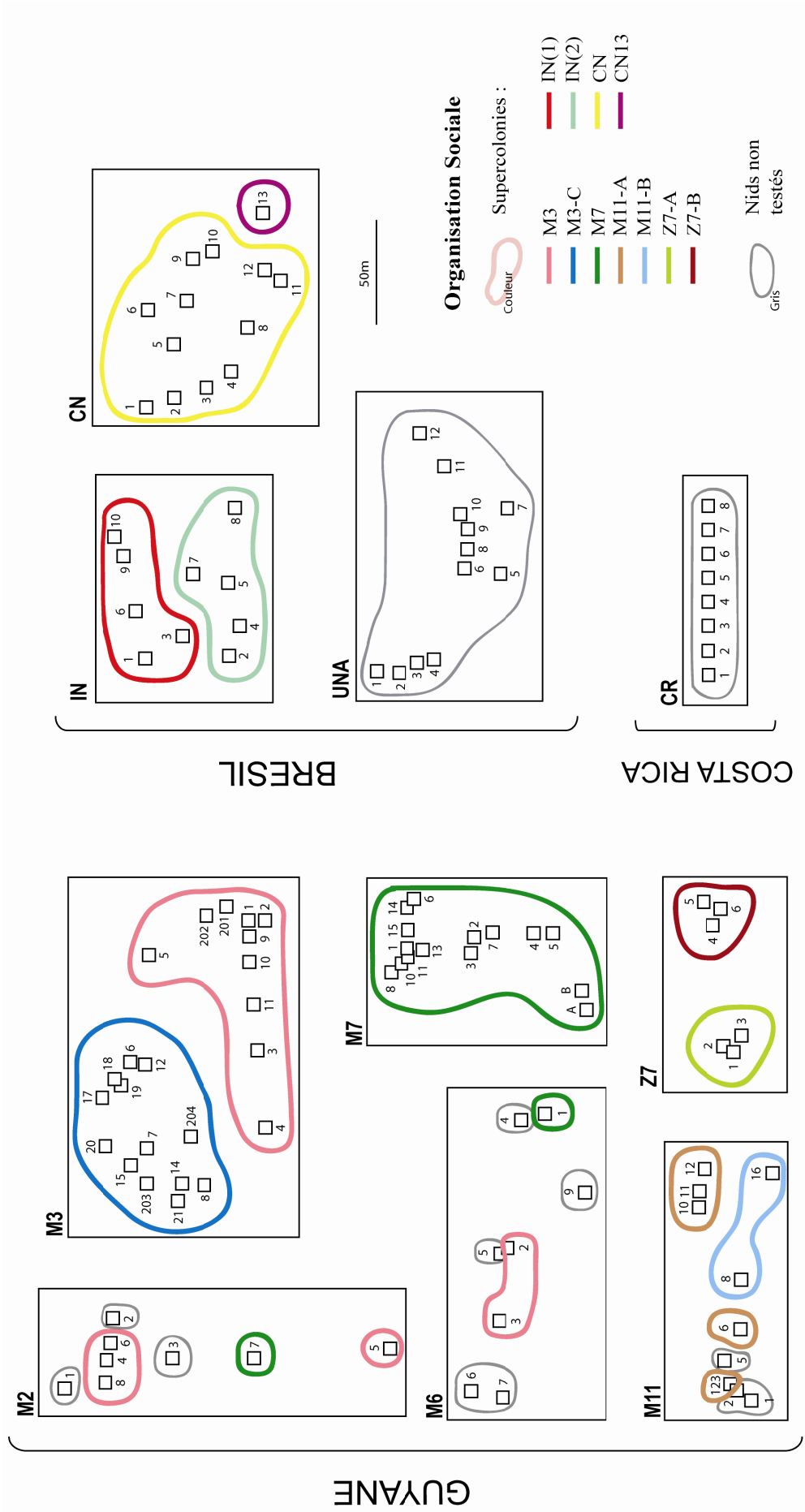
Le type de système de reproduction n'a pas pu être prouvé pour 41 nids. Nous n'avons pu collecter aucun reproducteur dans ces nids et soit les génotypes parentaux n'ont pas pu être inférés de manière certaine à partir des génotypes des ouvrières, soit les génotypes parentaux suggérés n'ont donné aucune indication sur le type de système de reproduction du nid. Sur ces 41 nids, neuf sont issus de la reproduction d'un seul couple si bien qu'aucune inférence sur le système de reproduction n'est possible. Pour 27 des 32 nids restants, la présence de nombreux parents aux génotypes très divers suggère néanmoins une production sexuée des reproducteurs (sans démonstration stricte). Enfin, pour les cinq derniers nids, le fait que les génotypes parentaux inférés soient identiques entre eux mais à aucun génotype clonal avéré ne fait que suggérer une reproduction clonale.

Dans tous les nids échantillonnés, clonaux ou sexués, les ouvrières ont été produites par la reproduction sexuée des génotypes mâle et femelle présents (Tableau 6). On remarque pourtant la présence de rares groupes d'ouvrières possédant des génotypes identiques. Pour la plupart, les ouvrières de ces groupes appartiennent à différents sites distants de plusieurs kilomètres et n'ont donc pas pu être produites par la même reine. La production d'ouvrières est donc strictement sexuée, quelle que soit le mode de production des individus reproducteurs.

La répartition spatiale des nids clonaux et sexués est disjointe. Sur 10 sites échantillonnés, cinq sites ne possèdent que des nids sexués, deux sites que des nids clonaux et trois sites possèdent à la fois des nids clonaux et sexués (Figure 10). A l'échelle de deux de

**Figure 11** : Organisation sociale (et système de reproduction) des nids des zones natives non-envahies.

Note : Les chiffres correspondent aux numéros des nids. Les nids brésiliens échantillonnés en 2004 n'ont pas été représentés. La localisation relative des différents nids n'étant pas disponibles pour le Costa Rica, la représentation pour ce site est schématique.





ces derniers sites (M3 et M6), les nids clonaux et sexués sont proches (moins de 30m), mais jamais mélangés.

En conclusion, une majorité de populations non-envahissantes possèdent un système de reproduction sexué. Pourtant, il existe des exceptions : on peut trouver des poches clonales au milieu de sites non-envahis (M6 et M3 en Guyane, CR au Costa Rica) et jusqu'à des populations entièrement clonales dans certains sites non-envahis (CN et IN au Brésil).

## 2.2 Structure sociale et génétique

Nous avons inféré la structure sociale des nids de *W. auropunctata* en utilisant un protocole de tests d'agressivité (voir Annexe 1.2), déjà utilisé pour caractériser l'organisation sociale des nombreuses espèces de fourmis envahissantes y compris la petite fourmi de feu (Le Breton et al. 2004; Pedersen et al. 2006). Nous avons ainsi testé 192 paires de nids de huit sites non-envahis, correspondant à 1444 tests indépendants.

Nos résultats montrent que les nids des sites non-envahis sont organisés en larges unités comportementales (i.e. en supercolonies ; Figure 11). A l'intérieur de ces supercolonies, le niveau d'agressivité entre ouvrières de différents nids est très faible. Au contraire, l'agressivité entre ouvrières de nids appartenant à différentes supercolonies est très élevée. Nous avons dénombré 11 supercolonies dans les huit sites non-envahis testés. Ces supercolonies s'étendent sur quelques centaines à quelques milliers de mètres carrés. Neuf de ces supercolonies s'étendent sur tout un site, et deux supercolonies guyanaises englobant tout ou une grande partie d'un site (M7 et M3, respectivement) se partagent également deux autres sites (M2 et M6).

Toutes les supercolonies contiennent des nids soit sexués, soit clonaux. Comme ces supercolonies possèdent généralement des reproducteurs différents entre elles, la structuration génétique entre les différentes supercolonies à l'échelle du paysage est forte (Tableau 7A). On peut distinguer 3 types de supercolonies, selon le type de système de reproduction et leur structuration génétique interne (Tableau 7B).

Les supercolonies clonales ne contiennent généralement qu'un seul couple composé d'un génotype femelle clonal et d'un génotype mâle clonal. Plus rarement, ces supercolonies contiennent un génotype femelle clonal et plusieurs génotypes mâles clonaux. Les différents génotypes reproducteurs ne sont pas partagés par des supercolonies clonales différentes, même si elles sont voisines. En accord avec ces résultats, la structuration génétique des

**Tableau 7 :** Structuration génétique entre et à l'intérieur des supercolonies clonales et sexuées de zones non-envahies de l'aire d'origine de *W. auropunctata*.

Note : Les valeurs dénommées  $F_{supercolony-total}$  et  $F_{nest-supercolony}$  correspondent à l'estimateur du  $F_{st}$  de Wright calculé respectivement à l'échelle des zones non-envahies guyanaises (i.e. du déficit en hétérozygotes parmi les supercolonies d'un paysage) et à l'échelle de supercolonies individuelles des zones non-envahies (i.e. du déficit en hétérozygotes parmi les nids d'une même supercolony), selon Weir & Cockerham (1984). Le premier calcul de  $F_{st}$  hiérarchisés a été effectué sur le jeu de données guyanais uniquement. Le second calcul de  $F_{st}$  intra-supercolonies n'a pas été effectué pour M11-B et CN13 car le nombre de nids était trop faible. L'erreur standard a été obtenue à partir d'un *jackknife* sur les loci. La significativité a été obtenue à partir de 10 000 permutations aléatoire des géotypes parmi les nids (NS : non significatif ; \* :  $p < 0,05$  ; \*\* :  $p < 0,01$  ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ).

(A) Structuration génétique à l'échelle des zones non-envahies guyanaises.

	Valeur	Significativité
$F_{Supercolony-Total}$	0,182	**
$F_{Nest-Supercolony}$	0,161	**

(B) Structuration génétique intra-supercolonies de zones non-envahies de l'aire native

Supercolony	Système de Reproduction	Nb nids	$F_{nest-supercolony}$	significativité
M3-C	Clonal	13	0.021 ± 0.020	NS
CN	Clonal	12	0.006 ± 0.005	NS
IN(1)	Clonal	5	0.084 ± 0.012	*
IN(2)	Clonal	5	0.123 ± 0.024	**
Z7-A	Sexué	3	0.006 ± 0.009	NS
M7	Sexué	17	0.067 ± 0.006	***
M3	Sexué	16	0.255 ± 0.014	***
M11-A	Sexué	5	0.278 ± 0.024	***
Z7-B	Sexué	3	0.233 ± 0.052	***

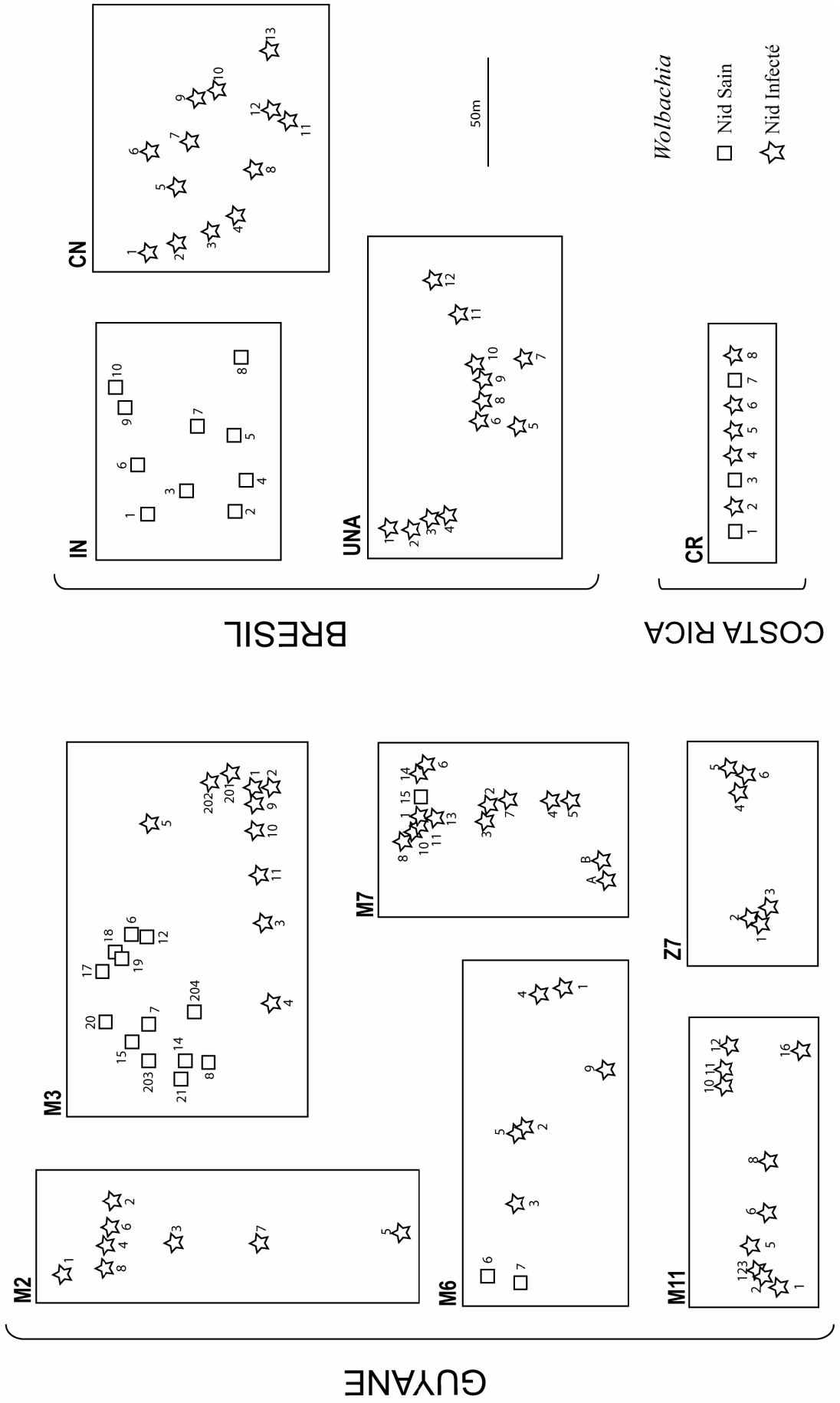
supercolonies clonales dépend du nombre de mâles présents. Elle est très faible si un seul mâle est présent (M3-C, CN ; Tableau 7B ; Annexe 5.1), et légèrement plus élevée si plusieurs mâles sont présents (IN1, IN2 ; Tableau 7B). De manière concordante avec le faible nombre de reproducteurs et la structuration en nid, l'apparement intranidal des ouvrières est très élevé. Ces résultats indiquent que les supercolonies clonales sont des ensembles génétiques très fermés, à l'intérieur desquels il y a peu de mouvement d'ouvrières et de reproducteurs, même s'il est théoriquement possible.

Les supercolonies sexuées sont de deux types selon leur niveau de structuration. Certaines supercolonies sont peu structurées (M7, Z7-A ; Tableau 7B), entraînant un apparement très faible chez les ouvrières d'un même nid. Cette très faible structuration indique que les mouvements de reproducteurs et/ou d'ouvrières sont très fréquents dans ces supercolonies sexuées. Ces supercolonies sont donc structurellement identiques aux supercolonies d'autres espèces de fourmis envahissantes. Elles correspondent à la définition du terme selon Pedersen, qui oppose les « supercolonies », non-structurées, aux « colonies structurées » des espèces multicoloniales (Pedersen et al. 2006).

D'autres supercolonies sexuées sont au contraire génétiquement très structurées (M3, M11-A ; Tableau 7B), avec un apparement intranidal significatif chez les ouvrières. Ce type de supercolonies génétiquement structurées n'a jamais été rencontré auparavant et n'est pas envisagé dans la définition de Pedersen. L'existence de telles supercolonies apparaît peu compatible avec la théorie de sélection de parentèle (Hamilton 1964; Pedersen et al. 2006), car les ouvrières de différents nids semblent s'agresser ou non selon des critères à première vue indépendants de leur patrimoine génétique. Deux hypothèses non-exclusives pourraient néanmoins expliquer l'existence de supercolonies sexuées structurées génétiquement. Une première hypothèse serait l'existence de facteurs environnementaux agissant sur la reconnaissance du soi et le comportement chez *W. auropunctata*, comme déjà prouvé chez d'autres espèces de fourmis (Silverman & Liang 2001; Tsutsui 2004). La grande taille des supercolonies sexuées semble pourtant incompatible avec un seul effet environnemental explicatif du comportement observé. Deuxièmement, les marqueurs microsatellites neutres, utilisés ici pour estimer l'apparement entre groupes d'ouvrières, ont peu de chance d'être liés aux gènes codant pour les hydrocarbures cuticulaires réellement utilisées par les ouvrières pour la reconnaissance du soi. Il ne serait donc pas surprenant que ces derniers gènes, potentiellement soumis à de fortes pressions de sélection, présentent un patron différent de celui des marqueurs neutres utilisés ici. L'apparement tel que perçu par les ouvrières de *W.*

**Figure 12 : Infection par *Wolbachia* dans les nids des zones natives non-envahies**

Note : Les chiffres correspondent aux numéros des nids. Les nids brésiliens échantillonnés en 2004 n'ont pas été représentés. La localisation relative des différents nids n'étant pas disponibles pour le Costa Rica, la représentation pour ce site est schématique.



*auropunctata* serait dans ce cas différent de celui mesuré par nos marqueurs neutres, qui rendraient compte des comportements observés de manière imparfaite.

### 2.3 Infection par *Wolbachia*

Nous avons testé la présence ou l'absence d'infection par *Wolbachia* pour 292 individus appartenant à la totalité des 118 nids échantillonnés en zones non-envahies de l'aire native de *W. auropunctata* (Annexe 1.3.2). La grande majorité des individus de zones non-envahies sont infectés par *Wolbachia* (Figure 12) : 218 tests se sont révélés positifs alors que 74 sont négatifs. La prévalence d'infection n'est pas dépendante de la caste des individus, mais de leur nid d'origine : pour la quasi-totalité des nids, tous les individus testés d'un même nid sont soit positifs, soit négatifs ( $2,5 \pm 1,2$  individus testés/nid). Seuls trois nids font exception avec à la fois des individus positifs et négatifs. Ces derniers nids sont très probablement globalement positifs, car il a été montré que les individus touchés peuvent perdre leur infection avec l'âge (Wenseleers et al. 2002).

Les populations brésiliennes, guyanaises et costariciennes sont toutes infectées à de très fort taux (70%, 77% et 63%, respectivement). La présence de *Wolbachia* dans de nombreuses populations natives de *W. auropunctata* n'est pas une surprise, puisqu'on estime qu'elle est présente chez près de 80 % des espèces d'arthropodes (Jeyaprakash & Hoy 2000) et en particulier très présente chez les Formicidés (Wenseleers & Billen 2000).

## 3. Caractéristiques des populations des zones envahies

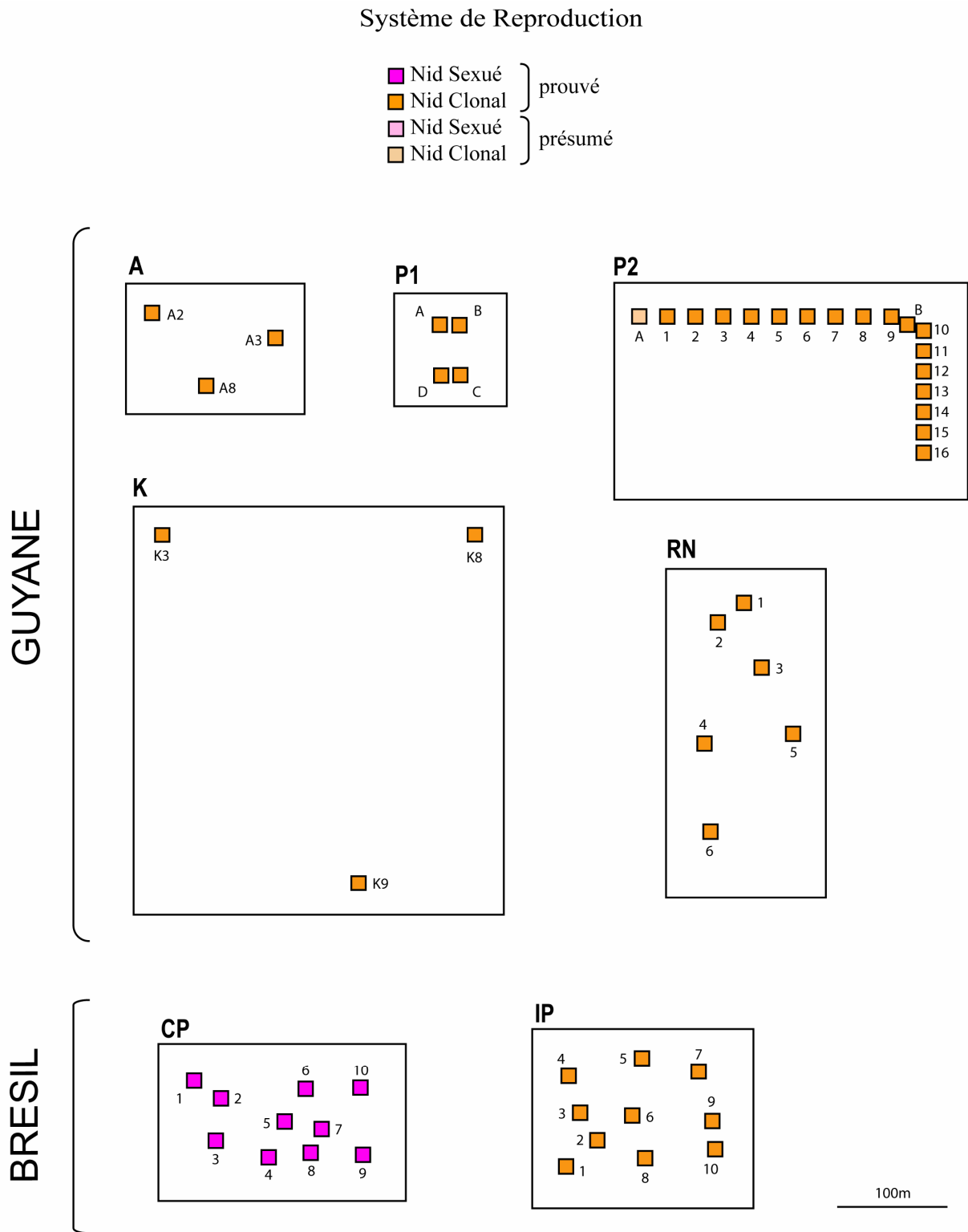
Nous avons échantillonné sept sites envahis dans l'aire native de *W. auropunctata* (Tableau 5, Figure 9 ; Annexe 1.1). Comme pour les zones non-envahies, nous avons estimé qu'un site était envahi à partir d'une estimation visuelle de la densité en *W. auropunctata*, validée par des mesures objectives de densités et d'impact sur l'écosystème envahi pour certaines populations (Orivel et al., soumis).

### 3.1 Système de reproduction

Pour inférer le système de reproduction des populations envahissantes de *W. auropunctata* dans son aire native, nous avons génotypé les reines, mâles et ouvrières de 59

**Figure 13 :** Système de reproduction des nids des zones natives envahies.

Note : Les chiffres correspondent aux numéros des nids. Les nids brésiliens échantillonnés en 2004 n'ont pas été représentés.



nids brésiliens et guyanais à 12 locus microsatellites (Tableau 5; Annexe 1.3.1). Sur les 340 reines génotypées, 195 reines appartenant à 41 nids montrent une preuve directe de parthénogenèse thélytoque (Tableau 6). Sur les 195 mâles génotypés, 135 mâles appartenant à 38 nids montrent une preuve directe de clonalité (Tableau 6). Nous avons également pu inférer de manière indirecte la présence de clonalité dans un autre nid. Au total, nous avons dénombré 42 nids clonaux sur 59 échantillonnés dans les sites envahis. Ces nids clonaux de zones envahies sont présents en Guyane et au Brésil (le Costa Rica n'ayant pas été échantillonné en zone envahie). Dans tous les nids échantillonnés, lorsqu'un sexe était clonal, l'autre l'était aussi.

Nous avons également prouvé l'occurrence de production sexuée des mâles et des reines dans les 16 nids d'un site envahi du Brésil. Nous n'avons pas détecté le moindre reproducteur clonal dans les nids sexués. Comme pour les zones non-envahies, l'intégralité des ouvrières a été produite par reproduction sexuée, que ce soit dans les nids clonaux ou sexués.

La répartition spatiale des nids clonaux et sexués est totalement disjointe. Sur les sept sites envahis échantillonnés, six sites ne possèdent que des nids clonaux et un site uniquement des nids sexués (Figure 13).

### 3.2 Structure sociale et génétique

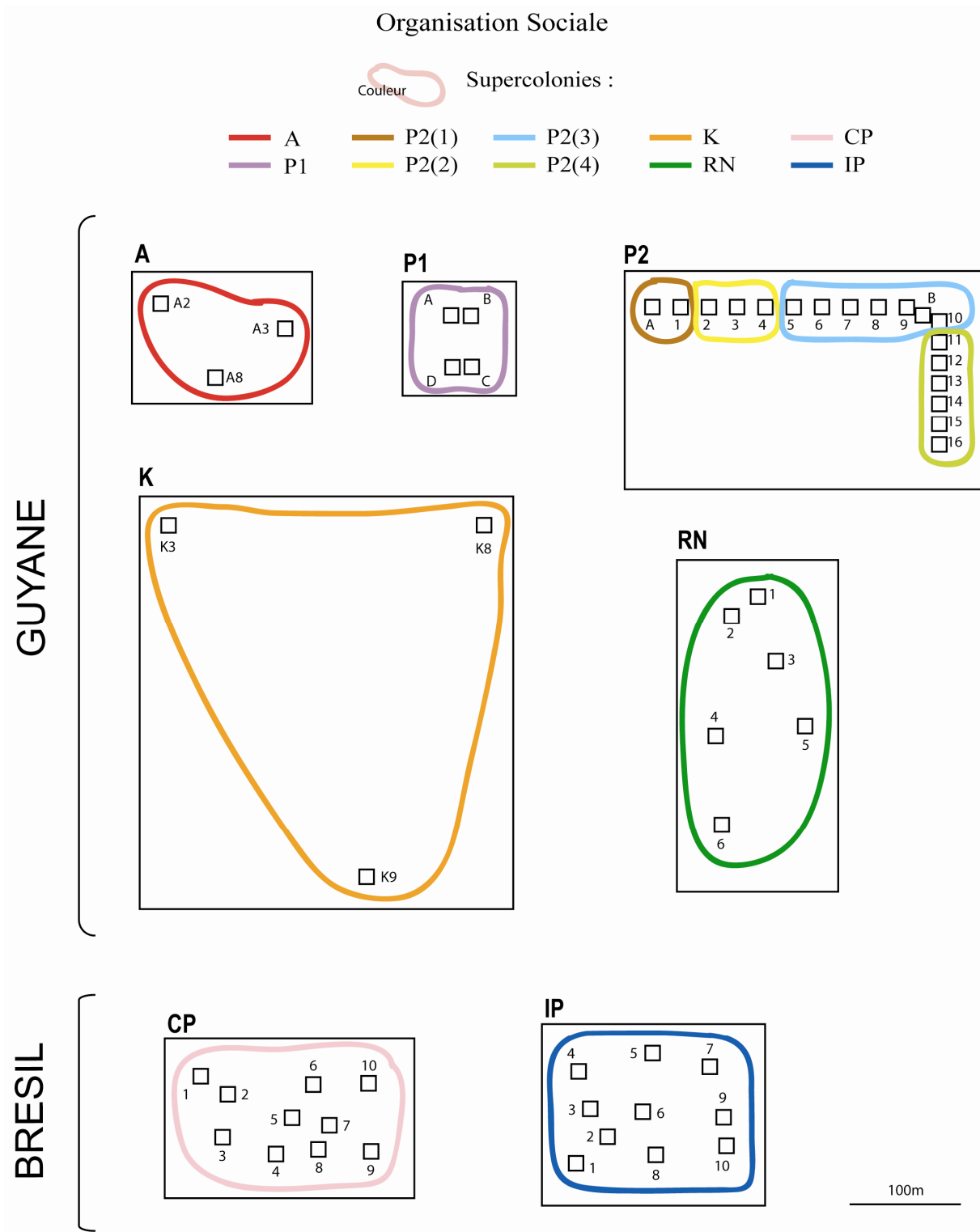
Pour inférer la structure sociale des populations de zones envahies, nous avons testé l'agressivité des ouvrières de 88 paires de nids de tous les sites échantillonnés, correspondant à 962 tests indépendants (Annexe 1.2).

Nos résultats montrent que les nids des sites envahis sont organisés en larges unités comportementales (i.e. en supercolonies) de la même manière que les sites non-envahis. Nous avons dénombré 10 supercolonies dans les sept sites envahis. Ces supercolonies sont de taille similaire à celles de zones non-envahies (quelques centaines à quelques dizaines de milliers de mètres carrés). Six supercolonies s'étendent chacune sur la totalité d'un site envahi, alors que quatre supercolonies guyanaises se partagent un seul site (P2 ; Figure 14).

Toutes les supercolonies contiennent des nids soit clonaux (pour six d'entre elles), soit sexués (pour une seule, CP). Comme dans les zones non-envahies, les supercolonies clonales de zones envahies ne contiennent généralement qu'un seul couple de génotypes clonaux

**Figure 14 :** Organisation sociale des nids des zones natives envahies.

Note : Les chiffres correspondent aux numéros des nids. Les nids brésiliens échantillonnés en 2004 n'ont pas été représentés.





**Tableau 8 :** Structuration génétique entre et à l'intérieur des supercolonies clonales et sexuées de zones envahies de l'aire d'origine de *W. auropunctata*.

Note : Les valeurs dénommées  $F_{supercolony-total}$  et  $F_{nest-supercolony}$  correspondent à l'estimateur du  $F_{st}$  de Wright calculé respectivement à l'échelle des zones envahies guyanaises (i.e. du déficit en hétérozygotes parmi les supercolonies d'un paysage) et à l'échelle de supercolonies individuelles des zones envahies (i.e. du déficit en hétérozygotes parmi les nids d'une même supercolonie), selon Weir & Cockerham (1984). Le premier calcul de  $F_{st}$  hiérarchisés a été effectué sur le jeu de données guyanais uniquement. Le second calcul de  $F_{st}$  intra-supercolonie n'a pas été effectué pour P2(1) car le nombre de nids était trop faible. L'erreur standard a été obtenue à partir d'un *jackknife* sur les loci. La significativité a été obtenue à partir de 10 000 permutations aléatoire des génotypes parmi les nids (NS : non significatif ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ).

(A) Structuration génétique à l'échelle des zones envahies guyanaises.

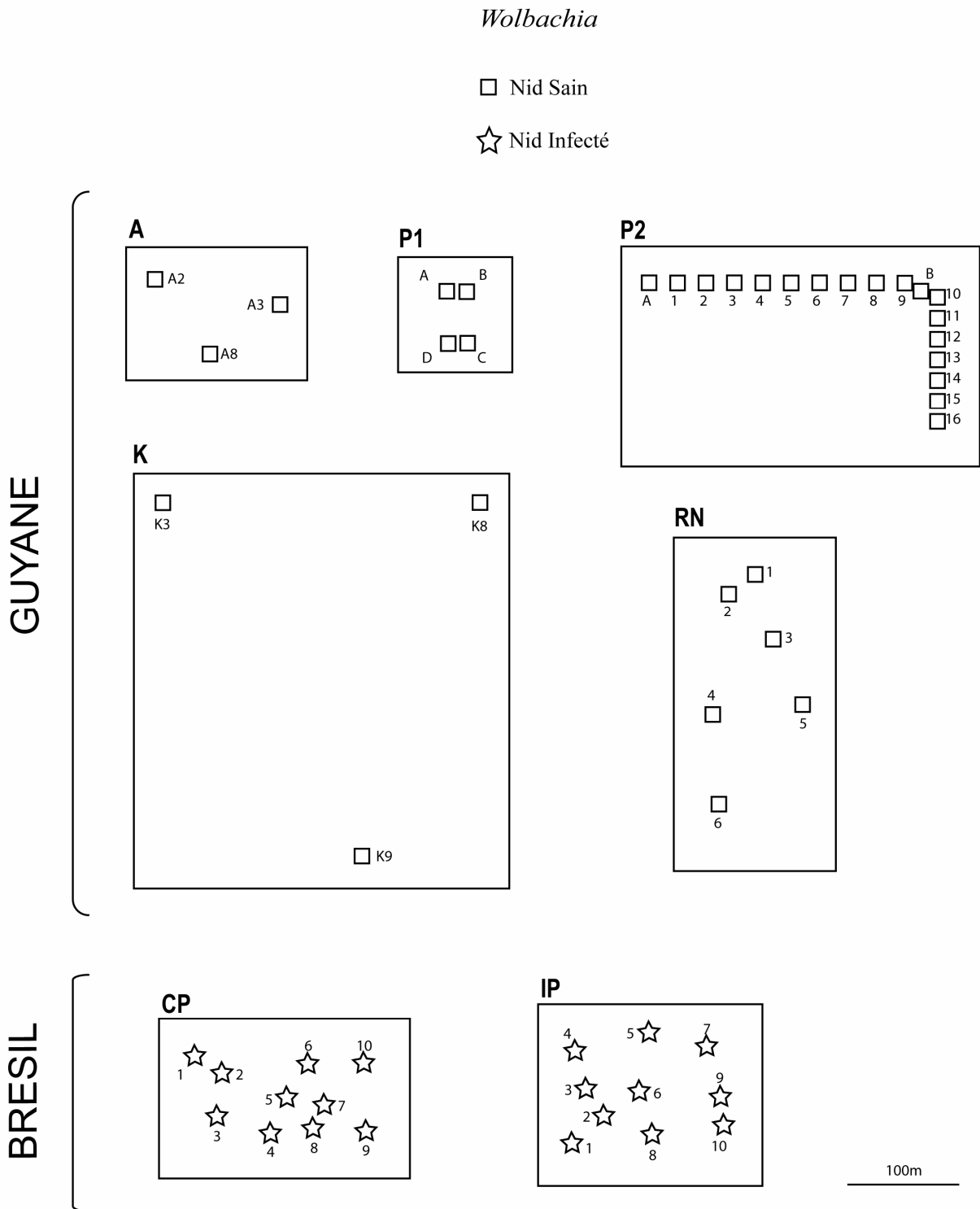
	Valeur	Significativité
$F_{Supercolony-Total}$	0,231	**
$F_{Nest-Supercolony}$	0,152	**

(B) Structuration génétique intra-supercolonies de zones envahies de l'aire native

Supercolonie	Système de Reproduction	Nb nids	$F_{nest-supercolony}$	significativité
A	Clonal	3	-0.001 ± 0.006	NS
K	Clonal	3	0.264 ± 0.042	***
P1	Clonal	4	-0.003 ± 0.005	NS
P2(2)	Clonal	3	0.006 ± 0.011	NS
P2(3)	Clonal	6	-0.002 ± 0.002	NS
P2(4)	Clonal	6	0.132 ± 0.027	***
RN	Clonal	6	-0.003 ± 0.004	NS
IP	Clonal	10	0.009 ± 0.006	NS
CP	Sexué	10	0.008 ± 0.007	NS

**Figure 15 :** Infection par *Wolbachia* dans les nids des zones natives envahies.

Note : Les chiffres correspondent aux numéros des nids. Les nids brésiliens échantillonnés en 2004 n'ont pas été représentés.



mâles et femelles. Dans trois supercolonies clonales, on peut pourtant observer 2 couples de génotypes différents cohabiter.

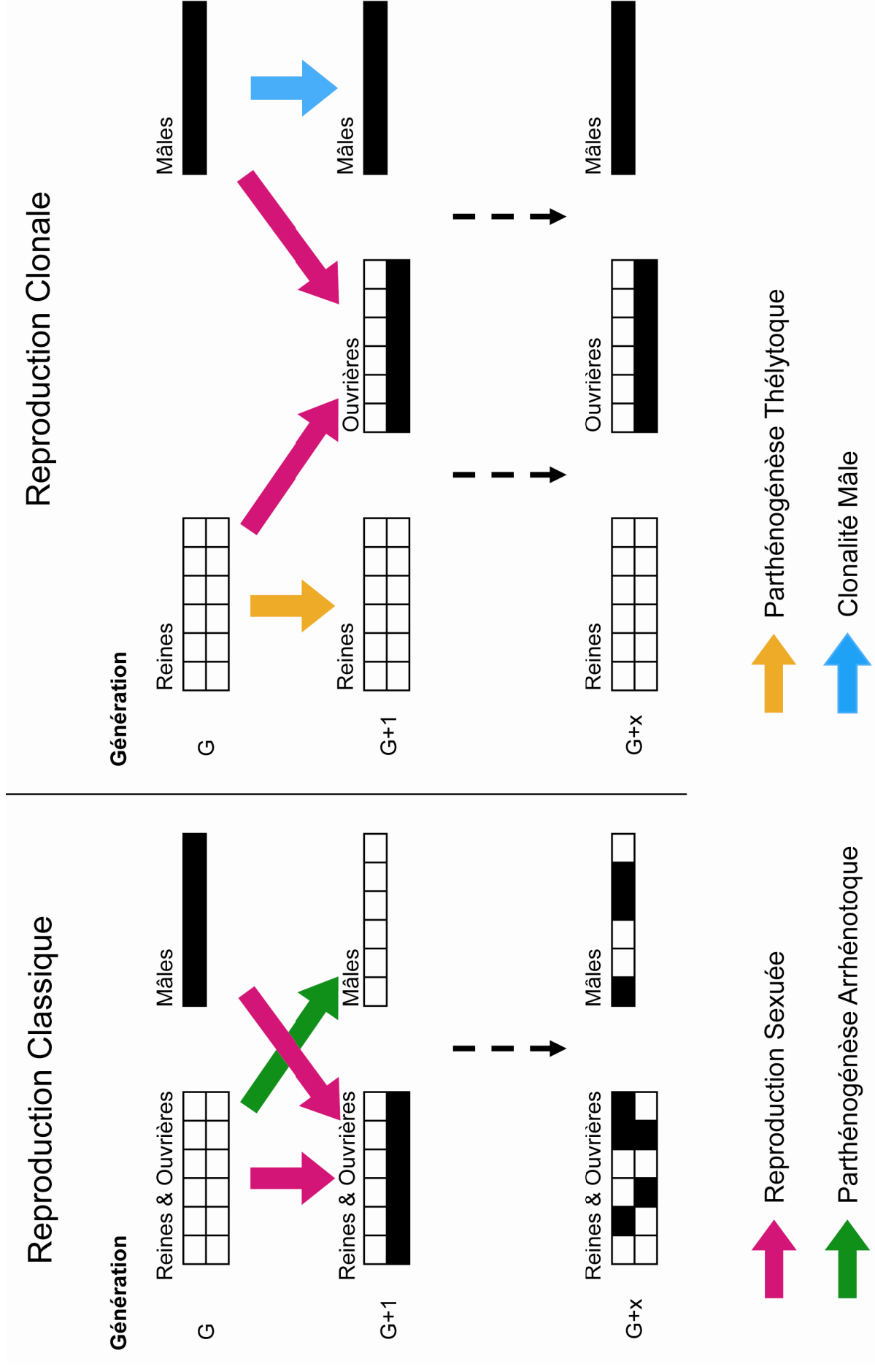
La structuration génétique observée est cohérente avec nos résultats de tests d'agressivité (i.e. différentes supercolonies sont génétiquement différenciées ; Tableau 8A) et nos connaissances sur le système de reproduction de chacune des supercolonies envahissantes. Pour six supercolonies clonales où nous avons observé un seul couple participant à la reproduction, les supercolonies ne sont pas structurées au niveau du nid (A, P1, P2(2), P2(3), RN, IP ; Tableau 8B) et l'apparentement intranidal des ouvrières est proche de ou égal à zéro. Pour les supercolonies clonales où plusieurs couples sont présents, la structuration au niveau du nid est élevée (K, P2(4) ; Tableau 8B), ainsi que l'apparentement intranidal des ouvrières. Enfin, la supercolonie sexuée envahissante n'est pas structurée au niveau du nid (entraînant un apparentement intranidal des ouvrières de cette supercolonie nul), ce qui indique des échanges fréquents de reproducteurs et d'ouvrières à l'échelle de la supercolonie.

### 3.3 Infection par *Wolbachia*

Nous avons testé la présence d'infection par *Wolbachia* pour 150 individus appartenant à la totalité des 59 nids échantillonnés en zones envahies de l'aire native de *W. auropunctata* (Annexe 1.3.2). Le statut infectieux des populations envahissantes est totalement opposé en Guyane et au Brésil. Alors que les huit populations envahissantes guyanaises sont saines, les deux populations brésiliennes sont infectées (Figure 15). Pour la totalité des nids testés, tous les individus d'un même nid sont soit positifs, soit négatifs ( $2,5 \pm 1$  individus testés/nid).

Le fait que les populations envahissantes guyanaises soient toutes saines alors que les populations non-envahissantes soient très majoritairement infectées suggère un possible effet d'*enemy release* en Guyane. Au contraire, les populations envahissantes brésiliennes sont tout autant infectées que les populations non-envahissantes. Cette différence pourrait s'expliquer par des infections par différentes souches de *Wolbachia*, aux effets négatifs très probablement variables (Werren et al. 1995; Werren 1997). Cet aspect sera développé plus loin.

Figure 16 : Schéma des différents types de système de reproduction chez *W. auropunctata*.



## 4. Evolution du système de reproduction chez *W. auropunctata*

Nos résultats démontrent clairement que deux systèmes de reproduction coexistent chez *W. auropunctata*. D'une part, les reines et les mâles de certaines populations de *W. auropunctata* se reproduisent classiquement pour une espèce haplodiploïde (i.e. sexualité pour les reines et parthénogenèse arrhénotoque pour les mâles, Figure 16). D'autre part, les reines et les mâles d'autres populations possèdent chacun un type de reproduction asexuée : parthénogenèse thélytoque pour les reines et clonalité pour les mâles. Par contre, les ouvrières sont le résultat de reproduction sexuée dans les populations clonales aussi bien que dans les populations sexuées. Avant d'étudier les relations entre ces différents systèmes de reproduction et le potentiel envahissant de certaines populations de *W. auropunctata*, plusieurs questions fondamentales se posent concernant ce polymorphisme de systèmes de reproduction : (i) les populations clonales et sexuées forment-elles une seule espèce ? (ii) Quels sont les origines et mécanismes de la parthénogenèse thélytoque et de la clonalité mâle chez *W. auropunctata* ? (iii) Quel est le système de détermination de la caste chez *W. auropunctata* ?

### 4.1 Relations génétiques entre populations clonales et sexuées

Pour répondre à la question des relations génétiques entre populations clonales et sexuées de *W. auropunctata*, nous avons tout d'abord étudié un fragment du gène mitochondrial *COI* chez 93 individus clonaux et sexués (Annexe 1.3.3). L'arbre en Maximum de Vraisemblance obtenu à partir de ce fragment de gène indique que les individus clonaux et sexués ne forment pas deux clusters distincts (Figure 17 ; Annexe 1.5.2). Ce résultat est confirmé par le test de Shimodaira-Hasegawa (SH), qui démontre que les données ne supportent significativement pas le regroupement des individus selon leur type de système de reproduction (test SH :  $p < 10^{-3}$ ). Quelque soit leur système de reproduction, tous les groupes d'haplotypes mitochondriaux sont très similaires à l'intérieur du clade *W. auropunctata* (la distance moyenne par paire entre haplotypes clonaux et sexués est égale à 1.8% en utilisant le modèle K2P), alors qu'ils sont très différents des haplotypes de l'espèce proche *Wasmannia rochai* (distance moyenne par paire de 16.9% en utilisant le modèle K2P).

Les arbres *Neighbor-Joining* (NJ) construits à partir des génotypes microsatellites individuels des reines et des mâles de l'aire native montrent également que les individus sexués et clonaux ne forment pas deux clusters distincts (Figure 18, Annexe 1.5.3). On

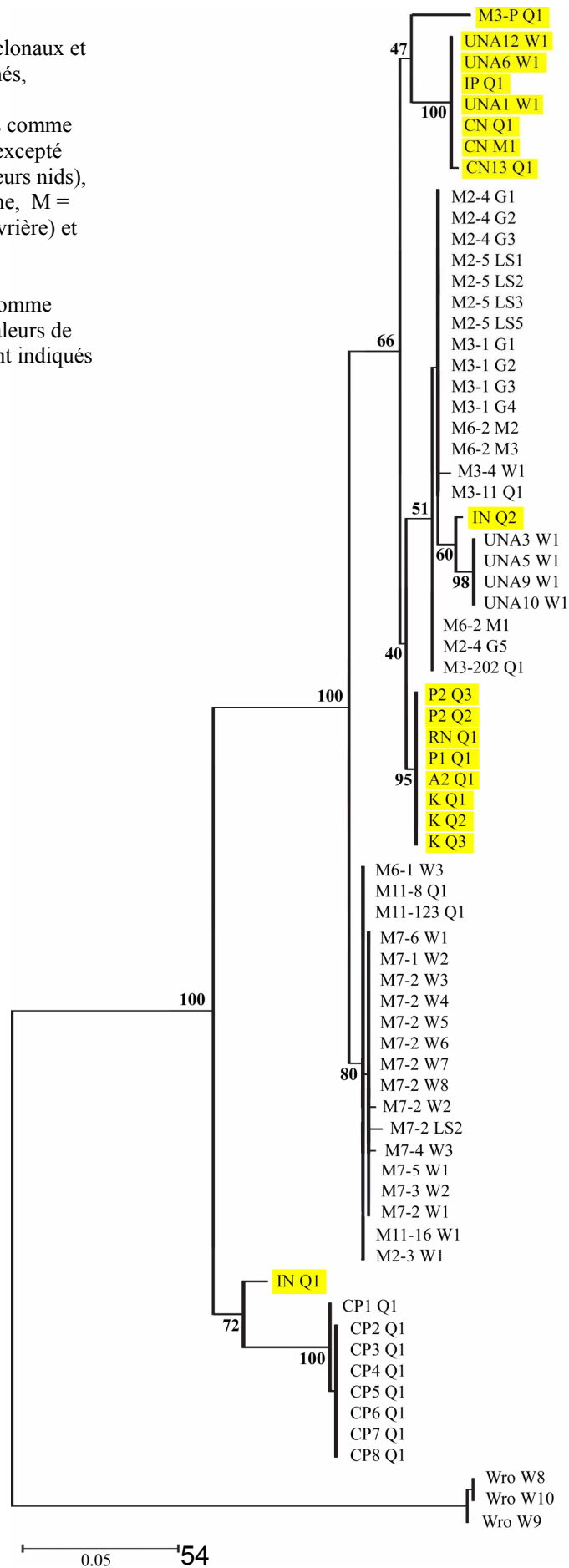
**Figure 17 :** Arbre des haplotypes individuels du gène *COI* en Maximum de Vraisemblance.

Note : Les haplotypes d'individus clonaux et sexués sont surlignés et non surlignés, respectivement.

Les noms d'individus ont été codés comme suit : nom du site, numéro du nid (excepté pour les clones présents dans plusieurs nids), type d'individu (Q = reine, G = gyne, M = mâle, LS = larve de sexué, W = ouvrière) et numéro de l'individu.

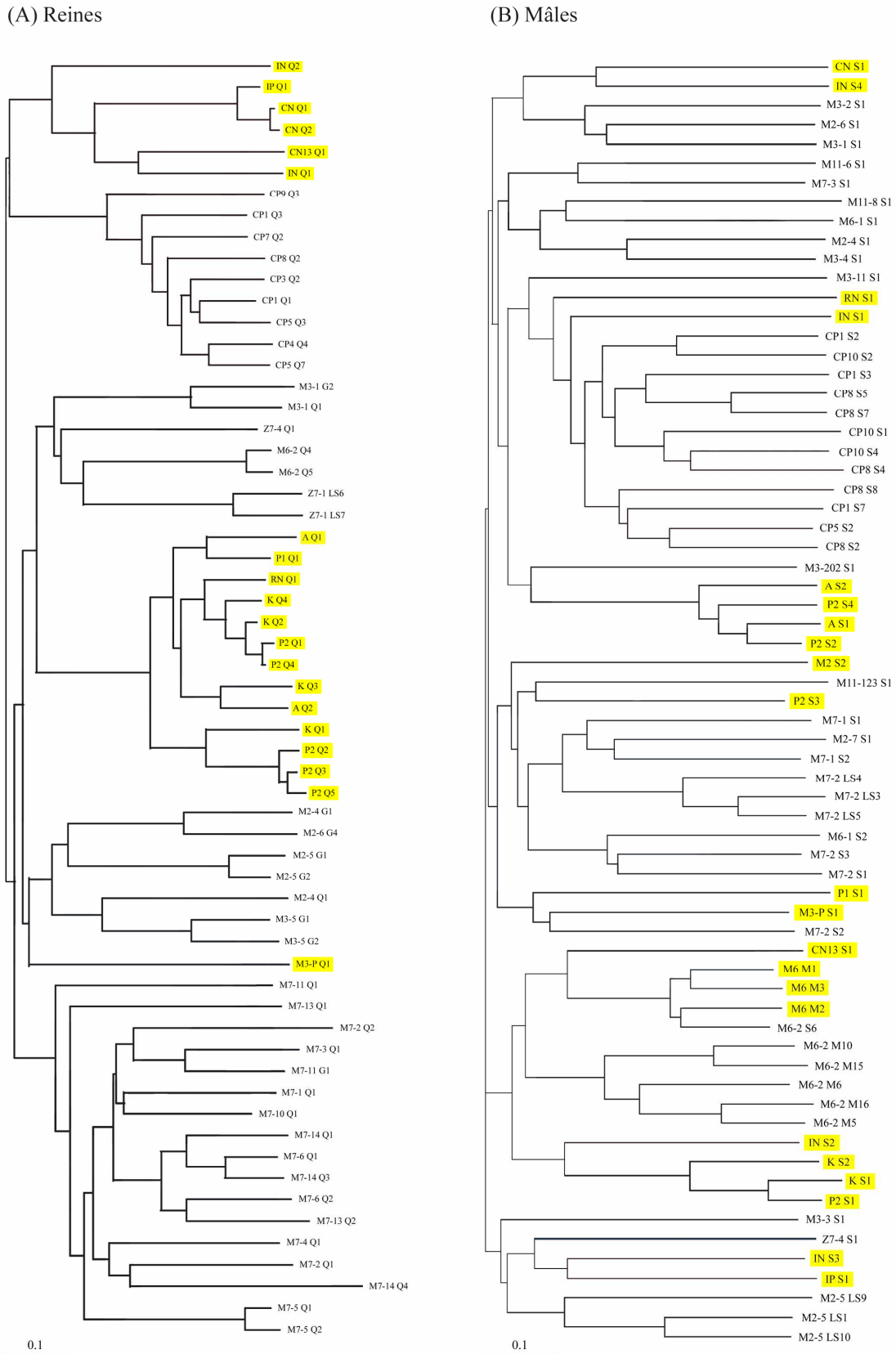
Trois individus de l'espèce proche

*Wasmannia rochai* ont été utilisé comme groupe externe (notés Wro). Les valeurs de bootstrap des principaux nœuds sont indiqués en gras.



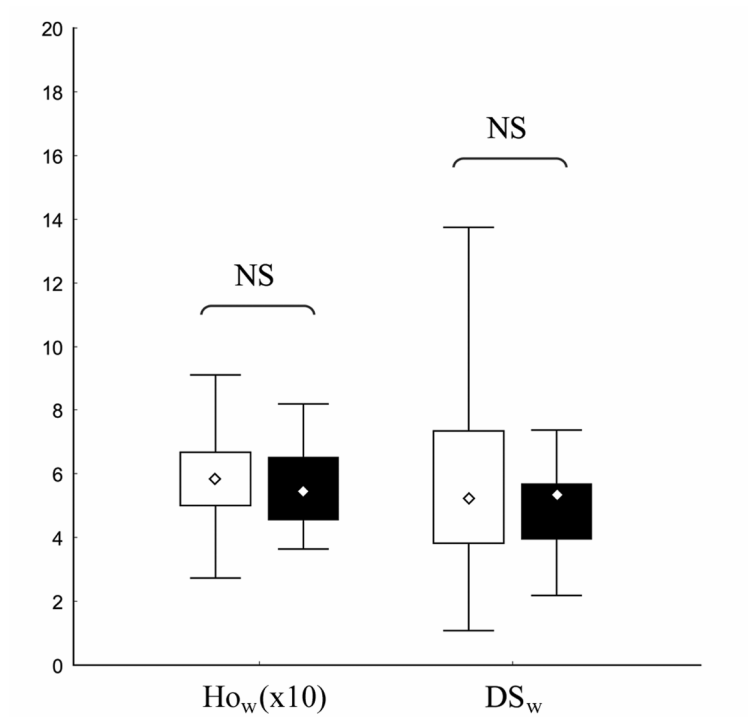
**Figure 18** : Arbres NJ des génotypes microsatellites individuels des reines et mâles clonaux et sexués de l'aire native de *W. auropunctata*.

Note : Pour améliorer la lisibilité, tous les individus n'ont pas été représentés (l'interprétation reste inchangée pour un arbre incluant la totalité des individus génotypés). Les codes correspondent à ceux de la Figure 9.



**Figure 19** : Hétérozygotie observée ( $Ho_w$ ) et différence de taille allélique ( $DS_w$ ) des reines sexuées et clonales.

Note : Les reines sexuées et clonales sont représentées par des boîtes blanches et noires respectivement. Les losanges indiquent les moyennes, et les boîtes et les barres horizontales indiquent les percentiles 50% et 95%, respectivement. Les valeurs de  $Ho_w$  ont été multipliées par dix pour homogénéiser les échelles. NS correspond à  $p < 0,3$ .





observe par ailleurs que la quasi-totalité des allèles microsatellites des reines clonales et des mâles clonaux sont présents dans les populations sexuées locales.

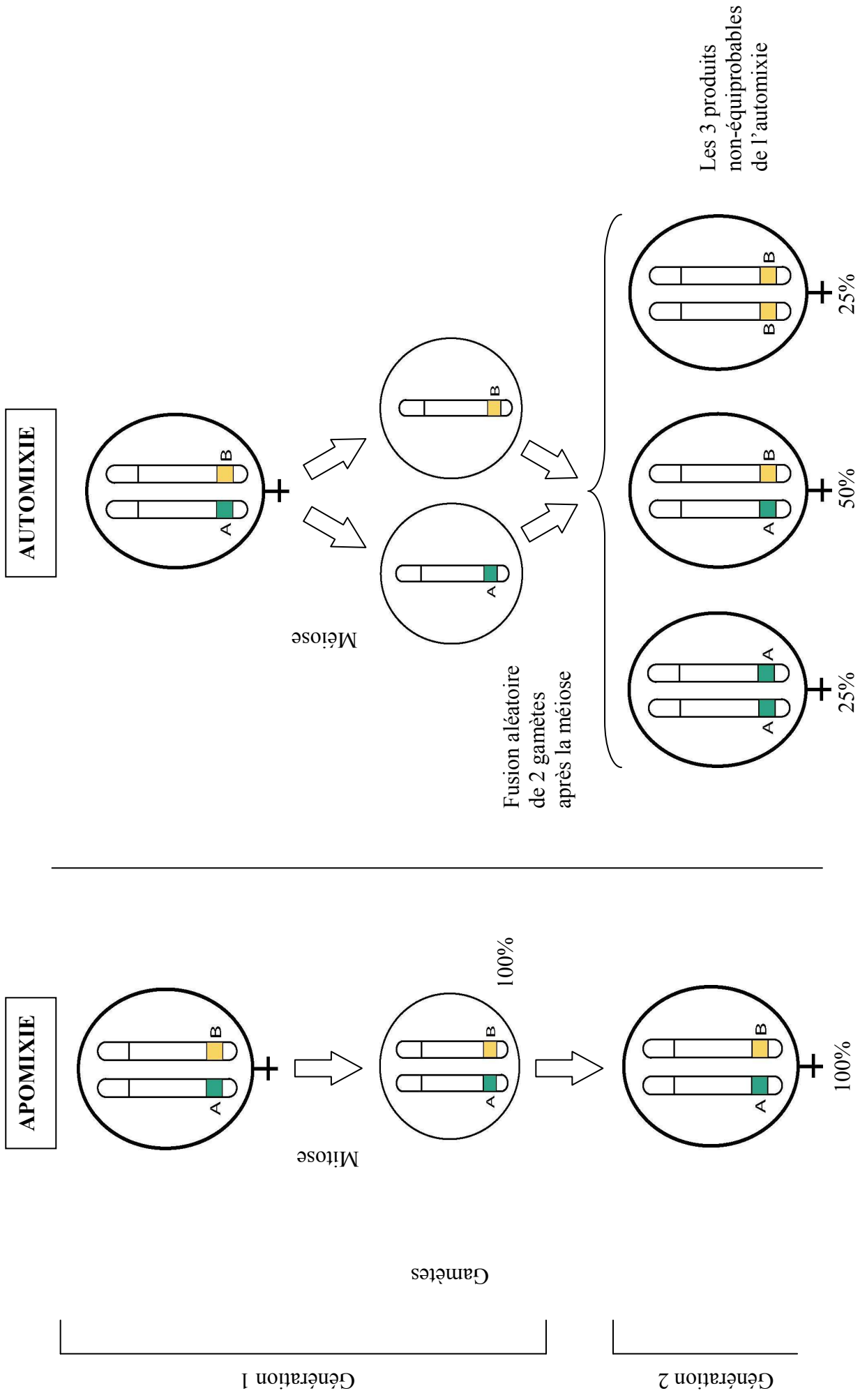
Nos résultats démontrent donc que les populations clonales et sexuées de *W. auropunctata* ne forment pas deux entités évolutives génétiquement distinctes, et que les populations clonales tirent très probablement leur origine des populations sexuées locales.

## 4.2 Origine et mécanisme de la parthénogenèse thélytoque

L'arbre NJ des génotypes microsatellites des reines indique que les reines clonales partagent localement un ancêtre commun très proche. L'inspection visuelle de ces génotypes révèle que les groupes de reines clonales pourraient correspondre à des groupes de pleines sœurs ayant légèrement divergé par des événements de mutation et de recombinaison parthénogénétique au cours des générations clonales successives. Il est aussi intéressant de noter que l'hétérozygotie observée ( $H_0$ ) et la différence moyenne de taille allélique à chaque locus (DS) ne sont pas significativement différents entre reines clonales et sexuées (tests U de Mann-Whitney :  $p = 0,34$  et  $p = 0,50$  pour  $H_0$  et DS, respectivement ; Figure 19). Les parents des reines clonales ne sont donc génétiquement pas plus différents entre eux que les parents des reines sexuées. Ceci permet de rejeter l'hypothèse d'une origine de la parthénogenèse thélytoque par hybridation chez *W. auropunctata*, comme démontré chez d'autres organismes (Simon et al. 2003). Nos résultats suggèrent que la parthénogenèse thélytoque des reines est très probablement apparue plusieurs fois chez *W. auropunctata*, au cours d'événements mutationnels indépendants à l'intérieur des populations sexuées.

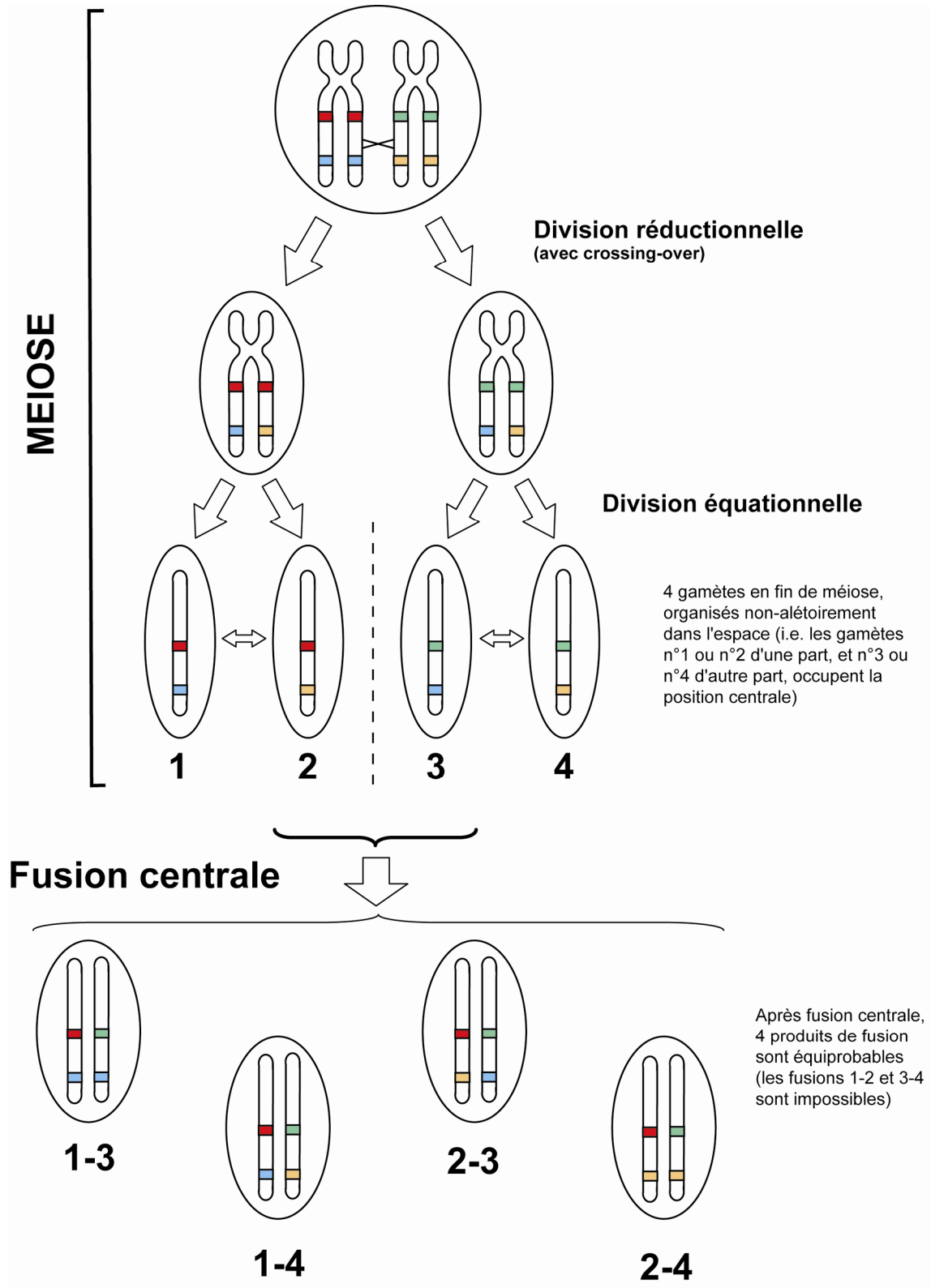
Nos résultats montrent la présence de recombinaison parthénogénétique (cf. des locus hétérozygotes chez le clone femelle parental deviennent homozygotes chez les clones femelles descendants) dans les populations clonales, à de très faibles taux. Deux hypothèses mutuellement exclusives peuvent être formulées pour expliquer ce phénomène. Premièrement, la parthénogenèse thélytoque des reines de *W. auropunctata* pourrait être apomictique (i.e. sans méiose, Figure 20), et les rares recombinaisons observées seraient alors dues à des événements de conversion génique (i.e. la réparation d'un brin endommagé d'ADN en utilisant l'autre brin comme modèle). Alternativement, la parthénogenèse thélytoque des reines de *W. auropunctata* pourrait être automictique (i.e. avec méiose). Dans ce cas, le faible taux de recombinaison parthénogénétique suggère que le mécanisme de la thélytoque pourrait être une parthénogenèse automictique à fusion centrale (Figure 21), comme démontré

**Figure 20** : Schéma des parthénogénèses thélytoques apomictique et automictique



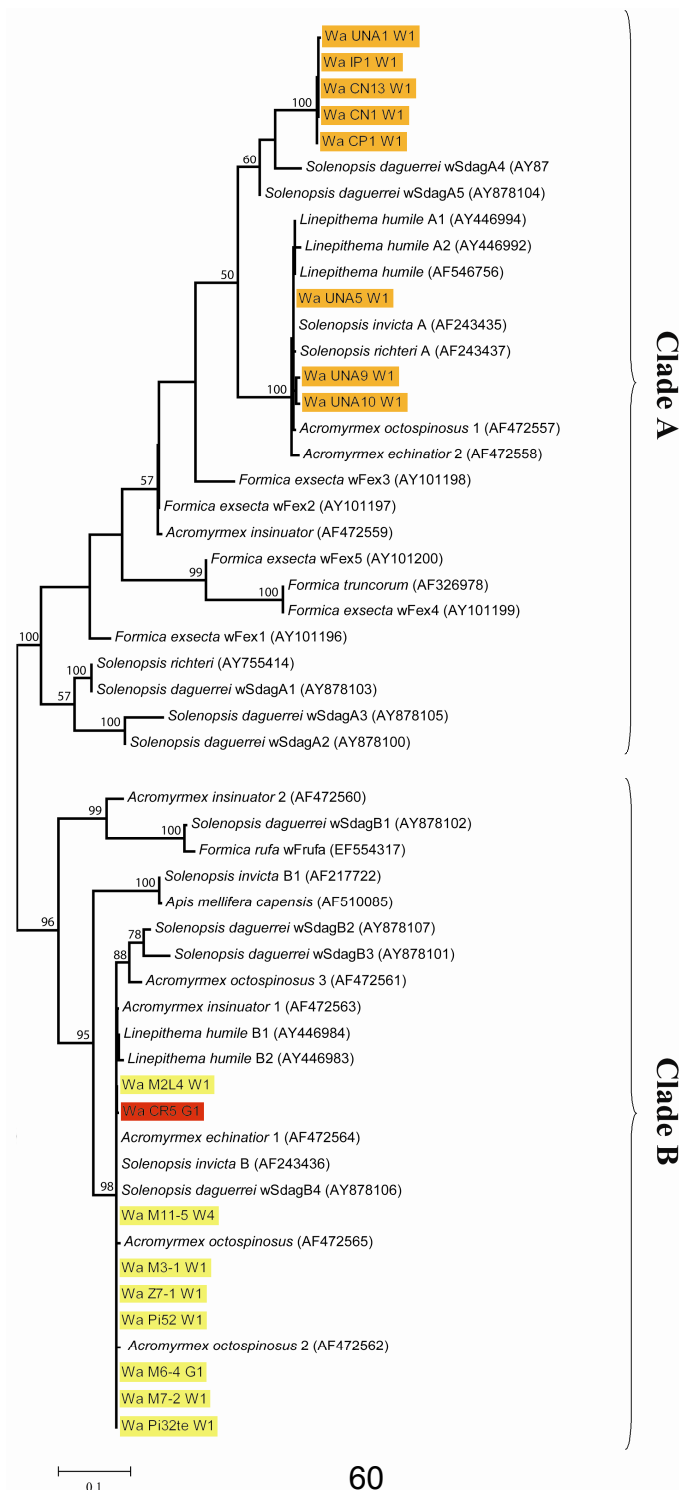
**Figure 21** : Schéma de la parthénogenèse thélytoque automictique à fusion centrale.

Note : Le point essentiel de la « fusion centrale » est que la fusion n'est pas aléatoire, mais s'effectue entre les gamètes qui sont en position centrale à la fin de la méiose. Cela signifie que deux réplcats du même chromosome ne peuvent pas fusionner après méiose (i.e. dans notre figure, la fusion des produits de méiose 1-2 ou 3-4 n'est pas possible par fusion centrale).



**Figure 22 :** Arbre phylogénétique des principales souches de *Wolbachia* infectant les nids des populations natives de *W. auropunctata* et d'autres espèces de Formicidés sur la base du gène *wsp* en Maximum de Vraisemblance.

Note : Les haplotypes *wsp* des souches de *Wolbachia* portées par des *W. auropunctata* sont surlignées avec les couleurs suivantes : jaune = Guyane, orange = Brésil et rouge = Costa Rica. Les noms d'individus de *W. auropunctata* ont été codés comme suit : Wa puis nom du site, numéro du nid, type d'individu (Q = reine, G = gyne, W = ouvrière) et numéro de l'individu. Les haplotypes des souches de *Wolbachia* portées par les autres espèces de Formicidés (plus la souche portée par la sous-espèce thélytoque *Apis mellifera capensis*) ont été publiée sous GenBank, et leur numéro d'accèsion GenBank figure entre parenthèse. Les valeurs de *bootstrap* des principaux nœuds de l'arbre sont présentées lorsqu'elles dépassent le seuil de 50%.



récemment chez une autre espèce de fourmi, *Cataglyphis cursor* (Pearcy et al. 2006), et chez *Apis mellifera capensis* (Baudry et al. 2004).

Toutefois, étant donné le patron de transmission mère-filles de la parthénogenèse thélytoque suggéré par l'arbre NJ des génotypes de reines, son origine pourrait également être infectieuse, via des éléments cytoplasmiques tels que les bactéries du genre *Wolbachia*. L'analyse des tests de présence de *Wolbachia* offre deux conclusions selon le pays considéré. Au Brésil, la corrélation entre l'infection par *Wolbachia* et le système de reproduction est significative mais faible (V de Cramer = 0,309,  $p = 0,023$ ). Au contraire, la corrélation entre l'infection et la reproduction sexuée, et entre l'absence d'infection et la reproduction clonale est quasiment parfaite dans les populations guyanaises (V de Cramer = 0,969,  $p < 10^{-3}$ ). Cette différence de résultats nous a conduit à séquencer un fragment du gène *wsp* chez 66 individus positifs à *Wolbachia* des populations de l'aire native de *W. auropunctata* (Annexe 1.3.3). Toutes les populations guyanaises sexuées sont infectées par la même souche (appartenant au clade B du genre *Wolbachia*, dénommée *wAurB* ci-après, selon Zhou et al. 1998) qui est présente dans les populations sexuées du Costa Rica, mais qui n'est pas présente au Brésil. Les populations brésiliennes clonales et sexuées infectées sont elles infectées par deux souches principales, appartenant toutes deux au clade A du genre *Wolbachia*, qui se sont chacune légèrement diversifiées par mutation (Figure 22). La parthénogenèse thélytoque de *W. auropunctata* pourrait donc avoir deux types d'origine : mutationnelle au Brésil et infectieuse en Guyane. Toutefois, la corrélation même forte entre système de reproduction et infection par *Wolbachia* détectée en Guyane ne constitue pas une preuve de l'effet de l'infection, qui peut raisonnablement être mis en doute (voir section I.5.2) et demande à être testé expérimentalement.

### 4.3 Origine et mécanisme de la clonalité mâle

La première hypothèse formulée sur l'origine de la clonalité mâle fut celle d'une réponse mâle à la réduction complète de leur fitness induite par la parthénogenèse femelle, entraînant une bataille des sexes pour le contrôle des œufs produits par les reines (Fournier et al. 2005a; Queller 2005). Le mécanisme hypothétique par lequel les mâles prendraient le contrôle des œufs serait celui de l'élimination du génome maternel (MGE) par le génome paternel lors de la fécondation (Figure 23A). Un des attendus de cette hypothèse est que le nombre de lignées clonales mâles soit relativement faible, car il est peu probable qu'une telle

**Figure 23** : Schéma des deux hypothèses exclusives concernant le mécanisme de la parthénogenèse thélytoque chez *W. auropunctata*.

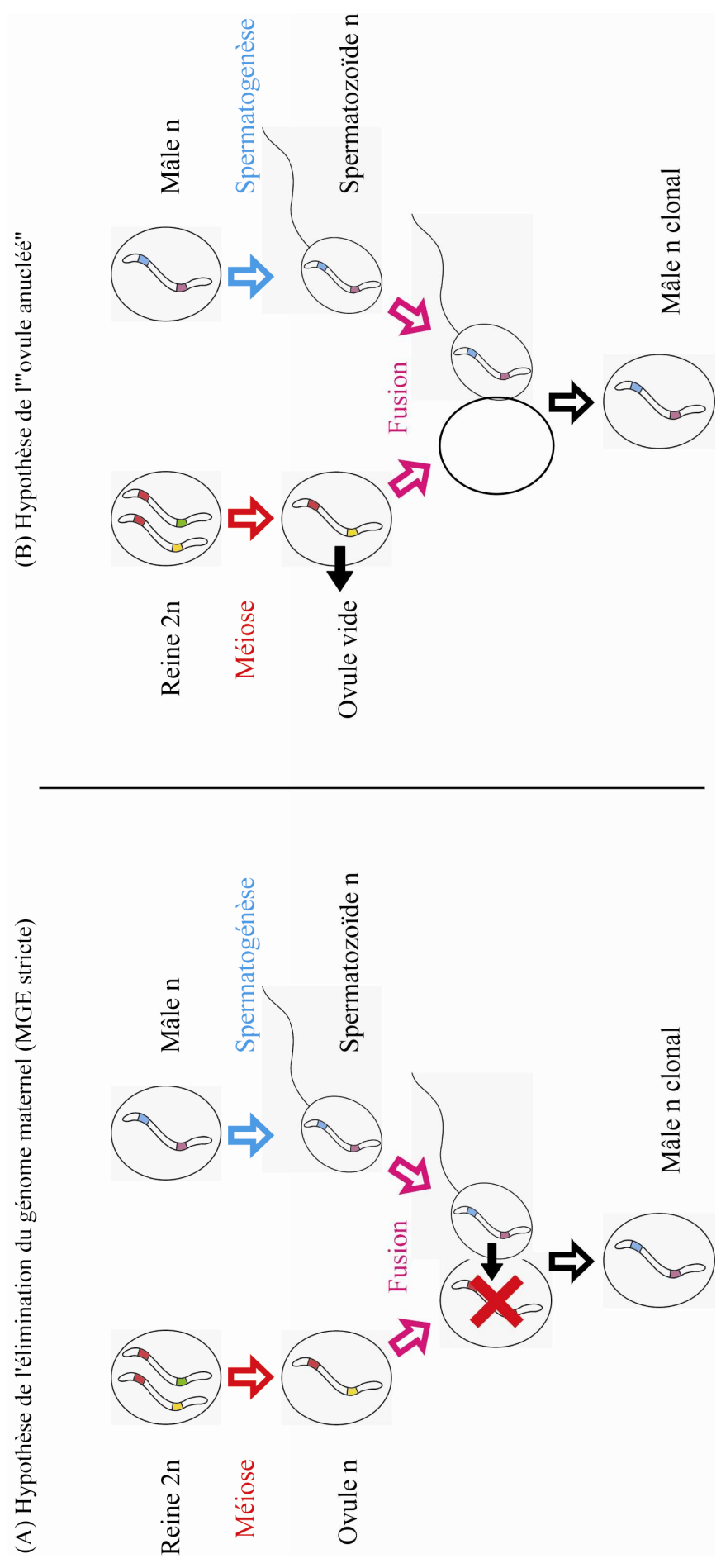
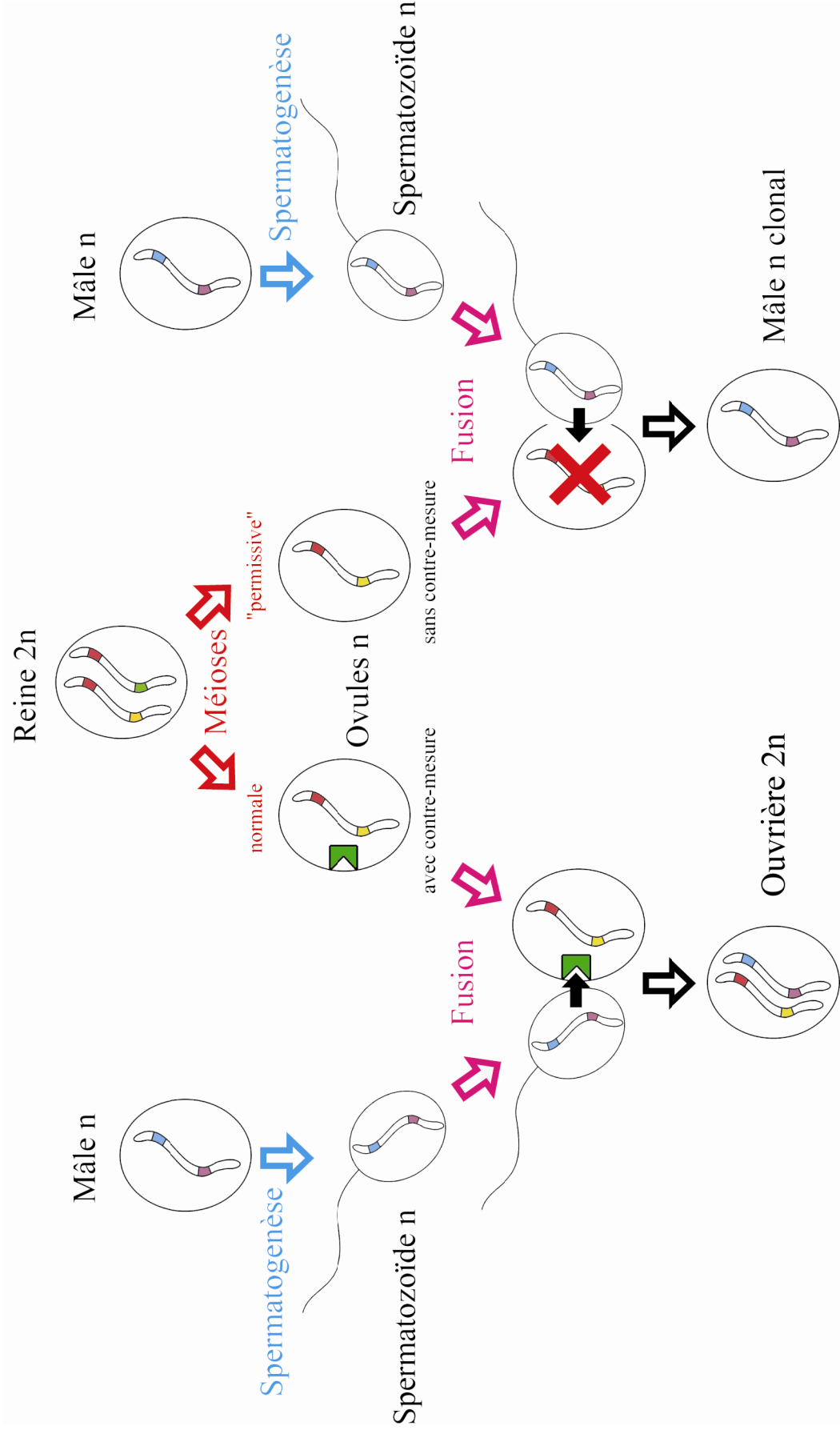


Figure 24 : Schéma de l'hypothèse de l'élimination du génome maternelle « permissive ».



réponse ait pu évoluer de nombreuses fois (McKone & Halpern 2003). Contrairement à cet attendu, l'arbre NJ des génotypes microsatellites des mâles montre que les mâles clonaux ne forment pas un petit nombre de groupes d'apparentés, mais qu'ils sont très largement dispersés parmi les génotypes sexués (Figure 18B). Un mécanisme 'strict' d'élimination du génome maternelle semble également peu probable car le ratio du nombre de mâles par le nombre d'ouvrières observé dans les nids clonaux échantillonnés est très faible (de l'ordre de  $10^{-4}$ ; obs. pers.). Ce ratio semble difficilement compatible avec un mécanisme de prise de possession active de l'ovule de la part du mâle, puisque toutes les ouvrières sont produites sexuellement sans MGE. Un contrôle femelle sur la clonalité mâle semble donc nécessaire pour expliquer nos résultats.

Une simple variante 'permissive' de l'hypothèse MGE pourrait expliquer la clonalité mâle (B. Normarck, comm. pers.). Chez les haplodiploïdes, il est en effet attendu que les mâles tentent de prendre le contrôle des œufs et que les femelles développent des contre-mesures adaptées. Dans le cas de *W. auropunctata*, si l'*outbreeding* (i.e. la formation de couples composés d'un mâle et d'une femelle génétiquement divergents) est favorisé ou si les reines parthénogénétiques sont incapables de produire des mâles arrhénotoques, les reines pourraient produire une faible proportion d'œufs 'permissifs' (i.e. sans contre-mesures) qui deviendraient par fécondation des mâles clonaux (Figure 24).

Alternativement, la clonalité mâle pourrait résulter de la production par les reines parthénogénétiques d'œufs anucléés fécondés par la suite (Figure 23B). La production d'œufs anucléés par les reines pourrait avoir lieu simultanément à la production de gamètes thélytoques (une des cellules-filles recevant la totalité du nucleus, et l'autre uniquement du cytoplasme), ce qui permettrait d'expliquer mécaniquement le lien entre parthénogenèse femelle et clonalité mâle. Ce mécanisme méiotique diffère néanmoins considérablement du mécanisme hypothétique de la thélytoquie par fusion centrale. Contrairement à l'hypothèse de la 'MGE permissive', l'hypothèse de 'l'ovule anucléé' ne requiert aucun scénario précis de co-évolution des sexes.

Dans tous les cas, il semble très peu probable que la clonalité mâle soit une réponse des mâles à la réduction de leur fitness par la parthénogenèse femelle et l'expression d'une bataille des sexes. Il semble plutôt que tous les mâles fécondant des reines clonales deviennent clonaux, et donc que la clonalité mâle soit un trait femelle. Une conclusion définitive sur ce point nécessite cependant une preuve expérimentale.



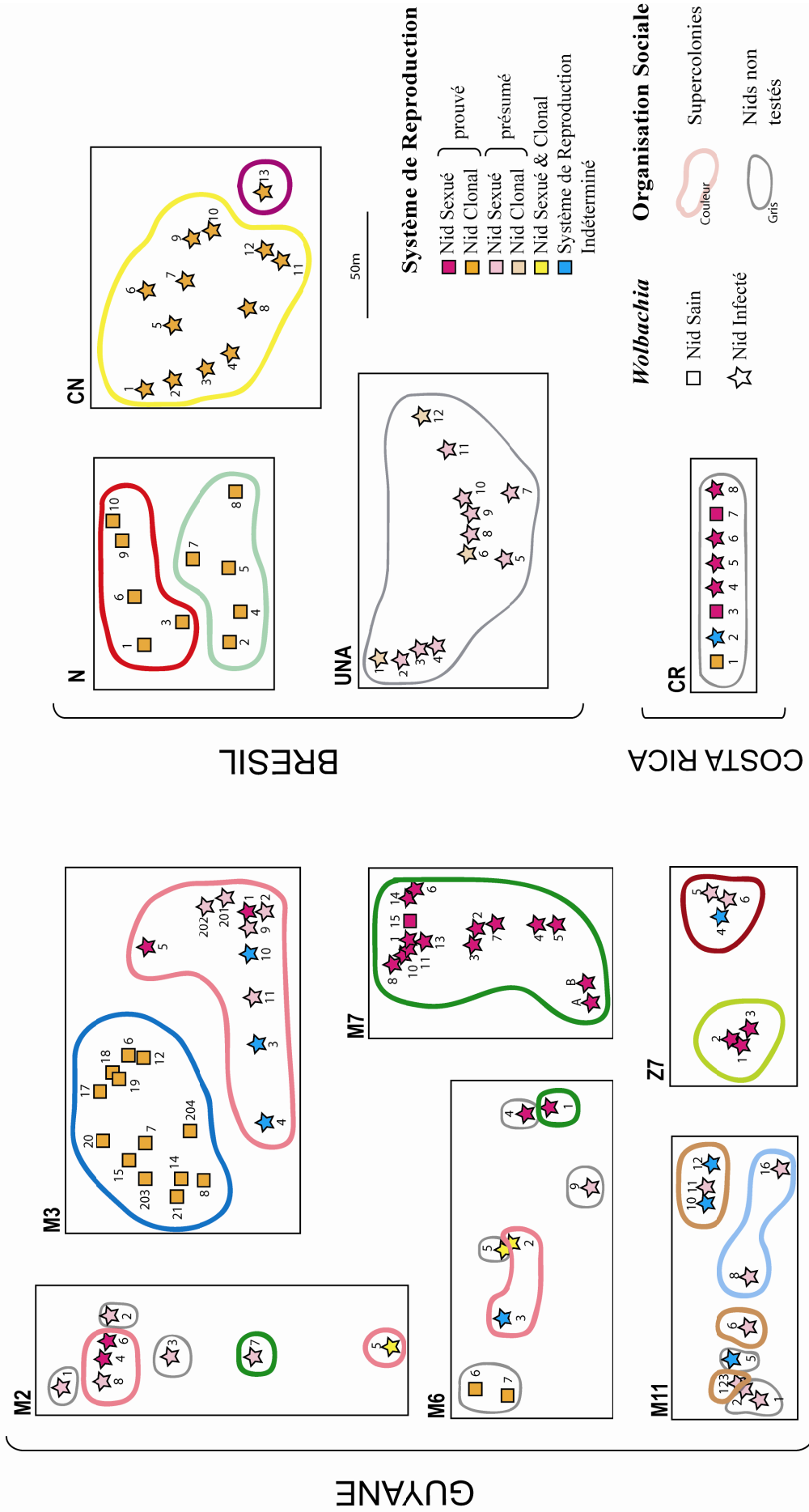
#### 4.4 Détermination génétique de la caste

Le déterminisme de la caste est environnemental et non génétique chez la plupart des espèces de Formicidés (Wheeler 1986). Les futures gynes ne se distinguent pas des futures ouvrières par leur génotype, mais suivent un chemin développemental différent sous l'impulsion des ouvrières nourricières.

Dans le cas de *W. auropunctata*, les reines et ouvrières des populations sexuées sont indiscernables d'après leur génotype. Ce résultat laisse à penser que la détermination de la caste pourrait être environnementale comme chez la plupart des fourmis. Pourtant, dans les populations clonales, toutes les reines possèdent un génotype distinct des génotypes des ouvrières. La distribution des génotypes des reines et des ouvrières ne peut pas être expliquée par le contrôle des ouvrières. Si tel était le cas, les ouvrières devraient théoriquement favoriser le développement de leurs sœurs (avec qui elles partagent 75% de leurs allèles) en reines. Au contraire, ce sont les œufs clonaux des reines (avec qui elle ne partagent que 50% de leurs allèles) qui se développent invariablement en reines. L'étude des populations clonales indique donc que le déterminisme de la caste n'est pas environnemental mais génétique chez *W. auropunctata*. La détermination génétique de la caste n'a auparavant été démontrée que chez le complexe d'espèces *Pogonomyrmex rugosus - barbatus* (Julian et al. 2002; Volny & Gordon 2002), chez qui la sévérité du contrôle génétique semble néanmoins bien moindre que chez *W. auropunctata*.

Il est intéressant de noter que, malgré l'utilisation de 12 locus microsatellites (un chiffre supérieur à la plupart des études génétiques d'espèces de fourmis), nous aurions été incapables de prouver l'occurrence de la détermination génétique de la caste sans le système de reproduction clonal de *W. auropunctata*. De manière similaire, chez *Pogonomyrmex rugosus - barbatus*, c'est le système de reproduction très particulier, basé sur l'hybridation entre différentes lignées, qui a permis de démontrer le déterminisme génétique de la caste (Helms Cahan & Keller 2003; Helms Cahan et al. 2004). Pour cette dernière espèce comme pour *W. auropunctata*, la détermination génétique de la caste pourrait dépendre du contrôle d'un simple locus biallélique. Ces deux exemples suggèrent que le déterminisme génétique de la caste chez les Formicidés pourrait être plus fréquent qu'estimé actuellement, et avoir lieu même chez des espèces déjà étudiées avec un faible nombre de marqueurs génétiques neutres. Deux approches sont théoriquement possibles pour améliorer notre connaissance du déterminisme de la caste. Premièrement, une augmentation radicale du nombre de marqueurs neutres, type AFLP, pourrait éventuellement permettre de mettre à jour des portions de

**Figure 25 :** Synthèse des études du système de reproduction, de l'organisation sociale et de l'infection par *Wolbachia* des zones non-envahies de l'aire native de *W. auropunctata*.



génomiques diagnostics de la caste. Deuxièmement, l'identification du ou des gènes responsables de la détermination de la caste chez d'autres espèces eusociales pourrait permettre de mener une approche du type gènes candidats (Fitzpatrick et al. 2005).

## **5. Facteurs de l'invasion de *W. auropunctata* dans son aire native**

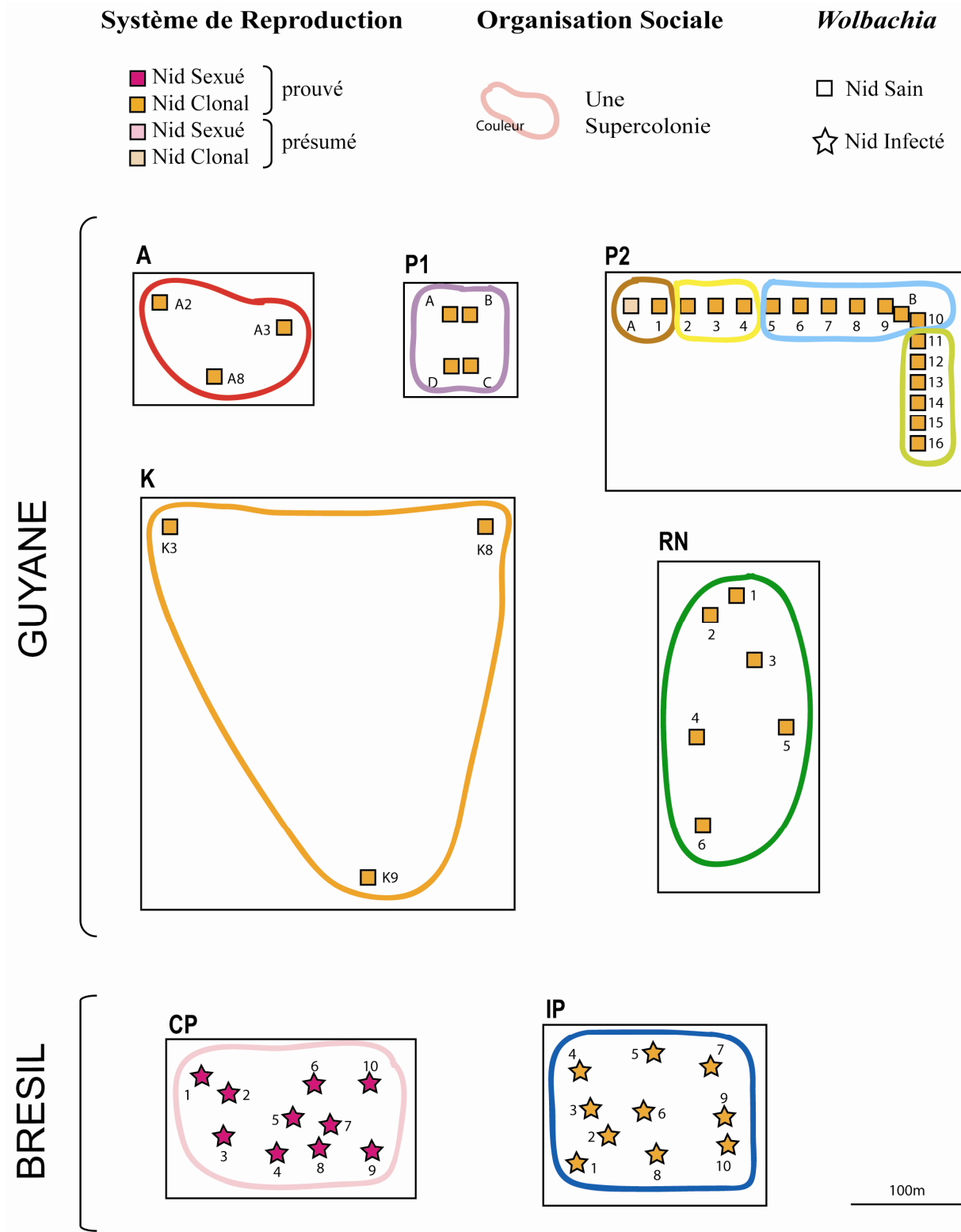
Comme nous l'avons vu dans l'introduction générale de cette thèse, la transition de certaines populations d'un statut non-envahissant à celui de populations envahissantes peut théoriquement dépendre de nombreux facteurs, comportementaux, génétiques et environnementaux.

### **5.1 Structure sociale**

Dans le cas de *W. auropunctata*, comme dans celui de nombreuses espèces de fourmis envahissantes, une hypothèse traditionnelle est de considérer que la transition d'une organisation sociale multicoloniale (i.e. où tous les nids sont mutuellement agressifs) à une organisation sociale unicoloniale (i.e. où les nids forment des supercolonies) est à la base de l'émergence de populations envahissantes (Passera 1994; Jourdan et al. 2001; Le Breton et al. 2004). En effet, l'organisation unicoloniale semble apporter un avantage écologique déterminant à toutes les fourmis envahissantes possédant ce trait, à la fois par une compétition intraspécifique réduite et par une compétition interspécifique plus efficace (Holway & Suarez 2004; Le Breton et al. 2005). Nos résultats de tests comportementaux démontrent que toutes les populations échantillonnées, envahissantes ou non, sont unicoloniales et donc qu'il n'y a pas de transition de type d'organisation sociale au sein de l'espèce. Ces résultats s'ajoutent à ceux obtenus chez la fourmi d'Argentine, où l'unicolonialité des populations natives a récemment été démontrée (Pedersen et al. 2006).

Ces deux exemples suggèrent que le rôle de l'unicolonialité dans les invasions de fourmis, même s'il est essentiel (Holway et al. 2002; Abbott 2005), s'avère être un facteur promoteur plutôt que déclencheur des invasions. Les bénéfices associés à une baisse de la compétition intraspécifique et à une efficacité accrue de la compétition interspécifique sont d'ailleurs attendus spécialement lorsque la densité de l'espèce envahissante est élevée (Holway et al. 2002), et donc après le déclenchement de l'invasion.

**Figure 26 :** Synthèse des études du système de reproduction, de l'organisation sociale et de l'infection par *Wolbachia* des zones envahies de l'aire native de *W. auropunctata*.



## 5.2 Système de reproduction

Une analyse de contingence montre que le type de système de reproduction n'est significativement pas associé au statut envahissant des populations natives de *W. auropunctata* (V de Cramer = 0,135 ; p = 0,12 ; Annexe 1.5.5). En effet, nous avons échantillonné plusieurs populations clonales en zones non-envahies, ainsi qu'une population sexuée en zone envahie. La reproduction clonale ne constitue donc pas un facteur nécessaire ni suffisant au déclenchement des invasions de *W. auropunctata*, même si la tendance générale des populations envahissantes est d'être clonales et celle des populations non-envahissantes d'être sexuées (Figures 25 et 26).

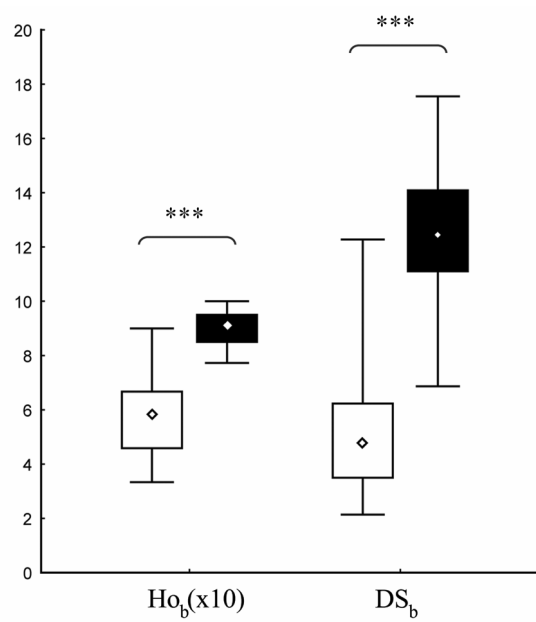
Nos résultats montrent que deux facteurs sont en revanche très fortement corrélés au type de système de reproduction chez *W. auropunctata*. Premièrement, l'infection par *Wolbachia* est très étroitement associée à la reproduction sexuée, mais ceci uniquement en Guyane, où il existe une seule souche qui infecte toutes les populations sexuées et aucune population clonale. Le fait qu'une souche de bactérie *Wolbachia* puisse éventuellement manipuler le système reproducteur chez *W. auropunctata* serait néanmoins doublement surprenant. En effet, il existe plusieurs souches de *Wolbachia* induisant la parthénogenèse chez leur hôtes (Stouthamer et al. 1993; Stouthamer 1997), mais aucune induisant la sexualité chez les infectés et dont l'absence provoquerait l'apparition d'un système de reproduction clonal. D'autre part, six des sept autres espèces de fourmis possédant une parthénogenèse thélytoque sont intégralement dépourvues d'infection par *Wolbachia* (Wenseleers & Billen 2000). Ceci est théoriquement attendu du fait du mécanisme cytogénétique de l'induction de la parthénogenèse de certaines souches de *Wolbachia* (i.e. la diploïdisation des gamètes ; Werren 1997), théoriquement inefficace chez les haplodiploïdes à cause de leur système de détermination du sexe (Wenseleers & Billen 2000). L'influence éventuelle de *Wolbachia* sur le système de reproduction de *W. auropunctata* mérite donc d'être testée expérimentalement, tant pour son intérêt académique que pour ses éventuelles retombées en terme de lutte biologique (voir chapitre final de conclusion et perspectives).

Deuxièmement, le type de système de reproduction est très fortement associé à l'anthropisation des milieux (V de Cramer = 0,466 ; p < 10<sup>-3</sup>). Bien que cette corrélation ne soit pas stricte, la plupart des populations sexuées ont été échantillonnées dans des zones naturelles (i.e. forêts primaires) et les populations clonales dans des zones écologiquement perturbées par l'activité humaine (i.e. plantations, bords de routes), irrespectivement à leur statut envahissant. Il semble donc que les populations clonales et sexuées occupent

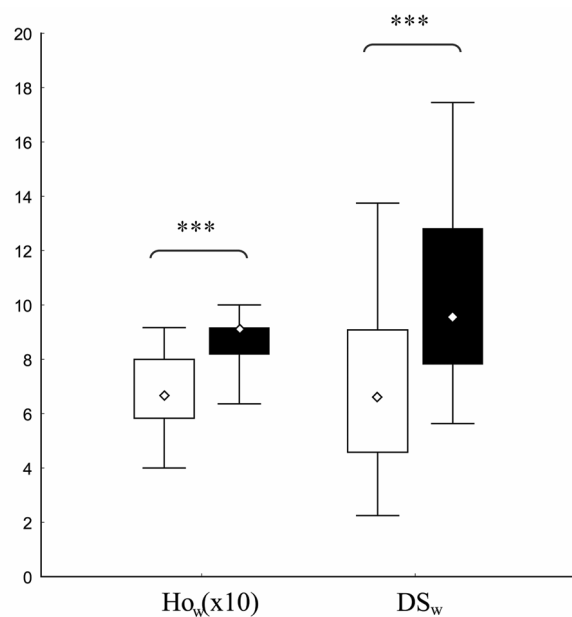
**Figure 27 :** Hétérozygotie observée et différence de taille allélique des couples sexués et clonaux (A) et des ouvrières des nids sexués et clonaux (B).

Note : Les individus ou couples d'individus sexués et clonaux sont représentés par des boîtes blanches et noires respectivement. Les losanges indiquent les moyennes, et les boîtes et les barres horizontales indiquent les percentiles 50% et 95%, respectivement. Les valeurs de  $H_o$  ont été multipliées par dix pour homogénéiser les échelles. \*\*\* correspond à  $p < 10^{-3}$ .

(A) Hétérozygotie observée ( $H_{ob}$ ) et différence de taille allélique ( $DS_b$ ) des couples sexués et clonaux



(B) Hétérozygotie observée ( $H_{ow}$ ) et différence de taille allélique ( $DS_w$ ) des ouvrières des nids sexués et clonaux



préférentiellement des niches écologiques différentes, et que la présence de perturbations anthropiques, en modifiant de nombreuses caractéristiques des écosystèmes, favorise l'établissement de populations clonales.

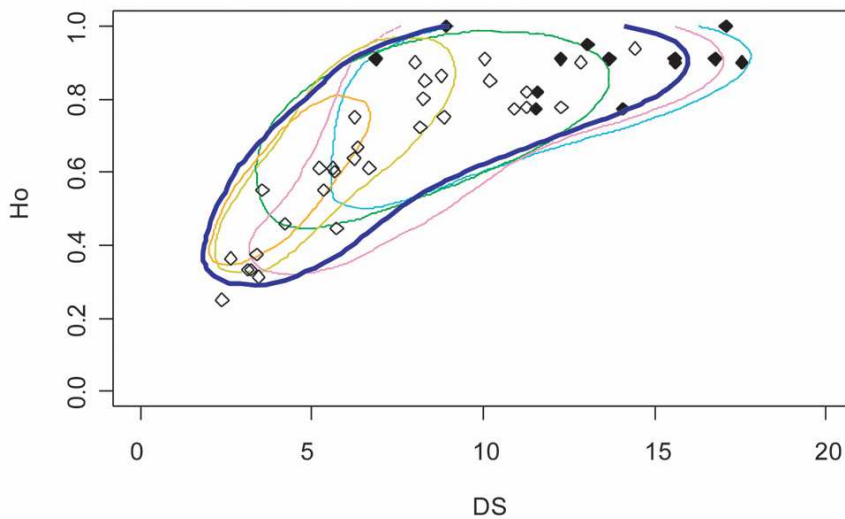
Il est attendu que la reproduction clonale ne génère pas d'avantage démographique pour les populations de fourmis. En effet, dans le cas de *W. auropunctata*, même dans les nids où les reines se reproduisent par parthénogenèse, les mâles sont indispensables à la production sexuée d'ouvrières. La reproduction clonale peut en revanche générer deux types d'avantages adaptatifs. Premièrement, la reproduction clonale (i.e. la transmission à l'identique de son patrimoine génétique) maintient les combinaisons de gènes avantageuses, alors que la reproduction sexuée les brise. Classiquement, on considère que la reproduction sexuée est « plus adaptative » que la reproduction clonale car elle permet un meilleur brassage des gènes dans la population et la création rapide de nouvelles combinaisons de gènes (Muller 1932; Fisher 1958; Otto & Barton 1997). Pourtant, l'avantage adaptatif d'un type de reproduction par rapport à l'autre ne dépend que de l'adéquation entre le génotype transmis et le futur environnement dans lequel sa progéniture aura à se reproduire, et donc de l'effet positif ou négatif d'une réorganisation de son propre génome. Deuxièmement, la reproduction clonale peut également être un moteur évolutif important car elle permet à la sélection naturelle d'opérer sur la totalité du génome, par la conversion de la variance génétique non-additive en variance génétique additive (Neiman & Linksvayer 2005). La reproduction sexuée permet au contraire à de nombreuses mutations délétères récessives d'échapper à la sélection naturelle.

Nous avons donc cherché dans nos données de génétique neutre une éventuelle différence entre les populations clonales et sexuées, potentiellement associée à différentes pressions sélectives. Nous avons pu déterminer le génotype des mâles ayant fécondé 299 reines (correspondant à 105 génotypes de reines différents), car les reines stockent le sperme de leur partenaire dans une vésicule (i.e. la spermathèque). Nos résultats montrent que l'hétérozygotie et la différence de taille allélique entre les génotypes mâles et femelles d'un couple donné sont tous les deux significativement plus élevées dans les 21 couples clonaux que dans les 89 couples sexués échantillonnés dans l'aire native de *W. auropunctata* (tests U de Mann-Whitney :  $p < 10^{-3}$  ; Figure 27A). Des simulations informatiques ont confirmé que les couples clonaux tendent à être formés de mâles et de reines plus divergent génétiquement que les couples sexués (Annexe 1.5.4). Une large proportion de couples sexués n'a théoriquement pu se former qu'à l'intérieur d'une supercolonie (Figure 28). Au contraire, les couples clonaux n'ont pu se former qu'à l'intérieur des quelques supercolonies montrant une structuration génétique interne (par exemple M3, M11-A) ou à partir d'individus issus de

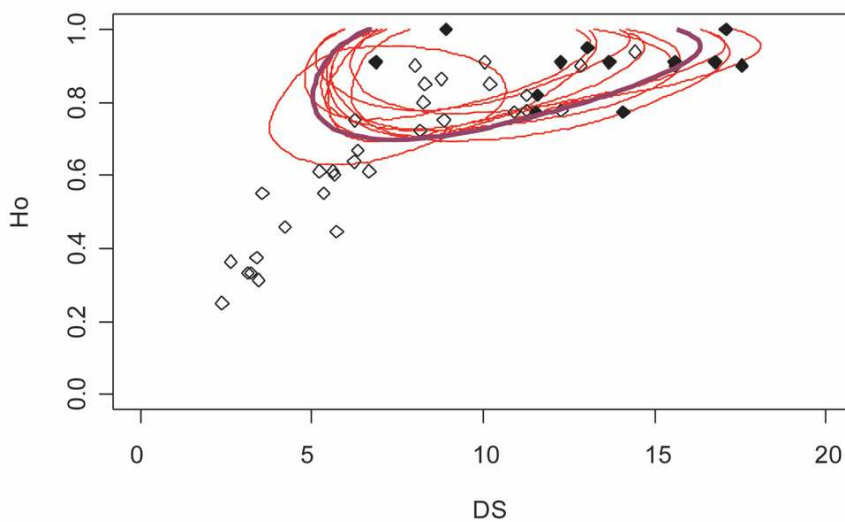
**Figure 28 :** Distribution jointe de l'hétérozygotie observée ( $H_{ob}$ ) et de la différence de taille allélique ( $DS_b$ ) des couples simulés.

Note : Les couples simulés ont été formés de mâle et de femelle appartenant à la même supercolonie (A) ou à deux supercolonies différentes (B) (voir Annexe 1.5.4 pour les détails). Dans (A) et (B), les losanges blancs et noirs représentent les couples observés sexués ( $n = 31$ ) et clonaux ( $n = 13$ ), respectivement. Dans (A), la ligne bleue épaisse représente le contour à 95% de la distribution jointe de la simulation intrasupercolonie globale. Les autres lignes colorées représentent les contours à 95% des distributions jointes des simulations intrasupercolonies individuelles comme suit : turquoise = M3, violet = M11-A, vert = M7, vert clair = Z7-A et jaune = Z7-B. Dans (B), la ligne violette épaisse représente le contour à 95% de la distribution jointe de la simulation intersupercolonie globale. Les lignes rouges représentent les contours à 95% des distributions jointes des simulations intersupercolonies pour chaque paire de supercolonies ( $n = 10$ ).

(A) Intrasupercolonie



(B) Intersupercolonies





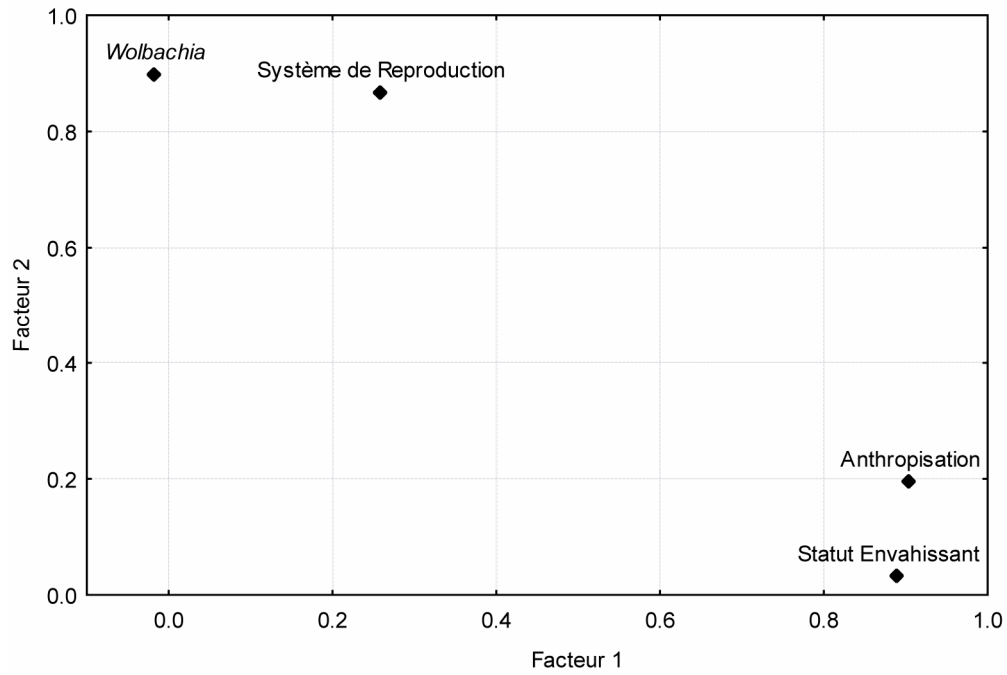
différentes supercolonies (Figure 28). De manière logique, l'hétérozygotie et la différence de taille allélique sont significativement plus élevées chez les ouvrières des nids clonaux que chez les ouvrières des nids sexués (tests U de Mann-Whitney :  $p < 10^{-3}$ ; Figure 27B).

L'ensemble de ces résultats suggère que la reproduction clonale pourrait être sélectionnée car elle permet la production constante d'ouvrières aux combinaisons génotypiques spécifiques (en l'occurrence, très hétérozygotes), qui autoriseraient l'espèce à coloniser de nouveaux environnements, notamment ceux perturbés par l'activité humaine. Le système de reproduction exceptionnel de *W. auropunctata* lui permet en effet de conserver intacts les génotypes du mâle et de la reine produisant les ouvrières les plus efficaces. La reproduction sexuée, en plus de briser d'éventuelles combinaisons génétiques favorables, réduit la richesse allélique par dérive (d'autant plus fortement que les nouvelles populations subissent un effet fondateur), et augmente le fardeau des mâles diploïdes (i.e. le coût de production de mâles diploïdes, homozygotes au locus de détermination du sexe). *Wasmannia auropunctata* pourrait donc illustrer le fait que les conséquences en terme de potentiel adaptatif sont probablement au moins aussi importantes que les conséquences démographiques dans la compréhension de l'évolution du sexe (Lushai et al. 2003). Plusieurs expérimentations sont néanmoins nécessaires pour confirmer (i) l'absence de différences démographiques entre nids clonaux et sexués et (ii) les différences de performances entre nids clonaux et sexués dans différents environnements, qui sont la base de l'hypothèse d'une sélection environnementale du système de reproduction chez *W. auropunctata* (voir chapitre IV).

La question de savoir pourquoi les génotypes d'ouvrières très hétérozygotes semblent plus performants dans les habitats perturbés reste ouverte. De nombreuses études des corrélations hétérozygotie-fitness avancent deux hypothèses non-exclusives. Premièrement, un niveau élevé d'hétérozygotie pourrait permettre aux espèces de survivre aux environnements extrêmes ou changeants (Kearney & Shine 2004; Frankham 2005b; Ferreira & Amos 2006). Dans le cas de *W. auropunctata*, les températures et humidités relevées au sol dans trois zones naturelles et une zone perturbée montrent à la fois des moyennes et des variances significativement différentes (test t sur les moyennes :  $t = 51,556$  ;  $p < 10^{-3}$  ; test d'homogénéité des variances :  $p < 10^{-3}$ ), avec des fluctuations plus importantes et fréquentes dans la zone perturbée. L'hétérozygotie élevée des ouvrières de nids clonaux pourrait leur permettre de supporter un spectre environnemental plus large et variable que les ouvrières des nids sexués. Deuxièmement, d'autres études suggèrent qu'une hétérozygotie élevée pourrait permettre aux individus de mieux exploiter leur environnement, particulièrement lorsque les

**Figure 29 :** Projection du statut envahissant, de l'anthropisation, du système de reproduction et de l'infection par *Wolbachia* sur le plan défini par les premier et second axes factoriels de l'AFC.

Note : Les facteurs 1 et 2 de l'analyse explique 42% et 40% de la variance totale du jeu de données, respectivement.



ressources sont abondantes (Reznick et al. 2000; Vorburger 2005). Les populations de *W. auropunctata* sont connues pour réussir à envahir efficacement les habitats perturbés où de fortes densités d'Homoptères ou de nectaires extra-floraux sont présents (Wetterer & Porter 2003). Les habitats anthropisés où de nombreuses ressources potentielles sont présentes, comme les plantations, seraient ainsi théoriquement plus avantageux pour les ouvrières très hétérozygotes des nids clonaux que pour les ouvrières des nids sexués.

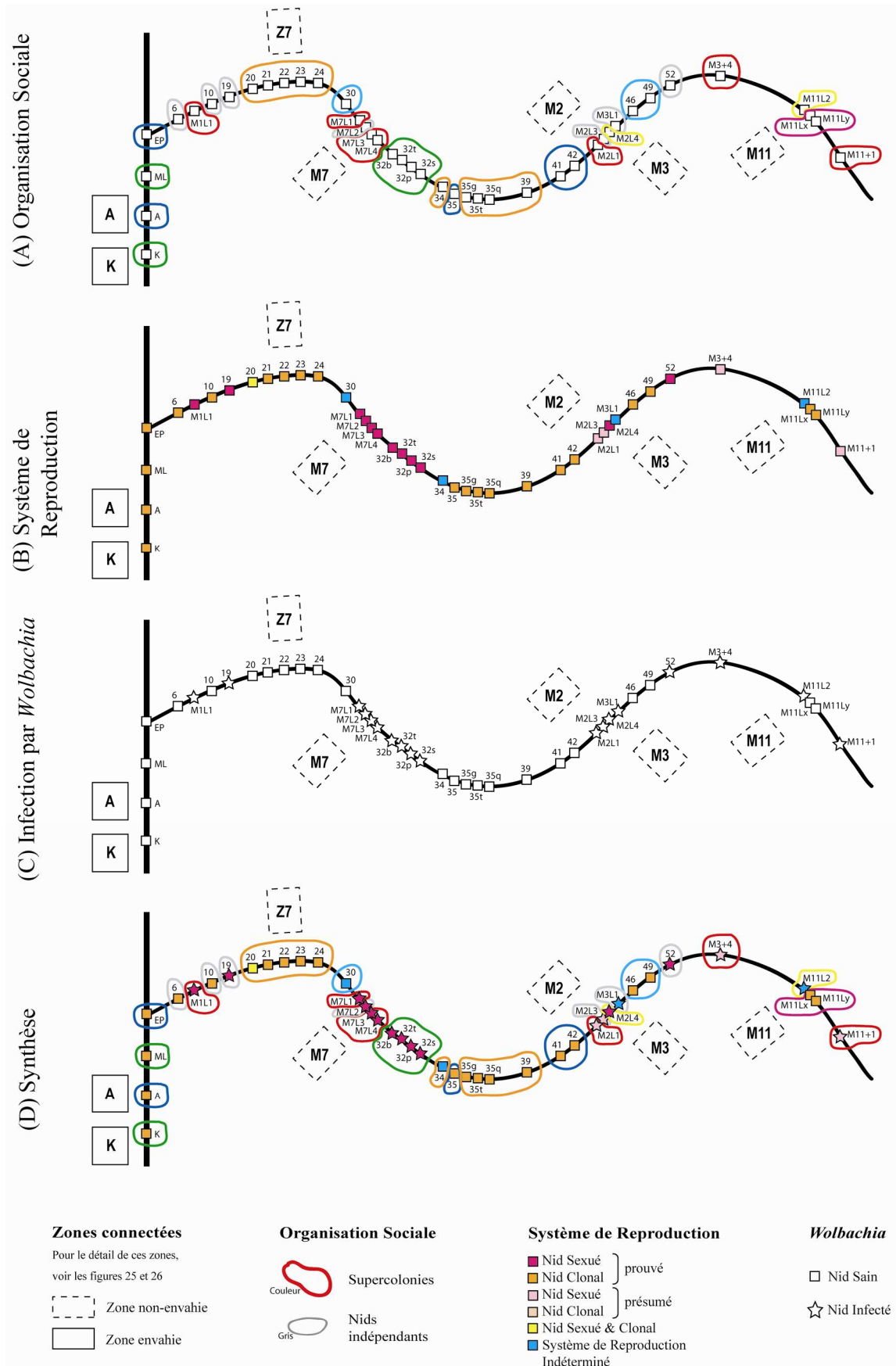
### 5.3 Facteurs environnementaux

Une analyse de contingence sur l'ensemble des données de la zone native montre que le statut infectieux des populations natives de *W. auropunctata* n'est significativement pas associé à leur statut envahissant (V de Cramer = 0,156 ;  $p = 0,068$ ). Au contraire, l'anthropisation de l'habitat est très significativement associée au statut envahissant des populations natives de *W. auropunctata* (V de Cramer = 0,647 ;  $p < 10^{-3}$ ). Toutes les populations envahissantes de *W. auropunctata* ont été échantillonnées dans des zones où l'activité humaine est présente actuellement, et aucune invasion n'a lieu dans les zones qui n'ont jamais été exploitées par l'homme. La présence de perturbations humaines semble donc déterminante dans le déclenchement des invasions de *W. auropunctata*. La corrélation entre invasion et anthropisation n'est pourtant pas strictement parfaite, car deux zones perturbées dans le passé ne sont pas envahies actuellement. Ces deux zones brésiliennes correspondent à d'anciennes plantations abandonnées il y a plus de 20 ans, où se trouvent maintenant de larges supercolonies clonales caractérisées par de très faible densité de population (CN et IN, Figure 1). Etant donné les patrons de distribution des systèmes de reproduction des populations des zones envahies et non-envahies, il est très probable que ces anciennes plantations aient été envahies dans le passé. La présence d'activité humaine en cours semblerait donc nécessaire au maintien de populations envahissantes de *W. auropunctata*.

### 5.4 Conclusion

Une analyse factorielle des correspondances confirme les résultats précédents (Figure 29 ; Annexe 1.5.5). L'anthropisation est sans conteste le facteur déterminant le statut envahissant des populations de *W. auropunctata* dans son aire native. Le système de reproduction des populations n'est pas directement associé à leur statut envahissant. En

**Figure 30** : Schéma des résultats de l'étude de la zone de transition entre zones non-envahies et zones envahies.



revanche, le système reproducteur clonal joue très probablement un rôle indirect dans les invasions de *W. auropunctata*, car il est significativement associé à la perturbation humaine. Un avantage sélectif éventuel pourrait s'exprimer notamment grâce à l'hétérozygotie très élevée des ouvrières des nids clonaux. Le rôle de l'infection par *Wolbachia* à la fois en tant qu'éventuel facteur explicatif des invasions et en tant que déterminant du système de reproduction des populations de *W. auropunctata* dépend entièrement de la souche considérée. Au Brésil, les souches de *Wolbachia* appartenant au clade A ne semble avoir aucun effet sur le système de reproduction ou le statut envahissant, alors qu'en Guyane, la souche *wAurB* de *Wolbachia* est corrélée à la fois au système de reproduction et au statut envahissant.

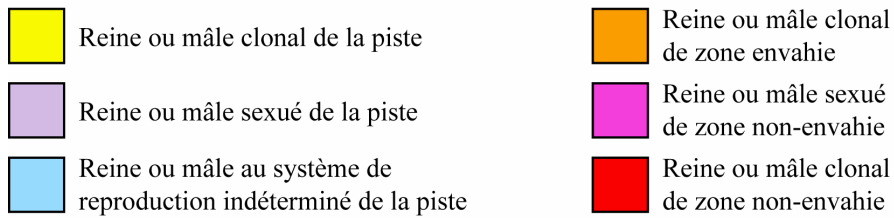
## **6. Etude d'une zone de transition entre habitats envahis et non-envahis**

L'étude de zones envahies et non-envahies de l'aire native de *W. auropunctata* nous a permis de mettre en évidence le rôle prépondérant de l'activité humaine dans le déclenchement d'invasions. Nous avons donc étudié plus en détails une zone de transition entre zones non-envahies (naturelles) et envahies (anthropisées) afin de mieux comprendre les relations entre les deux types de zones.

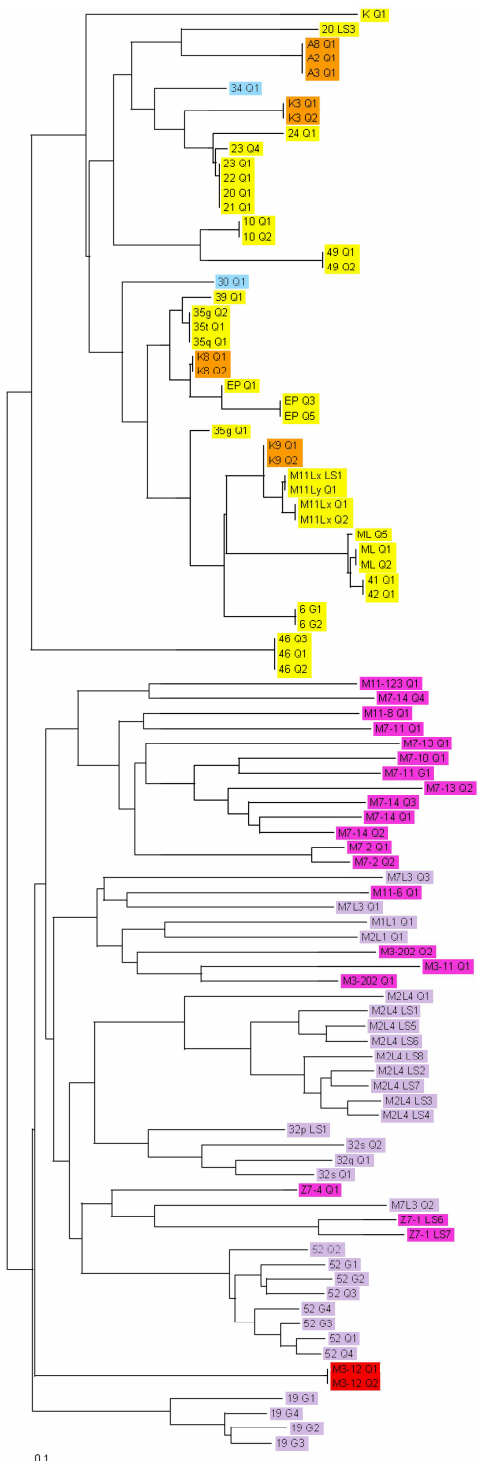
La zone de transition échantillonnée est une piste en terre de 11 km reliant les différentes zones envahies (carrière, installations) et non-envahies (forêt primaire, marigots) de Guyane (surlignée sur la Figure 9). Sur cette piste, *W. auropunctata* est implantée de manière discontinue, probablement exclue de certaines zones par la compétition avec d'autres espèces de fourmis envahissantes comme *Solenopsis geminata* (obs. pers.). Nous avons échantillonné 42 nids le long de la piste depuis une zone envahie jusqu'à l'extrémité de la piste, testé les interactions comportementales de 261 paires de nids (1479 tests indépendants) et génotypés 560 individus à 12 locus microsatellites comme indiqué précédemment (cf. Annexe 1).

L'organisation sociale des nids de la piste étudiée est très complexe (Figure 30A). Nos résultats indiquent la présence de 8 groupes de nids non-agressifs entre eux (i.e. supercolonies) de taille variable (d'une paire de nids à 10 nids), mais également de sept nids indépendants. Ces groupes de nids forment une mosaïque à l'échelle de la piste (Figure 30A), au contraire des supercolonies spatialement très organisées des zones envahies et non-

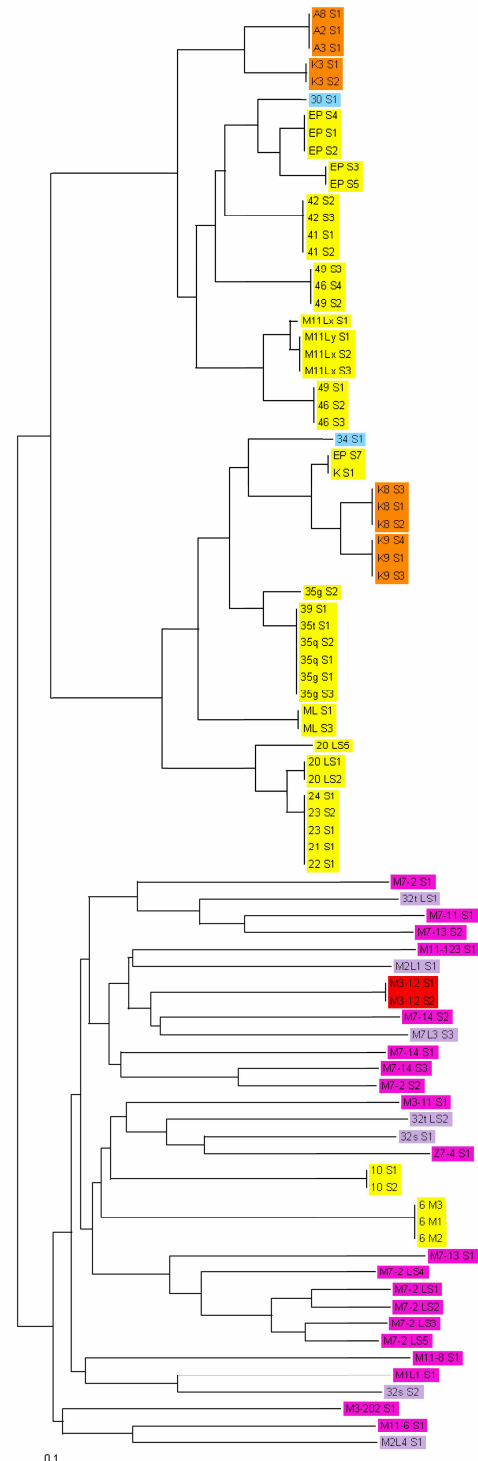
**Figure 31** : Arbres NJ des génotypes microsatellites individuels des reines et mâles clonaux et sexués de la zone de transition et des zones envahies et non-envahies connectées.



(A) Reines



(B) Mâles



envahies. L'étude des génotypes des reines, mâles et ouvrières a permis de découvrir la présence de 21 nids clonaux et de 12 nids sexués sur les 42 nids échantillonnés (Figure 30B). Un seul nid présente à la fois des preuves de reproduction sexuée et clonale. Sur la base de leur diversité génétique, quatre autres nids sont probablement sexués, et quatre nids ne présentent qu'un mâle et une reine et ne peuvent être diagnostiqués. Les supercolonies sont formées de nids soit clonaux, soit sexués (en-dehors d'une supercolonie clonale qui contient le nid où les deux types de reproduction sont présents). Au total, nous avons échantillonné cinq supercolonies clonales et trois supercolonies sexuées, ainsi que deux nids clonaux, quatre nids sexués, et un nid au système de reproduction indéterminé indépendants (Figure 30D).

Cette diversité de groupes comportementaux s'explique en grande partie par les génotypes des reines et des mâles présents dans les différents nids. Ainsi, à l'origine de la totalité des supercolonies clonales de la piste on trouve simplement différentes combinaisons de deux groupes de génotypes mâles clonaux et deux groupes de génotypes de reines clonales. Ces quatre génotypes clonaux à l'origine de la diversité de supercolonies clonales de la piste sont présents dans les zones envahies de Guyane et absents des zones non-envahies (même si la majeure partie de leurs allèles y sont présents de manière disséminée). Les deux groupes de mâles clonaux ont chacun pour origine un seul génotype mâle clonal qui s'est diversifié par mutation. Les deux groupes de reines clonales ont chacun pour origine un seul génotype femelle clonal qui s'est diversifié par mutation, par recombinaison au cours de la parthénogenèse, mais également au moins huit fois par recombinaison sexuée avec des mâles extérieurs (i.e. provenant très probablement des zones non-envahies voisines).

A l'origine de chacune des supercolonies sexuées, on trouve de petits groupes de reines proches génétiquement (souvent pleine sœurs) qui s'accouplent avec une grande diversité de génotypes mâles. Les génotypes mâles et femelles des supercolonies sexuées sont tous compatibles avec une provenance des populations sexuées non-envahissantes adjacentes, et différent des génotypes des populations clonales de zone envahies (Figure 31). Les quatre nids sexués indépendants échantillonnés proviennent également très probablement des populations sexuées de zones naturelles. Les deux nids clonaux indépendants échantillonnés ont eux une origine spéciale puisque, si les reines font partie d'un des deux groupes de reines clonales, les deux mâles clonaux échantillonnés proviennent eux des populations sexuées adjacentes (mâles des nids 6 et 10 ; Figure 31). Nous avons ainsi détecté des événements de migration de mâles uniquement dans le sens des populations sexuées vers les populations clonales.

Nos résultats montrent également que même si la très grande majorité de groupes comportementaux s'expliquent par les génotypes parentaux observés, il existe une minorité de relations comportementales qui sont probablement le fait de facteurs environnementaux. Ainsi, des ouvrières possédant le même père et la même mère mais provenant de nids situés à plusieurs kilomètres l'un de l'autre et séparés par d'autres supercolonies s'agressent parfois entre eux.

En conclusion, le scénario le plus parcimonieux expliquant la diversité génétique et comportementale échantillonnée sur cette zone de contact entre zones envahies et non-envahies se déroule en trois temps. Premièrement, la piste a probablement d'abord été colonisée par les deux clones mâles et les deux clones femelles en provenance de zones envahies lors de son ouverture (qui suit historiquement l'anthropisation des zones envahies). Dans un deuxième temps, les populations sexuées qui ont été traversées par son tracé ont établi des populations sur la piste. Enfin, des mâles de populations sexuées ont pénétré les supercolonies clonales existantes et les ont fragmenté. Au cours du temps, les différents clones femelles ont subis des événements de mutation, de recombinaisons parthénogénétiques mais également des recombinaisons sexuées avec des mâles provenant des populations sexuées adjacentes.

L'étude de cette zone de contact entre zones envahies et non-envahies permet de préciser plusieurs points. Tout d'abord, la mise en contact par l'activité humaine de populations envahissantes clonales et de populations non-envahissantes sexuées constitue un véritable laboratoire de création de nouvelles populations envahissantes, à la fois par l'apparition de nouveaux couples de clones (avec de nouveaux mâles) et par l'apparition de nouvelles lignées clonales femelles (par recombinaison sexuée). Le rôle de l'homme dans l'émergence de populations envahissantes pourrait donc résulter de la multiplication des mises en contact en milieu anthropisé de différentes sources de diversité génétique naturellement isolées. L'apparition de lignées adaptées aux milieux perturbés est probablement accélérée par l'homme, alors que son système de reproduction clonal permet à *W. auropunctata* de maintenir ces lignées dans le temps. Ces deux facteurs constituent sans doute deux clefs importantes du succès envahissant de *W. auropunctata*.

Deuxièmement, cette zone nous renseigne sur le système de reproduction de *W. auropunctata*. En effet, la présence de *Wolbachia* a été testée dans tous les nids de la piste. Aucun nid clonal de la piste n'est infecté par *Wolbachia*, alors que tous les nids sexués sont infectés par la souche déjà détectée auparavant. L'intensité de cette corrélation est particulièrement frappante dans le cas de l'étude de cette piste puisque nids sexués infestés et



nids clonaux sains sont adjacents et largement enchevêtrés (Figure 30D). La corrélation entre l'infection par cette souche *wAurB* de *Wolbachia* et le système de reproduction sexué est donc quasiment parfaite à l'échelle de la Guyane, même dans des zones où populations sexuées et clonales sont très proches spatialement et échangent des reproducteurs. Cette souche de *Wolbachia* joue donc probablement un rôle qui reste à préciser dans le contrôle du système de reproduction dans les populations guyanaises de *W. auropunctata*.

Troisièmement, nos résultats montrent que des mâles en provenance de populations sexuées mais accouplés à des reines clonales se reproduisent asexuellement. La clonalité mâle semble donc bien être sous le contrôle des femelles et non des mâles.

Enfin, nos résultats confirment que l'organisation sociale dépend essentiellement de facteurs génétiques, même si des facteurs environnementaux semblent intervenir marginalement.

## 7. Synthèse

Nos études de terrain dans l'aire native de *W. auropunctata* suggèrent que la présence d'activités humaines modifie profondément la biologie de *W. auropunctata*. Dans les zones non-perturbées, *W. auropunctata* est une espèce non-envahissante, majoritairement sexuée et rarement clonale. Au contraire, dans les zones perturbées par l'homme, *W. auropunctata* est une espèce envahissante, majoritairement clonale et rarement sexuée. La reproduction clonale de certaines populations de *W. auropunctata* leur conférerait un avantage sélectif, non pas démographique, mais adaptatif, en leur permettant d'occuper une niche environnementale très différente de leur niche naturelle, ou d'exploiter au mieux des ressources abondantes. L'origine du système de reproduction clonal de *W. auropunctata* semble être mutationnelle et/ou infectieuse.

Des facteurs secondaires pourraient amplifier le succès envahissant de *W. auropunctata*. Tout d'abord, son organisation sociale en supercolonies constitue un avantage certain dans la compétition intra et interspécifique. Ensuite, le fait que les populations clonales de *W. auropunctata* soient caractérisées, au moins dans une partie de son aire native, par la perte d'un parasite endosymbionte pourrait faciliter son explosion démographique.

Notre étude suggère enfin que l'activité humaine pourrait être responsable de l'apparition de populations envahissantes de *W. auropunctata*. En effet, en étendant ses activités sur des zones naturelles, l'homme (i) y applique un filtre sélectif similaire sur une large échelle géographique, et (ii) crée des contacts secondaires entre populations

génétiqnement différentes de *W. auropunctata*, multipliant l'émergence de nouvelles populations. En soumettant un grand nombre de variants génétiques à un même filtre sélectif à l'échelle d'un continent, il est cohérent que l'activité humaine ait pu sélectionner des populations de *W. auropunctata* à même d'envahir la totalité des zones anthropisées tropicales.

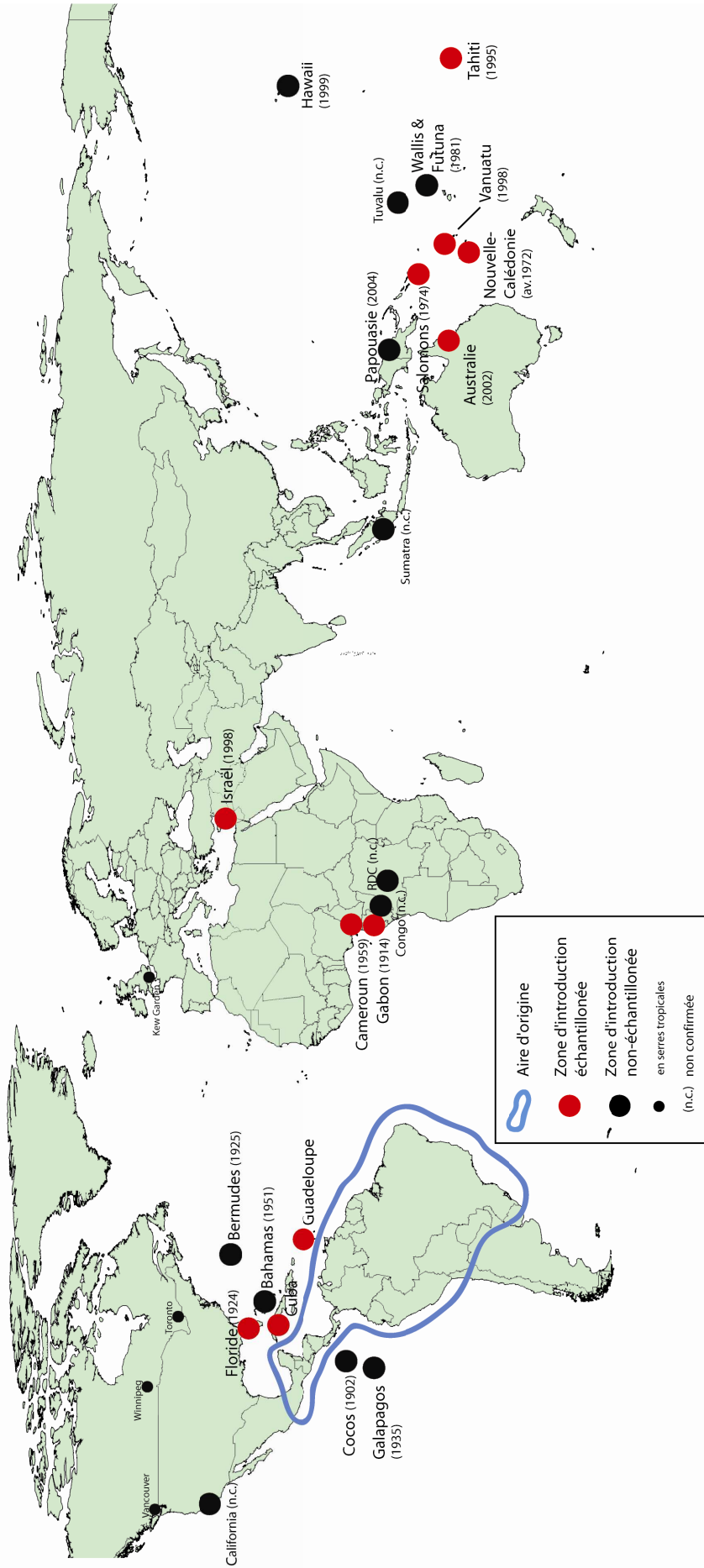
## **CHAPITRE II :**

# ***WASMANNIA AUROPUNCTATA* DANS SON AIRE D'INTRODUCTION**

« Ne dites donc point qu'une chose est possible, quand il est impossible qu'elle soit autrement. »

Rouletabille

Figure 32 : Distribution de l'échantillonnage réalisé dans l'aire introduite de *W. auropunctata*



Au cours du XXème siècle, l'aire de distribution de *W. auropunctata* s'est étendue très largement au-delà de son aire de distribution native. Grâce au transport (accidentel ou non) de nids par l'homme, *W. auropunctata* s'est implantée récemment dans les Caraïbes, en Afrique et dans la zone Pacifique (Figure 32).

Notre étude de l'aire native nous permet d'avoir plusieurs attendus concernant les caractéristiques biologiques des populations envahissantes de la zone introduite. Tout d'abord, l'organisation sociale des populations introduites devrait être l'unicolonialité, car toutes les populations de l'aire native sont organisées en supercolonies. Ensuite, si l'on considère que l'infection par *Wolbachia* impose un coût aux populations de *W. auropunctata*, comme démontré chez la fourmi *Formica truncorum* (Wenseleers et al. 2002), certaines sinon la majorité des populations introduites pourraient ne pas être infectées, selon l'hypothèse de l'*enemy release*. Cet attendu est toutefois différent selon les souches de *Wolbachia* : la souche *wAurB* pourrait être absente alors que les souches *wAurA*, qui ne semblent pas imposer de coût aux colonies envahissantes dans l'aire native de l'espèce, pourraient infecter les populations introduites. Enfin, il existe deux attendus contradictoires concernant le système de reproduction des populations introduites.

Classiquement, on considère que les environnements introduits sont différents des environnements natifs, et que les espèces introduites ont un déficit adaptatif par rapport aux espèces locales de l'aire introduite (Sax & Brown 2000). Dans un tel cas de figure, la capacité d'une espèce introduite à répondre aux nouvelles pressions de sélection exercées par l'environnement introduit est l'un des facteurs essentiels du succès envahissant (Sakai et al. 2001; Frankham 2005a; Facon et al. 2006). Dans le cas de *W. auropunctata*, l'arrivée dans un nouvel environnement pourrait donner un avantage à des populations sexuées. En effet, la reproduction sexuée génère plus de nouveaux variants génétiques que la reproduction clonale.

Alternativement, on peut considérer que les populations introduites de *W. auropunctata* (i) proviennent sans doute de zones de leur aire native où l'activité humaine est présente (plantations, habitations), (ii) passent obligatoirement par un port ou un aéroport et (iii) sont tout d'abord introduites dans des zones anthropisées de l'aire introduite. Ces populations introduites proviennent donc sans doute des populations adaptées aux zones anthropisées de l'aire native, et ne présentent donc pas forcément de déficit adaptatif par rapport aux espèces locales, au moins dans les zones anthropisées de l'aire introduite. Selon cette vision des événements d'introduction, les populations de l'aire introduite de *W. auropunctata* pourraient donc être clonales.

**Tableau 9** : Echantillonnage et nombre d'individus génotypés en provenance de l'aire introduite de *W. auropunctata*.

Note : Pour le seul nid originaire des Salomons de notre échantillon, le statut envahissant et la présence de perturbation humaine n'a pas pu être déterminée, car il s'agit d'un nid intercepté à la douane néo-calédonienne dans un chargement de bois en provenance des Salomons.

Pays	Nombre de nids	Nombre d'individus génotypés			Statut Envahissant	Perturbation Humaine
		Femelles	Mâles	Ouvrières		
Cuba	1	5		15	Envahissant	Perturbé
Guadeloupe	10	2		75	Envahissant	Perturbé
Floride	11	26	8	88	Envahissant	Perturbé
Cameroun	55	190	80	250	Envahissant	Perturbé
Gabon	19	59	45	150	Envahissant	Perturbé
Israël	24	50	36	191	Envahissant	Perturbé
Nouvelle-Calédonie	82	580	208	702	Envahissant	Perturbé/Naturel
Tahiti	9	89	26	70	Envahissant	Perturbé
Vanuatu	10	18	2	71	Envahissant	Perturbé
Australie	7	14	10	54	Envahissant	Perturbé
Salomons	1	13		32	?	?
<b>Total</b>	<b>229</b>	<b>1046</b>	<b>415</b>	<b>1698</b>		

Notre objectif dans ce chapitre a été de déterminer les caractéristiques biologiques des populations de l'aire introduite de *W. auropunctata* et d'évaluer leur évolution depuis leur introduction. Pour ce faire, nous avons tout d'abord vérifié les attendus tirés de l'étude de l'aire native de *W. auropunctata* à partir d'échantillons de taille limitée récoltés en de nombreux points d'introduction (Figure 32). Nous avons ensuite étudié plus en détail deux introductions de *W. auropunctata* dans des contextes écologiques différents : l'invasion d'un environnement insulaire, en Nouvelle-Calédonie, et l'invasion d'un environnement continental, au Gabon et au Cameroun.

## 1. Patron général des invasions en zone d'introduction

Nous avons échantillonné et génotypé à 12 locus microsatellite les individus de 229 nids récoltés dans 11 pays de la zone d'introduction de *W. auropunctata* (Figure 32, Tableau 9).

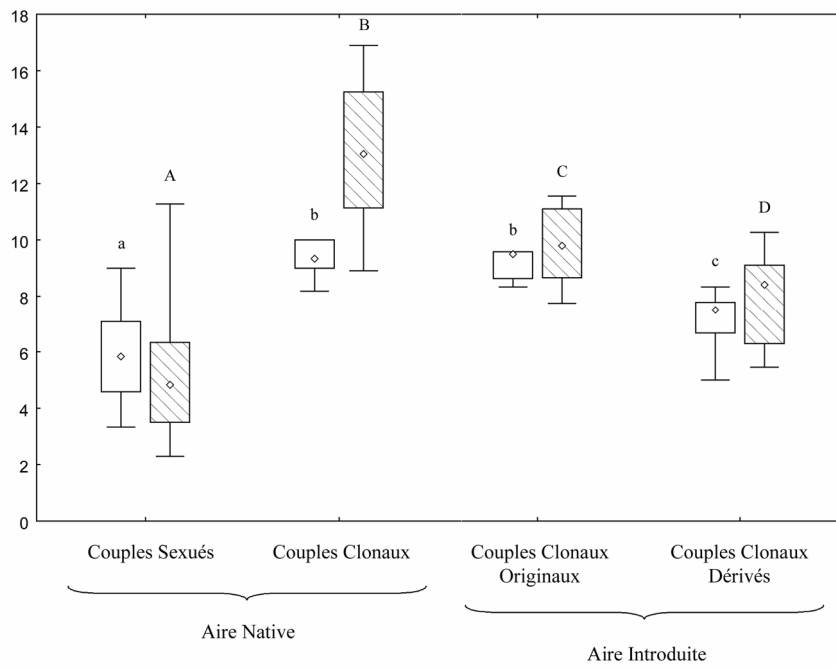
La reproduction clonale est quasiment le seul type de reproduction des populations introduites. Sur 229 nids récoltés, 214 nids présentent les signatures moléculaires de reproduction clonale des mâles et reines. Dans les autres nids, soit la reproduction clonale est très probable ( $n = 10$  nids), soit aucune inférence ne peut être faite ( $n = 5$  nids). Pour autant, la reproduction clonale n'est pas l'unique type de reproduction en zone d'introduction. Plusieurs populations (en Nouvelle-Calédonie, au Cameroun et au Gabon) présentent en effet des signatures moléculaires démontrant l'existence de rares événements de sexualité, à l'origine de nouvelles lignées de reines clonales (cf. sections ci-après pour une description détaillée de ces rares événements de sexualité). On distingue donc dans l'aire introduite les clones « originaux » (i.e. introduits) et des clones « dérivés » (i.e. clones issus d'évènements de recombinaison sexuée à partir des clones originaux). On note que ces événements de sexualité ont toujours nécessité un échantillonnage conséquent pour être détectés. Notre étude sous-estime donc probablement leur occurrence dans les zones introduites faiblement échantillonnées.

On note également que, de la même manière que pour les couples de clones de l'aire native de *W. auropunctata*, les couples de clones originellement introduits sont formés de mâles et de reines aux génotypes très différents l'un de l'autre, ce qui se traduit par une forte hétérozygotie et une forte différence de taille allélique chez les couples (Figure 33A), et par la production d'ouvrières très hétérozygotes (Figure 33B). Ce patron observé à l'échelle de la distribution mondiale de l'espèce suggère fortement que la diversité génétique individuelle

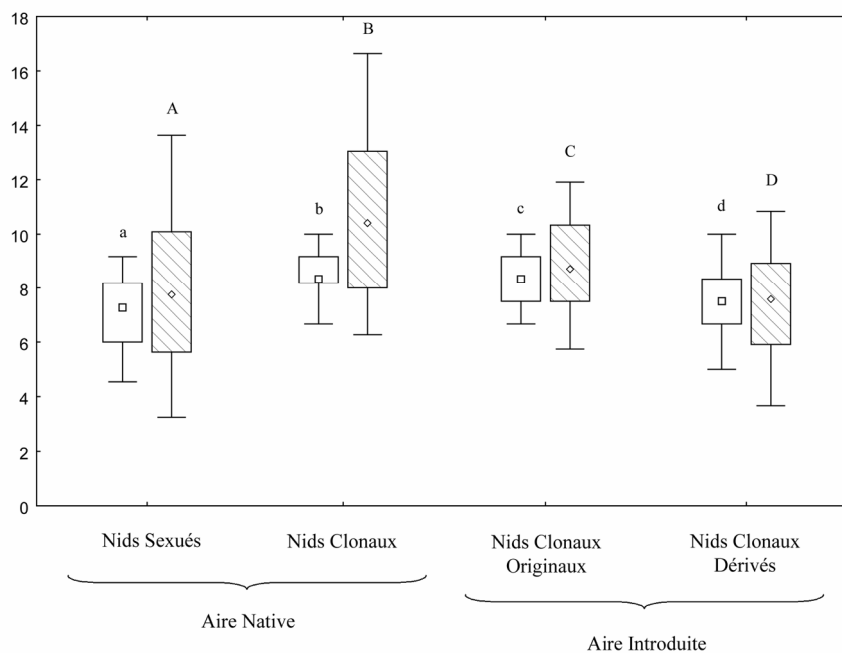
**Figure 33 :** Hétérozygotie observée ( $H_o$ ) et différence de taille allélique (DS) des couples mâle-reine (A) et des ouvrières (B) des aires native et introduite.

Note : L'hétérozygotie observée et la différence de taille allélique sont représentées par des boîtes blanches et rayées, respectivement. Les losanges indiquent les moyennes, et les boîtes et les barres horizontales indiquent les percentiles 50% et 95%, respectivement. Les valeurs de  $H_o$  ont été multipliées par dix pour homogénéiser les échelles. Les différentes lettres minuscules et capitales indiquent les groupes significativement différents pour  $H_o$  et DS, respectivement.

(A) Couples de l'aire native et de l'aire introduite



(B) Ouvrières de l'aire native et de l'aire introduite





des ouvrières pourrait effectivement être un facteur clé dans le succès envahissant de *W. auropunctata*. Les couples de clones constitués de reines clonales dérivées de reproduction sexuée montrent quant à eux une hétérozygotie plus faible que les couples de clones originaux (Figure 33A). Cette hétérozygotie reste néanmoins plus élevée que chez les couples sexuels de l'aire native, ce qui se traduit par la même tendance chez les ouvrières (tests post-hoc HSD de Tukey : tous les  $p < 10^{-3}$  ; Figures 34B).

Les populations introduites de *W. auropunctata* dont nous avons étudié le comportement sont toutes organisées en supercolonies. La taille de ces supercolonies dépend de la date et du lieu d'introduction, mais elles sont généralement étendues sur des surfaces supérieures de plusieurs ordres de grandeur à celle des supercolonies de l'aire native (i.e. jusqu'à plusieurs dizaines de milliers de km<sup>2</sup>). La différence de taille de supercolonies entre aire native et introduite ne pourrait être simplement due qu'à la fréquence des événements de migration. En effet, moins la fréquence d'arrivée de nouvelles propagules envahissantes est importante, plus la première propagule réussissant à s'établir a le temps de saturer le point d'introduction et d'empêcher l'installation de nouvelles lignées clonales introduites par des interactions agressives. Il est probable que ce phénomène doit s'amplifier lorsque le nombre de points d'introduction potentiels diminue (i.e. dans les zones ne possédant qu'un port ou aéroport international par exemple).

Les populations introduites de *W. auropunctata* ne sont généralement pas infectées par *Wolbachia*. Sur les 117 nids de 10 populations introduites testées, seul un unique nid floridien et les nids des populations vanuataises et australiennes sont infectés par des bactéries du genre *Wolbachia*. En ce qui concerne le nid floridien, aucune inférence sur le système de reproduction n'a pu être faite. La souche infectant ce nid est identique à la souche présente dans les populations sexuées de Guyane (i.e. *wAurB*), et pourrait donc avoir le même effet phénotypique éventuel (i.e. l'induction de la sexualité) en zone d'introduction. Il est impossible de savoir si cette infection était présente avant l'introduction ou s'il s'agit d'une infection secondaire contractée en Floride. L'infection secondaire par *Wolbachia* de populations de fourmis introduites a déjà été suspectée chez *Solenopsis invicta*, une autre fourmi envahissante originaire d'Amérique de Sud, et précisément dans ses populations floridiennes (Tsutsui et al. 2003). En ce qui concerne les populations vanuataise et australienne, les nids infectés sont clonaux. Pourtant, contrairement nos attendus, la souche les infectant est également identique à la souche présente dans les populations sexuées de Guyane (i.e. *wAurB*, Figure 34). Deux hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ce résultat. Premièrement, le séquençage du seul gène *wsp* est probablement insuffisant pour

**Figure 34** : Arbre phylogénétique des principales souches de *Wolbachia* infectant les populations natives et introduites de *W. auropunctata* et d'autres Formicidés sur la base du gène *wsp* en Maximum de Vraisemblance.

Note : Les haplotypes du gène *wsp* des souches de *Wolbachia* portées par des *W. auropunctata* sont surlignées avec les couleurs suivantes : jaune = Guyane, orange = Brésil, rouge = Costa Rica, bleu = Floride, vert = Vanuatu, violet = Australie. Les noms d'individus de *W. auropunctata* ont été codés comme suit : Wa puis nom du site, numéro du nid, type d'individu (Q = reine, G = gyne, W = ouvrière) et numéro de l'individu. Les haplotypes des souches de *Wolbachia* portées par les autres Formicidés (plus la souche portée par la sous-espèce thélytoque *Apis mellifera capensis*) ont été publiée sous GenBank, et leur numéro d'accèsion GenBank figure entre parenthèse. Les valeurs de *bootstrap* des principaux nœuds de l'arbre sont présentées lorsqu'elles dépassent le seuil de 50%.

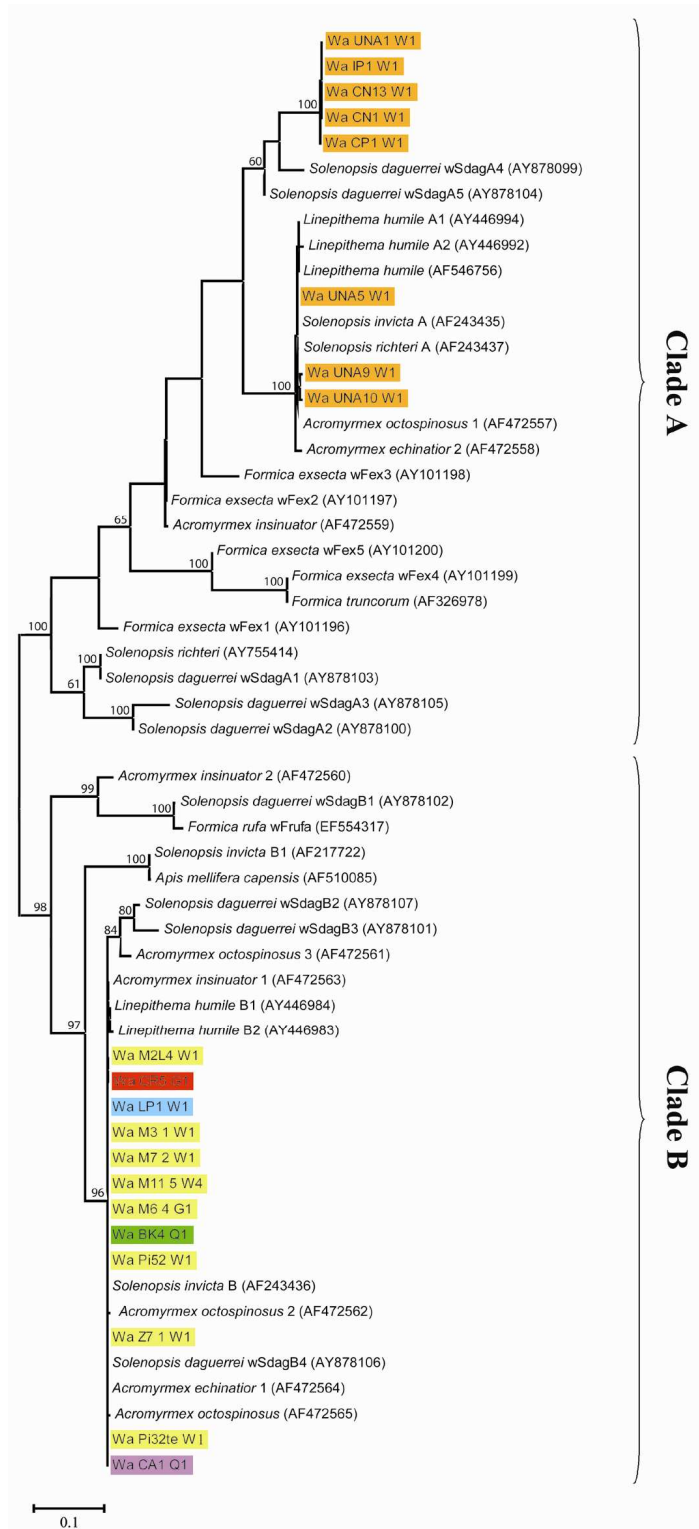
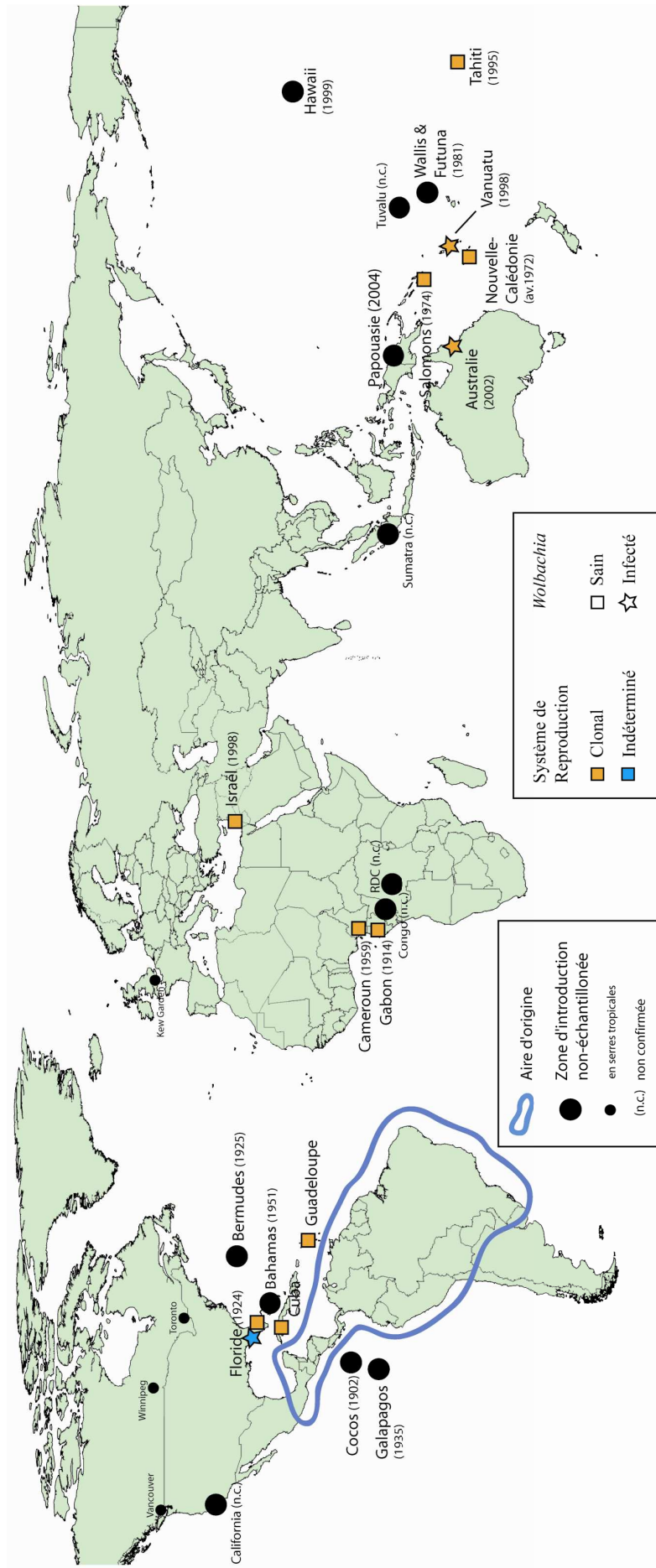


Figure 35 : Synthèse des résultats obtenus dans l'aire introduite de *W. auropunctata*.



discriminer finement les différentes souches de *Wolbachia*. Récemment, un nouveau test d'identification des souches de *Wolbachia* basé sur le typage de 5 gènes différents de la bactérie a été ainsi développé pour compenser la résolution relativement faible de *wsp* (Baldo et al. 2006). Il est donc possible que les souches de *Wolbachia* vanuataises et australiennes ne soient pas totalement identiques à la souche *wAurB* guyanaise. Deuxièmement, même si l'identité des souches vanuataises et australiennes et de la souche guyanaise était confirmée, il est possible que la souche *wAurB* ait perdu son éventuel effet de manipulation du système de reproduction dans le contexte particulier de ces introductions lointaines. En effet, si les effets de la sexualité sont délétères dans le contexte de populations introduites (voir ci-après), la manipulation du système de reproduction de *W. auropunctata* pourrait être contre-sélectionnée chez *wAurB*. Ainsi, il est attendu que les bactéries du genre *Wolbachia* évoluent rapidement des relations mutualistes avec leur hôte une fois passé le stade de prolifération de la bactérie (Weeks et al. 2007).

Nos résultats soulignent donc une fois de plus l'importance de la connaissance de l'identité des souches de *Wolbachia* étudiées. Les attendus de l'hypothèse de l'*enemy release* semble être en partie réalisés pour la souche *wAurB* de *Wolbachia*, ce qui semble logique au vu des résultats de notre étude de l'infection des populations de l'aire native. Toutefois, pour prouver un éventuel effet d'*enemy release* sur la souche *wAurB*, il reste à prouver expérimentalement que cette souche a des effets négatifs sur le fitness des colonies infectées.

L'étude des populations introduites à l'échelle mondiale est donc cohérente avec l'étude des populations natives de *W. auropunctata*. Les populations introduites sont globalement clonales, organisées en supercolonies et très souvent saines par rapport à la souche *wAurB* de *Wolbachia* (Figure 35), tout comme la plupart des populations envahissantes de l'aire native de *W. auropunctata*. Il faut toutefois noter que notre échantillonnage est biaisé en faveur des zones anthropisées de l'aire introduite (à l'exception de l'échantillonnage néo-calédonien, voir ci-après).

## **2. Etude détaillée de deux zones d'introduction**

Nous avons étudié de manière détaillée l'invasion de *W. auropunctata* dans deux zones d'introduction pour tenter de répondre à la question de l'évolution du système de reproduction et du succès envahissant de *W. auropunctata* dans deux contextes écologiques différents : un contexte insulaire et un contexte continental. Nous avons pour cela étudié en détails les populations introduites en Nouvelle-Calédonie il y a environ 40 ans, et les

populations introduites sur une partie du continent africain (Gabon et Cameroun) il y a environ un siècle.

## 2.1 Invasion en zone insulaire : la Nouvelle-Calédonie

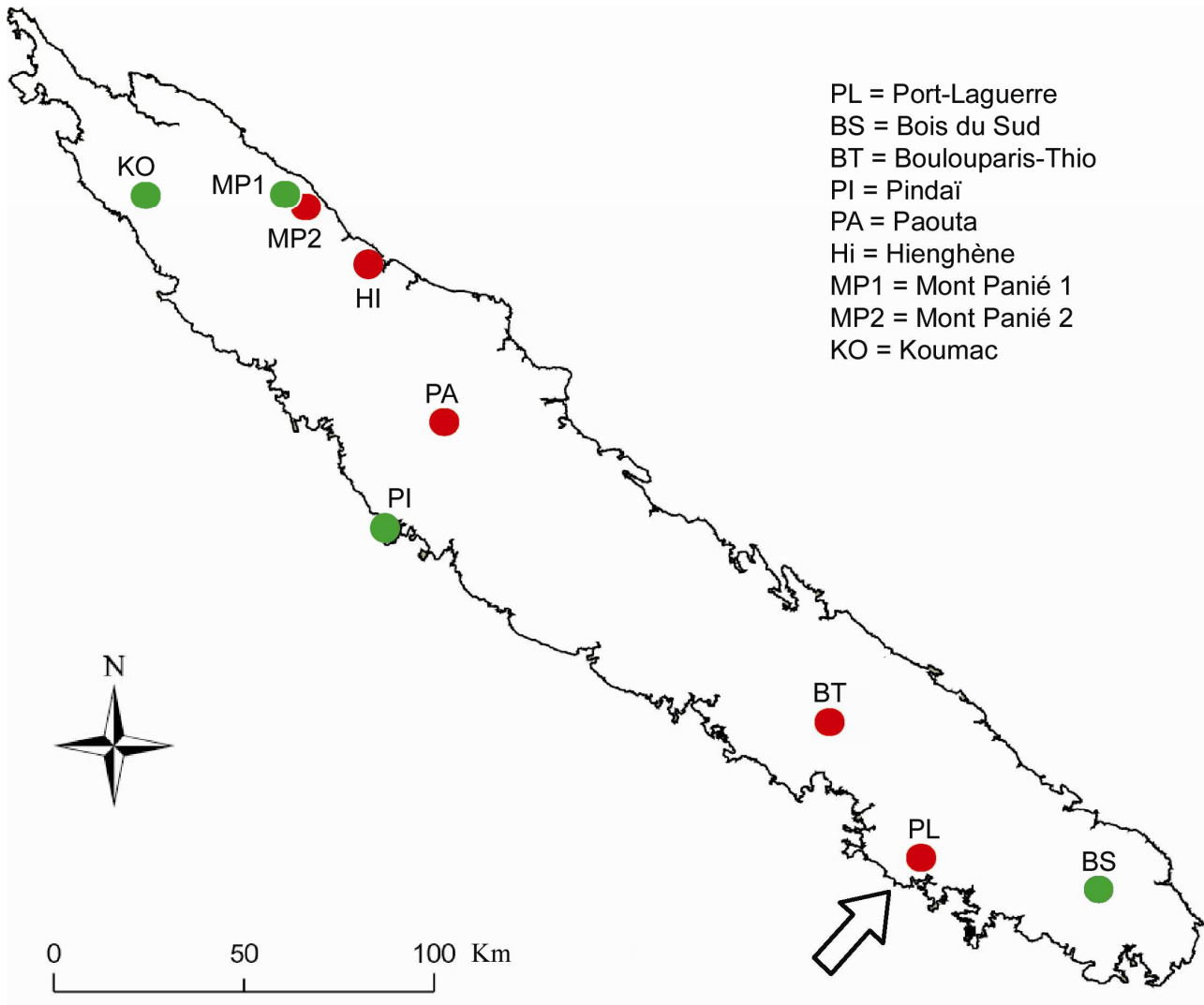
*Wasmannia auropunctata* a été introduite en Nouvelle-Calédonie au milieu des années 1960 (Jourdan, com. pers.). Depuis, elle a envahi l'intégralité de la Grande Terre où elle forme une unique supercolonie (Le Breton et al. 2004). Pour étudier en détail l'évolution du système de reproduction de la population néo-calédonienne de *W. auropunctata*, nous avons génotypé 1488 individus récoltés dans 82 nids répartis dans neuf sites (5 en zone anthropisée et 4 en zone naturelle) sur l'intégralité de la Grande Terre, y compris le point d'introduction initial de *W. auropunctata*, Port-Laguerre (Figure 37, Tableau 10). Toutes les populations échantillonnées sont envahissantes, ce qui signifie que le milieu naturel néo-calédonien n'a offert aucune résistance biotique particulière à l'invasion par *W. auropunctata*. Ce résultat est en accord avec les attendus théoriques d'une diversité biotique plus faible dans le milieu introduit insulaire que dans le milieu natif continental (Elton 1958; Mayr 1965; McArthur & Wilson 1967).

Nos résultats montrent que la très grande majorité des reines et des mâles se reproduisent clonalement. Sur les 580 reines échantillonnées, 512 reines forment 30 groupes de génotypes identiques entre eux. Il est intéressant de noter que si les groupes de clones femelles ont des effectifs généralement faibles, un groupe de clones femelles (nommées reines Q0 ci-après) possède un effectif très large ( $n = 245$  reines). Sur les 206 mâles échantillonnés, 205 mâles ne sont dérivés que d'un seul génotype clonal mâle (nommé M0 ci-après). Les deux groupes de clones mâle et femelle ayant des effectifs très majoritaires sur l'île sont remarquables par leur différence génotypique : ils ne partagent aucun allèle à 11 des 12 locus génotypés. De plus, ces allèles et leurs dérivés mutationnels constituent la totalité des allèles présents en Nouvelle-Calédonie, qui ont donc pu être classés en une catégorie « mâle » (i.e. issus du génotype mâle M0) et une catégorie « femelle » (i.e. issus du génotype femelle Q0) (Tableau 11).

Nos résultats montrent qu'un génotype femelle (nommé Q1) est constitué à 50% d'allèles « mâle » et 50% d'allèles « femelle », et a donc sans doute été produit par la reproduction sexuée d'un mâle M0 avec une femelle Q0. Nous avons également échantillonné un mâle portant 50% d'allèles « mâle » et 50% d'allèles « femelle », et donc probablement

**Figure 36 :** Carte des sites échantillonnés en Nouvelle-Calédonie.

Note : La flèche indique le point d'introduction initial (Port-Laguerre). Les points verts et rouges représentent les sites naturels et anthropisés, respectivement.



**Tableau 10 :** Nombre de nids échantillonnés et nombre de reines, mâles et ouvrières génotypés dans chacun des neuf sites néo-calédoniens.

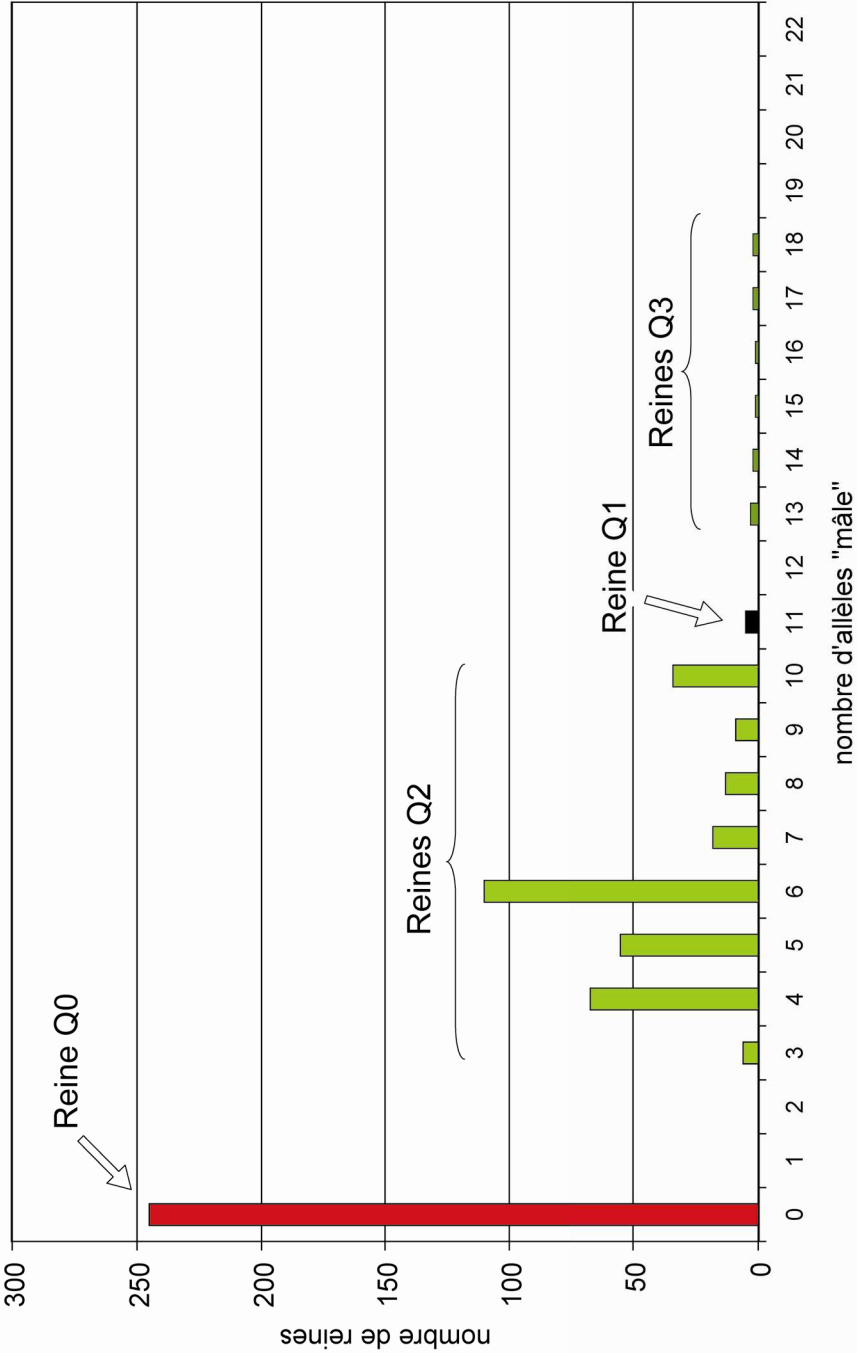
Site	Nb de nids	Reines	Mâles	Ouvrières	total
Bois du Sud	13	161	59	104	324
Pindai	5	45	0	40	85
Mont Panié 1	2	42	28	40	110
Koumac	4	45	29	40	114
Boulouparis-Thio	20	55	21	159	235
Port Laguerre	25	102	16	199	317
Mont Panié 2	3	40	53	40	133
Hienghène	5	45	0	40	85
Paouta	5	45	0	40	85
<b>total</b>	<b>82</b>	<b>580</b>	<b>206</b>	<b>702</b>	<b>1488</b>

**Tableau 11 :** Allèles « mâle » et « femelle » néo-calédonien aux 11 loci diagnostics

Note : Les allèles « mâle » et « femelle » sont écrits en bleu et rouge, respectivement. Les allèles fréquents ( $f > 0.1$ ) sont écrits en gras italique, les allèles mutés peu fréquents ( $f < 0.1$ , la plupart  $< 0.01$ ) sont écrits normalement.

Locus	Allèles "mâle"	Allèles "femelle"
<i>Waur-1gam</i>	298 <b>300</b>	<b>288 294</b>
<i>Waur-2164</i>	324 <b>326 328 330</b>	288 <b>290 292</b>
<i>Waur-225</i>	<b>225</b>	<b>223</b>
<i>Waur-275</i>	<b>115</b>	<b>113 129 131</b>
<i>Waur-3176</i>	<b>232</b> 234	224 <b>226</b>
<i>Waur-418</i>	118 <b>120 122</b>	<b>102 116</b>
<i>Waur-521</i>	<b>200</b>	206 <b>208 213 215</b>
<i>Waur-566</i>	<b>267</b>	<b>263</b>
<i>Waur-680</i>	<b>165</b> 167	<b>173</b>
<i>Waur-716</i>	190 <b>192</b>	<b>184 196</b>
<i>Waur-730</i>	174 <b>176</b>	<b>156 158 178 180</b>

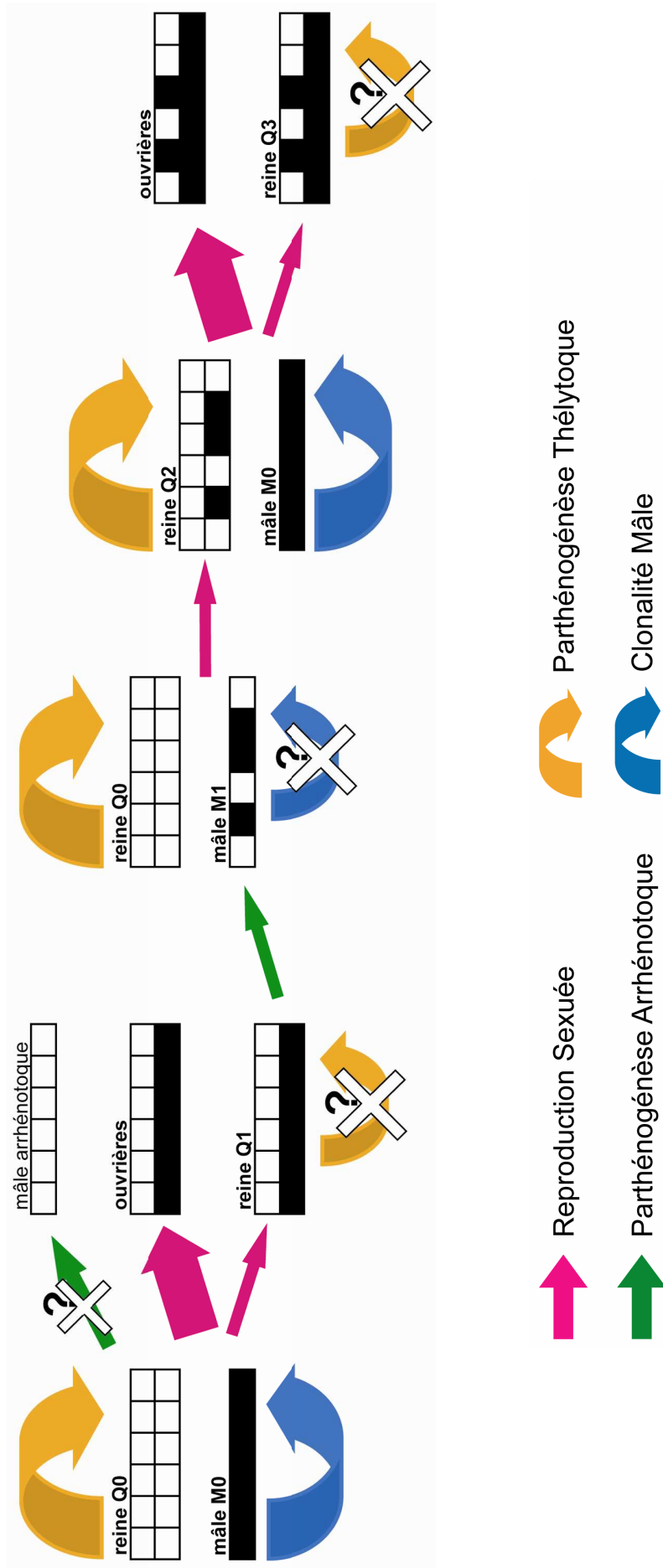
Figure 37 : Distribution du nombre d'allèles « mâle » sur 11 loci chez les différents types de reines en Nouvelle-Calédonie.





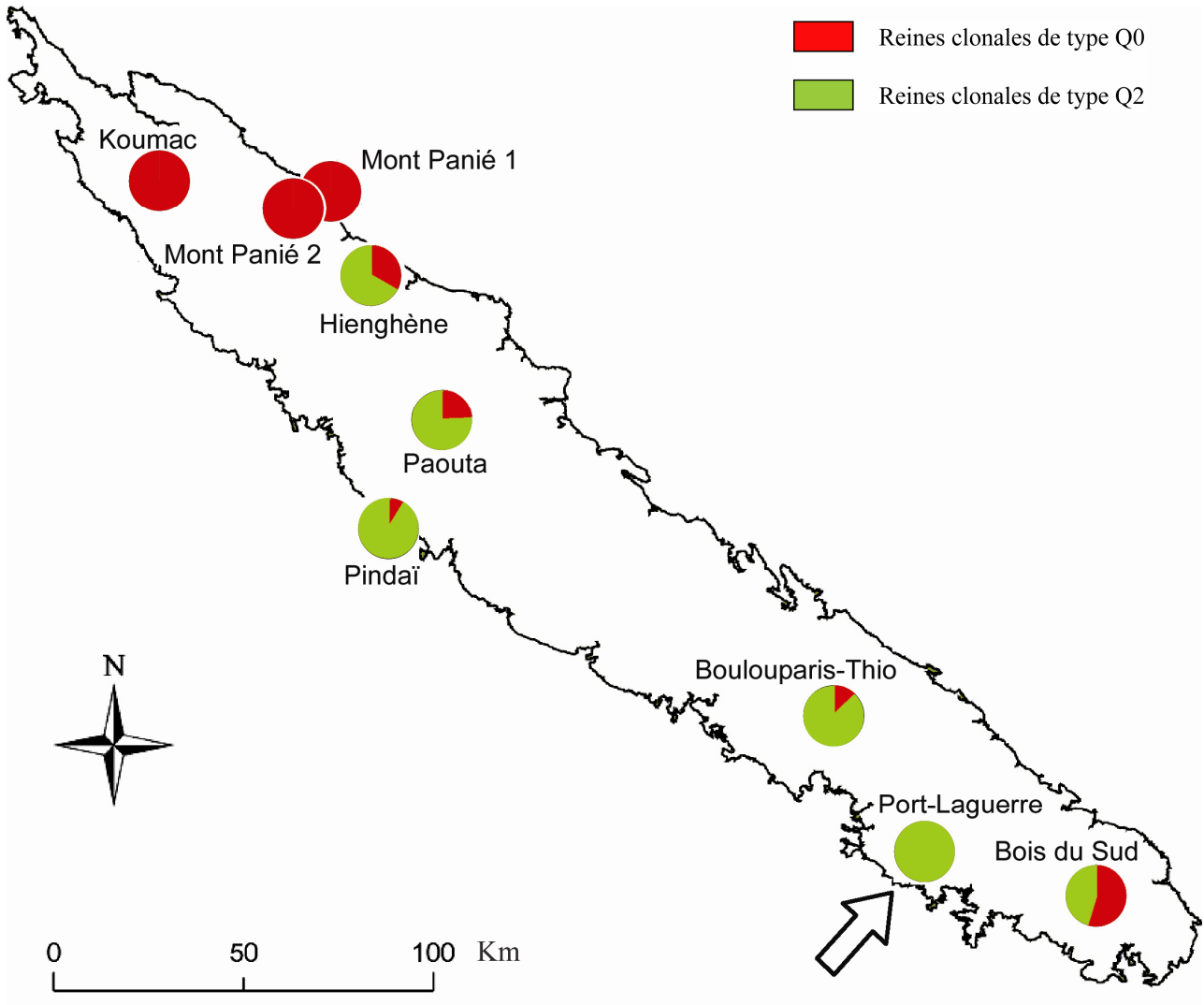
**Figure 38** : Schéma de la diversification des lignées de reines clonales de reproduction sexuée, inféré à partir des données néo-calédoniennes.

Note : Les flèches de couleur indiquent les modes de reproduction. Les flèches épaisses et fines indiquent les événements de reproduction fréquents et rares, respectivement. Les flèches barrées avec un point d'interrogation indiquent les événements de reproduction jamais observés.



**Figure 39** : Distribution des différents types de reines en Nouvelle-Calédonie.

Note : Les portions rouges et vertes des camemberts indiquent les proportions de reines clonales de type Q0 (i.e. originellement introduite) et Q2 (i.e. dérivée par reproduction sexuée), respectivement. La flèche indique le point d'introduction initial (Port-Laguerre).

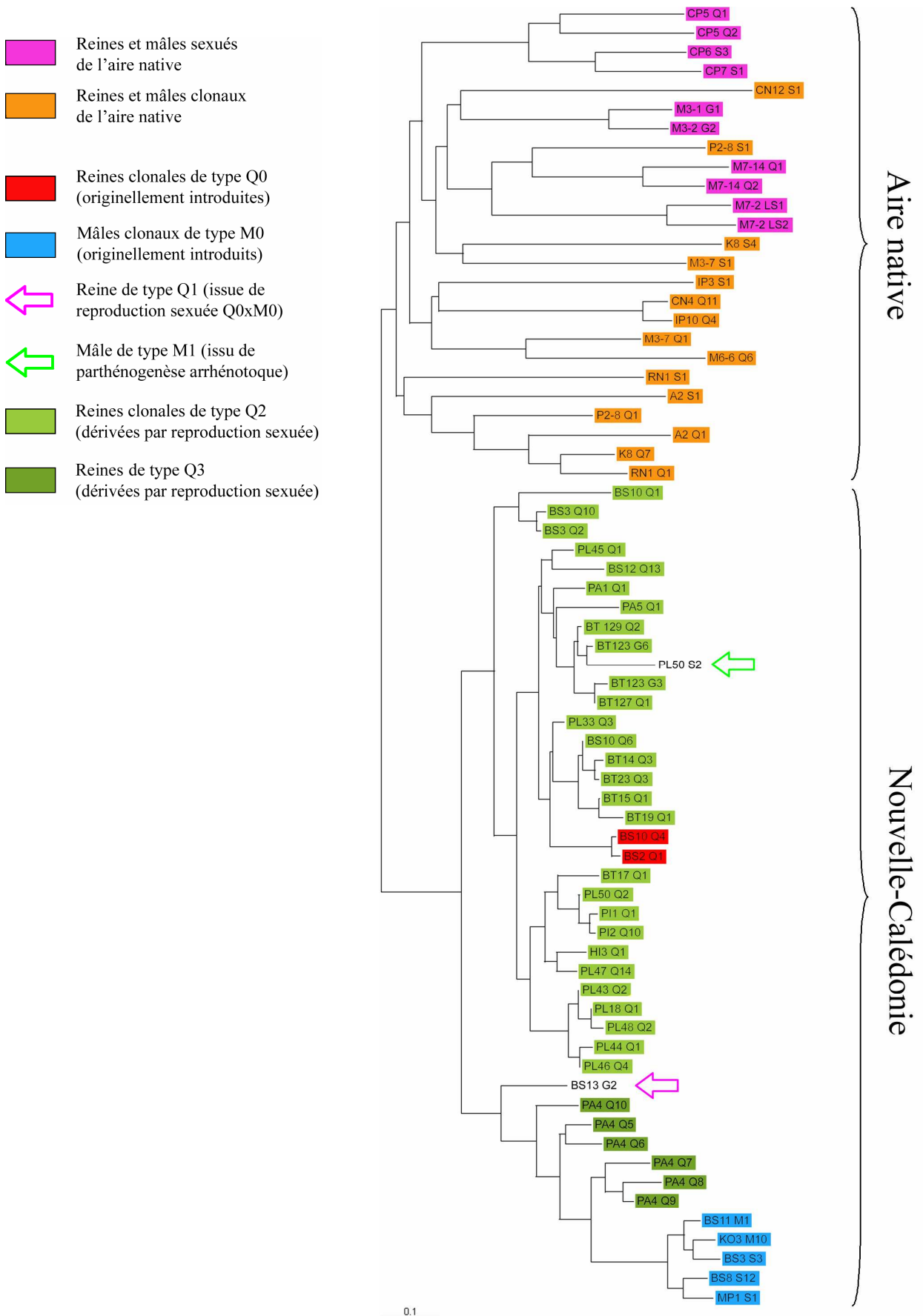


produit par une reine de type Q1 par parthénogenèse arrhénotoque (Figures 37 et 38). Les reines non-Q0 et non-Q1 de notre échantillon sont de deux types : 323 reines (nommées Q2) portent entre trois et dix allèles « mâle » et sont donc probablement le résultat de croisements Q0 x M1 ; 11 reines (nommées Q3) portent de 13 à 18 allèles « mâle » et sont probablement le résultat de croisements Q2 x M0 (Figures 37 et 38). Bien qu'elles aient été générées par reproduction sexuée, les reines Q2 se reproduisent clonalement et forment 28 groupes de génotypes identiques. En revanche, aucune trace de reproduction clonale n'a été décelée chez les reines Q1 et Q3. D'autre part, la totalité des ouvrières échantillonnées en Nouvelle-Calédonie sont compatible avec leur production sexuée, comme dans l'aire native de *W. auropunctata*. La répartition spatiale des différents types de reines à l'échelle de la Nouvelle-Calédonie n'est pas aléatoire (Figure 39). Le point d'introduction de *W. auropunctata* contient uniquement des reines Q2 alors que les sites les plus lointains contiennent uniquement des reines de type Q0.

Ces résultats indiquent que la Nouvelle-Calédonie a vraisemblablement été envahie par un seul couple composé d'une reine et d'un mâle clonaux (i.e. Q0 et M0). Après introduction, ces deux génotypes ont subi des mutations, des recombinaisons parthénogénétiques, mais également de la recombinaison par reproduction sexuée (Figure 40). Au moins 24 événements de reproduction sexuée sont nécessaires pour expliquer la diversité de génotypes de notre échantillon. Il est intéressant de noter que les deux types de reines portant plus de 50% d'allèles « femelle » (i.e. les reines Q0 et Q2) sont principalement clonales alors que les reines portant plus de 50% d'allèles « mâle » (i.e. les reines Q1 et Q3) ne semblent pas capables de parthénogenèse. Ce résultat suggère que la parthénogenèse thélytoque chez *W. auropunctata* pourrait être sous le contrôle d'un seul locus, avec deux allèles « femelle » déclenchant la parthénogenèse, comme démontré chez *Apis mellifera capensis* (Lattorff et al. 2005).

Même si la reproduction clonale des deux sexes demeure très largement majoritaire dans la population introduite néo-calédonienne, le faible nombre d'événements de reproduction sexuée, à l'origine de nouvelles lignées clonales, pourrait avoir d'importantes conséquences sur le succès envahissant de l'espèce. En effet, la succession d'événements de reproduction sexuée mélange les pools génétiques mâles et femelles, avec pour conséquences principales une augmentation très forte de l'homozygotie chez les ouvrières et une production de mâles diploïdes accrue (Figure 41). En plus du fardeau de production de mâles diploïdes, l'augmentation de l'homozygotie chez les ouvrières pourrait avoir des conséquences négatives sur le fonctionnement global des colonies (Sherman et al. 1988; Wiernasz et al.

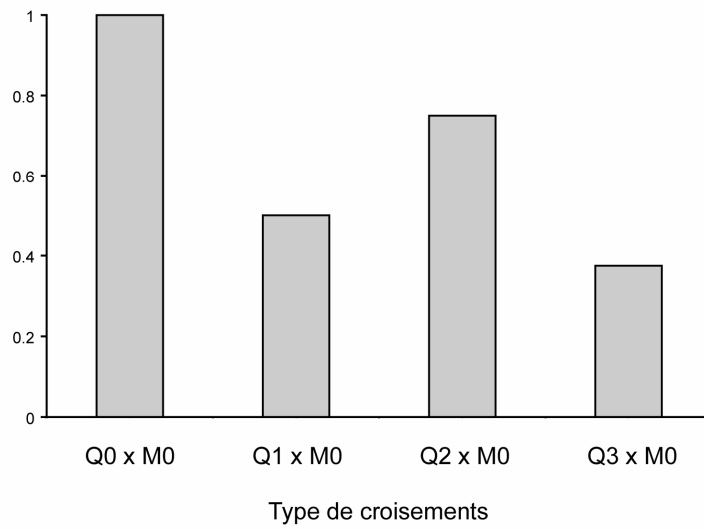
**Figure 40 :** Arbre des génotypes microsatellites individuels des différents types de reines et mâles clonaux et sexués de Nouvelle-Calédonie et de l'aire native.



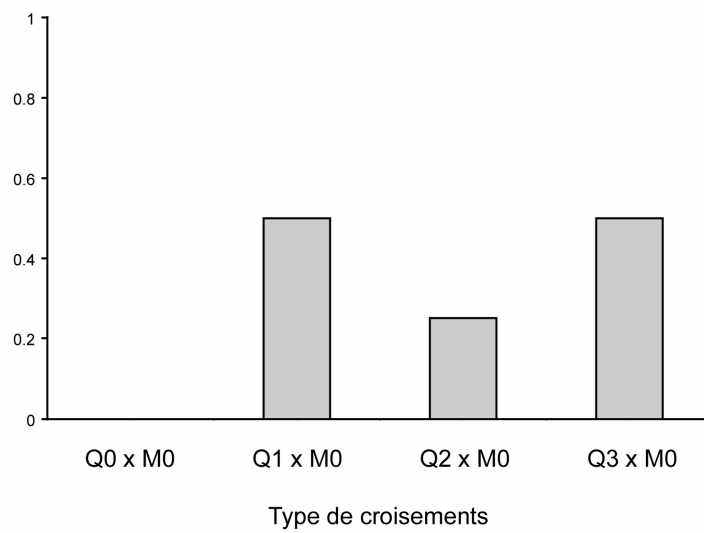
0.1

**Figure 41** : Effet des différents types de croisements sur l'hétérozygotie observée des ouvrières (A) et le fardeau de mâles diploïdes (en % des mâles pondus, B).

(A) Hétérozygotie observée des ouvrières

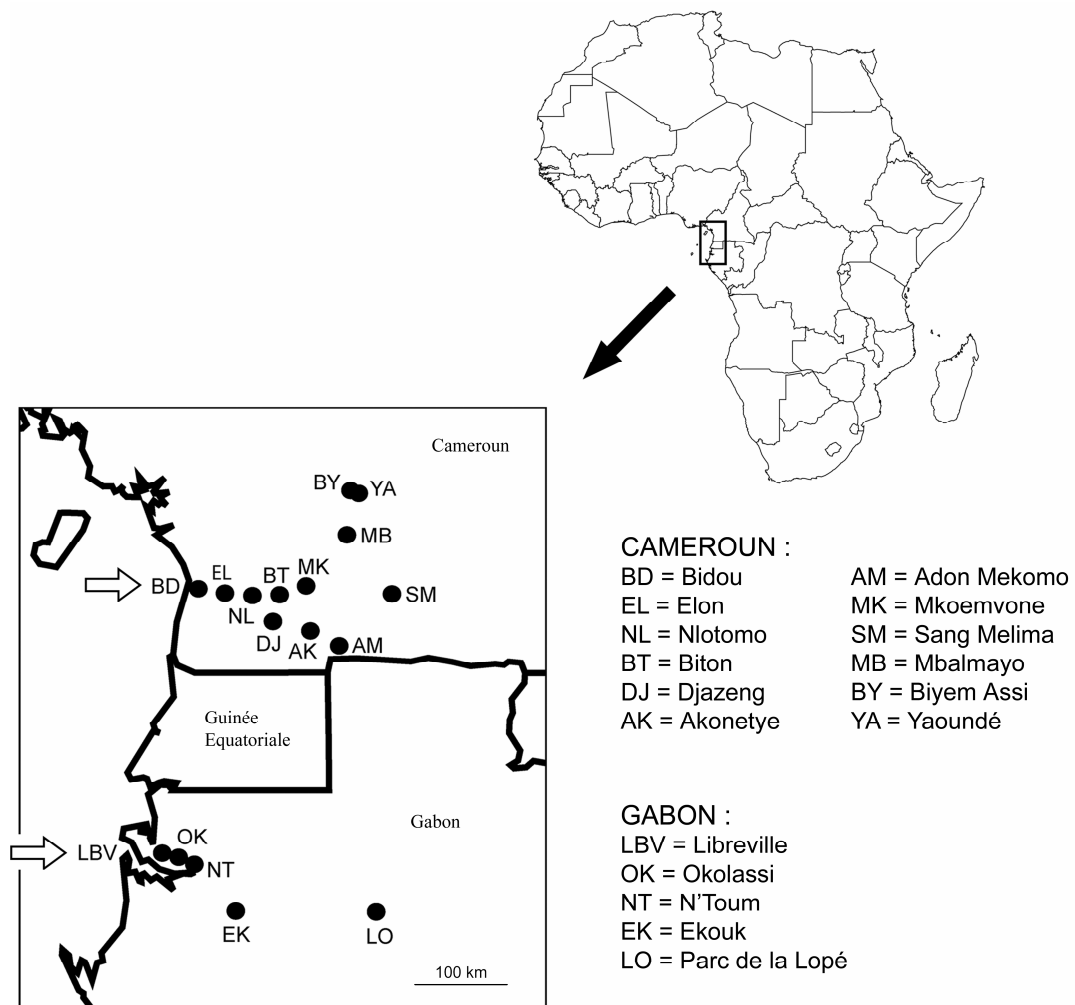


(B) Fardeau de mâles diploïdes (en % des mâles pondus)



**Figure 42 :** Carte de l'échantillonnage réalisé au Gabon et au Cameroun

Note : Les flèches blanches indiquent les points d'introduction au Gabon (Libreville) et au Cameroun (Bidou).



2004; Mattila & Seeley 2007; Oldroyd & Fewell 2007). Pourtant, la répartition spatiale des différents types de reines suggère que les reines Q2 issues de reproduction sexuée sont en train de remplacer les reines Q0 originales sur le territoire néo-calédonien (Figure 39).

Deux hypothèses mutuellement exclusives pourraient expliquer l'émergence de la reproduction sexuée en Nouvelle-Calédonie. Premièrement, dans le cas où la recombinaison aurait des conséquences négatives sur le fitness des colonies, le remplacement des reines Q0 par les reines Q2 serait subi, et l'émergence de la reproduction sexuée pourrait donc être due à une contrainte développementale (i.e. un biais dans la production de variants phénotypiques causée par la structure ou la dynamique du système développemental ; Maynard-Smith, 1985). Deuxièmement, dans le cas où la recombinaison des génomes mâle et femelle serait avantageuse, le remplacement des reines Q0 par les reines Q2 serait positivement sélectionné, et l'émergence de la reproduction sexuée pourrait être due à une contrainte sélective. Pour pouvoir trancher entre ces deux hypothèses, il serait nécessaire de suivre dans le temps (i) l'évolution des types de reines de *W. auropunctata* sur le territoire néo-calédonien pour confirmer le remplacement des reines Q0 par les reines Q2, (ii) l'évolution de la démographie et de l'impact fonctionnel des populations, pour évaluer l'effet de l'émergence de la reproduction sexuée sur le statut envahissant et la pérennité des populations, et (iii) de tester d'éventuelles différences de fitness entre lignées Q0 et Q2 en laboratoire. Des données préliminaires de suivi démographique suggèrent de fortes chutes de densité chez les populations néo-calédoniennes, et notamment dans les localités les plus anciennement colonisées, aux fortes proportions de reines Q2 (Hervé Jourdan, comm. pers.).

## 2.2 Invasion en zone continentale : Gabon et Cameroun

La présence de *W. auropunctata* au Gabon a été détectée dès 1913 et constitue la plus ancienne introduction connue de l'espèce dans le monde (Santschi 1914; Wetterer & Porter 2003). L'invasion du Cameroun est plus récente, puisqu'elle n'a été détectée qu'en 1959 (Bruneau de Miré 1969). Même si des données historiques suggèrent que l'invasion du Cameroun est très probablement originaire du Gabon voisin (Wetterer & Porter 2003), aucune donnée objective n'a confirmé cette hypothèse.

Les invasions du Gabon et du Cameroun sont théoriquement différentes de l'invasion de la Nouvelle-Calédonie étudiée précédemment. Tout d'abord, ces introductions ont lieu sur le continent africain, très riche en myrmécofaune, parasites et autres compétiteurs, et non pas

**Tableau 12 :** Illustration des génotypes de reines, mâles et ouvrières de nids de clones originaux du Gabon et du Cameroun.

Note : A l'exception d'une recombinaison parthénogénétique au locus *Waur275* (113/130 → 113/113) et d'une mutation au locus *Waur730* (181 → 179), les reines clonales des nids gabonais et camerounais sont identiques. Les mâles clonaux gabonais et camerounais sont identiques. Les allèles notés '000' sont des allèles nuls.

Locus	<i>Waur1166</i>	<i>Waur1gam</i>	<i>Waur2164</i>	<i>Waur225</i>	<i>Waur275</i>	<i>Waur3176</i>	<i>Waur418</i>	<i>Waur521</i>	<i>Waur566</i>	<i>Waur680</i>	<i>Waur716</i>	<i>Waur730</i>													
<b>Nid LO1 : Gabon</b>																									
<b>Reines</b>																									
LO1 Q1	097	107	288	294	290	292	223	223	113	130	226	226	102	116	207	215	263	263	173	173	184	198	157	181	
LO1 Q2	097	107	288	294	290	292	223	223	113	130	226	226	102	116	207	215	263	263	173	173	184	198	157	181	
LO1 Q3	097	107	288	294	290	292	223	223	113	130	226	226	102	116	207	215	263	263	173	173	184	198	157	181	
LO1 Q4	097	107	288	294	290	292	223	223	113	130	226	226	102	116	207	215	263	263	173	173	184	198	157	181	
<b>Mâles</b>																									
LO1 S1	097		305		313		250		115		226		100		221		277		175		000		177		
LO1 S2	097		305		313		252		115		226		100		221		277		175		000		177		
LO1 S3	097		305		313		250		115		226		100		221		277		175		000		177		
LO1 S4	097		305		313		250		115		226		100		221		277		175		000		177		
<b>Ouvrières</b>																									
LO1 W1	097	107	288	305	290	313	223	250	115	130	226	226	100	116	207	221	263	277	173	175	184	184	177	181	
LO1 W2	097	107	288	305	290	313	223	250	113	115	226	226	100	102	207	221	263	277	173	175	184	184	177	181	
LO1 W3	097	107	288	305	292	313	223	250	115	130	226	226	100	116	215	221	263	277	173	175	184	184	177	181	
LO1 W4	097	107		294	305	290	315	223	250	113	115	226	226	100	102	207	221	263	277	173	175	198	198	177	181
LO1 W5	097	097		294	305	290	313	223	250	115	130	226	226	100	102	207	221	263	277	173	175	198	198	177	181
LO1 W6	097	097	288	305	290	313	223	250	113	115	226	226	100	102	215	221	263	277	173	175	184	184	177	181	
LO1 W7	097	097		294	305	292	315	223	250	113	115	226	226	100	116	215	221	263	277	173	175	198	198	177	181
LO1 W8	097	107		294	305	292	313	223	250	115	130	226	226	100	116	215	221	263	277	173	175	198	198	157	177
<b>Nid BD1 : Cameroun</b>																									
<b>Reines</b>																									
BD1 Q1	097	107	288	294	290	292	223	223	113	113	226	226	102	116	207	215	263	263	173	173	184	198	157	179	
BD1 Q2	097	107	288	294	290	292	223	223	113	113	226	226	102	116	207	215	263	263	173	173	184	198	157	179	
BD1 Q3	097	107	288	294	290	292	223	223	113	113	226	226	102	116	207	215	263	263	173	173	184	198	157	179	
BD1 Q4	097	107	288	294	290	292	223	223	113	113	226	226	102	116	207	215	263	263	173	173	184	198	157	179	
<b>Mâles</b>																									
BD1 S1	097		305		313		250		115		226		100		221		277		175		000		177		
BD1 S2	097		305		313		250		115		226		100		221		277		175		000		177		
BD1 S4	097		305		313		250		115		226		100		221		277		175		000		177		
<b>Ouvrières</b>																									
BD1 W1	097	107		294	305	292	313	223	250	113	115	226	226	100	102	215	221	263	277	173	175	198	198	177	179
BD1 W2	097	107	288	305	292	313	223	250	113	115	226	226	100	102	215	221	263	277	173	175	184	184	157	177	
BD1 W3	097	107	288	305	292	313	223	250	113	115	226	226	100	102	207	221	263	277	173	175	184	184	177	179	
BD1 W4	097	097		294	305	292	313	223	250	113	115	226	226	100	116	215	221	263	277	173	175	198	198	177	179
BD1 W5	097	097		294	305	290	313	223	250	113	115	226	226	100	102	215	221	263	277	173	175	198	198	177	179
BD1 W6	097	107		294	305	290	313	223	250	113	115	226	226	100	102	207	221	263	277	173	175	184	184	157	177
BD1 W7	097	097	288	305	292	313	223	250	113	115	226	226	100	116	215	221	263	277	173	175	184	184	157	177	
BD1 W8	097	107		288	305	292	313	223	250	113	115	226	226	100	102	207	221	263	277	173	175	184	184	177	181



sur une île, où les compétiteurs sont généralement absents ou peu nombreux. La pression sélective exercée sur *W. auropunctata* est donc théoriquement plus forte sur le continent africain qu'en Nouvelle-Calédonie et l'opportunité de coloniser une niche disponible y est plus faible (Elton 1958; Mayr 1965). Deuxièmement, les deux invasions africaines sont parmi les plus anciennes documentées pour *W. auropunctata*. Le temps disponible pour une évolution de la structure sociale et du système de reproduction des populations introduites de *W. auropunctata* est donc supérieur en Afrique par rapport à la population néo-calédonienne.

Nous avons donc étudié les populations envahissantes du Gabon et du Cameroun pour tenter de répondre à deux questions : (i) une seule introduction est-elle à l'origine de l'ensemble des populations envahissantes africaines, ou bien y'a-t-il eu des introductions multiples de *W. auropunctata* en Afrique ? (ii) Qu'elle a été l'évolution de la structure sociale et du système de reproduction des populations africaines de *W. auropunctata* depuis leur introduction ? La question de l'imperméabilité des écosystèmes naturels continentaux à l'invasion par *W. auropunctata* n'a pas pu être abordée car tous les sites échantillonnés sont anthropisés (villes, plantations).

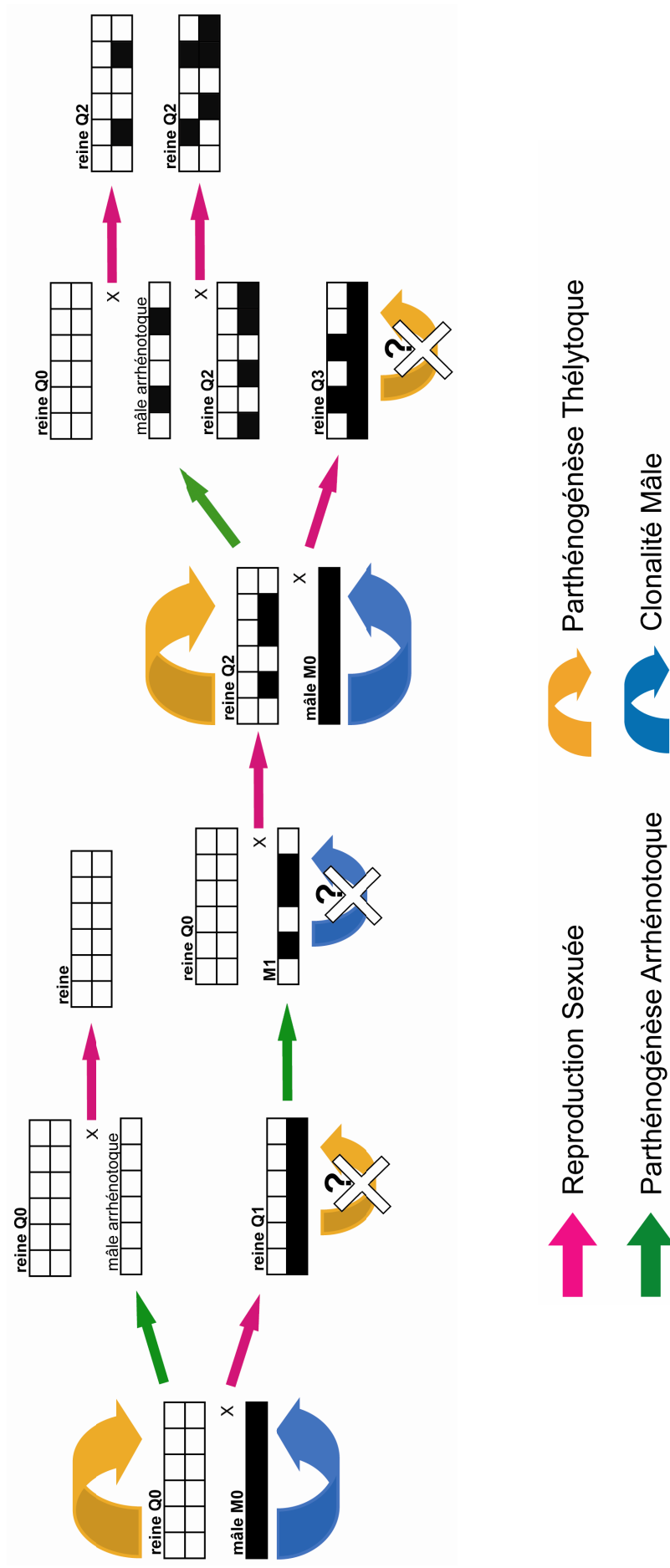
Pour répondre à ces deux questions nous avons génotypés 774 individus récoltés dans 19 nids au Gabon et 55 nids au Cameroun (Figure 42) et testé le comportement des ouvrières de 24 paires de nids au Gabon (travail de Jean-Luc Mercier et Jean-Bruno Mikissa) et de 106 paires de nids au Cameroun (travail de Maurice Tindo et Jérôme Orivel).

L'analyse des génotypes des reines, mâles et ouvrières africains démontre qu'il n'y a eu qu'une seule introduction réussie de *W. auropunctata* sur le continent africain, car les clones originaux détectés sont identiques à de rares événements de recombinaison parthénogénétique et de mutation près (Tableau 12). De manière identique à la situation observée en Nouvelle-Calédonie, tous les génotypes analysés sont issus de la reproduction clonale ou sexuée d'un unique couple clonal. Ce couple original est à la fois présent au Gabon et au Cameroun.

L'introduction réussie d'un unique couple de clones a logiquement aboutie à la formation d'une, voire deux, supercolonies. Les tests comportementaux ont démontrés que les populations gabonaises et camerounaises forment chacune une seule supercolonie. Comme aucun test comportemental entre ces deux pays n'a pu être réalisé, nous sommes dans l'incapacité de comparer ces deux supercolonies. Cependant, la très grande proximité génétique des populations gabonaises et camerounaises (même clone original toujours présent dans les deux pays) suggère très fortement que ces deux populations ne forment qu'une seule supercolonie. Si son existence était établie, cette supercolonie africaine serait la plus grande

**Figure 43** : Schéma de la diversification des lignées de reines clonales par des événements de reproduction sexuée, à partir des données africaines.

Note : Les flèches de couleur indiquent les modes de reproduction. Les flèches barrées avec un point d'interrogation indiquent les événements de reproduction jamais observés.

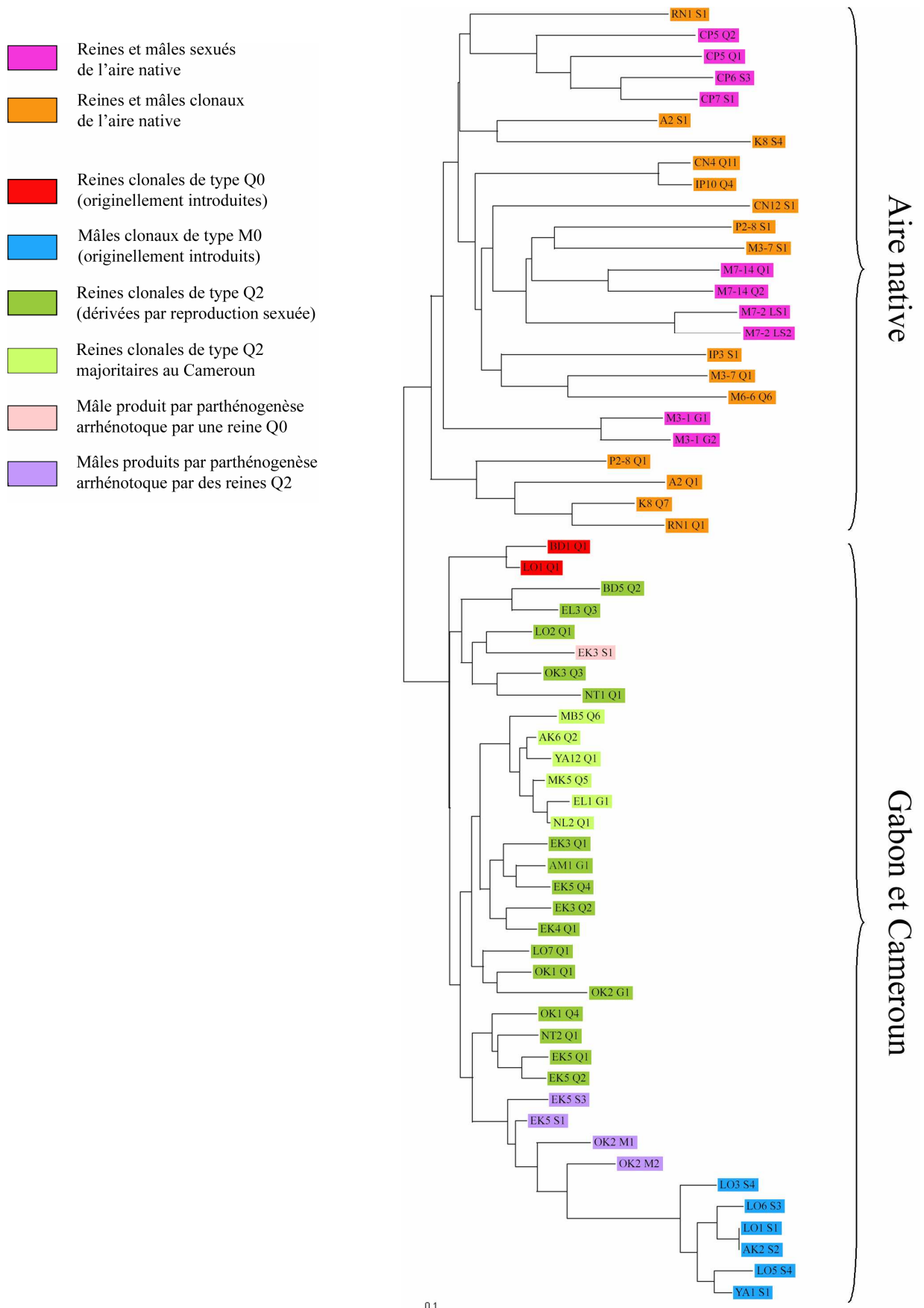


observée à l'heure actuelle pour *W. auropunctata* et d'une taille comparable aux plus grandes supercolonies de fourmis envahissantes connues (Giraud et al. 2002). Nos résultats suggèrent donc que la structure sociale de *W. auropunctata* n'a pas évolué depuis son introduction en Afrique.

Le système de reproduction des populations africaines a lui évolué depuis l'introduction. En effet, même si le couple de clones original est toujours présent dans les deux pays, il n'est plus majoritaire : 64% des couples gabonais (n = 59) et 61% des couples camerounais (n = 195) sont formés de reines dérivées de la recombinaison sexuelle du couple clonal original (i.e. de reines de type Q2). Nos résultats démontrent que les reines Q2 africaines sont majoritairement voire toutes clonales. De manière similaire à la situation observée en Nouvelle-Calédonie, si de nombreuses nouvelles lignées clonales femelles ont émergé du fait de la recombinaison sexuée du couple clonal original, il n'existe aucune nouvelle lignée mâle clonale. Le génotype clonal mâle M0 africain et ses dérivés mutationnels constituent 120 des 125 génotypes mâles échantillonnés en Afrique. Les cinq mâles restants ont été produits par parthénogenèse arrhénotoque : quatre d'entre eux à partir d'une reine Q2 (dénommés M2), et un d'entre eux à partir d'une reine Q0. Aucun d'entre eux ne s'est révélé être clonal. Les mâles arrhénotoques M2 contribuent à la création de nouvelles lignées Q2 par des croisements soit avec des reines Q0 soit avec des reines Q2 (Figure 43). Le mâle arrhénotoque descendant d'un reine Q0, échantillonné sous forme de sperme dans la spermathèque d'une reine, est lui unique dans notre échantillonnage mondial : il est la seule preuve directe que les reines clonales de type Q0 sont bien capables de produire des mâles par parthénogenèse arrhénotoque et que ces mâles sont capables de féconder des reines vierges. Une autre preuve de cette capacité est l'échantillonnage d'une reine issue d'un croisement reine Q0 x un de ses « fils – frère » arrhénotoque. Le fait que les reines parthénogénétiques Q0 soient capables de produire des mâles arrhénotoques mais le fasse si rarement suggère que cette production est contre-sélectionnée. Une hypothèse serait l'importance adaptative du maintien d'un niveau d'hétérozygotie élevé chez les reines et/ou les ouvrières. En effet, les reines issues de croisement Q0 x mâle arrhénotoque de Q0 seraient très homozygotes, et leur descendance ouvrière issue du croisement avec un mâle clonal M0 ou un mâle arrhénotoque de Q0 le serait encore plus. La probable contre-sélection de la production de mâles arrhénotoques par les reines Q0 pourrait illustrer une fois de plus l'importance fonctionnelle de l'hétérozygotie chez les ouvrières des colonies de *W. auropunctata*.

D'une manière générale, l'évolution du système de reproduction en Afrique a été la même qu'en Nouvelle-Calédonie, à savoir, après l'introduction d'un unique couple clonal, le

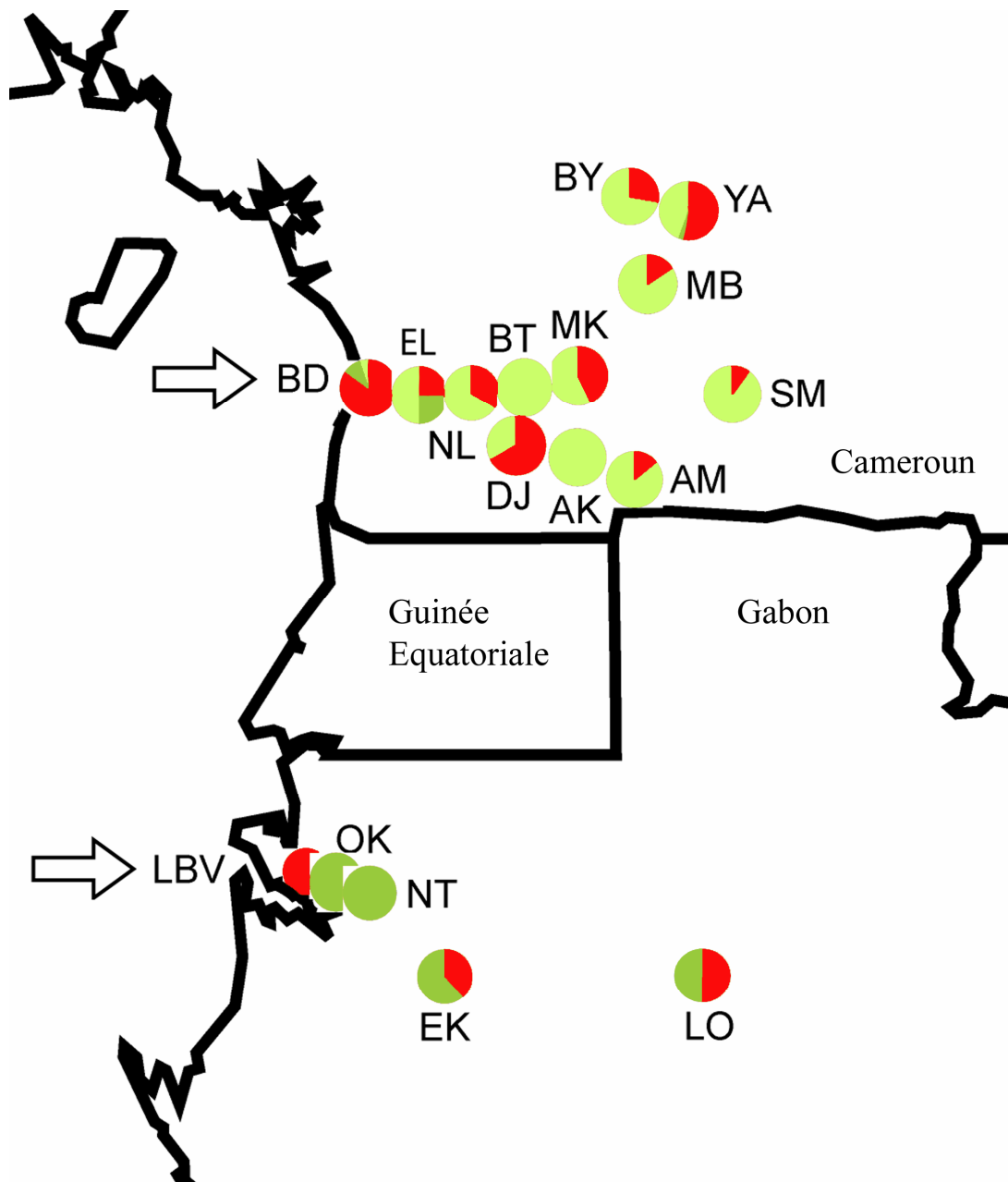
**Figure 44 :** Arbres sur individus des différents types de reines et mâles clonaux et sexués des populations africaines et de l'aire native.



**Figure 45 :** Distribution des différents types de reines au Gabon et au Cameroun.

Note : Les portions de couleur des camemberts indiquent les proportions des différents types de reines (cf. légende). La flèche indique les points d'introduction au Gabon et au Cameroun.

- Reines clonales de type Q0 (i.e. originellement introduites)
- Reines clonales de type Q2 (i.e. dérivées par reproduction sexuée)
- Reine clonale de type Q2 majoritaire au Cameroun (i.e. dérivée par reproduction sexuée)



maintien de la lignée clonale mâle originale et la diversification d'une à de nombreuses lignées de reines clonales, par recombinaison sexuée (Figure 44). Toutefois, alors que la situation au Gabon est totalement similaire à la situation néo-calédonienne, nos résultats au Cameroun indiquent deux différences notables.

Premièrement, alors qu'au Gabon et en Nouvelle-Calédonie aucune nouvelle lignée clonale femelle n'a réussi à dominer toutes les autres, une lignée clonale femelle issue d'un événement de reproduction sexuée constitue la plus grande partie de notre échantillonnage au Cameroun. En effet, 62% des reines camerounaises font partie d'une seule nouvelle lignée clonale de type Q2, et cette dernière est par ailleurs la seule lignée présente sur tous les sites échantillonnés. Le succès de cette lignée clonale particulière constitue l'unique exemple où la production sexuée de nouvelles lignées de reines pourrait être avantageuse et sélectionnée, et non défavorable et subie.

Deuxièmement, alors que la distribution spatiale des lignées de femelles clonales est similaire au Gabon et en Nouvelle-Calédonie, elle est totalement différente au Cameroun. Au Gabon comme en Nouvelle-Calédonie, les sites proches du point d'introduction de *W. auropunctata* sont occupés par des reines de lignées clonales dérivées par recombinaison sexuée, alors que les sites plus proches du front d'invasion sont plutôt occupés par le clone femelle original (à l'exception du site LBV, où seule une reine Q0 a été échantillonnée ; Figure 45). Au contraire, au Cameroun la distribution spatiale des lignées de femelles clonales ne suit aucun pattern géographique clair, hormis la domination du paysage par la lignée clonale Q2 majoritaire (Figure 46). Cette différence de patron de distribution des lignées clonales pourrait s'expliquer, non-exclusivement, soit de manière adaptative si cette lignée camerounaise est positivement sélectionnée, soit de manière neutre par la différence entre réseaux d'échange gabonais et néo-calédoniens d'une part et camerounais d'autre part. En effet, le Gabon et la Nouvelle-Calédonie sont traversés par un très faible nombre de routes, peu utilisées étant donné la faible densité de population humaine, et qui forment de simples transects. Au contraire, le Cameroun est traversé de nombreuses routes très fréquentées et interconnectées en réseau complexe. Ces différences de réseaux de communication et donc de migration pour *W. auropunctata* pourrait expliquer une dynamique assez simple d'invasion d'un transect dans le cas du Gabon et de la Nouvelle-Calédonie et une dynamique plus complexe en méta-populations dans le cas du Cameroun. Notons que les cas de dynamique simple pourrait être modélisés afin d'estimer dans un cadre Bayésien différents paramètres biologiques des populations introduites de *W. auropunctata* (i.e. taux de croissance, de migration, de sexualité).

### 3. Synthèse

Nos résultats suggèrent que les différentes introductions de *W. auropunctata* se produisent d'une manière toujours semblable, et attendue au vu des résultats de l'étude de l'aire native. Les populations introduites sont en effet globalement similaires aux populations envahissantes de l'aire native de *W. auropunctata* du point de vue de leurs traits démographiques, leur système de reproduction, leur structure sociale et leurs patrons d'infection par *Wolbachia*. Les introductions sont également toujours le fait d'un unique couple de clones mâle et femelle, aux génotypes très différents l'un de l'autre produisant des ouvrières au niveau d'hétérozygotie élevé, et à l'origine de supercolonies clonales de très grande taille. La différence de taille de supercolonies entre aire native et introduite ne pourrait être simplement due qu'à la faible fréquence des événements de migration longue distance.

L'évolution des populations introduites semble également se dérouler selon un schéma répétable. Alors que la lignée clonale mâle introduite se maintient, de rares événements de reproduction sexuée conduisent à l'apparition de nouvelles lignées femelles clonales. Ces nouvelles lignées de reines clonales qui semblent envahir progressivement leur population ont pour principale conséquence la production d'ouvrières moins hétérozygotes. Dans le cas des invasions de la Nouvelle-Calédonie et du Gabon, cette diversification de lignées clonales femelles pourrait être due à une contrainte développementale (*sensu* Maynard-Smith, 1985), car elle semble associée à une chute de densité de populations (ce dernier point nécessitant une étude spécifique). Ces deux invasions illustrent plutôt un scénario où les populations clonales introduites ne souffrent pas d'un déficit adaptatif par rapport aux espèces locales de la zone d'introduction, mais subissent une contrainte sur leur système de reproduction qui abaisse leurs performances au cours du temps. Au contraire, dans le cas de l'invasion du Cameroun, la diversification observée pourrait être adaptative au moins pour certaines des lignées clonales femelles, car l'une de ces lignées dérivée s'est étendue sur toute la surface du territoire. Nos résultats ne permettent pas d'inférer de façon certaine le devenir de ces populations clonales introduites, même si l'émergence de la reproduction sexuée devrait théoriquement constituer un fardeau évolutif dans ce contexte de diversité génétique réduite au minimum.





# **CHAPITRE III :**

## **ETUDE DE TRAITS D'HISTOIRE DE VIE EN CONDITIONS CONTROLEES**

Le bon bout de ma raison me l'avait montré ! Mais il me fallait une preuve palpable ;  
comme qui dirait : « Le voir au bout de mes yeux après l'avoir vu au bout de ma raison ! »

Rouletabille



L'étude d'échantillons récoltés *in natura* dans des populations natives et introduites de *W. auropunctata* nous a permis de déceler, en plus du système de reproduction haplodiploïde classique chez les fourmis, un système de reproduction particulièrement original, basé sur une double reproduction clonale des mâles et des reines et une production sexuée des ouvrières. D'autre part, nos résultats suggèrent que le système de reproduction clonal pourrait être à l'origine d'un avantage écologique dans les zones anthropisées, via le maintien de combinaisons génomiques avantageuses élargissant le spectre des conditions environnementales tolérées par les ouvrières.

Nous avons donc choisi (i) d'étudier en conditions contrôlées le système de reproduction de *W. auropunctata*, et (ii) de tester, également en laboratoire, un éventuel effet de ce système de reproduction sur les performances des ouvrières placées dans différentes conditions température x humidité.

## 1. Polymorphisme du système de reproduction

Afin de prouver directement l'existence de plusieurs systèmes de reproduction (i.e. un clonal et un sexué) chez *W. auropunctata* et d'affiner nos connaissances sur ces systèmes, nous avons récolté 106 reines dans différentes populations guyanaises répertoriées comme clonales ( $n = 4$ ) ou sexuées ( $n = 2$ ) à partir de nos études précédentes (Tableau 13, Annexe 1.4.1). A partir de cet échantillon, nous avons construit 91 nids artificiels, monogynes (i.e. avec une seule reine) pour la plupart ( $n = 86$ ) et quelques nids polygynes de reines clonales (quatre reines par nid,  $n = 5$ ). Nous avons ensuite étudié la ponte en gynes, mâles et ouvrières de ces différents nids.

### 1.1 Production des gynes

Sur les 91 nids construits, les reines de 21 nids ( $n_{\text{clonaux}} = 12$ ,  $n_{\text{sexués}} = 9$ ) ont pondu des gynes (Tableau 13). La quasi-totalité des gynes pondues par les reines de zones répertoriées comme clonales possèdent des génotypes identiques entre elles et à celui de leur mère, et aucun allèle diagnostic du mâle ayant fécondé la reine ( $n = 48$  sur 49 gynes pondus dans les 12 nids supposés clonaux ayant produits des gynes ; Tableau 14). Ce patron démontre l'occurrence de la parthénogenèse thélytoque, comme inféré indirectement à partir des données génotypiques issues d'échantillons récoltés sur le terrain. Nous avons également décelé la production d'une gyne (sur 49) par reproduction sexuée dans un nid clonal, ce dernier ayant également produit 2 gynes clonales (nid M11 du Tableau 15). Ce résultat

**Tableau 13 :** Echantillonnage en reines de zones répertoriées clonales et sexuées de Guyane utilisées pour l'étude en laboratoire du système de reproduction.

Note : Le type de système de reproduction hypothétique a été établi à partir des génotypes microsatellites d'échantillons récoltés sur le terrain.

Site	Type de système de reproduction hypothétique	Nombre de nids construits	Nombre de nids ayant produit des reproducteurs (gynes/mâles)	Nombre de gynes produites	Nombre de mâles produits
Ker	Clonal	20	10 (9 / 5)	32	8
RN	Clonal	15	2 (2 / 1)	2	1
M6	Clonal	12	1 (1 / 0)	15	0
M3	Clonal	2	0	0	0
M7	Sexué	28	10 (8 / 4)	60	23
M3	Sexué	14	1 (1 / 0)	9	0
Total		91	24 (21/ 10)	118	32

**Tableau 14** : Illustration des pontes en gynes, mâles et ouvrières majoritairement observées dans les nids collectés en zones répertoriées comme clonales.

Note : Le type de production est codé comme suit : C = reproduction clonale (i.e. parthénogenèse thélytoque pour les femelles, clonalité mâle pour les mâles), S = reproduction sexuée (i.e. sexualité pour les femelles, parthénogenèse arrhénotoque pour les mâles). Les génotypes parentaux inférés ont été déduits à partir des génotypes des ouvrières. Les nymphes d'ouvrières ont été récoltées au stade L3, et les ouvrières sont récoltées adultes. Les allèles '000' sont des allèles manquants.

Locus	Waur1166	Waur1gam	Waur2164	Waur225	Waur275	Waur3176	Waur418	Waur521	Waur566	Waur680	Waur716	Waur730	Type
Nid M15 [KER : zone envahie clonale] : exemple de production de gynes par parthénogenèse thélytoque													
Reine													
M15 Q1	094 097	288 292	307 309	223 223	105 117	230 230	100 112	205 209	287 287	155 155	184 198	157 175	
Mâle fécondant (inféré)													
M15 S1	095	282	317	279	107	242	116	209	265	185	192	215	
Gynes produites													
M15 G1	094 097	288 292	307 309	223 223	105 117	230 230	100 112	205 205	287 287	155 155	184 198	157 175	C
M15 G2	094 097	288 292	307 309	223 223	105 117	230 230	100 112	205 205	287 287	155 155	184 198	157 175	C
M15 G3	094 097	288 292	307 309	223 223	105 117	230 230	100 112	205 205	287 287	155 155	184 198	157 175	C
Nymphes d'ouvrières													
M15 N1	095 097	282 292	309 317	223 279	105 107	230 242	112 116	205 209	265 287	155 185	192 198	175 215	S
M15 N2	095 097	282 288	309 317	223 279	107 117	230 242	100 116	209 209	265 287	155 185	184 192	157 215	S
M15 N3	094 095	282 292	307 317	223 279	105 107	230 242	112 116	205 209	265 287	155 185	192 198	157 215	S
M15 N4	095 097	282 292	309 317	223 279	105 107	230 242	100 116	205 209	265 287	155 185	192 198	175 215	S
M15 N5	094 095	282 292	309 317	223 279	105 107	230 242	112 116	205 209	265 287	155 185	192 198	157 215	S
M15 N6	095 097	282 288	309 317	223 279	105 107	230 242	112 116	209 209	265 287	155 185	184 192	157 215	S
M15 N7	095 097	282 288	309 317	223 279	105 107	230 242	100 116	205 209	265 287	155 185	184 192	157 215	S
M15 N8	095 097	282 292	309 317	223 279	105 107	230 242	112 116	209 209	265 287	155 185	192 198	157 215	S
Ouvrières													
M15 W1	094 095	282 288	309 317	223 279	107 117	230 242	100 116	205 209	265 287	155 185	184 192	175 215	S
M15 W2	094 095	282 288	307 317	223 279	107 117	230 242	100 116	209 209	265 287	155 185	184 192	175 215	S
M15 W3	095 097	282 292	307 317	223 279	105 107	230 242	100 116	205 209	265 287	155 185	192 198	157 215	S
M15 W4	095 097	282 288	307 317	223 279	107 117	230 242	100 116	205 209	265 287	155 185	184 192	175 215	S
M15 W5	095 097	282 288	307 317	223 279	107 117	230 242	100 116	205 209	265 287	155 185	184 192	175 215	S
M15 W6	094 095	282 292	307 317	223 279	105 107	230 242	100 116	209 209	265 287	155 185	192 198	175 215	S
M15 W7	095 097	282 288	307 317	223 279	105 107	230 242	112 116	209 209	265 287	155 185	184 192	175 215	S
M15 W8	095 097	282 288	307 317	223 279	107 117	230 242	100 116	209 209	265 287	155 185	184 192	175 215	S
Nid M13 [KER : zone envahie clonale] : exemple de production de mâle clonal													
Reine (inférée)													
M13 Q1	094 097	288 292	307 309	223 223	105 117	230 230	100 112	205 227	287 287	155 155	184 198	157 175	
Mâle fécondant (inféré)													
M13 S1	095	282	313	223	107	242	132	227	263	159	202	202	
Mâle produit													
M13 M1	095	282	313	223	107	242	132	227	263	159	202	202	C
Nymphes d'ouvrières													
M13 N1	095 097	282 288	307 313	223 223	107 117	230 242	112 132	227 227	263 287	155 159	184 202	157 202	S
M13 N2	094 095	000 000	309 313	223 223	107 117	230 240	100 132	205 227	263 287	155 159	184 202	157 202	S
M13 N3	094 095	282 288	307 313	223 223	105 107	230 242	112 132	227 227	263 287	155 159	184 202	157 202	S
M13 N4	094 095	282 292	309 313	223 223	107 117	230 242	112 132	205 227	263 287	155 159	198 202	175 202	S
M13 N5	095 097	282 292	307 313	223 223	105 107	230 242	100 132	227 227	263 287	155 159	198 202	157 202	S
M13 N6	094 095	282 288	309 313	223 223	105 107	230 242	112 132	205 227	263 287	155 159	184 202	175 202	S
M13 N7	095 097	282 288	307 313	223 223	105 107	230 242	100 132	227 227	263 287	155 159	184 202	157 202	S
M13 N8	095 097	282 288	309 313	223 223	107 117	230 242	112 132	205 227	263 287	155 159	184 202	175 202	S
Ouvrières													
M13 W1	095 097	000 000	000 000	223 223	105 107	230 242	100 132	205 227	263 287	155 159	184 202	175 202	S
M13 W2	094 095	282 292	307 313	223 223	105 107	230 242	100 132	205 227	263 287	155 159	198 202	175 202	S
M13 W3	095 097	282 292	309 313	223 223	107 117	230 242	112 132	205 227	263 287	155 159	198 202	157 202	S
M13 W4	094 095	282 292	307 313	223 223	107 117	230 242	112 132	227 227	263 287	155 159	198 202	157 202	S
M13 W5	095 097	282 288	309 313	223 223	105 107	230 242	100 132	205 227	263 287	155 159	184 202	175 202	S
M13 W6	095 097	282 288	307 313	223 223	105 107	230 242	100 132	205 227	263 287	155 159	184 202	157 202	S
M13 W7	094 095	282 292	309 313	223 223	107 117	230 242	100 132	205 227	263 287	155 159	198 202	175 202	S
M13 W8	094 095	282 292	309 313	223 223	107 117	230 242	100 132	227 227	263 287	155 159	198 202	157 202	S



démontre que, même si la très grande majorité des gynes produits par les reines clonales sont bien des clones, des gynes peuvent être produites par sexualité à faible fréquence. Le mécanisme de diversification des lignées de reines clonales, inféré indirectement dans l'aire d'introduction de *W. auropunctata*, est donc démontré de manière directe en laboratoire. Dans les neuf nids supposés sexués ayant produit des gynes, la totalité des 69 gynes sont compatibles avec une production sexuée, et aucun clone n'a été produit (Tableau 16). Ce résultat démontre l'occurrence de production « classique » par sexualité de nouvelles reines chez certaines populations de *W. auropunctata*.

## 1.2 Production des mâles

Sur les 91 nids construits, les reines de 10 nids ( $n_{\text{clonaux}} = 6$ ,  $n_{\text{sexués}} = 4$ ) ont pondu des mâles (Tableau 13). La majorité des mâles pondus par les reines de nids supposés clonaux possèdent des génotypes identiques entre eux et à celui de leur père, et aucun des allèles diagnostic de la reine les ayant pondu ( $n = 6$  sur 9 mâles pondus dans cinq nids supposés clonaux ; Tableau 14). Ce patron démontre de manière directe l'occurrence de la clonalité mâle, comme inféré indirectement à partir des données de populations naturelles. Nous avons également identifié trois mâles produits par parthénogenèse arrhénotoque par une reine clonale (nid M12 du Tableau 15). La production arrhénotoque de mâles par les reines clonales s'avère donc rare, mais possible. Ceci constitue une preuve supplémentaire de la possibilité de diversification des lignées de reines clonales (i.e. par la production de mâles de type M1 ou M2, comme inféré indirectement à partir des données génotypiques issues des échantillons de zones introduites, cf. section II.2). Les mâles pondus dans les nids supposés sexués ont tous été produits classiquement, par parthénogenèse arrhénotoque ( $n = 23$  mâles produits dans 4 nids différents ; Tableau 16). Ces résultats confirment donc en outre que la clonalité mâle est fortement associée à la parthénogenèse thélytoque femelle.

## 1.3 Production des ouvrières

Nous avons également pu vérifier que la très grande majorité des reines, clonales ou sexuées, pondent leurs ouvrières par reproduction sexuée. Dans tous les nids où nous avons pu récupérer le génotype de la reine et celui du contenu de sa spermathèque, les ouvrières produites dans le nid (récoltées au stade nymphal) possèdent un génotype caractéristique de

**Tableau 16** : Illustration des pontes en gynes, mâles et ouvrières observées dans les nids collectés en zones répertoriées comme sexuées.

Note : Le type de production est codé comme suit : C = reproduction clonale (i.e. parthénogenèse thélytoque pour les femelles, clonalité mâle pour les mâles), S = reproduction sexuée (i.e. sexualité pour les femelles, parthénogenèse arrhénotoque pour les mâles). Les génotypes parentaux inférés ont été déduits à partir des génotypes des ouvrières. Les allèles '000' sont des allèles manquants.

Locus	Waur1166	Waur1gam	Waur2164	Waur225	Waur275	Waur3176	Waur418	Waur521	Waur566	Waur680	Waur716	Waur730	
Nid M7-U Q2 [M7 : zone non-envahie sexuée] : exemple de production sexuée des gynes et ouvrières													Type
Reine (inférée)													
M7-U Q2	091	109	286 290	290 290	223 223	126 128	224 224	100 130	201 205	269 277	167 171	182 202	187 191
Mâle fécondant (inféré)													
M7-U S2	109	286	290	223	128	242	106	205	271	171	182	189	
Gynes produites													
M7-U Q2 G1	109 109	286 290	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	205 205	269 271	167 171	182 182	189 191	S
M7-U Q2 G2	109 109	286 286	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	205 205	271 277	171 171	182 202	187 189	S
M7-U Q2 G3	091 109	286 290	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	205 205	269 271	171 171	182 182	187 189	S
M7-U Q2 G4	109 109	286 286	290 290	223 223	126 128	224 242	100 106	205 205	269 271	167 171	182 202	187 189	S
M7-U Q2 G5	109 109	286 286	290 290	223 223	126 128	224 242	100 106	205 205	271 277	167 171	182 182	189 191	S
M7-U Q2 G6	109 109	286 286	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	205 205	269 271	167 171	182 202	187 189	S
M7-U Q2 G7	091 109	286 290	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	205 205	269 271	167 171	182 182	187 189	S
M7-U Q2 G8	091 109	286 290	290 290	223 223	126 128	224 242	100 106	201 205	269 271	171 171	182 182	187 189	S
Ouvrières													
M7-U Q2 W1	091 109	286 286	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	201 205	271 277	167 171	182 202	189 191	S
M7-U Q2 W2	091 109	286 290	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	201 205	269 271	167 171	182 182	187 189	S
M7-U Q2 W3	109 109	286 286	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	201 205	271 277	167 171	182 202	189 191	S
M7-U Q2 W4	091 109	286 286	290 290	223 223	126 128	224 242	100 106	201 205	271 277	171 171	182 202	189 191	S
M7-U Q2 W5	091 109	286 286	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	205 205	269 271	167 171	182 202	187 189	S
M7-U Q2 W6	091 109	286 290	290 290	223 223	126 128	224 242	100 106	201 205	269 271	167 171	182 182	189 191	S
M7-U Q2 W7	091 109	286 290	290 290	223 223	126 128	224 242	100 106	201 205	271 277	167 171	182 182	187 189	S
M7-U Q2 W8	093 109	286 286	290 290	223 223	126 128	224 242	106 130	201 205	269 271	171 171	182 202	189 191	S
Nid M7-H Q1 [M7 : zone non-envahie sexuée] : exemple de production des mâles par parthénogenèse arrhénotoque et production sexuée des ouvrières													
Reine (inférée)													
M7-H Q1	99	109	286 286	284 294	225 225	128 128	232 232	100 106	225 225	267 269	163 179	182 182	189 189
Mâle fécondant (inféré)													
M7-H S1	109	286	294	229	128	224	100	229	269	167	182	189	
Mâles produits													
M7-H Q1M1	109	286	284	225	128	232	100	225	269	163	182	189	S
M7-H Q1M2	109	286	294	225	128	232	106	225	267	163	182	189	S
M7-H Q1M3	99	286	284	225	128	232	100	225	267	163	182	189	S
M7-H Q1M4	107	286	294	225	128	232	100	225	269	163	182	189	S
M7-H Q1M5	109	286	294	225	128	232	100	225	267	179	182	189	S
M7-H Q1M6	99	286	294	225	128	232	106	225	267	163	182	189	S
M7-H Q1M7	99	286	284	225	128	232	100	225	269	163	182	189	S
M7-H Q1M8	99	286	284	225	128	232	106	225	269	163	182	189	S
Ouvrières													
M7-H Q1 W1	109 109	286 286	284 294	225 229	128 128	224 232	100 100	225 229	267 269	167 179	182 182	189 189	S
M7-H Q1 W2	109 109	286 286	284 294	225 229	128 128	224 232	100 106	225 229	267 269	163 167	182 182	189 189	S
M7-H Q1 W3	99 109	286 286	284 294	225 229	128 128	224 232	100 100	225 229	267 269	167 179	180 182	189 189	S
M7-H Q1 W4	99 109	286 286	284 294	225 229	128 128	224 232	100 106	225 229	267 269	167 179	182 182	189 189	S
M7-H Q1 W5	109 109	286 286	294 294	225 229	128 128	224 232	100 100	225 229	267 269	163 167	182 182	189 189	S
M7-H Q1 W6	109 109	286 286	294 294	225 229	128 128	224 232	100 100	225 229	269 269	163 167	182 182	189 189	S
M7-H Q1 W7	109 109	286 286	284 294	225 229	128 128	224 232	100 100	225 229	269 269	167 179	182 182	189 189	S
M7-H Q1 W8	109 109	286 286	284 294	225 229	128 128	224 232	100 100	225 229	267 269	167 179	182 182	189 189	S



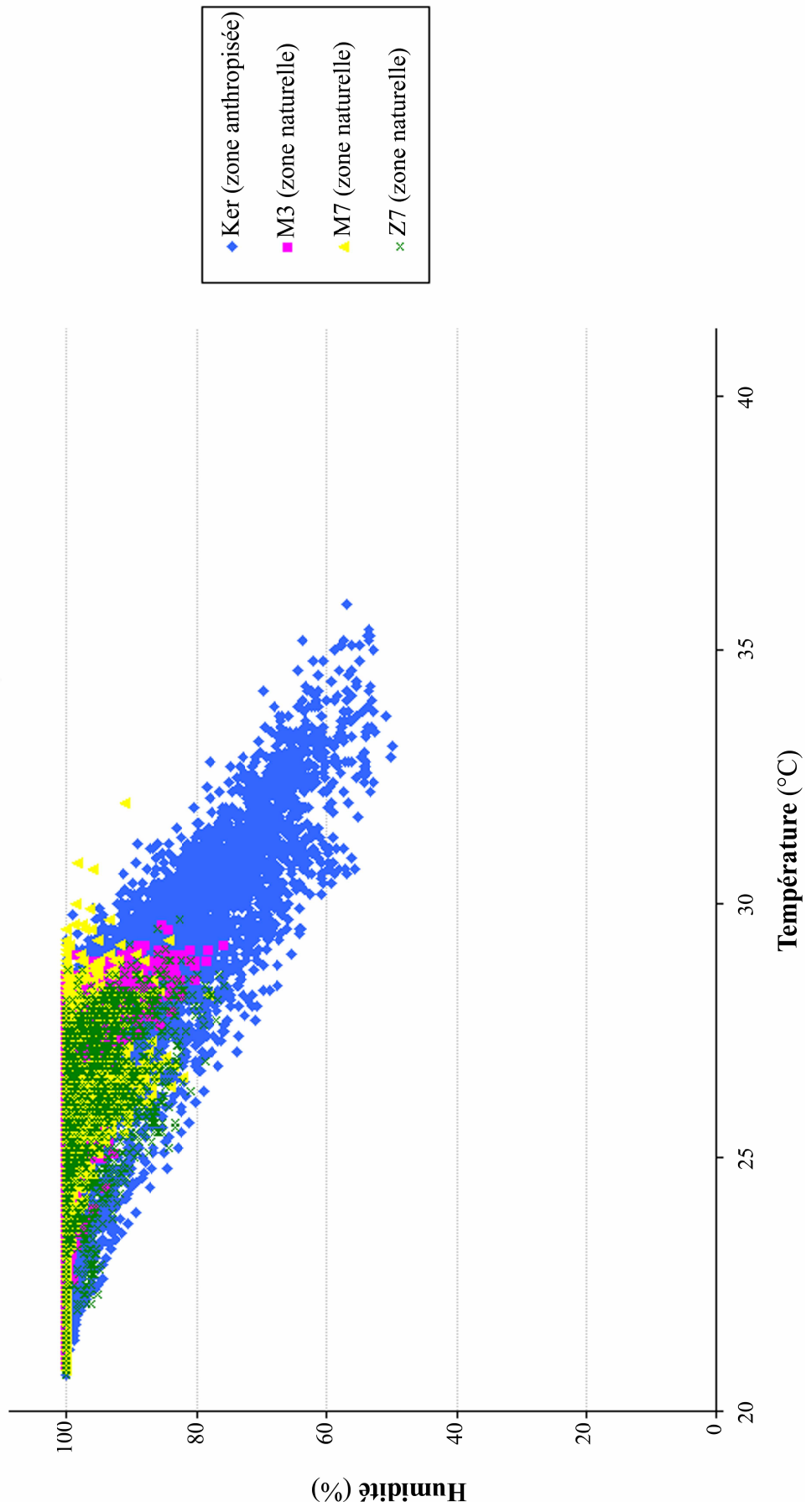
leur production sexuée. Ceci nous a permis d'inférer les génotypes parentaux à partir des génotypes des ouvrières dans les nids où la reine ou le contenu de sa spermathèque n'ont pas pu être génotypés. Seul un nid ne correspond pas à ce schéma. En effet, si la majorité des ouvrières génotypées de ce nid ont été produites sexuellement, l'intégralité des nymphes d'ouvrières génotypées y ont été produites clonalement (Tableau 15). Au total, sur 229 ouvrières et nymphes d'ouvrières génotypées originaires de 20 nids clonaux et sexués, 219 provenant de tous les nids analysés ont été produites sexuellement, et seules 10 provenant d'un unique nid clonal ont été produites clonalement.

#### 1.4 Déterminisme génétique de la caste

Comme évoqué précédemment, 12 des nids construits à partir d'échantillons de zones répertoriées comme clonales ont produits 49 gynes, dont 48 clonales et une sexuée. Nous avons également génotypé dans ces nids 159 ouvrières et nymphes d'ouvrières, dont 10 clonales et 149 sexuées. Il apparaît donc que les œufs diploïdes clonaux sont significativement plus orientés vers la caste royale que les œufs diploïdes sexués (Fisher's exact test :  $p < 10^{-3}$ ). Le déterminisme de la caste est donc génétique et non environnemental chez *W. auropunctata*, comme inféré indirectement à partir de nos données de terrain. Dans le cas du seul nid ayant pondu des ouvrières clonales, on note que la reine de ce nid a pondu très peu d'œufs au cours de sa vie et que très peu de ces œufs sont arrivés jusqu'à éclosion. Il semble donc que les nymphes femelles clonales qui soient dirigées vers la caste ouvrière n'arrivent que très rarement à l'état adulte, et donc que le mécanisme de déterminisme génétique de la caste soit très sévère.

*Wasmannia auropunctata* s'ajoute donc à la (courte) liste des espèces eusociales dont le déterminisme de la caste est génétique (Fraser et al. 2000; Julian et al. 2002; Volny & Gordon 2002; Judice et al. 2006; Ohkawara et al. 2006). Il faut toutefois noter que seuls deux types d'études ont pu mettre en évidence le déterminisme génétique de la caste : des études où un grand nombre de marqueurs neutres ont été utilisés (Fraser et al. 2000; Judice et al. 2006), ou des études où les systèmes de reproductions sont si spéciaux que même un faible nombre de marqueurs peut démontrer ce type de déterminisme (cette étude ; Helms Cahan & Keller 2003; Ohkawara et al. 2006). Etant donné qu'à l'heure actuelle, très peu d'espèces eusociales bénéficient d'études génétiques portant sur un nombre suffisant de marqueurs neutres, il est impossible de connaître le type de déterminisme de la caste (environnemental ou génétique)

**Figure 46 :** Relevés de données Température x Humidité dans trois sites naturels et un site anthropisé de Guyane.



pour la très grande majorité de ces espèces, y compris pour celles ayant déjà bénéficié d'études de génétique des populations.

## **2. Tolérance abiotique des ouvrières de populations clonales envahissantes et de populations sexuées non-envahissantes**

Notre étude de l'aire native de *W. auropunctata* suggère que les populations clonales pourraient bénéficier d'un avantage écologique sur les populations sexuées dans les zones anthropisées. L'action de l'homme modifie de nombreux paramètres biotiques et abiotiques du milieu (prédation, compétition, parasitisme, mutualisme, ressources, micro-climat, ...), tous susceptibles d'influer sur le succès relatif des populations clonales et sexuées de *W. auropunctata*. Nous avons ici choisi d'étudier l'importance des conditions micro-climatiques pour expliquer le succès des populations clonales dans les zones anthropisées en Guyane. Notre étude se décompose en trois parties.

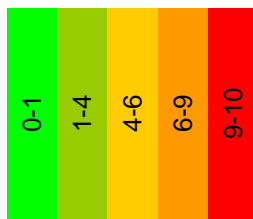
Premièrement, nous avons collecté des données de température et humidité dans plusieurs zones naturelles et anthropisées, afin de vérifier l'existence de différences climatiques entre ces deux types de milieux. Ces données ont pu être collectées sur quasiment l'ensemble d'une année (15 mars 2006 – 21 janvier 2007) pour trois sites naturels (M3, M3C et Z7) et un site perturbé (Ker ; Figure 46). D'autres données concernant notamment plusieurs sites perturbés seront récoltées à la fin de l'année 2007. L'ensemble des couples de données température x humidité enregistrés sur le terrain ( $n = 21394 \pm 567$  mesures pour chacun des sites) montre une différence significative entre les sites naturels et le site anthropisé (ANOVA :  $F = 4983$  ;  $p < 10^{-3}$ ). En particulier, les températures rencontrées dans les zones naturelles ne dépassent que très rarement les 30°C et l'humidité qui y règne ne descend jamais en dessous de 75%. Au contraire, les températures mesurées en zone anthropisée atteignent les 36°C et l'humidité peut descendre jusqu'à 50%. Les zones naturelles, plus densément couvertes par de nombreuses espèces végétales, sont donc moins chaudes et sèches que les zones anthropisées, au couvert végétal généralement réduit. L'établissement de populations dans les zones anthropisées semble donc nécessiter que les ouvrières soient capables de supporter des conditions micro-climatiques plus chaudes et plus sèches que dans leur environnement natif. Cette condition pourrait être également valable pour les reines, qui se trouvent dans des nids très peu aménagés, aux conditions micro-climatiques *a priori* proches

**Tableau 17 : Résultats des tests de tolérance aux conditions abiotiques des ouvrières de Ker (population clonale) et M7 (population sexuée).**

Note : Les chiffres indiqués correspondent au nombre moyen de morts sur 10 ouvrières par condition expérimentale et par population. Le nombre de tests effectués pour chacune des conditions et population varie entre 5 (pour certaines conditions peu informatives) et 70 tests (pour les conditions entraînant des taux de mortalité intermédiaires) (cf. Annexe 1.4.2). La significativité des différences du nombre moyen de morts entre les populations a été testée pour chaque condition température x humidité selon un test U de Mann-Whitney (pas d'étoile = non significatif ; \* :  $p < 0,05$  ; \*\* :  $p < 0,01$  ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ). Les cases vides correspondent à des conditions température x humidité non testées.

	25°C		30°C		34°C		36°C		38°C		40°C		42°C	
	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7
100%	1	0	0	0			0	0	0.3333	0	3.7	4.3	10	10
85%			0	0	0.1	0.2	0.9	0.8	0.7	1.2	5.6	7.3	10	10
75%	0	0	0	0	0.1	0.3	0.5	0.8	1.2 **	2.4 **	6.9 **	8.3 **	10	10
65%	0	0.1	0	0.1	0.3	0.3	0.3 *	1 *	2.9 ***	4.8 ***	9.3	9.8	10	10
55%	0	0.1	0	0.3	0	0.3	1.5 **	3.3 **	5.2 **	7.2 **	9.6	9.9	10	10
35%	0	0	0.3	0.5455	2.3 **	3.9 **	4.2 *	5.7 *	9.8	10				

**Nombre moyen de morts**



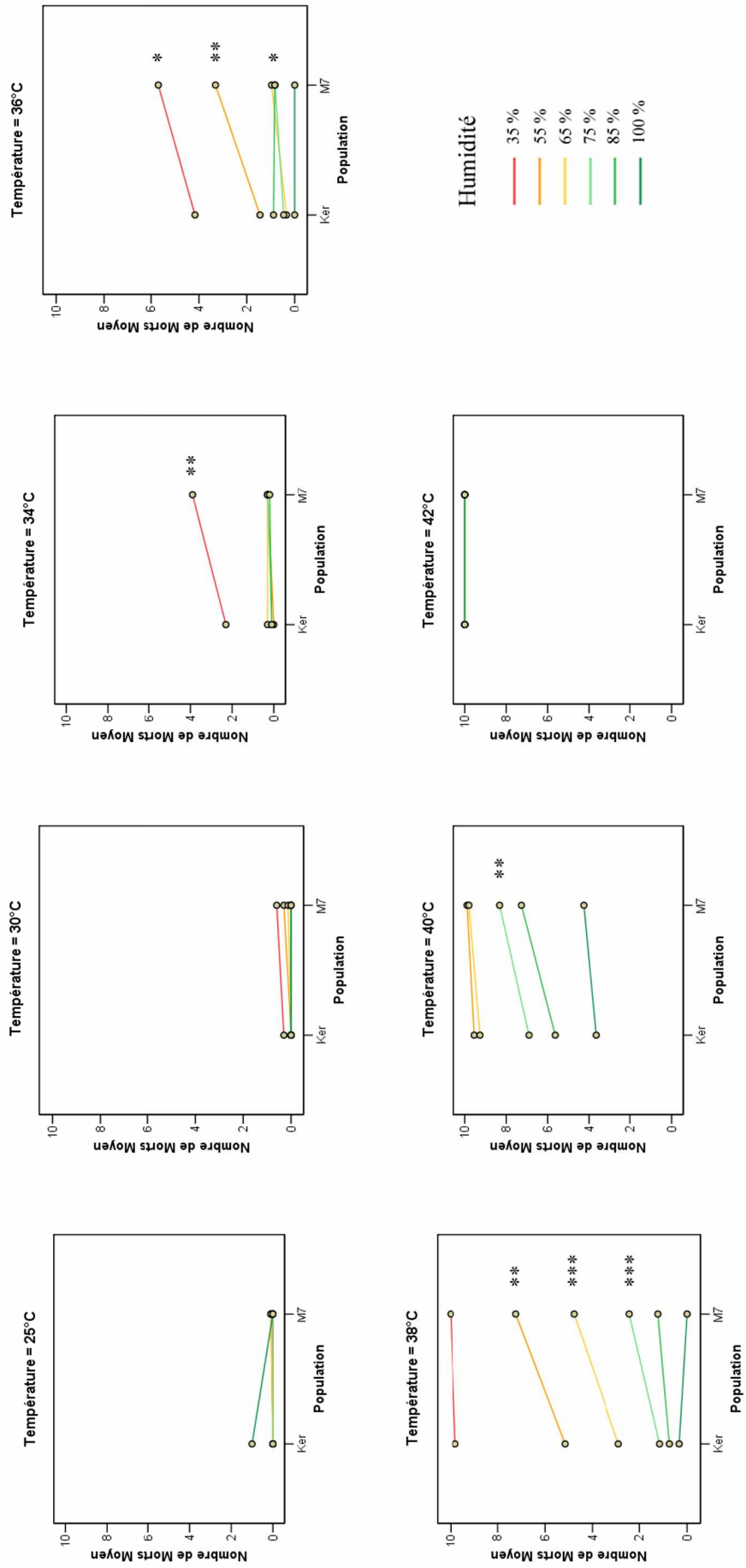
du milieu extérieur. Nous n'avons cependant pas pu étudier la tolérance des reines aux conditions abiotiques du fait de la difficulté de les échantillonner dans certaines zones.

Dans un deuxième temps, nous avons déterminé en laboratoire le spectre de conditions température x humidité toléré par les ouvrières d'une population clonale (Ker) et d'une population sexuée (M7) (protocole détaillé dans les Annexes 1.4.2 et 1.5.6). Nos résultats montrent qu'il existe en terme de mortalité une différence de tolérance abiotique significative entre ouvrières de la population clonale testée et celles de la population sexuée ( $n_{\text{ouvrières testées}} = 14\ 050$  ; modèle linéaire généralisé mixte :  $F = 95,74$  ;  $p < 10^{-4}$  ; Tableau 17 ; Figure 47). En effet, les ouvrières de Ker sont plus résistantes aux conditions température x humidité plus chaudes et plus sèches. Par rapport aux conditions existantes sur le terrain, il semble que toutes les ouvrières testées (i.e. sexuées et clonales) puissent survivre dans les zones naturelles mais aussi dans les zones anthropisées. Cependant, il faut signaler que la survie des ouvrières ne signifie pas pour autant le bon fonctionnement de la colonie : la différence perceptible de survie entre les ouvrières de Ker et celles de M7 à des températures élevées doit probablement se traduire par des différences d'activité des ouvrières à des températures plus basses et des humidités plus élevées. Idéalement, il serait souhaitable de mesurer directement le fitness des différents types de colonies de *W. auropunctata* dans ces différentes conditions micro-climatiques. Concrètement, notre mesure de mortalité est la seule mesure aisée à réaliser. Nos résultats sont quoiqu'il en soit compatibles avec un avantage écologique de la population clonale testée sur la population sexuée dans les zones anthropisées. Cependant, ce résultat obtenu sans réplicat pour chaque type de population confond le facteur « système de reproduction » et le facteur « population ». Nous ne pouvons donc en aucun cas conclure à ce stade sur un éventuel avantage écologique associé au système de reproduction clonal.

Dans un troisième temps, nous avons donc testé simultanément la tolérance des ouvrières de deux populations clonales (Ker et RN) et deux populations sexuées (M7 et M3), pour trois conditions température x humidité où les différences de tolérance entre les ouvrières de Ker et de M7 se sont avérées particulièrement importantes. Nous avons ainsi été en mesure de tester les effets respectifs du type de système de reproduction et de la population d'origine sur la tolérance aux conditions abiotiques, même si le nombre de populations clonales et sexuées testées est faible et proviennent chacune d'un type d'habitat particulier (anthropisé et naturel, respectivement). Nos résultats indiquent que les ouvrières des populations clonales sont significativement plus tolérantes aux conditions abiotiques chaudes et sèches que les ouvrières des populations sexuées ( $n_{\text{ouvrières testées}} = 5\ 400$  ; modèle linéaire

**Figure 47 : Différences de tolérance aux conditions abiotiques entre ouvrières de Ker (population clonale) et M7 (population sexuée).**

Note : Chacun des graphiques représente les résultats du nombre moyen de morts sur 10 ouvrières pour chacune des deux populations testées à une température donnée. Chaque paire de points reliés par une ligne de couleur représente les taux de mortalité moyens des ouvrières de chacune des deux populations à une même condition d'humidité. Le code couleur des différentes humidités est donné ci-dessous. La significativité des différences du nombre moyen de morts entre les populations a été testée pour chaque condition température x humidité selon un test U de Mann-Whitney (pas d'étoile = non significatif ; \* :  $p < 0,01$  ; \*\* :  $p < 0,05$  ; \*\*\* :  $p < 0,001$ ).



généralisé mixte :  $F = 10,8$  ;  $p = 0,017$ ; Figures 48 et 49). Il n'y a pas d'effet significatif de la population d'origine des ouvrières (modèle mixte linéaire généralisé :  $F = 0,20$  ;  $p = 0,822$ ). Le faible nombre de populations testées ne permet cependant pas de conclure définitivement sur ce point.

Ces expériences montrent donc que la tolérance à des conditions micro-climatiques chaudes et sèches est supérieure chez les ouvrières issues de populations clonales par rapport aux ouvrières issues de populations sexuées. Étant donné que les zones anthropisées semblent correspondre à des habitats plus chauds et secs que les zones naturelles, il est logique que les populations clonales soient plus présentes dans les milieux anthropisés que les populations sexuées. Il est important de souligner ici que ce n'est pas la manière dont se transmettent les gènes qui est responsable des performances individuelles des ouvrières dans ces expériences, mais les combinaisons génomiques dont elles sont constituées. L'architecture génomique particulière des ouvrières des nids clonaux (mesurée grossièrement par leur hétérozygotie observée et leur différence de taille allélique), issues de génotypes de reines et mâles clonaux généralement très divergents, est susceptible d'expliquer ces performances accrues en milieu extrême. L'avantage du système de reproduction clonal consiste ici de pérenniser ces combinaisons génomiques favorables, au contraire de la reproduction sexuée qui les brise au cours des générations.

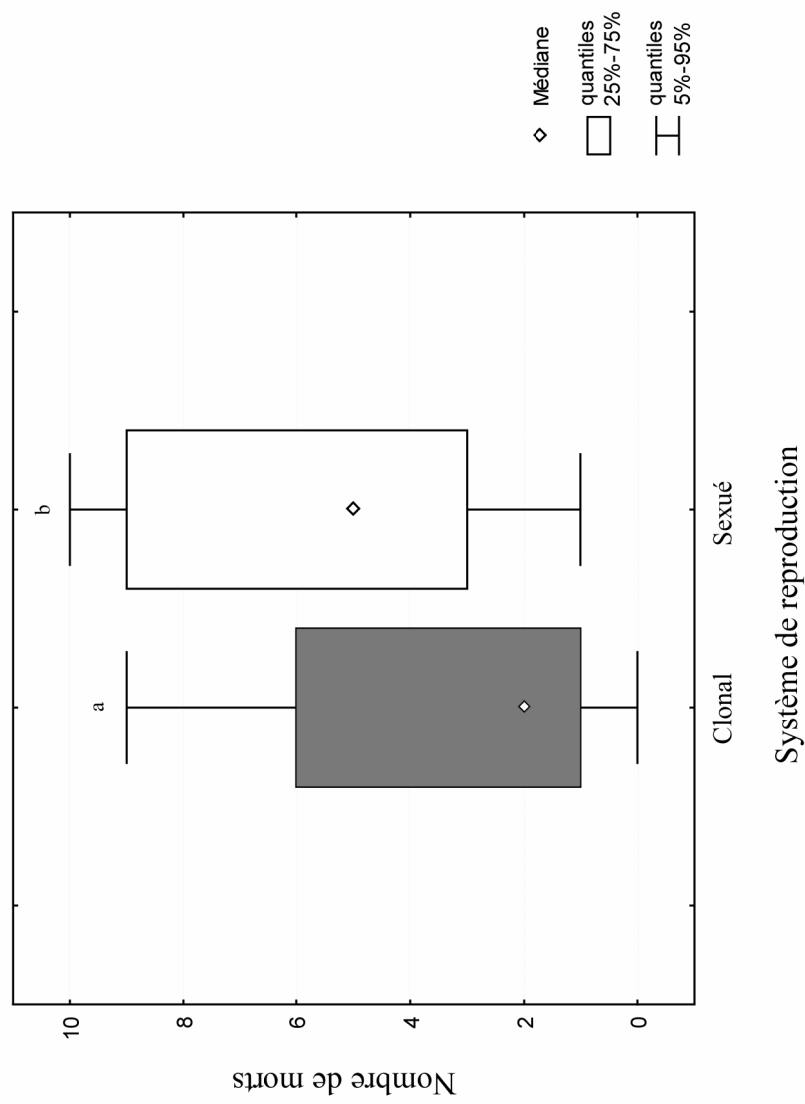
Il nous apparaît néanmoins nécessaire de répéter ces expérimentations avec un plus large échantillon de populations clonales et sexuées de différents habitats de l'aire native et introduite de *W. auropunctata* afin de confirmer et renforcer ces conclusions préliminaires. Une perspective intéressante consisterait à caractériser plus précisément le nombre de gènes ou parties de génome responsables des différences de tolérance abiotique entre ouvrières de nids clonaux et sexués, en utilisant par exemple des marqueurs de type AFLP, susceptibles de saturer le génome.

### **3. Synthèse**

L'étude des pontes de reines en conditions contrôlées nous a permis de confirmer de manière directe l'existence de deux systèmes de reproduction distincts chez *W. auropunctata*, comme inféré indirectement à partir des données microsatellites obtenues sur des échantillons prélevés sur le terrain. Les reines de certaines populations (dites « sexuées ») produisent des gynés et ouvrières par reproduction sexuée et des mâles par parthénogenèse arrhénotoque. Au contraire, les reines d'autres populations (dites « clonales ») produisent de nouvelles reines

**Figure 48 :** Mortalités moyennes des ouvrières des nids clonaux et sexués pour les trois conditions expérimentales sélectionnées et les deux populations d'origines testées dans la deuxième expérience de tolérance aux conditions abiotiques.

Note : Les différentes conditions testées sont : 36°C et 55% d'humidité ; 38°C et 65% d'humidité ; 40°C et 75% d'humidité. Les losanges indiquent les moyennes, et les boîtes et les barres horizontales indiquent les percentiles 50% et 95%, respectivement. Différentes lettres indiquent des différences significatives de mortalité (modèle linéaire généralisé mixte :  $F = 10,80$  ;  $p = 0,017$ ).

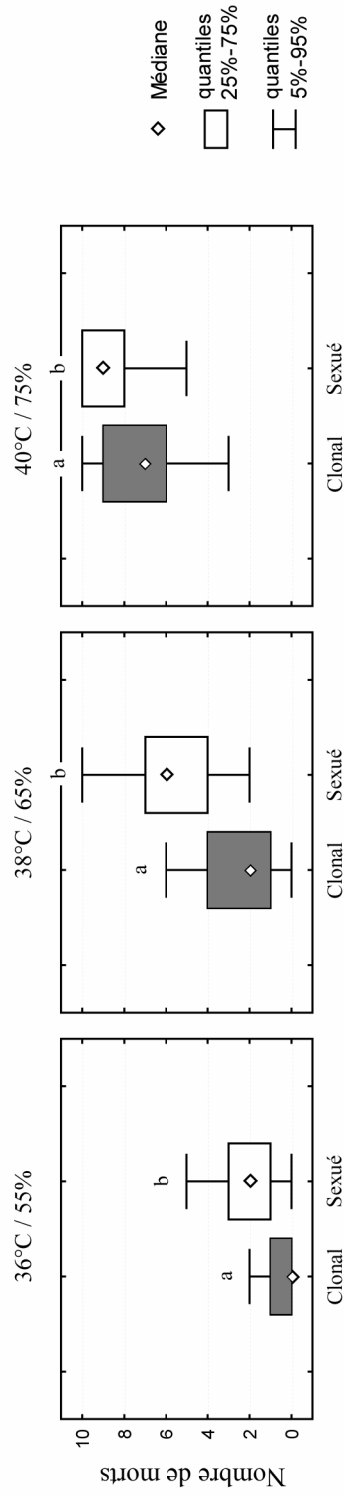




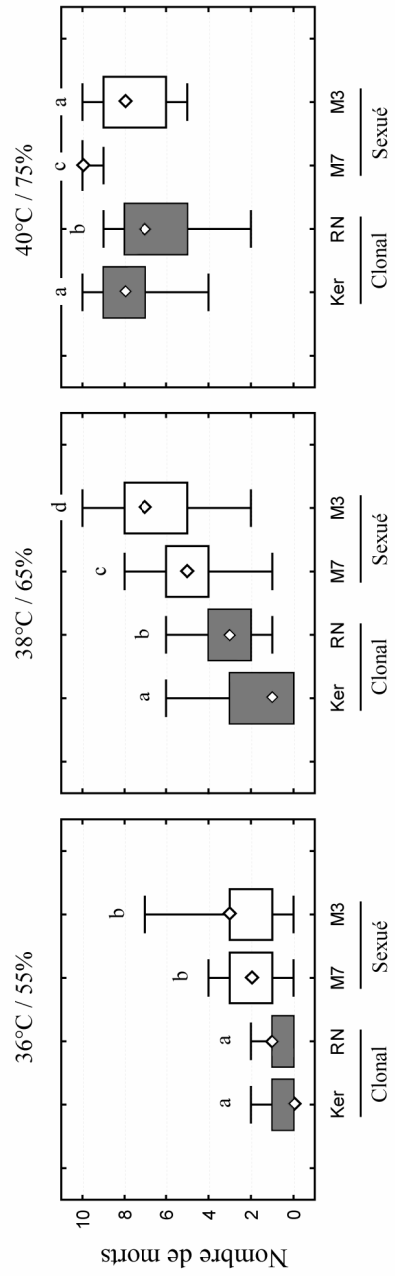
**Figure 49** : Mortalité des ouvrières des deux populations clonales (Ker et RN) et des deux populations sexuées (M7 et M3) pour chacune des trois conditions température x humidité testées dans la deuxième expérience de tolérance aux conditions abiotiques.

Note : Les losanges indiquent les moyennes, et les boîtes et les barres horizontales indiquent les percentiles 50% et 95%, respectivement. Les différences de mortalités entre groupes ont été testées deux à deux par des tests U de Mann-Whitney au seuil de 1%.

(A) Par type de système de reproduction des populations



(B) Par population



par parthénogenèse thélytoque, des mâles par clonalité et des ouvrières sexuellement. Ces résultats confirment que la parthénogenèse thélytoque et la clonalité mâle sont très fortement associés, suggérant un mécanisme commun de production des femelles et mâles clonaux. Cette étude nous a également permis de démontrer que les reines clonales produisent rarement des gynes sexuées et des mâles arrhénotoques, qui sont à la base du mécanisme de diversification des lignées de reines clonales observé dans les aires native (cf. section I.6) et introduite (cf. section II.2) de *W. auropunctata*. Enfin, nos résultats confirment l'existence d'un déterminisme génétique de la caste chez *W. auropunctata*.

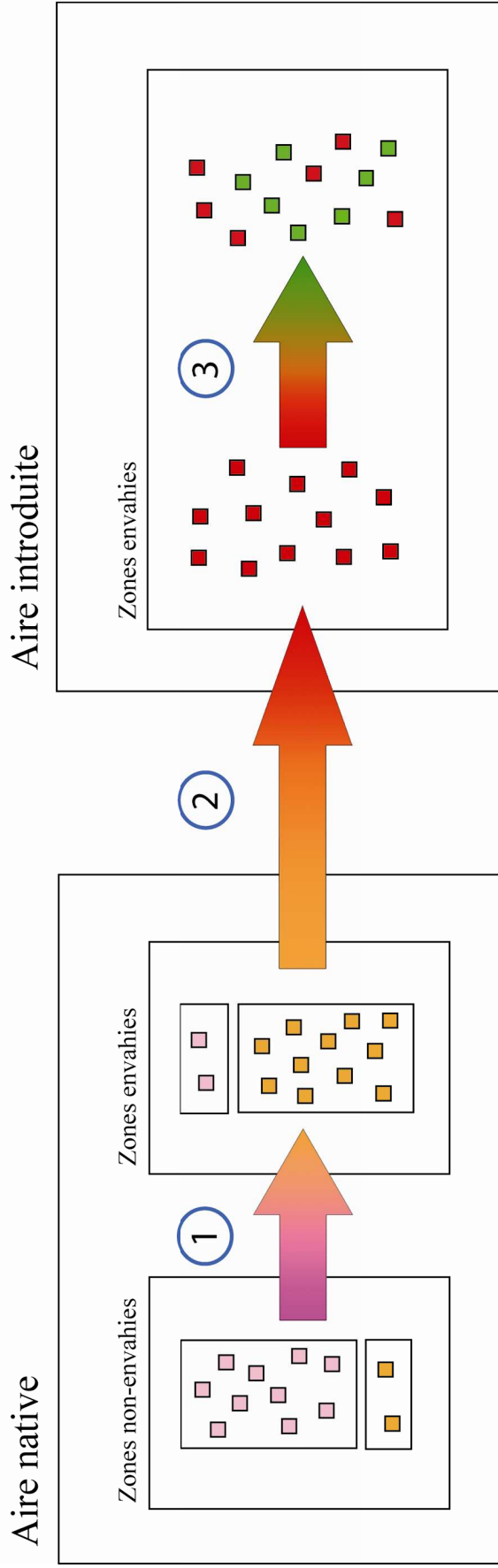
Notre seconde étude en laboratoire a montré que les ouvrières des nids clonaux sont significativement plus tolérantes que les ouvrières des nids sexués aux conditions chaudes et sèches observées dans les zones anthropisées de l'aire native. Le système de reproduction clonal de *W. auropunctata* semble donc être avantageux dans certaines conditions abiotiques, en permettant le maintien de combinaisons génomiques favorables. Le maintien de ces combinaisons génomiques dans le temps permettrait d'étendre la niche environnementale de certaines populations et d'être indirectement responsable de la grande majorité des invasions des zones anthropisées de l'aire native et de l'aire introduite de *W. auropunctata*.

# CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

« Eh ! m'sieur le président, la raison a deux bouts : le bon et le mauvais. Il n'y en a qu'un sur lequel vous puissiez vous appuyer avec solidité : c'est le bon ! »

Rouletabille

Figure 50 : Schéma récapitulatif des principales étapes de l'invasion de *W. auropunctata*.



- Sexués de l'aire native
- Clones de l'aire native
- Clones originaux de l'aire introduite
- Clones dérivés de l'aire introduite

**1 Au sein de l'aire native :**

- transition du statut non-invasif à invasif sous l'influence humaine
- transition d'un système de reproduction majoritairement sexué à un système de reproduction majoritairement clonal
- augmentation de l'hétérozygotie chez les ouvrières (sélectionnée ?)

**2 Entre les zones envahies de l'aire native et l'aire introduite :**

- pas de transition du statut invasif
- pas de transition du système de reproduction
- hétérozygotie des ouvrières toujours élevée

**3 Au sein de l'aire introduite :**

- émergence de la reproduction sexuée et apparition de lignées clonales dérivées
- diminution de l'hétérozygotie chez les ouvrières
- évolution du statut invasif en cours ?

Notre étude de l'aire native et de l'aire introduite de *W. auropunctata* a montré que l'invasion de la zone intertropicale s'est déroulée en trois étapes principales. Nous synthétiserons dans une première partie de ce chapitre le déroulement de cette invasion. Dans une deuxième partie, nous évaluerons brièvement l'impact de notre approche « clef-serrure » menée séquentiellement sur nos résultats. Notre étude nous a également conduit à nous poser de nombreuses questions sur la nature des invasions biologiques, leur rapport à l'activité humaine, l'importance évolutive de la diversité génétique et de son mode de transmission. Dans une troisième partie, nous nous focaliserons sur trois questions clefs soulevées par notre modèle biologique, du fait de leur caractère générique (i.e. elles se posent dans tous les cas d'invasions biologiques). Enfin, dans une dernière partie, nous aborderons quelques perspectives appliquées liées à ce travail en tentant de répondre à la question : comment lutter contre les invasions de *W. auropunctata* ?

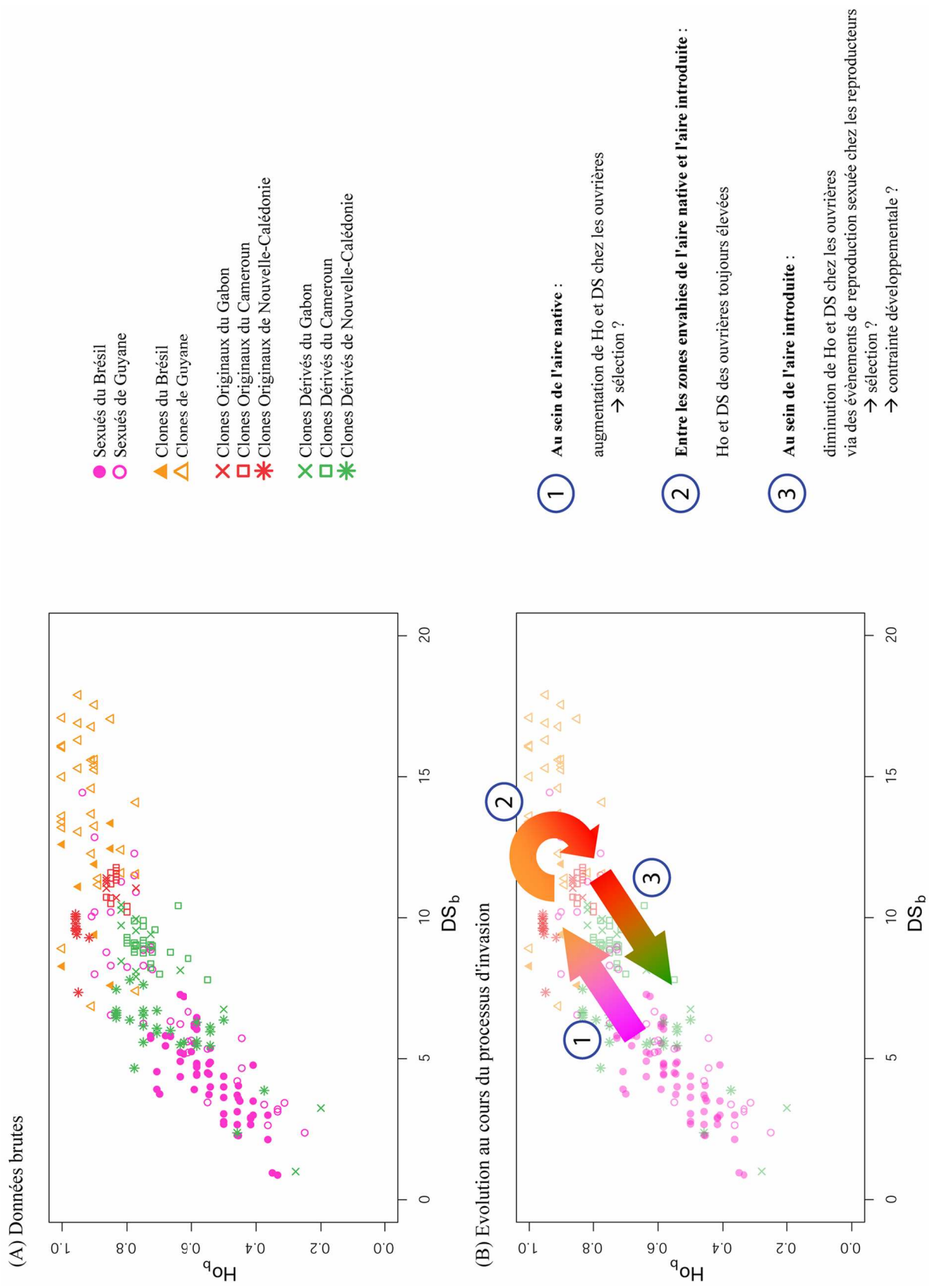
## 1. Déroulement de l'invasion : trois étapes principales

Notre étude permet de dissocier trois étapes principales dans le déroulement de l'invasion de *W. auropunctata*.

La première étape se déroule au sein de l'aire native (Figure 50). Nous avons vu qu'il existe dans cette zone des populations de *W. auropunctata* non-envahissantes, majoritairement sexuées et rarement clonales. Il y existe également des populations envahissantes de *W. auropunctata*, qui sont majoritairement clonales et rarement sexuées. L'émergence de ces populations envahissantes au sein de l'aire native de l'espèce est étroitement corrélée à la présence d'activité humaine. En effet, la majeure partie des populations non-envahissantes est présente dans des zones naturelles (i.e. de forêt primaire), alors que la totalité des populations envahissantes est présente dans des zones anthropisées (plantations, carrières, bords de routes). Il est également important de signaler que les rares populations non-envahissantes présentes dans des zones anthropisées (CN et IN) sont des populations qui ont été échantillonnées dans d'anciennes plantations laissées à l'abandon depuis une vingtaine d'année. Il semble donc qu'une activité humaine en cours soit nécessaire pour que les populations de *W. auropunctata* deviennent envahissantes.

Le mode de reproduction clonal de certaines populations semble participer indirectement au succès envahissant de l'espèce en leur conférant un avantage sélectif. Contrairement aux attendus classiques (Williams 1975; Maynard Smith 1978), cet avantage

**Figure 51** : Hétérozygotie ( $H_{ob}$ ) et différence de taille allélique ( $DS_b$ ) des couples mâle-reine sexués et clonaux des aires native et introduite.



ne semble pas être démographique, mais adaptatif, en permettant aux populations clonales d'occuper la niche environnementale anthropisée. Cette capacité ne dépend évidemment pas en soi du mode de transmission des gènes mais bien des gènes eux-mêmes et de leur association. Le système de reproduction clonal pourrait être sélectionné dans les zones anthropisées car il permet de maintenir des associations de gènes favorables. Ces associations favorables semblent caractérisées par une divergence des pools géniques mâles et reines plus élevée qu'aléatoirement dans les populations sexuées, et s'exprimeraient de fait au niveau des ouvrières produites sexuellement. En effet, les ouvrières des populations clonales, caractérisées par une hétérozygotie et une divergence de taille allélique plus fortes que celles des ouvrières des populations sexuées (Figure 51), tolèrent mieux que ces dernières les extrêmes de conditions de température (hautes) et d'humidité (basses) spécifiques des zones anthropisées.

Une fois l'installation de populations en zone anthropisée possible, d'autres facteurs pourraient permettre à *W. auropunctata* d'augmenter en densité et d'avoir un impact sur le fonctionnement des écosystèmes et donc de devenir envahissante au sein de son aire native. Premièrement, le fait que les zones anthropisées soient généralement pauvres en biodiversité pourrait favoriser l'augmentation des densités de *W. auropunctata*. En effet, la petite fourmi de feu semble vulnérable à la compétition interspécifique dans les zones naturelles de son aire native (Le Breton et al. 2007). Elle pourrait ainsi bénéficier d'un effet d'*enemy release* dans les zones anthropisées. Deuxièmement, l'hétérozygotie élevée des ouvrières des populations clonales de *W. auropunctata* pourrait également être bénéfique pour l'exploitation de ressources abondantes (Rowe et al. 1999; Reznick et al. 2000; Vorburger 2005), situation présente au moins dans certains habitats anthropisés. Si cela est vérifié, le système de reproduction clonal jouerait alors également un rôle indirect dans l'explosion démographique des populations envahissantes.

D'autres facteurs ne dépendant pas de l'anthropisation des milieux pourraient également faciliter les invasions de *W. auropunctata*. Ainsi, l'organisation sociale unicoloniale (i.e. en supercolonies) de l'espèce facilite sans doute l'augmentation des densités de populations en diminuant la compétition intraspécifique et en augmentant l'efficacité de la compétition interspécifique de manière significative (Holway et al. 2002). D'autre part, la perte de parasites endosymbiontes tels que certaines souches de *Wolbachia* pourrait également faciliter l'augmentation des densités de populations de *W. auropunctata* par un effet d'*enemy release*.

Les invasions de *W. auropunctata* se déclenchent donc au sein de son aire native principalement sous l'influence de l'activité humaine, qui modifie profondément les caractéristiques biologiques de l'espèce. Il est intéressant de noter que les populations envahissantes des zones anthropisées ne semblent pas parvenir à envahir les zones naturelles de l'aire native. Ceci paraît difficile à expliquer par les différences de conditions abiotiques entre zones anthropisées et naturelles, puisque les conditions des zones naturelles forment un sous-ensemble inclus dans l'ensemble des conditions des zones anthropisées (cf. section III.2). Il paraît donc plus probable que ce soit les conditions biotiques des zones naturelles (par exemple, la pression de compétition ou de parasitisme) qui limitent l'extension de l'invasion des *W. auropunctata* aux zones anthropisées de l'aire native. Dans les zones anciennement anthropisées et actuellement abandonnées de l'aire native, l'absence d'invasions de *W. auropunctata* pourraient également être due à un retour de conditions biotiques plus riches et défavorables (par exemple, par recolonisation de la zone par d'autres espèces de fourmi compétitrices). Ces deux situations semblent souligner l'importance de facteurs biotiques favorables (et indirectement de l'impact humain) dans le succès envahissant de *W. auropunctata*.

La deuxième étape de l'invasion de la zone intertropicale par *W. auropunctata* est son transport accidentel par l'homme depuis son aire native vers l'aire introduite (Figure 50). Les fondations de nouvelles populations introduites semblent toujours être le fait d'un seul génotype clonal mâle associé à un seul génotype clonal femelle très différent, produisant des ouvrières très hétérozygotes (Figure 51). Ces fondations sont donc probablement le fait d'une ou plusieurs propagules tirées d'une unique population envahissante de zone anthropisée de l'aire native de *W. auropunctata*. Notre étude montre que cette étape de transport ne s'accompagne d'aucune transition biologique fondamentale. Ceci s'explique sans doute en grande partie par le fait que ce transport s'effectue d'une zone anthropisée native vers une autre zone anthropisée, introduite. Même si ces deux zones ne peuvent être écologiquement strictement semblables, l'action de l'homme sur l'environnement est globalement homogénéisante (McKinney & Lockwood 1999; Mooney & Hobbs 2000; Olden et al. 2004; Rahel 2007), et les populations de *W. auropunctata* transportées ne souffrent donc probablement que d'un déficit adaptatif minimal à leur arrivée en zone introduite, pour peu que les conditions abiotiques soient proches (i.e. dans le cas où la zone introduite est également tropicale). Ce mécanisme d'homogénéisation globale agit comme une boucle de rétroaction positive, car plus les milieux s'homogénéisent, plus les espèces locales adaptées à



ces milieux peuvent s'installer en-dehors de leur aire d'origine, et ainsi renforcer l'homogénéisation globale. En effet, on peut à la fois considérer que les invasions de *W. auropunctata* ont probablement été facilitées par l'homogénéisation des zones anthropisées tropicales, et que, désormais, la présence de *W. auropunctata* dans les zones anthropisées tropicales est une composante de leur homogénéisation.

La seule différence notable entre les populations envahissantes de l'aire native et celles de l'aire introduite est la taille plus importante de plusieurs ordres de grandeur des supercolonies introduites par rapport aux supercolonies natives. Cette différence est probablement due à la faible fréquence d'évènements d'introduction. En effet, si la fréquence d'arrivée des propagules est faible, la première propagule établie a le temps de produire une population saturant le point d'introduction avant l'arrivée d'une seconde propagule. La taille réduite des supercolonies envahissantes de l'aire native entraîne une forte probabilité que deux évènements d'introduction successifs au même point de l'aire introduite proviennent de deux populations natives génétiquement différentes. Or, nos résultats montrent qu'un comportement agressif entre deux nids est associé à une différence génétique entre les individus de ces nids. On peut donc raisonnablement penser que la première propagule établie, probablement dominante numériquement, élimine toute nouvelle tentative d'invasion par une entité génétiquement différente. Ce phénomène est particulièrement attendu dans les zones introduites possédant un faible nombre de points d'entrée (i.e. ports ou aéroports internationaux). Ainsi, dans les cas où les introductions de *W. auropunctata* sont rares et/ou se produisent à des points d'entrée peu nombreux (par exemple, dans les îles du Pacifique), il n'est pas surprenant de constater l'établissement de supercolonies uniques saturant la totalité de la zone introduite.

La troisième étape de l'invasion des zones intertropicales par *W. auropunctata* se déroule au sein des zones introduites (Figure 50). Notre étude montre que les lignées clonales introduites évoluent selon un schéma qui paraît répétable. Alors que la lignée clonale mâle originale se maintient à l'identique (aux mutations près), de rares évènements de reproduction sexuée conduisent à l'apparition de nouvelles lignées de reines clonales. Ces nouvelles lignées de reines clonales, qui semblent envahir progressivement les zones introduites où elles sont apparues, ont pour principale conséquence de diminuer l'hétérozygotie des ouvrières (Figure 51). Il nous est pour l'instant impossible de savoir si cette évolution des populations introduites, via de rares évènements de reproduction sexuée, est la conséquence d'une contrainte développementale (*sensu* Maynard-Smith, 1985) sur le système de reproduction de

*W. auropunctata*, ou bien d'une pression sélective favorisant la recombinaison des pools génétiques mâles et femelles introduits. Dans le cas de la Nouvelle-Calédonie et du Gabon, la diversification des lignées de reines clonales pourrait être due à une contrainte développementale, car elle semble s'associer à des chutes importantes de densité de population (obs. pers. ; Wetterer & Porter 2003), et ne semble donc pas être sélectionnée positivement. Dans le cas du Cameroun, la très nette domination du paysage par une nouvelle lignée clonale femelle suggère au contraire qu'au moins certaines combinaisons génomiques produites via la reproduction sexuée pourraient être positivement sélectionnées.

La question de savoir si les invasions de *W. auropunctata* dans les zones anthropisées de son aire introduite peuvent s'étendre aux zones naturelles adjacentes reste en partie non résolue. Dans le contexte insulaire de l'invasion de la Nouvelle-Calédonie, les zones naturelles semblent avoir été envahies avec la même facilité que les zones anthropisées (Jourdan 1999) et ceci sans nécessiter de changement évolutif détectable (cf. cette thèse). Théoriquement, il est attendu que les zones insulaires offrent une faible résistance biotique aux espèces envahissantes (Sax & Brown 2000). En accord avec cet attendu, Le Breton et al. (2007) montre qu'en Nouvelle-Calédonie les espèces de fourmi autochtones potentiellement compétitrices de *W. auropunctata* développent une réponse comportementale inadaptée à sa présence, au contraire des espèces de fourmi du même genre des zones naturelles de l'aire native (en Guyane). Dans le contexte continental de l'invasion du Gabon et du Cameroun, les connaissances actuelles sur la distribution de *W. auropunctata* dans ces pays ne permettent pas de répondre précisément à la question de l'invasion des zones naturelles. Cependant, en Afrique, la résistance des milieux naturels, plus riches en compétiteurs et parasites, est théoriquement plus importante. Conformément à cet attendu, il semble que, même si *W. auropunctata* a débuté son invasion des zones naturelles du Gabon, celle-ci semble pour l'instant limitée aux bords de rivière, et *W. auropunctata* ne semble pas capable de pénétrer les zones de forêt primaire (Walker 2006). Si ces résultats étaient confirmés, ils souligneraient une fois de plus la propension de *W. auropunctata* à s'installer dans des milieux fortement perturbés caractérisés par une pression biotique relâchée.

Ainsi, il est probable que plus les activités humaines conduiront à la perturbation des zones naturelles, plus les populations envahissantes de *W. auropunctata* auront l'opportunité d'envahir ces derniers espaces tropicaux actuellement épargnés, que ce soit dans son aire introduite (Wetterer et al. 1999; Walsh et al. 2004), ou dans son aire native (Tennant 1994; Armbrrecht & Ulloa-Chacon 2003).

## **2. De la conjugaison des approches « clef-serrure » et « par étape » dans l'étude des invasions biologiques.**

Notre étude des invasions de *W. auropunctata* s'est appuyée sur une approche mixte « par étapes », menée séquentiellement dans l'espace (zones non-envahies de l'aire native, zones envahies de l'aire native, puis zones envahies de l'aire introduite), et « clef-serrure », centrée à la fois sur les caractéristiques biologiques de l'espèce et sur les caractéristiques de l'environnement. Cette approche mixte nous a permis de mieux comprendre les processus éco-évolutifs à l'origine des invasions de *W. auropunctata* et leur séquence dans l'espace. Les deux approches prises individuellement n'auraient pas permis un tel niveau d'investigation.

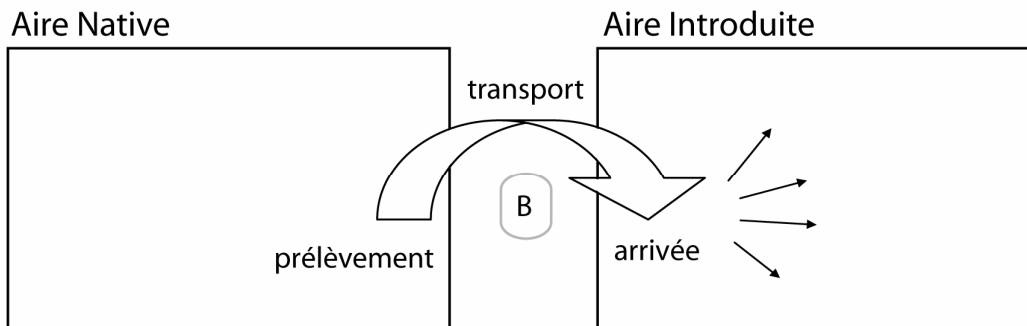
Si nous avons opté pour une simple démarche « par étapes », sans s'appuyer sur une approche « clef-serrure », nous aurions sans doute pu déterminer la localisation dans l'espace de l'émergence de populations envahissantes, mais probablement pas les causes proximales de cette émergence (i.e. les modifications anthropogéniques de l'environnement), ainsi que le rôle éventuel de parasites tels que *Wolbachia*. Ceci nous aurait privé de perspectives théoriques et appliquées importantes (détaillées ci-après).

Si nous avons opté pour une simple démarche « clef-serrure », sans approche « par étapes », nos conclusions auraient été partielles selon l'étape que nous aurions choisi d'étudier. Par exemple, si nous nous étions focalisé sur l'aire introduite de *W. auropunctata*, nous aurions ignoré les processus menant à l'émergence du caractère envahissant de certaines populations (flèche n°1 des Figures 51 et 52, voir plus bas). A l'inverse, si nous nous étions focalisés sur l'aire native de *W. auropunctata*, nous aurions ignoré l'évolution des populations envahissantes au sein de leur aire d'introduction. Ces restrictions auraient logiquement conduit à une compréhension incomplète des processus en jeu dans les invasions de *W. auropunctata*.

*Wasmannia auropunctata* illustre donc l'intérêt d'une approche mixte « clef-serrure » et « par étapes » pour étudier les invasions biologiques. Cette approche nous a notamment permis de révéler une localisation de l'émergence de populations envahissantes plutôt inattendue, et également de mettre en relation les rôles respectifs de l'anthropisation du milieu et de l'évolution du système de reproduction dans le succès envahissant de l'espèce. Ces avancées, leur portée générale et les nombreuses interrogations restantes sont abordées ci-dessous sous la forme de trois questions-clefs.

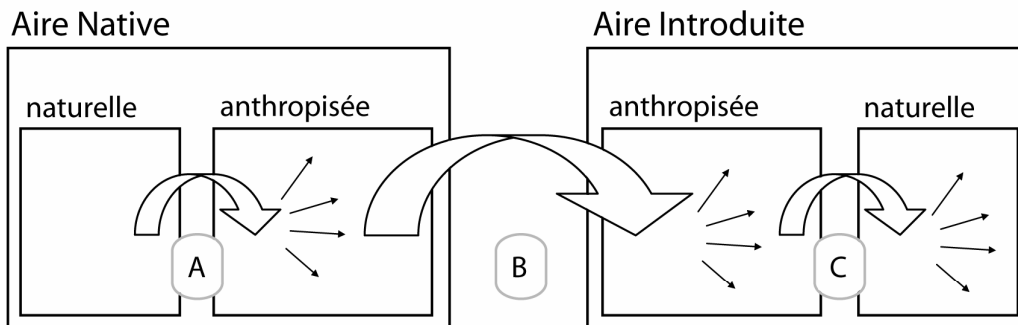
**Figure 52 :** Deux visions du déroulement des invasions biologiques dans le temps et l'espace.

(A) Vision "classique" des invasion biologiques



Si l'on considère les aires natives et introduites homogènes et différentes, l'étape B soulève un paradoxe évolutif, celui de l'adaptation locale des populations introduites.

(B) Vision alternative illustrée par *W. auropunctata*



Si l'on considère que les aires natives et introduites ne sont pas homogènes, au contraire des zones anthropisées des deux aires, l'étape B ne soulève plus de paradoxe évolutif. Le problème de l'adaptation locale se transfère aux étapes A et C, mais d'une manière beaucoup moins paradoxale que dans la vision classique des bioinvasions. En effet, la pression de propagule est probablement plus élevée qu'à l'étape B.

### 3. Principales questions théoriques soulevées par notre modèle

#### biologique

##### 3.1 Où se déroulent les invasions biologiques ?

Le paradigme actuel de l'étude des invasions biologiques est que les transitions éco-évolutives menant à l'émergence de populations envahissantes ont lieu au sein de l'aire introduite des espèces envahissantes. De nombreuses études soulignent donc l'importance de comparer les populations natives et introduites pour améliorer notre compréhension de ces transitions éco-évolutives (Sakai et al. 2001; Holway et al. 2002; Sax et al. 2005; Facon et al. 2006). Pourtant, dans le cas de *W. auropunctata*, une simple comparaison des populations des zones introduites et des zones anthropisées natives, à savoir des populations de très loin les plus faciles à localiser et à échantillonner, n'aurait pas révélé de différences importantes entre populations natives et introduites. En effet, la transition de certaines populations d'un statut non-envahissant à envahissant s'effectue non pas entre l'aire native et l'aire introduite, mais au sein de l'aire native (Figure 50). Pourtant, l'aire native des espèces envahissantes n'est traditionnellement considérée que comme une source de propagules immédiatement transportées dans l'aire introduite (Figure 52).

L'émergence du caractère envahissant de certaines populations au sein de l'aire native de l'espèce ne se limite pas au seul cas de *W. auropunctata*. En effet, nous avons défini le caractère envahissant des populations sur la base de trois critères : (i) l'extension de l'aire de répartition, (ii) l'augmentation des densités de population dans son nouvel environnement et (iii) l'impact sur le fonctionnement des écosystèmes. Or, les espèces peuvent théoriquement étendre leur aire de distribution au sein de leur aire native, car tous les milieux de l'aire native ne font probablement pas partie de l'aire de distribution réalisée (ou aire de distribution efficace), et elles peuvent également y augmenter en densité et modifier le fonctionnement des écosystèmes. Il n'existe donc aucune raison théorique pour qu'une espèce ne puisse pas devenir envahissante au sein de son aire native. Par conséquent, de notre point de vue (et contrairement à de nombreuses définitions proposées par différents auteurs ; cf. Tableau 1), une espèce ne doit pas nécessairement être introduite en-dehors de son aire native pour devenir envahissante.

De nombreux exemples d'espèces envahissantes dans leur propre aire native peuvent être ainsi répertoriées. Par exemple, des espèces de ravageurs comme *Dendroctonus frontalis*

(le scarabée des pins), *Lymantria dispar* (le bombyx disparate) ou *Locusta migratoria* (le criquet migrateur) satisfont tous les aspects de notre définition d'« envahissantes » au sein de leur aire native. On peut également noter que l'introduction d'espèces envahissantes, en modifiant directement ou indirectement le fonctionnement des écosystèmes envahis, peut faciliter l'émergence de nouvelles espèces envahissantes localement, i.e. au sein de leur propre aire native. Par exemple, l'introduction d'espèce de fourmis envahissantes peut déclencher des invasions d'espèce locales de pucerons par le développement d'une relation mutualiste (Holway et al. 2002; Ness & Bronstein 2004). Ce type de facilitation correspond à une extension du concept de « pot-pourri envahissant » *sensu stricto* (*invasional meltdown* ; Simberloff & Von Holle 1999), où seule est envisagée la facilitation d'une espèce introduite envers une autre espèce introduite, et où la notion d'espèce introduite facilitant une espèce native est ignorée (Simberloff 2006). Enfin, des espèces locales peuvent bénéficier de l'introduction d'espèces envahissantes si ces dernières constituent une nouvelle ressource à prédater ou à parasiter. Ironiquement, toutes les invasions biologiques déclenchées localement par le développement de l'activité humaine (cf. question suivante détaillée plus bas) peuvent être considérées comme des *invasional meltdown*, *sensu lato*, dans la mesure où l'espèce humaine et son cortège d'espèces « domestiques » satisfont parfaitement notre définition d'espèces envahissantes.

Cette étude montre donc qu'il n'est pas suffisant de comparer un faible nombre de populations natives et introduites pour appréhender l'essentiel du mécanisme envahissant, mais qu'une connaissance approfondie des populations des deux aires est nécessaire. La connaissance de la biologie de nombreuses espèces envahissantes au sein de leur aire native est malheureusement insuffisante et nécessite des efforts de recherche conséquents, tant sur les plans empiriques que conceptuels. En effet, il est possible que de telles études montrent qu'une partie non-négligeable des espèces envahissantes développent ce caractère biologique au sein de leur propre aire native.

### 3.2 Invasions biologiques contemporaines : une conséquence évolutive de l'impact humain ?

Notre étude révèle que le principal facteur déclencheur des invasions de *W. auropunctata* est la modification de l'environnement par l'homme. L'impact de la présence humaine modifie profondément les écosystèmes naturels, à l'échelle de la planète entière

(Vitousek et al. 1997b; DeFries et al. 2004). Les principaux effets de l'anthropisation à l'échelle mondiale sont (i) la modification des conditions abiotiques des milieux naturels (Shukla et al. 1990; Salmun & Molod 2006), (ii) la simplification et l'homogénéisation biotiques des milieux naturels (McKinney & Lockwood 1999; Mooney & Hobbs 2000; Tilman et al. 2001), et (iii) la diminution de l'importance évolutive d'anciennes barrières géographiques due à la multiplication des échanges commerciaux (Tatem et al. 2006; Malacrida et al. 2007; Westphal et al. 2007). Les exemples d'invasions biologiques ayant vraisemblablement pour cause directe l'activité humaine sont actuellement nombreux, et devraient logiquement augmenter dans le futur, à la mesure de la croissance de la population humaine, des ressources utilisées par individu et des échanges mondiaux (Vitousek et al. 1997a; Tilman et al. 2001).

L'homogénéisation biotique et abiotique des écosystèmes sous l'influence humaine, générant des pressions de sélection directionnelles constantes dans le temps et l'espace, est ainsi à l'origine d'invasions biologiques majeures (Hobbs 2000; Olden et al. 2004). Les exemples les plus frappants proviennent sans doute des invasions de maladies infectieuses, parfois associées aux invasions d'espèces vectrices, touchant l'homme et ses espèces domestiques associées, via des changements d'aménagement du territoire. On peut citer par exemple (i) l'expansion de la malaria au Sri Lanka, grâce à l'invasion d'*Anopheles culicifacies* due à l'augmentation des populations domestiques de bétail, (ii) l'expansion de la fièvre hémorragique d'Argentine en Amérique du Sud, grâce à l'invasion de la souris *Calomys callosus* due à la conversion progressive de forêts naturelles en culture intensives de maïs (McMichael & Bouma 2000), et (iii) l'émergence récente de nouvelles souches de grippe (par exemple, la souche H5N1 de la grippe aviaire) par la mise en contact de populations d'oiseaux et de mammifères natifs et domestiques dans un paysage marqué par l'intensification de l'urbanisation et de la production agricole dans un espace restreint (Sims et al. 2005).

La multiplication des échanges à l'échelle mondiale permet la mise en contact secondaire de populations et d'espèces diverses génétiquement, et donc la multiplication des variants génétiques soumis à sélection (Ellstrand & Schierenbeck 2000; Wares et al. 2005). On peut citer les exemples de (i) l'invasion de la Floride par *Anolis sagrei* où l'occurrence d'introductions multiples a permis une augmentation de la diversité génétique des populations introduites par rapport aux populations natives (Kolbe et al. 2004), (ii) l'invasion des îles britanniques par *Senecio vulgaris* var. *hibernicus*, issu de l'hybridation entre une espèce native, *Senecio vulgaris*, et une espèce introduite, *Senecio squalidus* (Abbott et al. 2003), et

(iii) l'émergence d'une nouvelle espèce envahissante dans le genre de champignon phytopathogène *Phytophthora* (mildiou de la pomme de terre) par hybridation entre deux souches introduites (Brasier et al. 1999).

Dans le cas de *W. auropunctata*, l'activité humaine au sein de l'aire native augmente les événements de mise en relation d'individus issus de populations différenciées génétiquement, favorisant la création de nouveaux variants génétiques. En augmentant le nombre de variants génétiques soumis à une pression de sélection constante dans une direction précise, il est naturel que l'anthropisation croissante des milieux naturels génère des populations envahissantes au sein d'espèces préalablement non-envahissantes, présentant des risques biologiques et épidémiologiques majeurs.

Pour limiter l'apparition de nouvelles espèces envahissantes adaptées à des environnements humains homogènes, simples et très connectés, il semble nécessaire de réfléchir à l'aménagement de l'espace humain sur des bases évolutives. En limitant l'apparition de nouveaux variants génétiques (par une diminution de la mise en contact de sites naturels et anthropisés d'une part, et naturels entre eux d'autre part) et en diversifiant les pressions sélectives présentes dans l'espace (en maintenant une biodiversité hétérogène au sein des zones anthropisées ? ; Benton et al. 2003), l'homme pourrait diminuer l'efficacité de la sélection naturelle et limiter l'apparition et la propagation de nouvelles espèces envahissantes. Ce type d'aménagement de l'activité humaine dans l'espace est pour l'instant utopique. Paradoxalement, l'impossibilité factuelle de se tourner vers ce type de développement est probablement due à une autre invasion, culturelle cette fois. En effet, les principaux moteurs évolutifs de l'émergence de nouvelles espèces envahissantes (simplification et homogénéisation de la biodiversité, multiplication des échanges) sont les bases mêmes du paradigme économique de « globalisation » (Lockwood et al. 2005; Perrings et al. 2005; Keller et al. 2007; Malacrida et al. 2007), qui est à l'heure actuelle l'idéologie économique dominante. On note que l'arrivée programmée de la « globalisation » dans les pays tropicaux (IMF 2000; Lukas 2000; Yusuf 2001) pourrait entraîner l'accélération de l'émergence de nouvelles espèces envahissantes, car ces pays possèdent à la fois une biodiversité très importante (et donc un large réservoir d'espèces potentiellement envahissantes) et de faibles revenus économiques (et donc peu de moyens de limiter l'installation, la propagation et la dispersion d'espèces envahissantes émergentes).



### 3.3 Recombiner ou ne pas recombiner ?

Notre étude souligne le rôle indirect qu'à du jouer le polymorphisme du système reproducteur naturellement présent chez *W. auropunctata* dans son succès envahissant. Classiquement, on considère que la clonalité ne présente un avantage sur la sexualité qu'en terme démographique (i.e. le « coût de deux » du sexe ; Williams 1975; Maynard Smith 1978). L'exemple de *W. auropunctata* semble au contraire illustrer l'avantage adaptatif que peut fournir la reproduction clonale (Loxdale & Lushai 2003; Lushai et al. 2003). La reproduction asexuée, en supprimant ou en limitant la recombinaison, permet de convertir la variance génétique non-additive d'un génome (dominance, épistasie) en variance génétique additive (i.e. héritable), disponible pour la sélection naturelle (Neiman & Linksvayer 2005).

Le potentiel adaptatif des génomes clonaux semble être une réalité chez de nombreux taxons eukaryotes, comme certaines espèces obligatoirement asexuées de pucerons (Andrade & Roitberg 1995; Sunnucks et al. 1998; Wilson et al. 2003), d'acariens (Weeks & Hoffmann 1998), ou de daphnies (Lynch 1985; Glazier 1992). Il paraît en outre difficile d'expliquer l'existence de taxons eucaryotes asexués anciens de plusieurs dizaines voire centaines de millions d'années, comme les rotifères bdelloïdes (Mark Welch & Meselson 2000; Mark Welch et al. 2004) ou les ostracodes Darwinulidés (Butlin et al. 1998; Martens et al. 2003, mais voir Smith et al. 2006), tout en supposant le potentiel adaptatif de la reproduction asexuée restreint (Maynard Smith 1986 ; Judson & Normark 1996). Cette absence de déficit adaptatif chez les espèces asexuées peut s'expliquer de plusieurs manières non-exclusives. Premièrement, l'idée d'individus clonaux strictement identiques génétiquement relève plus d'un postulat *a priori* que d'une réalité prouvée, et peut être simplement due à la résolution des marqueurs utilisés (Loxdale & Lushai 2003). Le fait que les génomes clonaux puissent subir des changements rapides, par mutation (via l'activation de la fonction mutagène de certaines familles de polymérase ou l'inhibition de l'activité anti-mutagène d'autres) ou par recombinaison intra-génomique (grâce à des éléments transposables), est maintenant largement prouvé (Lushai et al. 2003). Deuxièmement, même si l'identité génétique stricte d'un organisme pouvait se maintenir, cela n'induirait pas forcément que l'expression de ce génotype soit constante, sans variance. L'expression d'un même génotype peut en effet être variable, notamment sous l'influence d'effets épigénétiques (Hall 1998; Loxdale & Lushai 2003). On constate que la plasticité phénotypique au sens large (i.e. la capacité d'un génotype à produire différents phénotypes selon son environnement) participe de manière non-négligeable aux processus évolutifs (Schlichting & Smith 2002; Miner et al. 2005; Nussey et

al. 2007). En effet, l'objet de la sélection naturelle est le phénotype des individus, et non directement leur génotype. Enfin, être clonal ne signifie pas non plus être spécialement pauvre en copie de gènes. Au contraire, de nombreuses espèces asexuelles de plantes (Bierzychudek 1987) comme d'animaux (Stenberg et al. 2003) possèdent des niveaux élevés de ploïdie, pouvant servir de base à l'action de la sélection naturelle. Ces phénomènes non-exclusifs pourraient donc expliquer le potentiel adaptatif des génomes clonaux.

Dans le cas particulier des populations de *W. auropunctata*, le principal effet bénéfique de la reproduction clonale des mâles et des reines semble être le maintien de combinaisons de gènes adaptées au milieu anthropisé. Ces combinaisons de gènes sont notamment remarquables par leur hétérozygotie élevée chez les ouvrières, responsables du fonctionnement des colonies (Figure 51). La corrélation entre le fitness et l'hétérozygotie individuelle est un sujet controversé en biologie évolutive (David 1998), même si cette corrélation a été démontré chez plusieurs taxons aussi différents qu'*Arabidopsis thaliana* (Syed & Chen 2005), des pinsons de Darwin (Markert et al. 2004), la truite arc-en-ciel (Thelen & Allendorf 2001), le crapaud calamite (Rowe et al. 1999), le puceron vert du pêcher (Vorburger 2005) ou *Drosophila melanogaster* (Ferreira & Amos 2006). Chez les Hyménoptères, l'effet de l'hétérozygotie individuelle des ouvrières sur le fitness de la colonie n'a jamais été exploré. L'importance de la diversité génétique des ouvrières à l'échelle de la colonie a en revanche été explorée dans le contexte du rôle fonctionnel de la polygynie et de la polyandrie (i.e. de la diversité en lignées maternelles et/ou paternelles présentes dans chaque colonie). Les résultats de ces études indiquent généralement une corrélation entre diversité génétique globale et fitness des colonies (Hughes & Boomsma 2004; Hughes & Boomsma 2006; Mattila & Seeley 2007; Oldroyd & Fewell 2007, mais voir Fjerdingstad et al. 2003; Rosset et al. 2005).

Chez *W. auropunctata*, la compréhension du succès envahissant de certaines populations passe sans doute par l'étude de la signification évolutive de l'hétérozygotie individuelle. Pour l'instant, seule son importance dans la tolérance à des conditions abiotiques extrêmes a été démontrée, mais de nombreuses autres pistes mutuellement non exclusives pourraient être explorées, comme l'importance de l'hétérozygotie dans la tolérance à des conditions abiotiques fluctuantes ou l'exploitation de ressources abondantes. Il faut également souligner que l'hétérozygotie des ouvrières de *W. auropunctata*, calculée ici à partir de 12 locus microsatellites, n'est qu'une mesure grossière de l'architecture génomique de ces individus. Afin de détecter et localiser de manière précise dans le génome d'éventuels effets sélectifs, il semble nécessaire (i) de développer des marqueurs génétiques neutres en

beaucoup plus grand nombre (type AFLP, par exemple) et (ii) d'étudier les formes alléliques et les profils d'expression de gènes candidats identifiés chez d'autres Hyménoptères (comme *Apis mellifera*, au génome récemment séquencé ; Weinstock et al. 2006). En outre, le système de reproduction clonal de *W. auropunctata* pourrait simplifier la manipulation expérimentale de l'architecture génomique individuelle des reines, mâles et ouvrières d'une colonie. En effet, en cas de possibilité de manipulation du système de reproduction (déclenchement à souhait du type de reproduction sexué ou clonal) chez les deux sexes, nous pourrions envisager d'isoler des génomes (par exemple chez des individus mâles clonaux, qui ne peuvent pas recombinaison) ou de les recombinaison (par reproduction sexuée). Un tel contrôle du contenu des génomes pourrait par exemple constituer la base d'une expérimentation sur l'importance de l'architecture génomique sur la performance des ouvrières. Notre maîtrise actuelle des élevages, incomplète notamment pour les phases de reproduction, ne nous laisse cependant que présager de telles possibilités.

La compréhension de l'importance de certaines combinaisons de gènes (repérées ici au moyen de l'hétérozygotie) chez les ouvrières dans le succès envahissant de *W. auropunctata* pourrait en retour nous éclairer sur le devenir évolutif des populations introduites. En effet, dans toutes les populations introduites étudiées de manière détaillée, on observe l'apparition de lignées de reines clonales dérivées, produisant des ouvrières significativement moins hétérozygotes que les ouvrières des reines clonales originales (i.e. brisant potentiellement des combinaisons favorables de gènes ; Figure 51). Si l'importance fonctionnelle de l'hétérozygotie des ouvrières de *W. auropunctata* se confirmait, les rares événements de reproduction sexuée à l'origine des lignées de reines clonales dérivées pourraient entraîner une chute démographique des populations introduites. Une étude de l'évolution génétique et démographique des populations introduites est nécessaire pour démontrer un éventuel effet négatif de ces événements de reproduction sexuée chez *W. auropunctata*.

#### **4. Quelques perspectives appliquées : comment lutter contre les invasions de *W. auropunctata* ?**

L'invasion de la zone intertropicale par *W. auropunctata* est un phénomène en cours, comme l'attestent par exemple les nombreuses introductions ayant eu lieu ces dix dernières années (Vanuatu, Hawaii, Tahiti, Australie, Figure 32 ; Wetterer & Porter 2003). La question de la lutte anti-*Wasmannia* est donc une question d'actualité. On distingue classiquement trois

types de méthodes de lutte contre les invasions biologiques : les contrôles préventifs de quarantaine, la lutte chimique et la lutte biologique (Mack et al. 2000). Ces méthodes peuvent-elles être envisagées dans le cas de *W. auropunctata*, dans leur aire native et/ou dans leur aire introduite ?

Les contrôles de quarantaine visant à prévenir les nouvelles introductions d'espèces envahissantes sont essentiels à la lutte contre leur propagation. Cependant, de nombreux pays ne possèdent aucune législation en faveur de ce type de contrôle (Keller et al. 2007). Différents travaux montrent pourtant qu'alors que l'éradication d'espèces envahissantes est généralement impossible ou très coûteuse (Mack et al. 2000), les bénéfices économiques attendus d'une politique de contrôle quarantaine sont très importants (Leung et al. 2002; Keller et al. 2007). D'une manière générale, les contrôles de quarantaine en zones déjà introduites sont non seulement essentiels pour éviter le départ de propagules vers d'autres zones, mais ils sont également nécessaires pour éviter des introductions multiples. En effet, ces introductions multiples peuvent être à l'origine de l'augmentation du potentiel évolutif de l'espèce envahissante par l'hybridation introgressive entre différentes populations (Ellstrand & Schierenbeck 2000; Facon et al. 2006; Kelly et al. 2006; Lavergne & Molofsky 2007). Dans le cas de *W. auropunctata*, ce contrôle ne peut concrètement pas être envisagé à l'intérieur de l'aire native de l'espèce. Il semble toutefois essentiel de maintenir ce contrôle de quarantaine en dehors de son aire d'origine, même dans les zones où l'espèce est déjà introduite, à la fois pour limiter les introductions secondaires en provenance de populations de zones introduites (phénomène prouvé chez *W. auropunctata* à partir de nos données génétiques, l'introduction tahitienne provenant par exemple de Nouvelle-Calédonie) et pour empêcher l'installation de nouvelles populations si la première population envahissante venait à décliner (comme cela semble être le cas en Nouvelle-Calédonie).

La lutte chimique (pesticides, antibiotiques) est aujourd'hui utilisée de manière intensive par l'homme pour maîtriser l'extension de nombreuses espèces envahissantes nuisibles à la production agricole et la santé humaine (Matson et al. 1997; van den Bogaard & Stobberingh 1999; MacDougall & Polk 2005). L'utilisation actuelle de pesticides et d'antibiotiques se caractérise généralement par l'absence d'une gestion raisonnée (Tilman 1999; Tilman et al. 2001), à l'origine d'impacts sur des espèces non-cibles (Relyea & Hoverman 2006) ou de résistances accrues au sein de populations envahissantes (Smith et al. 2002). Pourtant, la lutte chimique constitue souvent la seule manière efficace à court terme pour lutter contre de nombreuses invasions biologiques. Dans le cas de *W. auropunctata*, la lutte chimique a déjà été appliquée, avec un succès mitigé (Wetterer & Porter 2003).

L'utilisation d'Amdro® (<http://www.amdro.com/>) aurait permis l'éradication de la population de l'île Marchena des Galápagos, couvrant une superficie de 21 ha (Causton et al. 2005). La possibilité de lutte chimique pour éradiquer des populations envahissantes de *W. auropunctata* se limite néanmoins aux populations introduites récemment, n'occupant que de faibles superficies, notamment car les pesticides utilisés ont un coût élevé (14 000\$ U.S. / ha dans le cas de l'île Marchena ; Causton et al. 2005). D'autre part, l'Amdro® pourrait se révéler dangereux d'utilisation, étant donné sa toxicité envers les poissons et éventuellement les invertébrés aquatiques (Causton et al. 2005). L'utilisation de molécules chimiques se limite donc à des actions ciblées sur des populations vulnérables, mais ne peut en aucun cas être envisagée pour lutter contre les populations envahissantes de l'aire native ou les populations établies depuis plusieurs dizaines d'années de l'aire introduite et occupant de vastes zones.

La seule option possible pour lutter à grandes échelles contre les invasions de *W. auropunctata* dans son aire introduite une fois l'espèce établie semble donc être la lutte biologique, à savoir l'utilisation de prédateurs, parasites ou pathogènes présents dans son aire native (Wetterer & Porter 2003). Si ce type de lutte apparaît souvent comme le plus précis et le moins coûteux des moyens d'éliminer ou tout au moins de maintenir une espèce envahissante à de faibles densités (Hoddle 2002), les succès demeurent relativement rares (Gurr & Wratten 2000) et certaines introductions d'agents biologiques peuvent avoir des effets indirects indésirables sur les écosystèmes (Eastal 1981; Wajnberg et al. 2000). Dans le cas de *W. auropunctata*, le nombre d'ennemis naturels connus est très faible. A l'heure actuelle, une seule espèce de guêpe parasitoïde de la famille des Eucharitidae, *Orasema minutissima*, pourrait éventuellement devenir un agent de lutte biologique anti-*W. auropunctata* (Heraty 1994). Néanmoins, la plus grande prudence est requise car *O. minutissima* pourrait également constituer une peste vis-à-vis de cultures comme la banane ou le thé (Heraty 1994). D'autre part, la faible prévalence d'*O. minutissima* dans les nids de *W. auropunctata* ne semble pas y induire d'impact significatif, laissant penser que cette espèce ne serait pas un agent de lutte biologique efficace (Heraty 1994, Orivel et al., soumis).

Une autre piste suggérée par notre étude reposerait sur la manipulation du système de reproduction de *W. auropunctata*. Pour évaluer cette possibilité, il serait nécessaire d'évaluer en laboratoire (i) l'effet de l'hétérozygotie des ouvrières sur le fitness des colonies et (ii) l'effet de la souche *wAurB* de *Wolbachia* sur le système de reproduction de *W. auropunctata* par. Si les effets négatifs de la baisse de l'hétérozygotie chez les ouvrières étaient prouvés (i.e. si la modification des combinaisons de gènes chez les ouvrières s'avérait généralement

défavorable), l'émergence de la reproduction sexuée dans les populations introduites, où la diversité génétique est minimale (un seul génotype mâle haploïde et un seul génotype femelle diploïde introduits), serait susceptible d'entraîner une chute démographique importante. Dans le cas où la manipulation de la reproduction sexuée par la souche *wAurB* serait vérifiée, cette souche de *Wolbachia* pourrait représenter un agent de lutte biologique contre les populations introduites clonales de *W. auropunctata*, récentes ou établies. Notons qu'en dehors de l'éventuel effet de *wAurB* sur le système de reproduction de *W. auropunctata*, il est également possible que cette souche constitue un fardeau métabolique pour les colonies infectées.

D'importants efforts de recherche sont actuellement en cours pour utiliser les bactéries du genre *Wolbachia* contre de nombreuses autres pestes (par exemple, *Ceratitis capitata* ; Zabalou et al. 2004) et vecteurs de maladies humaines (par exemple, *Glossina* spp., Aksoy & Rio 2005 ; *Aedes albopictus*, Xi et al. 2005), à la fois en utilisant ses propriétés de fardeau métabolique, d'induction d'incompatibilité cytoplasmique et de vecteur de gènes d'intérêt (Sinkins et al. 1997; Werren 1997; Sinkins & O'Neill 2000). L'utilisation de *Wolbachia* est déjà envisagée pour lutter contre trois autres espèces de fourmis envahissantes : *Linepithema humile*, *Solenopsis invicta* et *Solenopsis richteri* (Tsutsui et al. 2003). Soulignons que la stratégie de lutte proposée contre *W. auropunctata* est originale dans la mesure où elle reposerait sur les spécificités du système de reproduction de l'espèce. Il semble toutefois nécessaire de marquer quelques réserves quant à l'utilisation de bactéries du genre *Wolbachia* en lutte biologique, dans la mesure où celles-ci peuvent se transmettre naturellement à d'autres espèces non-cibles, notamment par l'intermédiaire de parasitoïdes (Werren 1997), avec des effets potentiellement aussi indésirables qu'incontrôlables.



# BIBLIOGRAPHIE

- Abbott, K. L. 2005. Supercolonies of the invasive yellow crazy ant, *Anoplolepis gracilipes*, on an oceanic island: forager activity patterns, density and biomass. *Insectes Sociaux* 52:266-273.
- Abbott, R. J., J. K. James, R. I. Milne, et A. C. M. Gillies. 2003. Plant introductions, hybridization and gene flow. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 358:1123-1132.
- Agosti, D., et N. F. Johnson. 2005. Antbase. World Wide Web electronic publication. [antbase.org](http://antbase.org), version (05/2005).
- Aksoy, S., et R. V. M. Rio. 2005. Interactions among multiple genomes: Tsetse, its symbionts and trypanosomes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 35:691-698.
- Andrade, M. C. B., et B. D. Roitberg. 1995. Rapid response to intracolonial selection in the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Evolutionary Ecology* 9:397-410.
- Armbrecht, I., et P. Ulloa-Chacon. 2003. The little fire ant *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera: Formicidae) as a diversity indicator of ants in tropical dry forest fragments of Colombia. *Environnemental Entomology* 32:542-547.
- Baldo, L., J. C. Dunning Hotopp, K. A. Jolley, S. R. Bordenstein, S. A. Biber, R. R. Choudhury, C. Hayashi, M. C. J. Maiden, H. Tettelin, et J. H. Werren. 2006. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Applied Environmental Microbiology* 72:7098-7110.
- Baudry, E., P. Kryger, M. Allsopp, N. Koeniger, D. Vautrin, F. Mougel, J.-M. Cornuet, et M. Solignac. 2004. Whole-genome scan in thelytokous-laying workers of the Cape Honeybee (*Apis mellifera capensis*): central fusion, reduced recombination rates and centromere mapping using half-tetrad analysis. *Genetics* 167:243-252.
- Benton, T. G., J. A. Vickery, et J. D. Wilson. 2003. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in Ecology & Evolution* 18:182-188.
- Bierzuchudek, P. 1987. Patterns in plant parthenogenesis. *Experientia* 55:197-217.
- Bohn, T., O. Terje Sandlund, P.-A. Amundsen, et R. Primicerio. 2004. Rapidly changing life history during invasion. *Oikos* 106:138-150.
- Bolton, B. 1995. A new general catalogue of the ants of the world. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Bossdorf, O., H. Auge, L. Lafuma, W. Rogers, E. Siemann, et D. Prati. 2005. Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia* 144:1-11.
- Brasier, C. M., D. E. L. Cooke, et J. M. Duncan. 1999. Origin of a new *Phytophthora* pathogen through interspecific hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:5878-5883.
- Bruneau de Miré, P. 1969. Une fourmi utilisée au Cameroun dans la lutte contre les miridés du cacaoier : *Wasmannia auropunctata* (Roger). *Café Cacao Thé* 13:209-212.
- Butlin, R. K., I. Schon, et K. Martens. 1998. Asexual reproduction in nonmarine ostracods. *Heredity* 81:473-480.
- Causton, C. E., C. R. Sevilla, et S. D. Porter. 2005. Eradication of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae), from Marchena Island, Galapagos: on the edge of success? *Florida Entomologist* 88:159-168.
- Chakraborty, R., et L. Jin. 1993. Determination of relatedness between individuals using DNA fingerprinting. *Human Biology* 65:875-895.



- Chapuisat, M. 1998. Mating frequency of ant queens with alternative dispersal strategies, as revealed by microsatellite analysis of sperm. *Molecular Ecology* 7:1097-1105.
- Clark, D. B. 1982. The tramp ant *Wasmannia auropunctata*: autecology and effects on ant diversity and distribution on Santa Cruz island, Galapagos. *Biotropica* 14:196-207.
- Colautti, R. I., et H. J. MacIsaac. 2004. A neutral terminology to define 'invasive' species. *Diversity and Distributions* 10:135-141.
- Colautti, R. I., A. Ricciardi, I. A. Grigorovich, et H. J. MacIsaac. 2004. Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology Letters* 7:721-733.
- Conant, P., et C. Hirayama. 2000. *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera:Formicidae): established on the Island of Hawaii. *Bishop Museum Occasional Papers* 64:21-22.
- Daehler, C. C. 2001. Two ways to be an invader, but one is more suitable for ecology. *Bulletin of the Ecological Society of America* 82:101-102.
- David, P. 1998. Heterozygosity-fitness correlations: new perspectives on old problems. *Heredity* 80:531-537.
- Davis, A. S., et E. A. Thompson. 2001. Invasion terminology: should ecologists define their terms differently than others? No, not if we want to be of any help! *Bulletin of the Ecological Society of America* 82:206.
- Davis, A. S., et E. A. Thompson. 2002. "Newcomers" invade the field of invasion ecology: question the field's future. *Bulletin of the Ecological Society of America* 83:196-197.
- Davis, M. A., et E. A. Thompson. 2000. Eight ways to be a colonizer; two ways to be an invader. *Bulletin of the Ecological Society of America* 81:226-230.
- de la Fuente, M. A. S., et R. J. Marquis. 1999. The role of ant-tended extrafloral nectaries in the protection and benefit of a Neotropical rainforest tree. *Oecologia* 118:192-202.
- DeFries, R. S., J. A. Foley, et G. P. Asner. 2004. Land-use choices: balancing human needs and ecosystem function. *Frontiers in Ecology and Environment* 2:249-257.
- Delabie, J. H. C., A. M. V. Encarnaçao, et I. M. Carzola. 1994. Relations between the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*, and its associated mealybug *Planococcus citri* in Brazilian coca farms. Pp. 91-103 in D. F. Williams, ed. *Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species*. Westview Press, Boulder, CO.
- Devine, J. A., C. E. Adams, et P. S. Maitland. 2000. Changes in reproductive strategy in the ruffe during a period of establishment in a new habitat. *Journal of Fish Biology* 56:1488-1496.
- Doyle, J. J., et J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19:11-15.
- Durka, W., O. Bossdorf, D. Prati, et H. Auge. 2005. Molecular evidence for multiple introductions of garlic mustard (*Alliaria petiolata*, Brassicaceae) to North America. *Molecular Ecology* 14:1697-1706.
- Easteal, S. 1981. The history of introductions of *Bufo marinus* (Amphibia: Anura); a natural experiment in evolution. *Biological Journal of the Linnean Society* 16:93-113.
- Ellstrand, N. C., et K. A. Schierenbeck. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:7043-7050.
- Elton, C. S. 1958. *The ecology of invasions by animals and plants*. Methuen, London.
- Fabres, G., et W. L. Brown. 1978. The recent introduction of the pest ant *Wasmannia auropunctata* into New Caledonia. *Journal of Australian Entomological Society* 17:139-142.
- Facon, B., B. J. Genton, J. Shykoff, P. Jarne, A. Estoup, et P. David. 2006. A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology & Evolution* 21:130-135.

- Falk-Petersen, J., T. Bøhn, et O. Sandlund. 2006. On the numerous concepts in invasion biology. *Biological Invasions* 8:1409-1424.
- Feitosa, R. 2007. Aggregation and adult transportation in disturbed colonies of *Wasmannia auropunctata* Roger (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux* 54:200-201.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Felsenstein, J. 1989. PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* 5:164-166.
- Ferreira, A. G. A., et W. Amos. 2006. Inbreeding depression and multiple regions showing heterozygote advantage in *Drosophila melanogaster* exposed to stress. *Molecular Ecology* 15:3885-3893.
- Fisher, R. A. 1958. *The genetical theory of natural selection*. Clarendon, Oxford.
- Fitzpatrick, M. J., Y. Ben-Shahar, H. M. Smid, L. E. M. Vet, G. E. Robinson, et M. B. Sokolowski. 2005. Candidate genes for behavioural ecology. *Trends in Ecology & Evolution* 20:96-104.
- Fjerdingstad, E. J., P. J. Gertsch, et L. Keller. 2003. The relationship between multiple mating by queens, within-colony genetic variability and fitness in the ant *Lasius niger*. *Journal of Evolutionary Biology* 16:844-853.
- Foley, J. A., R. DeFries, G. P. Asner, C. Barford, G. Bonan, S. R. Carpenter, F. S. Chapin, M. T. Coe, G. C. Daily, H. K. Gibbs, J. H. Helkowski, T. Holloway, E. A. Howard, C. J. Kucharik, C. Monfreda, J. A. Patz, I. C. Prentice, N. Ramankutty, et P. K. Snyder. 2005. Global consequences of land use. *Science* 309:570-574.
- Folgarait, P. J. 1998. Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review. *Biodiversity and Conservation* 7:1221-1244.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, et R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3:294-299.
- Fordyce, J. A. 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *Journal of Experimental Biology* 209:2377-2383.
- Forel, A. 1908. Fourmis de Costa Rica récoltées par M. Paul Biolley. *Bulletin de la Société Vaudoise de Sciences Naturelles* 44:35-72.
- Fournier, D., A. Estoup, J. Orivel, J. Foucaud, H. Jourdan, J. Le Breton, et L. Keller. 2005a. Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature* 435:1230-1235.
- Fournier, D., J. Foucaud, A. Loiseau, S. Cros-Arteil, H. Jourdan, J. Orivel, Le Breton J., Chazeau J., A. Dejean, L. Keller, et A. Estoup. 2005b. Characterization and PCR multiplexing of polymorphic microsatellite loci for the invasive ant *Wasmannia auropunctata*. *Molecular Ecology Notes* 5:239-242.
- Frankham, R. 2005a. Resolving the genetic paradox in invasive species. *Heredity* 94:385-385.
- Frankham, R. 2005b. Stress and adaptation in conservation genetics. *Journal of Evolutionary Biology* 18:750-755.
- Fraser, V. S., B. Kaufmann, B. P. Oldroyd, et R. H. Crozier. 2000. Genetic influence on caste in the ant *Camponotus consobrinus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 47:188-194.
- Giraud, T., J. S. Pedersen, et L. Keller. 2002. Evolution of supercolonies: the Argentine ants of southern Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:6075-6079.
- Glazier, D. S. 1992. Effects of Food, Genotype, and Maternal Size and Age on Offspring Investment in *Daphnia Magna*. *Ecology* 73:910-926.

- Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995).
- Goudet, J. 2005. Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes* 5:184-186.
- Guindon, S., et O. Gascuel. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52:696-704.
- Gurr, G., et S. E. Wratten. 2000. *Biological control : measures of success*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Hall, B. K. 1998. Epigenetics: regulation not replication. *Journal of Evolutionary Biology* 11:201-205.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. . *Nucleic Acids Symposia Series* 41:95-98.
- Hamilton, W. D. 1964. The genetical evolution of social behaviour, I and II. *Journal of Theoretical Biology* 7:1-52.
- Heger, T., et L. Trepl. 2003. Predicting biological invasions. *Biological Invasions* 5:313-321.
- Helms Cahan, S., G. E. Julian, S. W. Rissing, T. Schwander, J. D. Parker, et L. Keller. 2004. Loss of phenotypic plasticity generates genotype-caste association in harvester ants. *Current Biology* 14:2277-2282.
- Helms Cahan, S., et L. Keller. 2003. Complex hybrid origin of genetic caste determination in harvester ants. *Nature* 424:306-309.
- Heraty, J. M. 1994. Biology and importance of two eucharitid parasites of *Wasmannia* and *Solenopsis* in D. F. Williams, ed. *Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species*. Westview Press, Boulder, CO.
- Hilburn, D. J., P. M. Marsh, et M. E. Schauff. 1990. Hymenoptera of Bermuda. *Florida Entomologist* 73:161-176.
- Hobbs, R. J. 2000. Land-use changes and invasions. Pp. 55-64 in H. A. Mooney et R. J. Hobbs, eds. *Invasive species in a changing world*. Island Press, Washington D.C.
- Hoddle, M. S. 2002. Classical biological control of arthropods in the 21st century. 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods, Honolulu, Hawaii, USA 3-16.
- Hölldobler, B., et E. O. Wilson. 1990. *The Ants*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Holway, D., et A. Suarez. 2004. Colony-structure variation and interspecific competitive ability in the invasive Argentine ant. *Oecologia* 138:216-222.
- Holway, D. A., L. Lach, A. V. Suarez, N. D. Tsutsui, et T. J. Case. 2002. The causes and consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33:181-233.
- Hughes, W. O. H., et J. J. Boomsma. 2004. Genetic diversity and disease resistance in leaf-cutting ant societies. *Evolution* 58:1251-1260.
- Hughes, W. O. H., et J. J. Boomsma. 2006. Does genetic diversity hinder parasite evolution in social insect colonies? *Journal of Evolutionary Biology* 19:132-143.
- Ihaka, R., et R. Gentleman. 1996. R: a language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 5:299-314.
- Ikin, R. 1984. Cocoa tree-ant. *Quart. Newsl. FAO Asia Pac. Plant Protect.Comm.* 27:8.
- IMF. 2000. Globalization: threat or opportunity? International Monetary Fund. <http://www.imf.org>.
- Jeyaprakash, A., et M. A. Hoy. 2000. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification: *wsp* sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. *Insect Molecular Biology* 9:393-405.

- Jourdan. 1997. Threats on Pacific islands : the spread of the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae). *Pacific Conservation Biology* 3:61-64.
- Jourdan, H. 1999. Dynamique de la biodiversité de quelques écosystèmes terrestres néo-calédoniens sous l'effet de l'invasion de la fourmi peste *Wasmannia auropunctata*. Pp. 463. Université Paul Sabatier, Toulouse.
- Jourdan, H., L. Bonnet de Larbogne, et J. Chazeau. 2002. The recent introduction of the neotropical ant *Wasmannia auropunctata* (Roger) into Vanuatu archipelago (Southwest Pacific). *Sociobiology* 40:483-509.
- Jourdan, H., R. A. Sadlier, et A. M. Bauer. 2001. The impact of the little fire ant invasion (*Wasmannia auropunctata* (Roger)) on the New Caledonian herpetofauna: results of a study in sclerophyll forest habitat. *Sociobiology* 38:1-19.
- Judice, C. C., M. F. Carazzole, F. Festa, M. C. Sogayar, K. Hartfelder, et G. A. G. Pereira. 2006. Gene expression profiles underlying alternative caste phenotypes in a highly eusocial bee, *Melipona quadrifasciata*. *Insect Molecular Biology* 15:33-44.
- Judson, O. P., et B. B. Normark. 1996. Ancient asexual scandals. *Trends in Ecology & Evolution* 11:41-46.
- Julian, G. E., J. H. Fewell, J. Gadau, R. A. Johnson, et D. Larrabee. 2002. Genetic determination of the queen caste in an ant hybrid zone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:8157-8160.
- Keane, R. M., et M. J. Crawley. 2002. Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution* 17:164-170.
- Kearney, M., et R. Shine. 2004. Developmental success, stability, and plasticity in closely related parthenogenetic and sexual lizards (*Heteronotia*, Gekkonidae). *Evolution* 58:1560-1572.
- Keller, R. P., D. M. Lodge, et D. C. Finnoff. 2007. Risk assessment for invasive species produces net bioeconomic benefits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:203-207.
- Kelly, D. W., J. R. Muirhead, D. D. Heath, et H. J. Macisaac. 2006. Contrasting patterns in genetic diversity following multiple invasions of fresh and brackish waters. *Molecular Ecology* 15:3641-3653.
- Kishino, H., T. Miyata, et M. Hasegawa. 1990. Maximum likelihood inference of protein phylogeny and the origin of chloroplasts. *Journal of Molecular Evolution* 31:151-160.
- Kolar, C. S., et D. M. Lodge. 2001. Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology & Evolution* 16:199-204.
- Kolbe, J. J., R. E. Glor, L. Rodriguez Schettino, A. C. Lara, A. Larson, et J. B. Losos. 2004. Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* 431:177-181.
- Kowarik, I. 1995. Time lags in biological invasions with regard to the success and failure of alien species. Pp. 15-38 in P. Pysek, K. Prach, M. Rejmanek et M. Wade, eds. *Plant invasions - general aspects and special problems*. SPB Academic, Amsterdam.
- Lattorff, H. M. G., R. F. A. Moritz, et S. Fuchs. 2005. A single locus determines thelytokous parthenogenesis of laying honeybee workers (*Apis mellifera capensis*). *Heredity* 94:533-537.
- Lavergne, S., et J. Molofsky. 2007. Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:3883-3888.
- Le Breton, J., J. Chazeau, et H. Jourdan. 2003. Immediate impacts of invasion by *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae) on native litter ant fauna in a New Caledonian rainforest. *Austral Ecology* 28:204-209.

- Le Breton, J., J. H. C. Delabie, J. Chazeau, A. Dejean, et H. Jourdan. 2004. Experimental evidence of large-scale unicoloniality in the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Roger). *Journal of Insect Behavior* 17:263-271.
- Le Breton, J., H. Jourdan, J. Chazeau, J. Orivel, et A. Dejean. 2005. Niche opportunity and ant invasion: the case of *Wasmannia auropunctata* (Roger) in a New Caledonian rainforest. *Journal of Tropical Ecology* 21:93-98.
- Le Breton, J., J. Orivel, J. Chazeau, et A. Dejean. 2007. Unadapted behaviour of native, dominant ant species during the colonization of an aggressive, invasive ant. *Ecological Research* 22:107-114.
- Lee, C., J. Remfert, et Y.-M. Chang. 2007. Response to selection and evolvability of invasive populations. *Genetica* 129:179-192.
- Leung, B., D. M. Lodge, D. Finnoff, J. F. Shogren, M. A. Lewis, et G. Lamberti. 2002. An ounce of prevention or a pound of cure: bioeconomic risk analysis of invasive species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 269:2407-2413.
- Loader, C. R. 1996. Change-point estimation using nonparametric regression. *Annals of Statistics* 24:1667-1678.
- Lockwood, J. L., P. Cassey, et T. Blackburn. 2005. The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 20:223-228.
- Lonsdale, W. M. 1999. Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology* 80:1522-1536.
- Lowe, S., M. Browne, et S. Boudjelas. 2000. 100 of the world's worst invasive alien species. *Aliens* 12S:1-12.
- Loxdale, H. D., et G. Lushai. 2003. Intraclonal genetic variation: ecological and evolutionary aspects. Edited by H. D. Loxdale fls, fres and G. Lushai fres. Rapid changes in clonal lines: the death of a 'sacred cow'. *Biological Journal of the Linnean Society* 79:3-16.
- Lukas, A. 2000. WTO report card III: globalization and developing countries. Trade Briefing Paper no. 10. World Trade Organisation.
- Lushai, G., H. D. Loxdale, et J. A. Allen. 2003. The dynamic clonal genome and its adaptive potential. *Biological Journal of the Linnean Society* 79:193-208.
- Lynch, M. 1985. Spontaneous mutations for life-history characters in an obligate parthenogen. *Evolution* 39:804-818.
- MacDougall, C., et R. E. Polk. 2005. Antimicrobial stewardship programs in health care systems. *Clinical Microbiology Reviews* 18:638-656.
- Mack, R. N., D. Simberloff, W. M. Lonsdale, H. Evans, M. Clout, et F. A. Bazzaz. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* 10:689-710.
- Majer, J. D., et J. H. C. Delabie. 1999. Impact of tree isolation on arboreal and ground ant communities in cleared pasture in the Atlantic rain forest region of Bahia, Brazil. *Insectes Sociaux* 46
- Majer, J. D., J. h. C. Delabie, et M. R. B. Smith. 1994. Arboreal ant community patterns in Brazilian cocoa farms. *Biotropica* 26:73-83.
- Malacrida, A., L. Gomulski, M. Bonizzoni, S. Bertin, G. Gasperi, et C. Guglielmino. 2007. Globalization and fruitfly invasion and expansion: the medfly paradigm. *Genetica* 131:1-9.
- Mark Welch, D., et M. Meselson. 2000. Evidence for the evolution of *Bdelloid* Rotifers without sexual reproduction or genetic exchange. *Science* 288:1211-1215.
- Mark Welch, D. B., M. P. Cummings, D. M. Hillis, et M. Meselson. 2004. Divergent gene copies in the asexual class *Bdelloidea* (Rotifera) separated before the bdelloid radiation or within bdelloid families. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:1622-1625.

- Markert, J. A., P. R. Grant, B. R. Grant, L. F. Keller, J. L. Coombs, et K. Petren. 2004. Neutral locus heterozygosity, inbreeding, and survival in Darwin's ground finches (*Geospiza fortis* and *G. scandens*). *Heredity* 92:306-315.
- Markin, G. P. 1968. Nest relationship of the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 41:511-516.
- Maron, J. L., et M. Vila. 2001. When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95:361-373.
- Martens, K., G. Rossetti, et D. Horne, J. . 2003. How ancient are ancient asexuals? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270:723-729.
- Matson, P. A., W. J. Parton, A. G. Power, et M. J. Swift. 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277:504-509.
- Mattila, H. R., et T. D. Seeley. 2007. Genetic diversity in honey bee colonies enhances productivity and fitness. *Science* 317:362-364.
- Maynard Smith, J. 1978. *The evolution of sex*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Maynard Smith, J. 1986. Contemplating life without sex. *Nature* 324:300-301.
- Mayr, E. 1965. The nature of colonization in birds. Pp. 29-47 in H. G. a. S. Naker, G. L. , ed. *The genetics of colonizing species*. Academic Press, New York.
- McArthur, R. H., et E. O. Wilson. 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- McGlynn, T. P. 1999. The worldwide transfer of ants: geographical distribution and ecological invasions. *Journal of Biogeography* 26:535-548.
- McKinney, M. L., et J. L. Lockwood. 1999. Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends in Ecology & Evolution* 14:450-453.
- McKone, M. J., et S. L. Halpern. 2003. The evolution of androgenesis. *American Naturalist* 161:641-656.
- McMichael, A. J., et M. J. Bouma. 2000. Global changes, invasive species, and human health. Pp. 191-210 in H. A. Mooney et R. J. Hobbs, eds. *Invasive species in a changing world*. Island Press, Washington D.C.
- Mergeay, J., D. Verschuren, et L. De Meester. 2006. Invasion of an asexual American water flea clone throughout Africa and rapid displacement of a native sibling species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273:2839-2844.
- Miner, B. G., S. E. Sultan, S. G. Morgan, D. K. Padilla, et R. A. Relyea. 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 20:685-692.
- Mooney, H. A., et R. J. Hobbs. 2000. *Invasive species in a changing world*. Island Press, Washington D.C.
- Morrison, L. W., S. D. Porter, E. Daniels, et M. D. Korzukhin. 2004. Potential global range expansion of the invasive fire ant, *Solenopsis invicta*. *Biological Invasions* 6:183-191.
- Muller, H. J. 1932. Some genetic aspects of sex. *American Naturalist* 66:118-138.
- Neiman, M., et T. A. Linksvayer. 2005. The conversion of variance and the evolutionary potential of restricted recombination. *Heredity* 96:111-121.
- Ness, J. H., et J. L. Bronstein. 2004. The effects of invasive ants on prospective ant mutualists. *Biological Invasions* 6:445-461.
- Nussey, D. H., A. J. Wilson, et J. E. Brommer. 2007. The evolutionary ecology of individual phenotypic plasticity in wild populations. *Journal of Evolutionary Biology* 20:831-844.
- Ohkawara, K., M. Kakayama, A. Satoh, A. Trindl, et J. Heinze. 2006. Clonal reproduction and genetic caste differences in a queen-polymorphic ant, *Vollenhovia emeryi*. *Biology Letters* 2:359-363.

- OIML. 1996. Echelle d'humidité relative de l'air certifiée par rapport à des solutions saturées de sels. Recommendation Internationale. Pp. 1-11. Organisation Internationale de Métrologie Légale. .
- Olden, J. D., N. LeRoy Poff, M. R. Douglas, M. E. Douglas, et K. D. Fausch. 2004. Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. *Trends in Ecology & Evolution* 19:18-24.
- Oldroyd, B. P., et J. H. Fewell. 2007. Genetic diversity promotes homeostasis in insect colonies. *Trends in Ecology & Evolution* 22:408-413.
- Olesen, J. M., L. I. Eskildsen, et S. Venkatasamy. 2002. Invasion of pollination networks on oceanic islands: importance of invader complexes and endemic super generalists. *Diversity and Distributions* 8:181-192.
- Orivel, J., J. Grangier, J. Le Breton, J. Foucaud, D. Fournier, F.-X. Andrès, H. Jourdan, J. H. C. Delabie, A. Estoup, and A. Dejean. Invasive populations in native area: evidence from the little fire ant. (soumis à *Biological Invasions*)
- Otto, S. P., et N. H. Barton. 1997. The evolution of recombination: removing the limits to natural selection. *Genetics* 147:879-906.
- Otto, S. P., et N. H. Barton. 2001. Selection for recombination in small populations. *Evolution* 55:1921-1931.
- Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12:357-358.
- Passera, L. 1994. Characteristics of tramp species. Pp. 23-43 *in* D. F. Williams, ed. *Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species*. Westview Press, Boulder, CO.
- Pearcy, M., O. Hardy, et S. Aron. 2006. Thelytokous parthenogenesis and its consequences on inbreeding in an ant. *Heredity* 96:377-382.
- Pedersen, J. S., M. J. B. Krieger, V. Vogel, T. Giraud, et L. Keller. 2006. Native supercolonies of unrelated individuals in the invasive Argentine ant. *Evolution* 60:782-791.
- Perrings, C., K. Dehnen-Schmutz, J. Touza, et M. Williamson. 2005. How to manage biological invasions under globalization. *Trends in Ecology & Evolution* 20:212-215.
- Pimentel, D., S. McNair, J. Janecka, J. Wightman, C. Simmonds, C. O'Connell, E. Wong, L. Russel, J. Zern, T. Aquino, et T. Tsomondo. 2001. Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 84:1-20.
- Posada, D., et K. A. Crandall. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14:817-818.
- Queller, D. C. 2005. Males from Mars. *Nature* 435:1167-1168.
- Rahel, F. J. 2007. Biogeographic barriers, connectivity and homogenization of freshwater faunas: it's a small world after all. *Freshwater Biology* 52:696-710.
- Rejmanek, M., D. M. Richardson, M. G. Barbour, M. J. Crawley, F. G. Hrusa, P. B. Moyle, J. M. Randall, D. Simberloff, et M. Williamson. 2002. Biological invasions: politics and the discontinuity of ecological terminology. *Bulletin of the Ecological Society of America* 83:131-133.
- Relyea, R., et J. Hoverman. 2006. Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. *Ecology Letters* 9:1157-1171.
- Reznick, D., L. Nunney, et A. Tessier. 2000. Big houses, big cars, superfleas and the costs of reproduction. *Trends in Ecology & Evolution* 15:421-425.
- Reznick, D. N., et C. K. Ghalambor. 2001. The population ecology of contemporary adaptations: what empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. *Genetica* 112-113:183-198.

- Richardson, D. M., P. Pysek, M. Rejmanek, M. G. Barbour, F. D. Panetta, et C. J. West. 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions* 6:93-107.
- Roman, J., et J. A. Darling. 2007. Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 22:454-464.
- Rosset, H., L. Keller, et M. Chapuisat. 2005. Experimental manipulation of colony genetic diversity had no effect on short-term task efficiency in the Argentine ant *Linepithema humile*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 58:87-98.
- Rowe, G., T. J. C. Beebee, et T. Burke. 1999. Microsatellite heterozygosity, fitness and demography in natterjack toads *Bufo calamita*. *Animal Conservation* 2:85-92.
- Saitou, N., et M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.
- Sakai, A. K., F. W. Allendorf, J. S. Holt, D. M. Lodge, J. Molofsky, K. A. With, S. Baughman, R. J. Cabin, J. E. Cohen, N. C. Ellstrand, D. E. McCauley, P. Neil, I. M. Parker, J. N. Thompson, et S. G. Weller. 2001. The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32:305-332.
- Salmun, H., et A. Molod. 2006. Progress in modeling the impact of land cover change on the global climate. *Progress in Physical Geography* 30:737-749.
- Santschi, F. 1914. Formicides de l'Afrique occidentale et australe du voyage de M. le Professeur F. Silvestri. *Boll. Labo. Zool. gen. agrar.* 8:309-385.
- Sax, D. F., et J. H. Brown. 2000. The paradox of invasion. *Global Ecology and Biogeography* 9:363-371.
- Sax, D. F., J. J. Stachowicz, et S. D. Gaines. 2005. Species invasions: insights into ecology, evolution, and biogeography. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- Schemske, D. W. 1980. The evolutionary significance of extrafloral nectar production by *Costus Woodsonii* (Zingiberaceae): an experimental analysis of ant protection. *The Journal of Ecology* 68:959-967.
- Schlichting, C. D., et H. Smith. 2002. Phenotypic plasticity: linking molecular mechanisms with evolutionary outcomes. *Evolutionary Ecology* 16:189-211.
- Shea, K., et P. Chesson. 2002. Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 17:170-176.
- Sherman, P. W., T. D. Seeley, et H. K. Reeve. 1988. Parasites, pathogens, and polyandry in social Hymenoptera. *American Naturalist* 131:602-610.
- Shimodaira, H., et M. Hasegawa. 1999. Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution* 16:1114-1116.
- Shoemaker, D. D., K. G. Ross, L. Keller, E. L. Vargo, et J. H. Werren. 2000. *Wolbachia* infections in native and introduced populations of fire ants (*Solenopsis* spp.). *Insect Molecular Biology* 9:661-673.
- Shukla, J., C. Nobre, et P. Sellers. 1990. Amazon deforestation and climate change. *Science* 247:1322-1325.
- Silberglied, R. 1972. The little fire ant, *Wasmannia auropunctata*, a serious pest in the Galapagos Islands. *Noticias de Galapagos* 19:13-15.
- Silverman, J., et D. Liang. 2001. Colony disassociation following diet partitioning in a unicolonial ant. *Naturwissenschaften* 88:73-77.
- Simberloff, D. 2006. Invasional meltdown 6 years later: important phenomenon, unfortunate metaphor, or both? *Ecology Letters* 9:912-919.
- Simberloff, D., et B. Von Holle. 1999. Positive interactions of nonindigenous species: invasional meltdown? *Biological Invasions* 1:21-32.



- Simon, J.-C., F. Delmotte, C. Rispe, et T. Crease. 2003. Phylogenetic relationships between parthenogens and their sexual relatives: the possible routes to parthenogenesis in animals. *Biological Journal of the Linnean Society* 79:151-163.
- Sims, L. D., J. Domenech, C. Benigno, S. Kahn, A. Kamata, J. Lubroth, V. Martin, et P. Roeder. 2005. Origin and evolution of highly pathogenic H5N1 avian influenza in Asia. *Veterinary Record* 157:159.
- Sinkins, S., C. F. Curtis, et S. O'Neill. 1997. The potential application of inherited symbiont systems to pest control. Pp. 155-175 in S. O'Neill, A. A. Hoffmann et J. H. Werren, eds. *Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction*. Oxford University Press, Oxford.
- Sinkins, S., et S. O'Neill. 2000. *Wolbachia* as a vehicle to modify insect populations. Pp. 271-287 in A. Handler et A. James, eds. *Insect transgenesis*. CRC Press, New York.
- Smith, D. L., A. D. Harris, J. A. Johnson, E. K. Silbergeld, et J. G. Morris, Jr. 2002. Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:6434-6439.
- Smith, M. R. 1954. Ants of the Bimini Island Group, Bahamas, British West Indies (Hymenoptera, Formicidae). *American Museum Novitates* 1671:1-16.
- Smith, R. J., T. Kamiya, et D. J. Horne. 2006. Living males of the 'ancient asexual' *Darwinulidae* (Ostracoda: Crustacea). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273:1569-1578.
- Solomon, S. E., et A. S. Mikheyev. 2005. The ant (Hymenoptera: Formicidae) fauna of Cocos island, Costa Rica. *Florida Entomologist* 88:415-423.
- Stenberg, P., M. Lundmark, S. Knutelski, et A. Saura. 2003. Evolution of clonality and polyploidy in a weevil system. *Molecular Biology and Evolution* 20:1626-1632.
- Stouthamer, R. 1997. *Wolbachia*-induced parthenogenesis. Pp. 102-124 in S. O'Neill, A. A. Hoffmann et J. Werren, eds. *Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction*. Oxford University Press, Oxford.
- Stouthamer, R., J. A. J. Breeuwer, R. F. Luck, et J. H. Werren. 1993. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. *Nature* 361:66-68.
- Sunnucks, P., D. Chisholm, E. Turak, et D. F. Hales. 1998. Evolution of an ecological trait in parthenogenetic *Sitobion* aphids. *Heredity* 81:638-647.
- Swofford, D. L. 2003. PAUP\*. Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). Version 4 in S. Sinauer Associates, Massachusetts, ed.
- Syed, N. H., et Z. J. Chen. 2005. Molecular marker genotypes, heterozygosity and genetic interactions explain heterosis in *Arabidopsis thaliana*. *Heredity* 94:295-304.
- Tatem, A. J., S. I. Hay, et D. J. Rogers. 2006. Global traffic and disease vector dispersal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:6242-6247.
- Tennant, L. E. 1994. The ecology of *Wasmannia auropunctata* in primary tropical rainforest in Costa Rica and Panama. Pp. 80-90 in D. F. Williams, ed. *Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species*. Westview Press, Boulder, CO.
- Thelen, G. C., et F. W. Allendorf. 2001. Heterozygosity-fitness correlations in rainbow trout: effects of allozyme loci or associative overdominance? *Evolution* 55:1180-1187.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin, et D. G. Higgins. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25:4876-4882.
- Tilman, D. 1999. Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:5995-6000.

- Tilman, D., J. Fargione, B. Wolff, C. D'Antonio, A. Dobson, R. Howarth, D. Schindler, W. H. Schlesinger, D. Simberloff, et D. Swackhamer. 2001. Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science* 292:281-284.
- Tsutsui, N. D. 2004. Scents of self : the expression component of self/non-self recognition systems. *Annales Zoologici Fennici* 41:713-727.
- Tsutsui, N. D., S. N. Kauppinen, A. F. Oyafuso, et R. K. Grosberg. 2003. The distribution and evolutionary history of *Wolbachia* infection in native and introduced populations of the invasive argentine ant (*Linepithema humile*). *Molecular Ecology* 12:3057-3068.
- Ulloa-Chacon, P. 1990. Biologie de la reproduction chez la petite fourmi de feu *Wasmannia auropunctata* (R.) (Hymenoptera: Formicidae). Pp. 161. Université de Lausanne.
- Ulloa-Chacon, P., et D. Cherix. 1988. Quelques aspects de la biologie de *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera, Formicidae). *Actes des Colloques Insectes Sociaux* 4:177-184.
- van den Bogaard, A. E., et E. E. Stobberingh. 1999. Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health. *Drugs* 58:589-607.
- Verbeke, G., et G. Molenberghs. 2000. Linear mixed models for longitudinal data. Springer, Dordrecht.
- Vermeij, G. J. 2005. Invasion as expectation: a historical fact of life in D. F. Sax, J. J. Stachowicz et S. D. Gaines, eds. *Species invasions: insights into ecology, evolution, and biogeography*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Vitousek, P. M., H. A. Mooney, J. Lubchenco, et J. M. Melillo. 1997a. Human domination of Earth's ecosystems. *Science* 277:494-499.
- Vitousek, P. M., C. M. D'Antonio, L. L. Loope, M. Rejmanek, et R. Westbrooks. 1997b. Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology* 21:1-16.
- Volny, V. P., et D. M. Gordon. 2002. Genetic basis for queen-worker dimorphism in a social insect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:6108-6111.
- Vorburger, C. 2005. Positive genetic correlations among major life-history traits related to ecological success in the aphid *Myzus persicae*. *Evolution* 59:1006-1015.
- Wajnberg, E., J. K. Scott, et P. C. Quimby. 2000. Evaluating indirect ecological effects of biological control. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Walker, K. L. 2006. Impact of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*, on native forest ants in Gabon. *Biotropica* 38:666-673.
- Walsh, P. D., P. Henschel, K. A. Abernethy, C. E. G. Tutin, P. Telfer, et S. A. Lahm. 2004. Logging speeds little red fire ant invasion of Africa. *Biotropica* 36:637-640.
- Wangen, S. R., et C. R. Webster. 2006. Potential for multiple lag phases during biotic invasions: reconstructing an invasion of the exotic tree *Acer platanoides*. *Journal of Applied Ecology* 43:258-268.
- Ward, P. S., S. G. Brady, B. L. Fisher, et T. R. Schultz. 2005. Assembling the ant "Tree of Life" (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecologische Nachrichten* 7:87-90.
- Wares, J. P., A. Randall Hughes, et R. K. Grosberg. 2005. Mechanism that drives evolutionary changes: insights from species introductions and invasions. Pp. 229-257 in D. F. Sax, J. J. Stachowicz et S. D. Gaines, eds. *Species invasions: insights into ecology, evolution, and biogeography*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- Weeks, A. R., et A. A. Hoffmann. 1998. Intense selection of mite clones in a heterogeneous environment. *Evolution* 52:1325-1333.

- Weeks, A. R., M. Turelli, W. R. Harcombe, K. T. Reynolds, et A. A. Hoffmann. 2007. From parasite to mutualist: rapid evolution of *Wolbachia* in natural populations of *Drosophila*. *PLoS Biology* 5:e114.
- Weinstock, G. M., G. E. Robinson, R. A. Gibbs, et al. 2006. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature* 443:931-949.
- Weir, B. S., et C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358-1370.
- Wenseleers, T., et J. Billen. 2000. No evidence for *Wolbachia*-induced parthenogenesis in the social Hymenoptera. *Journal of Evolutionary Biology* 13:277-280.
- Wenseleers, T., L. Sundström, et J. Billen. 2002. Deleterious *Wolbachia* in the ant *Formica truncorum*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 269:623-629.
- Werren, J., W. Zhang, et L. Guo. 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of Arthropods. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 261:55-63.
- Werren, J. H. 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annual Review of Entomology* 42:587-609.
- West-Eberhard, M. J. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20:249-278.
- Westphal, M., M. Browne, K. MacKinnon, et I. Noble. 2007. The link between international trade and the global distribution of invasive alien species. *Biological Invasions*
- Wetterer, J. K., et S. D. Porter. 2003. The little fire ant, *Wasmannia auropunctata*: distribution, impact, and control. *Sociobiology* 42:1-41.
- Wetterer, J. K., P. D. Walsh, et L. J. T. White. 1999. *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera: Formicidae), a destructive tramp-ant, in wildlife refuges of Gabon. *African Entomology* 7:1-3.
- Wheeler, D. E. 1986. Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *American Naturalist* 128:13-34.
- Wheeler, W. M. 1929. Two neotropical ants established in the United States. *Psyche* 36:89-90.
- Wiernasz, D. C., C. L. Perroni, et B. J. Cole. 2004. Polyandry and fitness in the western harvester ant, *Pogonomyrmex occidentalis*. *Molecular Ecology* 13:1601-1606.
- Williams, G. C. 1975. Sex and evolution. Princeton Univ. Press, Princeton.
- Williamson, M. 1996. Biological invasions. Chapman & Hall, London.
- Wilson, A. C. C., P. Sunnucks, et D. F. Hales. 2003. Heritable genetic variation and potential for adaptive evolution in asexual aphids (Aphidoidea). *Biological Journal of the Linnean Society* 79:115-135.
- Wilson, E. O. 1971. The insect societies. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Xi, Z., J. L. Dean, C. Khoo, et S. L. Dobson. 2005. Generation of a novel *Wolbachia* infection in *Aedes albopictus* (Asian tiger mosquito) via embryonic microinjection. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 35:903-910.
- Yusuf, S. 2001. Globalization and the challenge for developing countries. Pp. 1-46. World Bank.
- Zabalou, S., M. Riegler, M. Theodorakopoulou, C. Stauffer, C. Savakis, et K. Bourtzis. 2004. *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:15042-15045.
- Zhou, W., F. Rousset, et S. O'Neill. 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 265:509-515.

# ANNEXE 1 : METHODES

## 1. Echantillonnage

Les sites étudiés dans cette thèse ont été échantillonnés selon deux protocoles, en fonction de la difficulté de récolte des nids de *W. auropunctata*. Certains sites (i.e. non-envahis, Orivel et al., soumis) possèdent des densités de populations très faibles. Dans ces sites, il a toujours été nécessaire de procéder à un échantillonnage en deux temps. Premièrement, nous déposons le long de transects des appâts constitués de cotons imbibés de miel ou d'huile de soja. Environ 30 minutes après le dépôt des appâts, la présence d'ouvrières de *W. auropunctata* sur ceux-ci est vérifiée. La proportion d'appâts où des ouvrières de *W. auropunctata* étaient présentes a toujours été faible. Pour les appâts positifs, il est ensuite nécessaire de trouver et suivre la piste de fourragement des ouvrières pour atteindre le ou les nids connectés à l'appât. Cette dernière étape n'est malheureusement que rarement couronnée de succès. D'une manière générale, l'échantillonnage de ce type de sites a toujours pris plusieurs jours (mobilisant de 2 à 4 participants) avant d'atteindre des effectifs échantillonnés « corrects » (d'une dizaine de reines et quelques centaines d'ouvrières récoltées dans une dizaine de nids au moins).

Au contraire, d'autres sites (i.e. sites envahis, voir section I.1) possèdent des densités de populations très élevées (Orivel et al., soumis). Dans ces sites, un simple fouillage de la litière s'est toujours révélé suffisant pour trouver un nombre élevé de nids contenant des ouvrières et du couvain, souvent des reines et plus rarement des mâles. L'échantillonnage de ce type de sites a toujours été très rapide (de l'ordre de quelques heures à une journée), pour des quantités très importantes de matériel biologique récolté (de dizaines à quelques centaines de reines et des milliers d'ouvrières dans des dizaines de nids).

Pour les deux types de sites, les nids récoltés sont ensuite individuellement conservés dans des tubes remplis d'éthanol à 96°. Une fraction d'ouvrières est également conservée vivante afin de réaliser les tests comportementaux (cf. section suivante).

## 2. Tests comportementaux

Afin de délimiter les frontières comportementales des colonies et donc de caractériser l'organisation sociale des populations de *W. auropunctata*, nous avons étudié le

comportement des ouvrières à l'aide d'un test d'agressivité déjà utilisé dans plusieurs études d'espèces de fourmis envahissantes, et notamment *W. auropunctata* (Le Breton et al. 2004; Pedersen et al. 2006). Chaque essai consiste en la confrontation un-contre-un de deux ouvrières de nids différents dans une arène neutre (diamètre = 2 cm ; hauteur = 1 cm), dont les murs ont été recouverts de fluon pour empêcher les ouvrières de s'échapper. Nous avons ensuite observé les interactions entre les deux ouvrières pendant cinq minutes en utilisant l'échelle suivante : 1 = contact physique (sans comportement agressif), 2 = contact antennaire prolongé (l'une ou les deux fourmis inspectent méticuleusement la cuticule de l'autre, sans agression), 3 = agression (une attaque physique de l'une un des deux fourmis, comprenant une charge, morsure ou tirage d'une patte), 4 = combat (agression prolongée de la part d'une ou des deux fourmis, comprenant l'utilisation de leur dard). Entre cinq et dix essais ont été réalisés pour chaque paire de nids testée. La moyenne des plus hauts scores d'agressivité de chaque essai est ensuite calculée pour la paire de nid testée. Si cette moyenne est supérieure à 2,5, les deux nids sont considérés comme agressifs l'un envers l'autre et appartenant à deux colonies différentes. Au contraire, si cette moyenne est inférieure à 2,5, les deux nids sont considérés comme non-agressifs et appartenant à la même colonie.

Au total, plusieurs milliers de tests d'agressivité ont été réalisés pour inférer les relations comportementales entre plusieurs centaines de paires de nids.

### **3. Méthodes de Biologie Moléculaire**

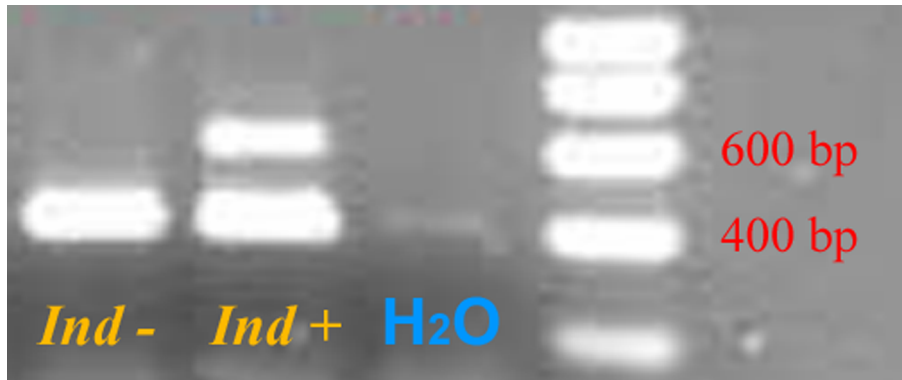
#### **3.1 Extraction d'ADN et géotypage de locus microsatellites**

La très grande majorité des extractions d'ADN (plusieurs milliers d'individus) a été réalisée à l'aide du tampon CTAB en suivant le protocole décrit dans Doyle & Doyle (1987). Une petite partie des extractions (quelques centaines d'individus) ont été réalisées à l'aide du kit Qiagen d'extraction en plaque, en suivant le protocole fourni. Pour l'extraction des ouvrières, l'individu entier a été utilisé alors que les extractions des reproducteurs ont été réalisées à partir de la tête et/ou du thorax. Nous avons également extraits le contenu de plusieurs centaines de spermathèques de reines. Ce type d'extraction a été réalisé selon le protocole de Chapuisat (1998).

Nous avons ensuite géotypés nos échantillons d'ADN à 12 locus microsatellites (Waur1166, Waur1gam, Waur2164, Waur225, Waur275, Waur3176, Waur418, Waur521, Waur566, Waur680, Waur716 et Waur730) en suivant le protocole de Fournier et al. (2005b)

**Figure 53 :** Photographie d'un gel d'électrophorèse de tests individuels d'infection par *Wolbachia*.

Note : L'échelle de migration du gel est présentée sur la droite du gel. L'individu positif à l'infection par *Wolbachia* (*Ind+*) présente une bande à 400 bp (témoin de l'amplification du gène *EF-1 $\alpha$* ) et une bande à 600 bp (témoin de l'amplification du gène *wsp* spécifique de *Wolbachia*). L'individu négatif à l'infection par *Wolbachia* (*Ind-*) ne présente qu'une bande à 400 bp (témoin de l'amplification du gène *EF-1 $\alpha$*  et donc de la validité de la PCR). L'eau ne présente aucune amplification, témoin d'une absence de contamination.



(voir Annexe 2.1). Plus précisément, les amplifications PCR des 12 locus microsatellites ont été réalisées en deux groupes de locus selon leur température d'hybridation. Pour chaque groupe, un mélange de volume final de 10µL, contenant environ 10ng d'ADN, 0,2mM de chaque amorce et le tampon « Qiagen Multiplex PCR master mix » dilué une fois (Qiagen Multiplex PCR Handbook) a été préparé. L'amplification est constituée d'une étape initiale de 15 min à 95°C, puis de 35 cycles de 94°C pendant 30s, 57°C/63°C pendant 90s (selon le groupe de locus) et 72°C pendant 60s, enfin une phase d'élongation terminale de 30min à 60°C. Les locus Waur1gam, Waur2164, Waur3176, Waur418, Waur566, Waur716 et Waur730 ont été hybridés à 57°C, et les autres locus à la température de 63°C.

Les produits de l'amplification PCR ont ensuite été génotypés sur séquenceur MegaBace (Amersham Biosciences) et analysés avec le logiciel Genetic Profiler 1.5 (Amersham Biosciences).

### 3.2 Tests individuels d'infection par *Wolbachia*

Nous avons mis au point un test individuel d'infection par *Wolbachia* sur la base d'un test préexistant chez les fourmis du genre *Solenopsis* (Shoemaker et al. 2000). Le principe de ce test individuel est d'amplifier simultanément par PCR deux fragments de différentes longueur (i) d'un gène de contrôle positif (prouvant que l'amplification s'est déroulée correctement, en l'occurrence en utilisant le gène nucléaire codant pour facteur d'élongation *EF-1α*) et (ii) d'un gène spécifique du génome de *Wolbachia* (en l'occurrence le gène codant pour une protéine de surface *wsp*), afin de pouvoir les visualiser simultanément dans un seul puit d'un gel d'électrophorèse. La différence notable entre notre test et celui utilisé par Shoemaker et al. (2000) est l'utilisation d'amorces différentes pour notre contrôle positif, sur le gène *EF-1α*. Nous avons utilisé les couples d'amorces universelles trs4F et trs9R (Ward et al. 2005) pour amplifier un fragment d'environ 400 bp du gène *EF-1α*, et le couple d'amorces wsp81F et wsp691R (Zhou et al. 1998) pour amplifier un fragment d'environ 600 bp du gène *wsp*.

Nous avons préparé des mélanges réactionnels de 10 µL contenant 1,0 µL de solution d'ADN, 0,2 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,8 µL de dNTPs (10 mM), 1,0 µL de tampon *Taq* Qiagen dilué 10 fois, 0,3 µL (10 µM) de chaque amorce du couple d'amorces wsp81F / wsp691R, 0,2 µL (10 µM) de chaque amorce du couple d'amorces trs4F / trs9R, 5 unités de *Taq* polymérase Qiagen et 6,2 µL d'eau ultrapure. Les conditions du cycle PCR sont les

suivantes : dénaturation à 94°C pendant 3 minutes, puis 10 cycles « *touchdown* » chacun constitués d'une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, puis d'une hybridation à 60°C (en diminuant ensuite la température d'hybridation de 0,5°C à chaque cycle) pendant 30 secondes et d'une élongation à 72°C pendant une minute, puis 25 cycles chacun constitués d'une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, d'une hybridation à 53°C pendant 30 secondes et d'une élongation à 72°C pendant une minute, suivis d'une élongation finale à 72°C pendant 10 minutes. Les produits PCR ont ensuite été déposés sur gel d'agarose (1,5%), ont subi une migration de 30 minutes à 100V, et ont finalement été visualisés sur table UV après un bain de 10 à 15 minutes dans une solution de BET.

La figure 53 illustre les résultats obtenus pour des individus positifs et négatifs. Au total, 817 tests individuels d'infection par *Wolbachia* ont été réalisés sur autant d'individus des aires native et introduite de *W. auropunctata*.

### 3.3 Séquençage

#### 3.3.1 Séquençage du gène mitochondrial *COI*

Nous avons séquençé un fragment de 520 bp du gène mitochondrial *COI* pour 93 individus de *W. auropunctata* et trois individus de l'espèce proche *Wasmannia rochai* (utilisés comme groupe externe dans notre analyse phylogénétique, voir section I.4.1). Pour ce faire, nous avons réalisé une amplification PCR de ce fragment à l'aide des amorces universelles LCO et HCO (Folmer et al. 1994). Nous avons préparé des mélanges réactionnels de 10µL contenant 1,0 µL de solution d'ADN, 0,1 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,4 µL de dNTPs (10 mM), 1,0 µL de tampon *Taq* Qiagen dilué 10 fois, 0,2 µL de chaque amorce (10 µM), 5 unités de *Taq* polymérase Qiagen et 7µL d'eau ultrapure. Les conditions du cycle PCR sont les suivantes : dénaturation à 95°C pendant 3 minutes, puis 37 cycles chacun constitués d'une dénaturation à 94°C pendant une minute, d'une hybridation à 55°C pendant une minute et d'une élongation à 74°C pendant une minute, suivis d'une élongation finale à 74°C pendant 10 minutes. Les produits PCR ont ensuite été purifiés et séquençés par MacroGen Inc. (Séoul, Corée du Sud).

#### 3.3.2 Séquençage du gène *wsp* de *Wolbachia*

Nous avons séquençé un fragment de 532 à 640 bp du gène *wsp* (codant pour une protéine de surface) de *Wolbachia*, pour 77 individus de *W. auropunctata* positifs au test de



présence à *Wolbachia* (cf. section I.4.2). Nous avons réalisé une amplification PCR de ce fragment à l'aide des amorces universelles wsp81F et wsp691R (Zhou et al. 1998). Nous avons préparé des mélanges réactionnels de 10 µL contenant 1,0 µL de solution d'ADN, 0,2 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,8 µL de dNTPs (10 mM), 1,0 µL de tampon *Taq* Qiagen dilué 10 fois, 0,3 µL de chaque amorce (10 µM), 5 unités de *Taq* polymérase Qiagen et 6,6 µL d'eau ultrapure. Les conditions du cycle PCR sont identiques à celles utilisées pour le test individuel d'infection par *Wolbachia* (cf. Annexe 1.3.2). Les produits PCR ont ensuite été purifiés et séquencés par Macrogen Inc. (Séoul, Corée du Sud).

## 4. Etudes sur nids maintenus en laboratoire

### 4.1 Ponte de reines clonales et sexuées

Nous avons récolté 106 reines de différentes populations clonales et sexuées de Guyane, à partir desquelles nous avons construit 91 nids monogynes et polygynes (cf. section III.1). Chacun de ces nids est contenu dans une boîte de plastique ( $\varnothing = 12$  cm) aux murs fluonés et au couvercle percé et recouvert d'un grillage fin. Un nid est composé de deux chambres en plâtre ( $\varnothing = 4$  cm), recouvertes d'une feuille de plastique noir. Une reine et environ une centaine d'ouvrières provenant de la même population ont été placées dans chacun des 86 nids monogynes construits. Quatre reines et plusieurs centaines d'ouvrières de la même population ont été placées dans les 5 nids polygynes construits. Ces nids ont été maintenus à une température de 25°C et une humidité de 65% de manière constante et nourris *ad libitum* avec une solution sucrée et des morceaux d'insectes trois fois par semaine.

La ponte des reines a ensuite été vérifiée sur une base hebdomadaire. Les individus reproducteurs mâles et femelles produits ont été prélevés au stade nymphal, permettant la discrimination visuelle de leur sexe. Pour la majorité des nids, les ouvrières ont été prélevées à la fois au stade nymphal (afin d'être sûr que ces ouvrières ont été produites par la reine présente dans le nid) et au stade adulte (afin de tenir compte d'un éventuel effet sélectif au niveau du développement des ouvrières).

**Tableau 18 :** Sels utilisés en solutions saturées pour l'obtention d'humidité atmosphérique constante.

Humidité relative	Sel utilisé	
100%	KNO <sub>3</sub>	nitrate de potassium
85%	KCl	chlorure de potassium
75%	NaNO <sub>3</sub>	nitrate de sodium
65%	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	carbonate de potassium
55%	CaNO <sub>3</sub>	nitrate de calcium
35%	MgCl <sub>2</sub>	chlorure de magnésium

**Tableau 19 :** Nombres de groupes de dix ouvrières testés durant la première manipulation pour chacune des populations et conditions température x humidité.

Note : Les cases grisées correspondent aux conditions température x humidité non testées.

	25°C		30°C		34°C		36°C		38°C		40°C		42°C		Toutes températures
	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7	Ker	M7	
100%	4	3	3	5			10	10	9	8	32	36	12	12	144
85%			6	5	10	10	26	30	35	40	30	30	10	10	242
75%	10	10	10	9	10	10	39	39	39	40	49	50	10	10	335
65%	10	10	10	8	10	10	29	30	69	70	30	30	10	10	336
55%	10	10	9	10	10	10	29	29	26	25	11	9	10	10	208
35%	10	10	10	10	10	10	30	30	10	10					140
<b>Total</b>	44	43	48	47	50	50	163	168	188	193	152	155	52	52	1405

## 4.2 Tolérance des ouvrières aux conditions température x humidité

Cette étude a été réalisée en deux manipulations successives. La première manipulation a pour objectif de déterminer la tolérance des ouvrières de deux populations (Ker, clonale, et M7, sexuée) sur un large spectre de conditions température x humidité. Les conditions température x humidité testées correspondent aux valeurs de température x humidité mesurées dans trois sites naturels (M7, M3, Z7) et un site anthropisé (Ker) de Guyane, ainsi que quelques conditions extrêmes supplémentaires. La seconde manipulation a pour objectif de mesurer plus finement la tolérance des ouvrières de deux populations clonales (Ker et RN) et de deux populations sexuées (M7 et M3), à trois conditions température x humidité identifiées comme potentiellement discriminantes entre les deux types de populations.

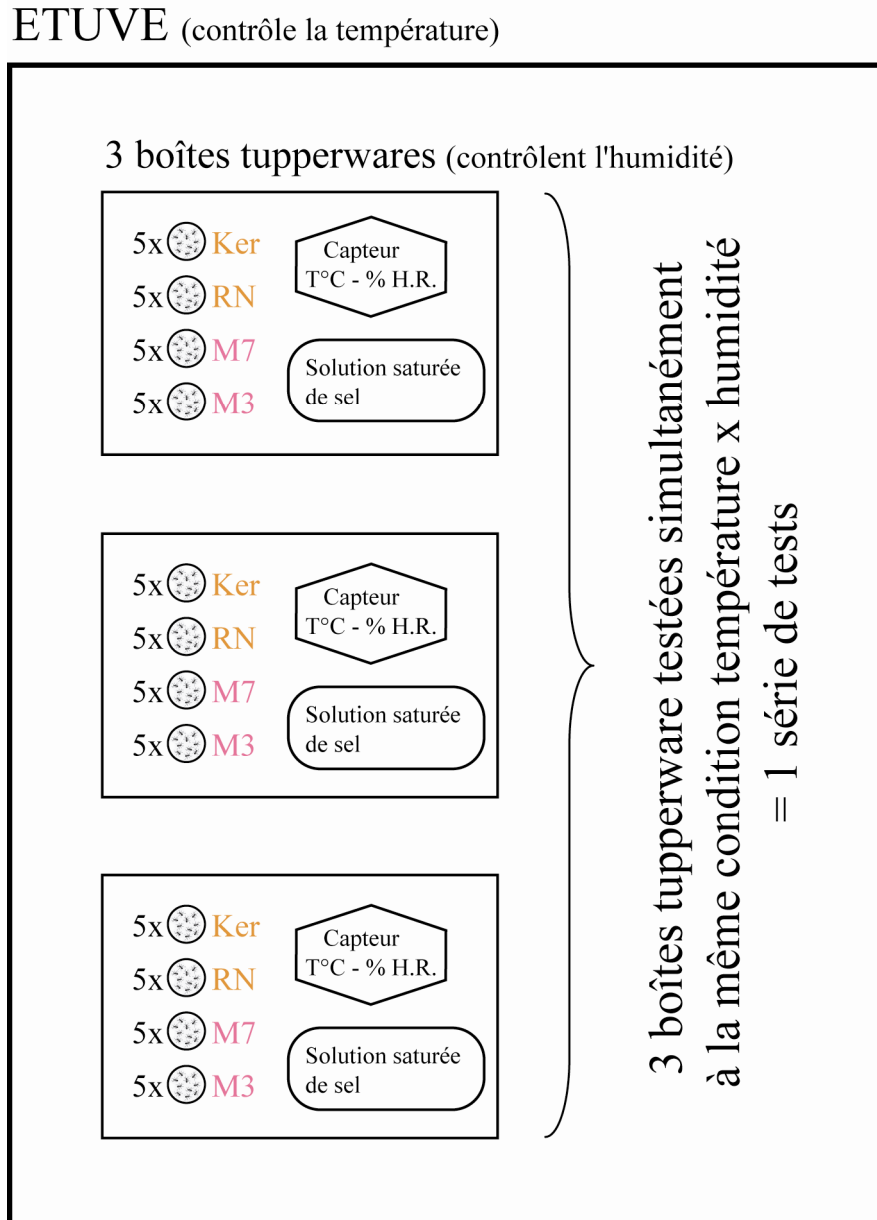
Dans chacune de ces deux manipulations, nous avons maintenu les ouvrières dans les conditions température x humidité désirées conformément au protocole suivant. Nous avons utilisé une étuve pour contrôler la température, dans laquelle ont été placées plusieurs boîtes tupperware où l'humidité est contrôlée indépendamment. L'humidité régnant dans chacune des boîtes tupperware a été contrôlée en utilisant différentes solutions saturées de sels (Tableau 18 ; OIML 1996). Un capteur placé dans chacune des boîtes tupperware mesurant la température et l'humidité toutes les deux minutes nous a permis de contrôler précisément l'adéquation entre températures et humidités désirées et observées tout au long de nos expérimentations.

Dans chacune des deux manipulations, nous avons mesuré la même variable en suivant le même protocole. Notre unité de mesure de la tolérance des ouvrières a été le taux de mortalité des ouvrières réunies par groupes de dix et placées dans les conditions température x humidité désirées pendant trois heures. Cette durée d'expérimentation correspond à la durée moyenne d'un pic de température tel que mesuré sur le terrain. Pour chaque série de test (i.e. période de trois heures de test à une température donnée), nous avons donc placé dans nos différentes boîtes tupperware des groupes de dix ouvrières, tirées aléatoirement d'un pool de nids originaires d'une population donnée, et réunies dans des boîtes plastique ( $\varnothing = 10$  cm) recouvertes d'un grillage fin et aux parois fluonées. Chaque test effectué dans une boîte tupperware contient simultanément un nombre égal de groupes d'ouvrières de chaque population.

Lors de la première manipulation, la tolérance des ouvrières des populations Ker et M7 ont été testées pour 38 conditions température x humidité différentes (nombre total

**Figure 54 :** Schéma d'une série de tests lors de la seconde manipulation pour l'étude de la tolérance abiotique des ouvrières.

Note : Pour chacune des trois conditions température x humidité testées, nous avons réalisé trois séries de tests indépendantes. Les populations clonales et sexuées testées sont inscrites en orange et rose, respectivement.



d'ouvrières testées = 14050 ; Tableau 19). Cette manipulation nous a permis de sélectionner trois conditions température x humidité où les taux de mortalité des ouvrières des deux populations ont été intermédiaires, que nous avons ensuite utilisé dans notre seconde manipulation.

Lors de la seconde manipulation, pour chacune des trois conditions température x humidité testées, nous avons réalisé trois séries de tests, comprenant chacune trois boîtes tupperware différentes maintenues à la même valeur d'humidité, et contenant chacune 20 groupes de dix ouvrières (cinq groupes pour chacune des quatre populations testées) (nombre total d'ouvrières testées = 3 conditions x 3 séries de tests x 3 boîtes tupperware x 4 populations x 5 groupes d'ouvrières x 10 ouvrières = 5400 ouvrières ; Figure 54). Le fait d'avoir plusieurs boîtes tupperware simultanément dans une même série de test nous permet d'évaluer un éventuel effet de l'imprécision relative de notre technique d'humidification de l'atmosphère. Le fait d'avoir plusieurs séries de test nous permet lui d'évaluer un éventuel effet de l'imprécision éventuelle de la température de notre étuve.

## **5. Méthodes informatiques et statistiques**

### **5.1 Statistiques de génétique des populations**

Différentes statistiques de génétique des populations ont été utilisées au cours de cette thèse. Les indices de fixation  $F$  (Weir & Cockerham 1984) ont été calculés de façon hiérarchique et non-hiérarchique à l'aide des programmes HIERFSTAT (Goudet 2005) et FSTAT v2.9.3.2 (Goudet 2001), respectivement. Un programme personnel codé en Turbo Pascal sous l'environnement Delphi a été réalisé pour calculer l'hétérozygotie observée et la différence de taille allélique au sein de génotypes multilocus individuels et entre génotypes. L'hétérozygotie observée d'un génotype multilocus individuel,  $H_{ow}$ , est le nombre de locus d'un génotype individuel possédant deux allèles différents, moyenné sur l'ensemble des locus génotypés. L'hétérozygotie observée entre génotypes d'un couple reine – mâle,  $H_{ob}$ , est le nombre de fois où, à un locus donné, un allèle particulier du génotype de la reine est différent de l'allèle du génotype du mâle au même locus, moyenné sur l'ensemble des comparaisons réalisées, à savoir deux fois le nombre de locus génotypés (cf. la reine étant diploïde et le mâle haploïde, deux comparaisons sont effectuées pour chaque locus). La différence de taille allélique d'un génotype individuel,  $DS_w$ , est égale à la différence en paires de base entre les

deux allèles d'un même locus de ce génotype, moyennée sur l'ensemble des locus génotypés. La différence de taille allélique entre génotypes d'un couple reine – mâle,  $DS_b$ , est égale à la différence moyenne, en paires de base, entre les allèles de la reine et l'allèle mâle, moyenné sur deux fois l'ensemble des locus génotypés.

## 5.2 Reconstructions phylogénétiques

Les deux types d'arbres présentés dans cette thèse (arbre du gène mitochondrial *COI* de *W. auropunctata* et arbre du gène *wsp* de *Wolbachia*) ont été reconstruits en suivant un protocole similaire. Tout d'abord, les séquences obtenues ont été alignées manuellement et à l'aide de BIOEDIT v7.0.5.3 (Hall 1999) et CLUSTAL X v1.83 (Thompson et al. 1997). Nous avons ensuite reconstruit chacun des arbres en suivant le critère d'optimalité du Maximum de Vraisemblance (MV). Le meilleur modèle sous ce critère (et les paramètres associés) ont été obtenus en utilisant MODELTEST v3.7 (Posada & Crandall 1998). L'arbre ayant obtenu le meilleur score en MV a ensuite été reconstruit à partir du modèle d'évolution des séquences le plus vraisemblable selon MODELTEST en utilisant PHYML v2.4.4 (Guindon & Gascuel 2003).

Le degré de confiance placé en chacun des nœuds de l'arbre ayant obtenu le meilleur score en MV a ensuite été estimé par rééchantillonnage selon la méthode du *bootstrap* (Felsenstein 1985). Pour l'arbre du gène mitochondrial *COI* de *W. auropunctata*, un *bootstrap* non paramétrique (1000 répliqués) a été réalisé grâce aux programmes SEQBOOT et CONSENSE du logiciel PHYLIP v3.6 (Felsenstein 1989). Pour les arbres du gène *wsp* de *Wolbachia*, un *bootstrap* non paramétrique (1000 répliqués) a été réalisé grâce au programme PHYML v2.4.4 (Guindon & Gascuel 2003).

Il faut noter que les résultats que nous avons obtenus en utilisant le critère d'optimalité du MV ont toujours été confirmés en utilisant d'autres méthodes phylogénétique, à savoir les méthodes de reconstruction Bayésienne ou par parcimonie.

Dans le cas de l'étude du gène mitochondrial *COI* de *W. auropunctata*, nous avons également comparé la phylogénie obtenue précédemment (où les individus clonaux et sexués ne forment pas de groupes monophylétiques ; Figure 17) avec une phylogénie alternative dans laquelle les individus clonaux et sexués de *W. auropunctata* ont été contraints à former deux groupes monophylétiques distincts. Cette comparaison a été effectuée grâce au test non paramétrique de Shimodaira-Hasegawa (test SH ; Shimodaira & Hasegawa 1999), basé sur le critère d'optimalité en MV. L'arbre contraint a été construit en utilisant TREEVIEW v1.6.6

(Page 1996). Pour les deux hypothèses phylogénétiques (individus sexués et clonaux monophylétiques ou non), les longueurs de branches des arbres reconstruits ont été ensuite réestimées grâce au programme PAUP\* v4.0b10 (Swofford 2003), en utilisant le modèle d'évolution des séquences obtenu précédemment. La méthode RELL (Kishino et al. 1990), implémentée dans PAUP\*, a été utilisée pour rééchantillonner les scores de vraisemblance du test SH (1000 répliqués).

### 5.3 Construction de dendrogrammes à partir de génotypes microsatellites

#### individuels

Pour la construction d'arbres de génotypes microsatellites individuels, nous avons utilisé un programme personnel codé en langage objet Delphi basé sur l'algorithme du *Neighbor-Joining* (Saitou & Nei 1987). La distance génétique utilisée pour la construction des arbres est une variante de la distance des allèles partagés (Chakraborty & Jin 1993), calculée de la manière suivante :

$$D_{XY} = \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L \left( 1 - \frac{n_{lX \rightarrow Y} + n_{lY \rightarrow X}}{G_X + G_Y} \right)$$

où  $D_{XY}$  est la distance entre l'individu X et l'individu Y, L est le nombre de locus génotypés,  $G_X$  et  $G_Y$  sont le nombre de copies de génome des individus X et Y ( $G = 2$  pour un individu diploïde et  $G = 1$  pour un individu haploïde), respectivement, et  $n_{lX \rightarrow Y}$  ( $n_{lY \rightarrow X}$ ) est le nombre de copies au locus  $l$  de l'individu X (Y) pour lesquelles l'état allélique est également observé (i.e. partagé) chez l'individu Y (X). Cette distance discrimine mieux plusieurs catégories de génotypes que la distance originale de Chakraborty et Jin (1993) et peut être calculée entre individus dont le niveau de ploïdie est différent.

### 5.4 Simulations d'accouplement aléatoire

Le but de nos simulations est ici de répondre à la question suivante : les génotypes observés des couples de reines et mâles à l'origine des populations clonales sont-ils compatibles avec l'hypothèse d'accouplements aléatoires entre individus de populations sexuées ? ou bien ces couples sont-ils le résultat d'accouplements non-aléatoires entre reines et mâles de la même ou de différentes populations sexuées ? Plus spécifiquement, nous avons

évalué par simulation informatique si les valeurs d'hétérozygotie observée ( $H_{ob}$ ) et de différence de taille allélique ( $DS_b$ ) des couples clonaux et sexués observés sont compatibles avec les valeurs de  $H_{ob}$  et  $DS_b$  de couples de mâles et de reines aux génotypes tirés aléatoirement dans la même ou dans différentes populations sexuées telles que définies à partir des tests d'agressivité.

En pratique, nous avons utilisé un jeu de données de génotypes d'ouvrières appartenant à différentes populations (ou supercolonies) sexuées. Nous avons tiré aléatoirement dans ce jeu de données un génotype d'ouvrière pour devenir la reine du couple simulé, puis tiré aléatoirement la moitié d'un autre génotype d'ouvrière pour devenir le mâle du couple simulé, ceci soit à partir de la même population, soit à partir d'une autre population. Nous avons ensuite calculé  $H_{ob}$  et  $DS_b$  pour le couple simulé. Ce processus a été itéré  $10^6$  fois. Nous avons ensuite calculé les densités jointes de  $H_{ob}$  et  $DS_b$  pour deux traitements globaux (utilisant la totalité des populations sélectionnées) : un traitement « intra-population », où le mâle et la reine formant les couples simulés proviennent obligatoirement de la même population, et un traitement « inter-populations », où le mâle et la reine formant les couples simulés proviennent obligatoirement de populations différentes. Les densités jointes de  $H_{ob}$  et  $DS_b$  ont été estimées grâce à la fonction `locfit` (Loader 1996) implémentée dans la version 2.2.1 du logiciel R (Ihaka & Gentleman 1996; <http://cran.r-project.org>).

Nos calculs impliquent de disposer de plusieurs populations sexuées dans une aire géographique donnée. Nous avons donc réalisé les simulations uniquement à partir du jeu de données des génotypes microsatellites des ouvrières des populations sexuées de Guyane (moins celles de la population M11-B, du fait d'un nombre de nids échantillonnés trop faible). Nos résultats ayant souligné la présence de niveau de structure génétique variable au sein des différentes populations (ou supercolonies) sexuées de Guyane (voir section I.2.2), nous avons également effectué des simulations « intra-population » pour chaque population individuellement ( $n = 5$ ) et des simulations « inter-populations » pour chaque paire de populations ( $n = 10$ ).

Les limites à 95% des différentes densités jointes ont enfin été représentées sur un plan  $H_{ob} \times DS_b$  conjointement avec les valeurs observées des couples reine – mâle clonaux et sexués de Guyane (Figure 28).



## 5.5 Analyses de contingence et factorielle

L'analyse des relations entre le succès envahissant de certaines populations natives de *W. auropunctata*, et leur système de reproduction, leur statut infectieux vis-à-vis de *Wolbachia* et la présence de perturbation humaine dans l'environnement occupé a été conduite via deux types d'analyses sur un même jeu de données. Le jeu de données utilisé pour résoudre cette question des facteurs de l'invasion chez les populations natives de *W. auropunctata* est un tableau renseignant les quatre variables nominales étudiées (statut envahissant, système de reproduction, infection par *Wolbachia* et anthropisation du milieu) codées en mode binaire (i.e. envahissant/non-envahissant, sexué/clonal, infecté/non-infecté, anthropisé/naturel), ceci pour chacun des nids dont le système de reproduction a pu être prouvé ( $n = 132$  nids). Il peut sembler paradoxal d'utiliser ces données à l'échelle du nid et non de la population, dans la mesure où les différents nids d'une même population ne sont pas à proprement parler indépendants. Pourtant, le fait que certaines de ces variables (comme l'infection par *Wolbachia*) soient des caractéristiques d'un nid et non d'une population, et que notre échantillonnage soit important et équilibré entre nids de zones envahies et non-envahies nous a conduit à utiliser le nid comme unité statistique d'analyse (i.e. comme observation). D'autre part, ces mêmes analyses conduites en considérant la population comme unité statistique ont restitué des résultats identiques. Le fait de n'utiliser que des nids pour lesquels le système de reproduction a été prouvé induit également un biais dans cette analyse, car la démonstration de reproduction sexuée est beaucoup plus dure à établir que celle de la reproduction clonale (d'où une grande proportion de nids indéterminés dans certaines zones, non inclus dans ce jeu de données, cf. section I.2.1). Nous avons néanmoins vérifié que nos conclusions étaient similaires en analysant un jeu de données élargi aux nids au système de reproduction présumé.

Le premier type d'analyse conduite sur ce jeu de données est une analyse de contingence (le  $V$  de Cramer) entre deux variables nominales. Cet indice, dérivé du  $\chi^2$  et qui mesure l'écart à l'indépendance entre deux variables qualitatives, est adapté à nos comparaisons par paires de facteurs (i.e. entre le succès envahissant, variable à expliquer, et l'un des facteurs explicatifs). Ce type d'analyse a été réalisé sous SPSS v12.0.0 (SPSS Inc.). Le second type d'analyse réalisée, qui utilise au contraire l'ensemble du jeu de données simultanément, est une analyse factorielle des correspondances. Ce type d'analyse vise à réduire l'information du tableau de données initial, comprenant ici quatre variables qualitatives, en une information simplifiée globale, correspondant à la combinaison linéaire

des variables d'origine qui rend le mieux compte de la variabilité des données. Dans notre analyse factorielle, réalisée sous STATISTICA v6 (Statsoft Inc.), deux facteurs, combinaisons linéaires de nos quatre variables d'origine, ont été extraits à partir de notre tableau de données. L'un des avantages de ce type d'analyse est de pouvoir ensuite représenter simplement les variables d'origine dans l'espace factoriel nouvellement extrait, et ainsi visualiser les relations entre les différentes variables (i.e., l'indépendance, la corrélation positive, négative et tous les états « intermédiaires »).

## 5.6 Modèles linéaires généralisés mixtes

Nous avons analysé les résultats de nos deux manipulations expérimentales en conditions contrôlées (cf. Annexe 1.4.2) grâce à des modèles linéaires généralisés mixtes (Verbeke & Molenberghs 2000). Les modèles linéaires généralisés mixtes sont une extension des modèles linéaires généralisés pour lesquels les variables explicatives peuvent être à effets fixes ou à effets aléatoires (car leur valeur n'est pas fixe mais échantillonnée dans une « population »). Dans le cas de la première manipulation, la variable à expliquer est le nombre de morts par groupe de dix ouvrières et les facteurs explicatifs sont la population d'origine (à effet fixe) et trois facteurs aléatoires : les conditions température x humidité, l'interaction population x condition et les différentes séries de tests (nichées dans les conditions). Dans le cas de la seconde manipulation, la variable à expliquer est toujours le nombre de morts par groupe de dix ouvrières, mais les facteurs explicatifs fixes sont le type de système de reproduction et la population d'origine (ce dernier facteur étant niché dans le type de système de reproduction), et les facteurs explicatifs aléatoires sont les conditions température x humidité, l'interaction population x condition, les séries de test et les boîtes tupperware. Ces deux analyses ont été conduites à l'aide de la procédure GLIMMIX du logiciel SAS v9.1 (SAS Institute, Inc.).

## ANNEXE 2 : ARTICLES

**Article 1 (p.180-183) :** Fournier, D., **J. Foucaud**, A. Loiseau, S. Cros-Arteil, H. Jourdan, J. Orivel, J. Le Breton, J. Chazeau, A. Dejean, L. Keller, and A. Estoup. 2005. Characterization and PCR multiplexing of polymorphic microsatellite loci for the invasive ant *Wasmannia auropunctata*. *Molecular Ecology Notes* 5:239-242.

**Article 2 (p.184-188) :** Fournier, D., A. Estoup, J. Orivel, **J. Foucaud**, H. Jourdan, J. Le Breton, and L. Keller. 2005. Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature* 435:1230-1234.

**Article 3 (p.189-200) :** **Foucaud, J.**, H. Jourdan, J. Le Breton, A. Loiseau, D. Konghouleux, and A. Estoup. 2006. Rare sexual reproduction events in the clonal reproduction system of introduced populations of the little fire ant. *Evolution* 60:1646-1657.

**Article 4 (p.201-209) :** **Foucaud, J.**, D. Fournier, J. Orivel, J. H. C. Delabie, A. Loiseau, J. Le Breton, G. J. Kergoat, and A. Estoup. 2007. Sex and clonality in the little fire ant. *Molecular Biology and Evolution* msm180.

**Article 5 (p.210-224) :** Orivel, J., J. Grangier, J. Le Breton, **J. Foucaud**, D. Fournier, F.-X. Andrès, H. Jourdan, J. H. C. Delabie, A. Estoup, and A. Dejean. Invasive populations in native area: evidence from the little fire ant. (soumis à *Biological Invasions*)

**Article 6 (p.225-246) :** **Foucaud, J.**, D. Fournier, J. Orivel, J. H. C. Delabie, A. Loiseau, J. Le Breton, and A. Estoup. Reproduction system, social organization, human disturbance and invasive success in native populations of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*. (soumis à *Molecular Ecology*)

## PRIMER NOTE

# Characterization and PCR multiplexing of polymorphic microsatellite loci for the invasive ant *Wasmannia auropunctata*

DENIS FOURNIER,\* JULIEN FOUCAUD,\* ANNE LOISEAU,\* SANDRINE CROS-ARTEIL,\*  
HERVÉ JOURDAN,† JÉRÔME ORIVEL,‡ JULIEN LE BRETON,§ JEAN CHAZEAU,†  
ALAIN DEJEAN,‡ LAURENT KELLER§ and ARNAUD ESTOUP\*

\*Centre de Biologie et de Gestion des Populations, INRA, Campus International de Baillarguet CS 30016, 34988 Montferrier/Lez, France, †Laboratoire de Zoologie Appliquée, IRD, 98948 Nouméa, Nouvelle-Calédonie, ‡Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, Université Paul Sabatier, Campus de Rangueil, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse, France, §Laboratory of Sub-Tropical Zoology, University of the Ryukyus, 903–0213 Nishihara, Okinawa, Japan §Department of Ecology and Evolution Bâtiment de Biologie, University of Lousanne, 1015 Lousanne, Switzerland

## Abstract

Highly polymorphic genetic markers provide a useful tool for estimating genetic parameters in studies of the evolution of sociality in insects. We isolated and characterized 12 polymorphic microsatellite loci in the invasive ant, *Wasmannia auropunctata*, and described experimental conditions for PCR (polymerase chain reaction) multiplexing and simultaneously genotyping these loci in two sets of five and seven markers. The number of alleles per locus ranged from two to 14 and the observed heterozygosity ranged from 0.233 to 0.967. Moreover, results of cross-species amplification tests are reported in three other species of *Wasmannia* and in two species of the genus *Allomerus*.

**Keywords:** ants, Blepharidattini, invasion, microsatellites, Myrmicinae, pest, *Wasmannia*

Received 20 October 2004; revision accepted 2 December 2004

Introduction of nonindigenous species is an increasing problem. Ants do not derogate from this rule. At least 147 out of 11 816 indexed ant species (<http://antbase.org/> – 5 January 2005) have been observed outside their native range, their introduction being often human-mediated (McGlynn 1999). Although most of these ant species are observed in a transitory way, about 26 species are able to colonize new territories in a definitive way (McGlynn 1999). Biological invasions by ants represent a severe threat to biodiversity as well as to agriculture and other human interests, and five particularly threatening ant species are registered in the list of ‘100 of the World’s Worst Invasive Alien Species’ (Lowe *et al.* 2001). Previous works on invasive species, mainly on the fire ant, *Solenopsis invicta*, and the Argentine ant, *Linepithema humile*, have shown that their widespread success is largely because of low levels of intraspecific aggression and territorial

behaviours (Hölldobler & Wilson 1990; Passera 1994), and to a concomitant reduction of the genetic diversity (reviewed in Holway *et al.* 2002). The little fire ant *Wasmannia auropunctata* is one of these particularly threatening ant species. Native from Neotropical forests of South America where it does not normally dominate the biological community, *W. auropunctata* is now widespread throughout the tropical zones of the world where it shows extreme population explosions (Wetterer & Porter 2003). Here, we report the isolation and characterization of 12 polymorphic microsatellite markers for the invasive ant *W. auropunctata*. These markers will be useful in investigating the population genetic structure and mating system both in the native and introduced ranges of this polygynous (i.e. colonies containing several queens) species.

A partial DNA library of 1768 recombinant clones was obtained from *W. auropunctata* individuals originating from New Caledonia, and was screened using a nonradioactive method (detailed protocols available at <http://www.inapg.inra.fr/dsa/microsat/microsat.htm>, Estoup *et al.* 1998). One

Correspondence: Arnaud Estoup, Fax: + 33 (0)4.99.62.33.45; E-mail: arnaud.estoup@ensam.inra.fr

**Table 1** Microsatellite loci developed for the ant *Wasmannia auropunctata*. Cloned allele size is based on New Caledonian individuals. The observed size range, number of alleles ( $N_a$ ), frequency of the most common allele ( $f$ ), and estimates of observed ( $H_O$ ) and expected ( $H_E$ ) heterozygosities were estimated from 30 workers collected in French Guiana (FG) and 30 workers collected in New Caledonia (NC).  $T_a$  annealing temperature

Locus	Core repeat (cloned allele)	Size (bp)	Size range (bp)	$N_a$		$f$		$H_O$		$H_E$		$T_a$ (°C)		Primers (5'-3')	GenBank Accession no.
				FG	NC	FG	NC	FG	NC	FG	NC	FG	NC		
PCR multiplex set 1															
Waur-1gam	(AG) <sub>19</sub>	300	276–326	8	3	0.367	0.767	0.767	0.467	0.813	0.389	57	F: Fam-TGCTCTCAGTGTCCGACAG R: CCCTAAGAACATGAAATATGACG	AY779632	
Waur-2164	(AG) <sub>40</sub>	199	276–328	12	5	0.567	0.517	0.233	0.933	0.668	0.672	57	F: Ned-GCCCGTTATTATACAGCTGG R: CTACTCGCAGCACCTCCATA	AY779633	
Waur-3176	(GA) <sub>17</sub>	235	222–246	9	2	0.383	0.750	0.867	0.467	0.800	0.381	57	F: Fam-AAGGCCGTCCTGTGCGTTA R: GAACAGGTCTCCGCCAGTCT	AY779636	
Waur-418	(GA) <sub>18</sub>	331	100–144	12	3	0.433	0.483	0.667	0.967	0.773	0.644	57	F: Fam-GCATCAATTTTCTCCGAACC R: CGCAATGTGCAATGTCTGTGT	AY779637	
Waur-566	(CT) <sub>14</sub>	261	257–279	10	2	0.233	0.550	0.900	0.900	0.879	0.503	57	F: Hex-GTTCAACGAGATGTTACG R: GCTTAATCGCACGTGAACTG	AY779639	
Waur-716	(GA) <sub>18</sub>	178	180–210	10	4	0.417	0.750	0.633	0.500	0.772	0.415	57	F: Ned-TCTGACTGGTCGAATTCCTG R: GACTGCACGAAATGTGAGGTA	AY779641	
Waur-730	(CT) <sub>18</sub>	181	156–200	13	3	0.283	0.600	1	0.800	0.864	0.549	57	F: Fam-GAATGAGCGAAGCGTGTAC R: GAGATTCTCGACCGGTATGA	AY779642	
PCR multiplex set 2															
Waur-1166	(GA) <sub>22</sub>	101	91–119	13	2	0.233	0.817	0.867	0.300	0.880	0.305	63	F: Hex-GAACCAGAAAGCGAGAAGC R: AGCTGATGAACCTCCAAG	AY779631	
Waur-225	(CA) <sub>10</sub>	223	223–233	4	2	0.683	0.650	0.533	0.700	0.503	0.463	63	F: Ned-GTGGCGACACATAGATAAGG R: TGAATAGTCCGACTCTACG	AY779634	
Waur-275	(CT) <sub>14</sub>	113	103–131	9	3	0.433	0.550	0.300	0.900	0.713	0.595	63	F: Ned-AGAACTTTGATGCTCCACTTTC R: CTTTGAACCTTCTGGTTAATGC	AY779635	
Waur-521	(GA) <sub>15</sub>	200	200–216	–	3	–	0.583	–	0.833	–	0.581	63	F: Hex-AGATATGAGCGGAACCAGTC R: TCAGCCTCTGGGTAGC	AY779638	
Waur-680	(AG) <sub>22</sub>	167	157–191	14	3	0.350	0.5	0.767	0.967	0.840	0.525	63	F: Hex-GCACAGTCCGCACTTGTTC R: CGCACGCTCTGGCACTCAATC	AY779640	

hundred and forty of the 1768 recombinant clones showed a strong hybridization signal with (GT)<sub>10</sub> and (CT)<sub>10</sub> probes. Among them, 78 inserts were sequenced by the private company Genome Express, using BigDye Terminator Cycle sequencing and an ABI 3730XL automated sequencer (Applied Biosystems). Sixty-seven of the 78 sequenced inserts contained microsatellites and 24 were tested for amplification using fluorescent polymerase chain reaction and (PCR) RAND a MegaBace DNA sequencer (Amersham Biosciences). DNA extraction was performed following a standard CTAB-based protocol (Doyle & Doyle 1987). Briefly, individual ants were ground in CTAB solution and incubated for two hours at 55 °C, DNA was purified through chloroform/isoamyl alcohol extraction and isopropanol precipitation. PCR amplifications were performed with an MJ Research PTC-200 thermocycler and consisted of an initial denaturing step of 15 min at 94 °C; 35 cycles of 30 s at 94 °C, annealing for 90 s, and extension at 72 °C for 60 s; and a final extension at 60 °C for 30 min. Twelve polymorphic loci with nonambiguous allelic pattern (i.e. with a low number of stutter bands) were selected for further population studies. Primer sequences and PCR conditions are given for each selected locus in Table 1. The sequences of the 12 microsatellite loci have been deposited in the GenBank database (Accession nos: AY779631 to AY779642). According to annealing temperatures, two sets of five and seven loci were coamplified using Multilocus Amplification Kit (QIAGEN) in a 10-µL volume containing 1 × QIAGEN Multiplex Master Mix, 2 µM of each primer and 2 µL of genomic DNA (= 1 µg DNA/reaction). The forward primer of each pair of microsatellite DNA primers was labelled with a fluorescent dye (FAM, HEX or NED) in order to allow detecting alleles at all 12 loci in a single electrophoresis run (see Table 1).

The level of polymorphism and allelic distribution of the 12 microsatellite loci were estimated using GENEPOP 3.4 (Raymond & Rousset 1995) by typing 30 workers collected in five nests (six workers per nest) in a population from

New Caledonia (i.e. introduced populations) and 30 workers collected in a same way in French Guiana (i.e. native area). The number of alleles per locus and the expected heterozygosities ranged between two and 14, and 0.305 and 0.880, respectively (Table 1). One locus (Waur-521) showed clear allelic pattern only for the New Caledonian samples. Differences between observed and expected heterozygosities are a result of relatedness of individuals within nests.

We examined the conservation of the primer sequences and the level of polymorphism of the selected loci in five other ant species of the subfamily Myrmicinae. Three of these species belong to the tribe Blepharidattini genus *Wasmannia* (*Wasmannia iheringi*, *Wasmannia rochai* and *Wasmannia scrobifera*) and two species to the tribe Solenopsidini genus *Allomerus* (*Allomerus octoarticulatus* and *Allomerus decemarticulatus*). For each species, extraction and PCR amplification were performed following the procedure described above. Results are reported in Table 2. Eight loci successfully cross-amplified in at least one species. Six loci cross-amplified in all *Wasmannia* species tested. However, only two, five and five loci were polymorphic in *W. iheringi*, *W. rochai* and *W. scrobifera*, respectively. A similar rate of cross-amplification success was obtained in the two species of the genus *Allomerus*.

Our results show that the microsatellite loci isolated from *W. auropunctata* will be useful for population genetic studies in both native and introduced populations of this species and, to a less extent, in some other ant species of the subfamily Myrmicinae. These markers are expected to provide important insight into the evolution of colony and population genetic structures which follows the introduction of ant species in new environments.

## Acknowledgements

We are grateful to John T. Longino for providing us with specimens of other *Wasmannia* species. This work was funded by a Ecosystèmes

**Table 2** Cross-species PCR tests for 12 *W. auropunctata* microsatellite loci in five ant species of the subfamily Myrmicinae. The number of alleles and the allelic size range are based on *N* workers. Amplification failure is indicated by a dash

	Waur-1gam	Waur-1166	Waur-2164	Waur-225	Waur-275	Waur-3176	Waur-418	Waur-521	Waur-566	Waur-680	Waur-716	Waur-730
Tribe Blepharidattini, genus <i>Wasmannia</i>												
<i>W. iheringi</i> ( <i>N</i> = 3)	1 290	1 91	—	3 221–225	—	2 248–250	1 126	—	1 263	1 143	—	—
<i>W. rochai</i> ( <i>N</i> = 3)	2 284–290	3 95–135	—	2 223–225	—	1 126	1 118	—	2 259–263	3 135–177	—	—
<i>W. scrobifera</i> ( <i>N</i> = 2)	2 288–294	2 97–135	—	3 223–233	—	3 220–226	1 110	—	3 263–267	—	—	—
Tribe Solenopsidini, genus <i>Allomerus</i>												
<i>A. octoarticulatus</i> ( <i>N</i> = 8)	3 286–296	3 101–111	—	—	—	1 228	1 114	—	1 252	1 143	—	1 143
<i>A. decemarticulatus</i> ( <i>N</i> = 8)	2 296–298	—	—	4 223–265	—	1 224	1 112	—	2 263–265	1 147	—	3 135–177

Tropicaux project of the French Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.

## References

- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin*, **19**, 11–15.
- Estoup A, Gharbi K, San Cristobal M *et al.* (1998) Parentage assignment using microsatellites in turbot (*Scophthalmus maximus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hatchery populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **57**, 715–723.
- Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The Ants*. Springer-Verlag, Berlin.
- Holway D, Lach L, Suarez AV, Tsutsui ND, Case TJ (2002) The causes and consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **33**, 181–233.
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S (2001) *100 of the World's Worst Invasive Alien Species. A selection from the Global Invasive Species Database*, p. 11. IUCN-ISSG, Auckland.
- McGlynn TP (1999) The worldwide transfer of ants: geographical distribution and ecological invasions. *Journal of Biogeography*, **26**, 535–548.
- Passera L (1994) Characteristics of tramp species. In: *Exotic Ants: Biology, Impact, and Control of Introduced Species* (ed. Williams DF), pp. 23–43. Westview Press, Boulder.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): a population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**, 248–249.
- Wetterer JK, Porter SD (2003) The little fire ant, *Wasmannia auropunctata*: distribution, impact, and control. *Sociobiology*, **42**, 1–41.

## LETTERS

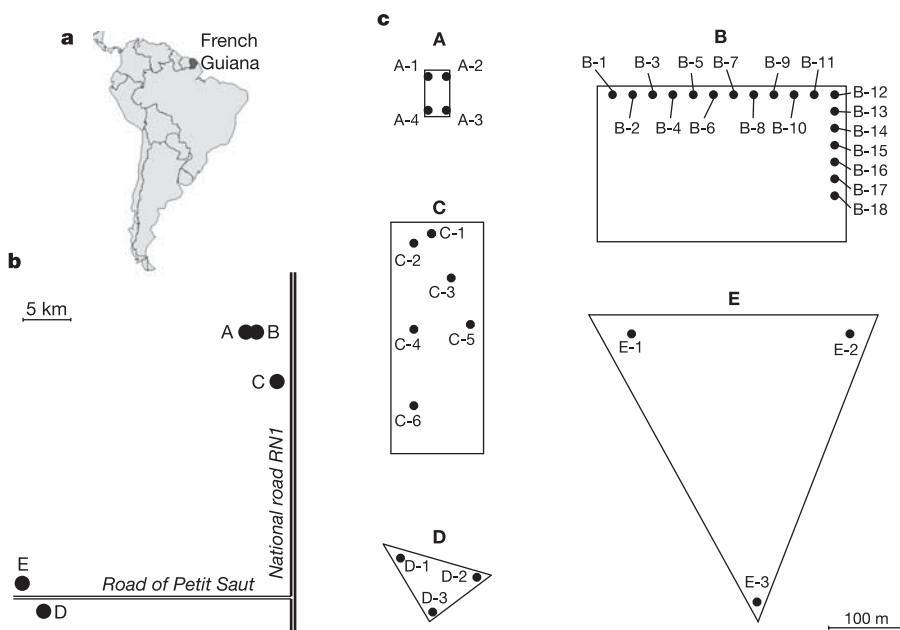
# Clonal reproduction by males and females in the little fire ant

Denis Fournier<sup>1\*†</sup>, Arnaud Estoup<sup>1\*</sup>, Jérôme Orivel<sup>2</sup>, Julien Foucaud<sup>1</sup>, Hervé Jourdan<sup>3</sup>, Julien Le Breton<sup>4</sup> & Laurent Keller<sup>5</sup>

Sexual reproduction can lead to major conflicts between sexes and within genomes<sup>1–4</sup>. Here we report an extreme case of such conflicts in the little fire ant *Wasmannia auropunctata*. We found that sterile workers are produced by normal sexual reproduction, whereas daughter queens are invariably clonally produced. Because males usually develop from unfertilized maternal eggs in ants and other haplodiploid species, they normally achieve direct fitness only through diploid female offspring. Hence, although the clonal production of queens increases the queen's relatedness to reproductive daughters, it potentially reduces male reproductive success to zero. In an apparent response to this conflict between sexes, genetic analyses reveal that males reproduce clonally, most likely by eliminating the maternal half of the genome in diploid eggs. As a result, all sons have nuclear genomes identical to those of their father. The obligate clonal production of males and queens from individuals of the same sex effectively results in a complete separation of the male and female gene pools. These findings show that the haplodiploid sex-determination system provides grounds for the evolution of extraordinary genetic systems and new types of sexual conflict.

The little fire ant has been introduced from neotropical lowland forests into North America, West Africa, Melanesia, Polynesia, the Galapagos and some subtropical Atlantic Islands, where it has become a major pest. Colonies consist of several spatially separated nests headed by multiple reproductive queens<sup>5</sup>. Although queens can participate in mating flights<sup>6</sup>, colonies spread largely or entirely by budding, a process in which one or more queens initiate a new colony in the vicinity of the mother nest with the help of workers<sup>5</sup>. While conducting a genetic population study of this species, we discovered a new genetic system in which females and males both reproduce clonally.

We collected 34 nests of *W. auropunctata* from five sites in French Guiana, which is within the native range (Fig. 1). The number of queens per nest was  $4.2 \pm 0.7$  (mean  $\pm$  s.e.m.; range 0–18). We genotyped at 11 highly polymorphic microsatellite loci (observed heterozygosities: 0.502–0.964) all the queens ( $n = 142$ ) collected, the sperm in their spermathecae, the nine young winged queens (gynes) found in one of the 34 nests, and 264 workers ( $7.8 \pm 0.2$  workers per nest). An analysis of these genotypes revealed a very unusual pattern that could be explained only by queens being produced by clonal



**Figure 1 | Site and nest locations.** **a, b**, Locations of the five sites of collection (A–E): national (**a**) and local (**b**). **c**, Locations of the nests within each of the five sites; scales are identical for each of the five sites.

<sup>1</sup>Centre de Biologie et de Gestion des Populations, INRA, Campus International de Baillarguet, CS 30 016, 34988 Montpellier/Lez Cedex, France. <sup>2</sup>Laboratoire Évolution et Diversité Biologique, UMR-CNRS 5174, Université Toulouse III, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 4, France. <sup>3</sup>Laboratoire de Zoologie Appliquée, IRD, 98948 Nouméa, Nouvelle-Calédonie. <sup>4</sup>Laboratory of Sub-Tropical Zoology, University of the Ryukyus, 903-0213 Nishihara, Okinawa, Japan. <sup>5</sup>Department of Ecology and Evolution, Bâtiment de Biologie, University of Lausanne, 1015 Lausanne, Switzerland. <sup>†</sup>Present address: Behavioral and Evolutionary Ecology - CP 160/12, Université Libre de Bruxelles, 50 avenue F. D. Roosevelt, 1050 Brussels, Belgium.

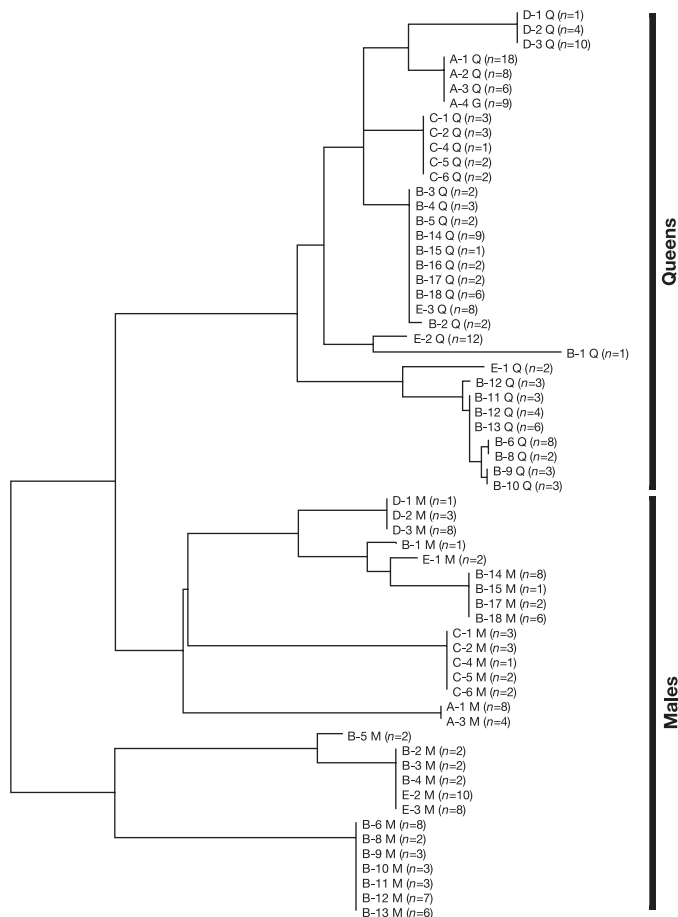
\*These authors contributed equally to this work.



**Table 1 | Genotypes of queens (Q), their mates (M) and workers (w) in one nest (E-3) at each of the 11 microsatellite loci**

Individual	Waur-225	Waur-275	Waur-418	Waur-566	Waur-680	Waur-716	Waur-730	Waur-1166	Waur-2164	Waur-3176	Waur-1gam											
<b>Queens</b>																						
Q-1	223	225	105	115	100	112	263	263	171	171	184	198	158	160	95	97	298	306	230	230	288	298
Q-2	223	225	105	115	100	112	263	263	171	171	184	198	158	160	95	97	298	306	230	230	288	298
Q-3	223	225	105	115	100	112	263	263	171	171	184	198	158	160	95	97	298	306	230	230	288	298
Q-4	223	225	105	115	100	112	263	263	171	171	184	198	158	160	95	97	298	306	230	230	288	298
Q-5	223	225	105	115	100	112	263	263	171	171	184	198	158	160	95	97	298	306	230	230	288	298
Q-6	223	225	105	115	100	112	263	263	171	171	184	198	158	160	95	97	298	306	230	230	288	298
Q-7	223	225	105	115	100	112	263	263	171	171	184	198	158	160	95	97	298	306	230	230	288	298
Q-8	223	225	105	115	100	112	263	263	171	171	184	198	158	160	95	97	298	306	230	230	288	298
<b>Males</b>																						
M-1		269		107		118		265		187		192		214		95		320		244		282
M-2		269		107		118		265		187		192		214		95		320		244		282
M-3		269		107		118		265		187		192		214		95		320		244		282
M-4		269		107		118		265		187		192		214		95		320		244		282
M-5		269		107		118		265		187		192		214		95		320		244		282
M-6		269		107		118		265		187		192		214		95		320		244		282
M-7		269		107		118		265		187		192		214		95		320		244		282
M-8		269		107		118		265		187		192		214		95		320		244		282
<b>Workers</b>																						
w-1	223	269	115	107	112	118	263	265	171	187	198	192	160	214	95	95	306	320	230	244	298	282
w-2	225	269	115	107	100	118	263	265	171	187	184	192	158	214	95	95	298	320	230	244	288	282
w-3	223	269	105	107	112	118	263	265	171	187	198	192	160	214	97	95	298	320	230	244	298	282
w-4	225	269	115	107	100	118	263	265	171	187	184	192	158	214	97	95	306	320	230	244	288	282
w-5	223	269	105	107	100	118	263	265	171	187	198	192	158	214	97	95	306	320	230	244	298	282
w-6	225	269	115	107	112	118	263	265	171	187	184	192	160	214	97	95	306	320	230	244	288	282
w-7	223	269	105	107	100	118	263	265	171	187	184	192	158	214	97	95	306	320	230	244	298	282
w-8	225	269	115	107	112	118	263	265	171	187	184	192	158	214	97	95	298	320	230	244	288	282

The identities of mates were determined by the sperm collected in the queen's spermathecae. Queens and males' genotypes illustrate their clonal production, whereas workers' genotypes are consistent with normal sexual reproduction. Paternal alleles are in italics.



**Figure 2 | Neighbour-joining dendrogram of the genetic (allele-shared) distances between queens (Q), gynes (G) and male sperms (M) collected over all the five sites (A-E).** The collection number of each nest is given with the letter of the site (see Fig. 1 for details). The number of individuals sharing the same genotype (*n*) is given for all nests.

reproduction (that is, by ameiotic parthenogenesis). In 33 of the 34 nests, all queens (*n* = 135) and gynes (*n* = 9) cohabiting in the same nest shared an identical genotype at each of the 11 loci (Table 1 and Fig. 1). The single exception was nest B-12, in which queens differed at 1 of the 11 loci: four queens were heterozygous at *Waur-2164* and the remaining three queens were homozygous for one of the two alleles. This variation probably reflects a mutation or recombination event in one queen followed by clonal reproduction within the nest. The history of this genetic change could be reconstructed from the genotypes of queens collected in neighbouring nests (Figs 1 and 2). Nine queens from two neighbouring nests (B-11 and B-13) had the same genotype as the four heterozygous queens for locus *Waur-2164*, indicating that the mutation or recombination event probably was from a heterozygote to a homozygote queen. The three homozygote queens from nest B-12 had a unique genotype in the population, which further supports this interpretation.

A comparison between nests supports the view of restricted female gene flow, with budding being the main mode of colony formation. Within three of the five sites of collection (A, C and D) all queens had the same genotype at the 11 loci (Fig. 2). In one of the two other sites (B), all queens from 8 of the 17 nests also had an identical genotype, whereas in the other site (E) the queen genotypes were different in the three nests sampled. Taken together, these data indicate that queens belonging to the same lineage of clonally produced individuals frequently head closely located nests. Moreover, genetic differentiation between sites was very strong, with a single occurrence of genotypes shared between sites (the eight queens of nest E-3 had genotypes identical to the most common genotype found at site B), showing that gene flow by females is extremely restricted.

In stark contrast to reproductive females, the genotypic analyses revealed that workers are produced by normal sexual reproduction (Table 1). Over all 31 queenright nests, each of the 248 genotyped workers had, at seven or more loci, one allele that was absent in queens of their nest. Moreover, the 232 workers from the 29 nests in which the sperm in the queen's spermathecae was successfully obtained had all genotypes consistent with those expected under sexual reproduction between the two parental genomes.

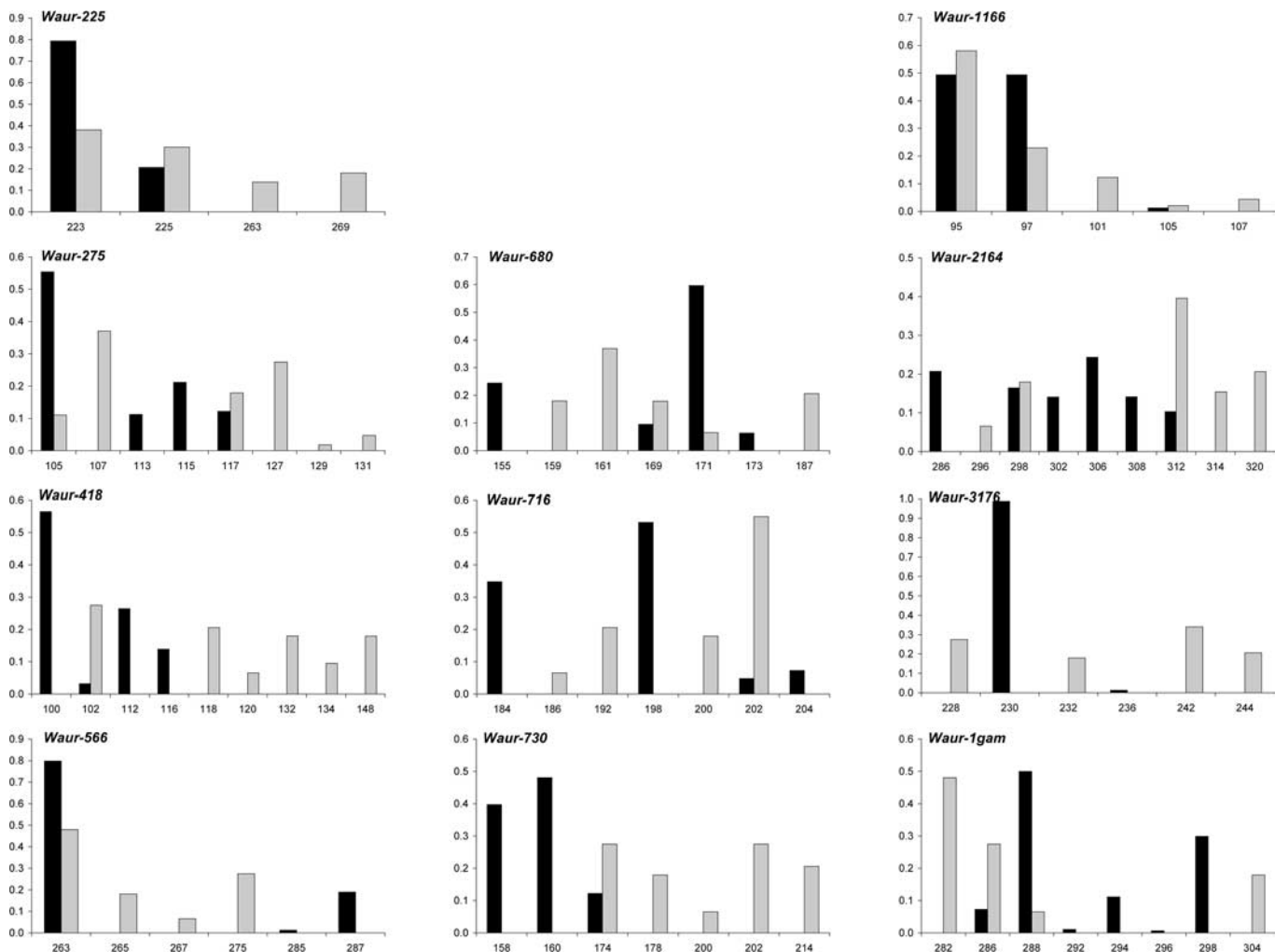
The genetic analyses of the sperm collected in the queens'

spermathecae revealed a pattern of partitioning of genetic variation that was remarkably similar to the one found in reproductive females. Cohabiting queens from a given nest were always inseminated by males having an identical genotype at the 11 loci (Table 1). Moreover, a single male genotype was found in the three sites (A, C and D) harbouring a single queen genotype. In contrast, the two remaining sites (B and E) that contained several queen genotypes also had several male genotypes. The observation that nests never contained more than one male genotype also supports the view that male dispersal is also extremely limited, with most or all matings taking place within the parental nest. This breeding system would account for nests invariably containing a unique queen and male genotype.

The finding that the males that inseminated queens of a given nest invariably had the same genotype, together with the fact that males and queens never have the same genotype, reveals that the genomes of males are also transmitted clonally. Additional evidence that males are indeed clonally produced from the sperm in the queens' spermathecae came from the genotypes of 41 males found in four of the nests (mean  $\pm$  s.e.m.  $10.3 \pm 2.5$ ) collected in another population in New Caledonia. In each of the four colonies, males had genotypes (11 microsatellites) identical to those of the sperm found in the spermathecae of queens heading their colony (the  $12.0 \pm 1.5$  queens per colony again had all the same genotype) and genotypes incompatible with maternal inheritance of their genomes (all males had alleles that were absent in queens at 10 of the 11 loci). In addition,

25 of the 41 males were pupae, indicating that they had been produced within their parental colony. The most likely mechanism for this mode of clonal reproduction is the paternal elimination of the maternal genome in the egg. Accordingly, the resulting haploid males produced would lack maternal genes and would have a genotype identical to the sperm stored in the queens' spermathecae. The alternative mechanism of androgenesis (the fusion of two sperm nuclei, leading to all-paternal diploid males) can be ruled out because flow cytometry analysis conducted on 10 male heads revealed that they were all haploid (S. Aron, personal communication).

By using alternative modes of reproduction for the queen and worker castes, queens can increase the transmission rate of their genes to their reproductive female offspring while maintaining genetic diversity in the worker force. The fact that sexual reproduction has been retained to produce workers indicates that sexual reproduction might have important benefits for colony function, for example through increased defence against parasites, more efficient division of labour and an increased range of environmental conditions that a colony can tolerate<sup>7-9</sup>. Thus, if queens were also to produce workers clonally, all females within colonies would have identical genomes, whereas the mode of reproduction that we have uncovered effectively leads to levels of colony genetic diversity identical to that expected in a typical colony headed by one queen mated with one male. A similar situation of conditional use of sex by queens has been reported in another ant, *Cataglyphis cursor*<sup>10</sup>. Interestingly, in *C. cursor* and *W. auropunctata* the cost of asexual



**Figure 3** | Allele frequencies for queens (black bars) and their mates (grey bars) at each of the 11 microsatellite loci.

reproduction might be lower than in most other ants because in these two species queens do not go through a stage of independent colony founding in which queens initiate a new colony without the help and protection of workers<sup>10</sup>. However, an important difference is that parent–offspring analyses revealed numerous cases of crossing-over events in *C. cursor* as a result of automictic parthenogenesis with central fusion, a process in which two of the four products of meiosis merge. In contrast, parthenogenesis seems to be only, or at least mostly, ameiotic in *W. auropunctata* as indicated by the fact that the vast majority of queens from the same nest and sometimes all the queens from the same site have the same genotype. The relatively high level of queen heterozygosity (mean  $\pm$  s.e.m.  $0.619 \pm 0.028$ ) also shows a very low rate or the complete absence of recombination, because crossing-over should result in offspring becoming homozygous for one of the two maternal alleles and a rapid decrease in heterozygosity<sup>11</sup>.

To our knowledge there has been only one other report of clonal reproduction by males in the animal kingdom, in which it was found that 3 of 61 queens homozygous for a recessive (cordovan) mutation inducing a brown instead of the wild-type black colour produced some brown males<sup>12</sup>. This showed convincingly that some males could not originate from unfertilized eggs produced by queens, but it is possible that these males were diploid, as sometimes occurs in Hymenoptera<sup>13</sup>. Some support for the occurrence of diploid males comes from the observation that the three queens also produced some gynandromorphic males with parts of cordovan (brown) and dark coloured tissue, a pattern best explained by diploid males experiencing partial reduction of ploidy level during development. Although the available data do not allow us to conclude whether clonal reproduction by males does really occur in honeybees, it is important to note that this mode of reproduction might have remained unnoticed in social Hymenoptera because of the paucity of suitable parent–offspring genetic analyses. Good candidates for male clonal reproduction are species in which the reproduction of workers has been inferred on the basis that males harboured alleles absent in queens but present in their mates (and thus in workers).

The elimination of one of the two parental genomes during meiosis has been described in fishes, amphibians and several insect species<sup>14,15</sup>. However, these cases invariably involve the elimination of the paternal genome. A case of male induction by genome elimination has also been reported in a haplodiploid hymenopteran, the wasp *Nasonia vitripennis*, in which a paternal-sex-ratio (*psr*) chromosome induces the supercondensation and destruction of the paternal chromosomes (except *psr*) in early fertilized eggs<sup>16,17</sup>. The selfish effect of this B chromosome is to convert diploid eggs, which would have normally developed into females, into haploid males. However, in this system it is also the paternal and not the maternal genome that is eliminated. Thus, the *W. auropunctata* system described here is unique in that clonal reproduction occurs by the transmission of the paternal and not the maternal genome. This system might have evolved in response to the obligate clonal production of queens as a mechanism for males to achieve some reproductive success.

The occurrence of clonal reproduction by both males and queens has important consequences for the apportionment of genetic variability and genome evolution. Because genes are transmitted only between individuals of the same sex, there is effectively no gene flow between the male and queen gene pools. Genetic differentiation between the male and queen genomes can thus persist and accumulate, as demonstrated by the fact that the genomic compositions of queens differed notably from those of males (Fig. 3). Allele frequencies were significantly different between sexes (Fisher's exact tests,  $P < 0.00001$  for each of the 11 loci), with some loci such as *Waur-3176* being diagnostic. A dendrogram analysis also revealed that males and queens clustered on separate branches of the tree (Fig. 2). There was a complete segregation of the queens' and the

males' genomes. Accordingly, the heterozygosity of the sexually produced workers (mean  $\pm$  s.e.m.  $0.858 \pm 0.013$ ; range 0.693–0.989) was significantly higher than that of queens (permutation test,  $P = 10^{-3}$ ), and their genotypes showed a significant departure from Hardy–Weinberg equilibrium, with a strong excess of heterozygous genotypes at all loci ( $P < 10^{-5}$  at each locus).

This study shows that, in the evolutionary battle of opposing sexes, *W. auropunctata* has evolved an unusual mode of reproduction with queens circumventing the twofold cost of sexual reproduction by transferring all their genes to the reproductive females while males thwart queens by also clonally transmitting their genomes to sons. Although the male and female genomes come together in workers, this does not translate into any genetic exchange because workers are completely sterile<sup>18</sup>. As a result, the male and female genomes are completely segregated and form two distinct genetic lineages. These findings show that haplodiploidy and the caste-determination system provide grounds for the evolution of extraordinary genetic systems and that sexual conflicts are central in evolution with the potential for shaping various interactions between the sexes and their gametes<sup>19–23</sup>.

## METHODS

**Sampling.** Queens, gynes (winged queens), males and workers of *W. auropunctata* were sampled in March 2004 within their native range, in French Guiana. Thirty-four nests were surveyed and collected at five sites (Fig. 1): two coffee-tree plantations (A,  $05^{\circ} 17' 20.82''$  N,  $52^{\circ} 55' 11.40''$  W; B,  $05^{\circ} 17' 16.02''$  N,  $52^{\circ} 55' 04.08''$  W), a sand-pit (C,  $05^{\circ} 16' 13.92''$  N,  $52^{\circ} 55' 02.70''$  W), an old encampment (D,  $05^{\circ} 04' 21.18''$  N,  $52^{\circ} 01' 47.16''$  W) and a quarry (E,  $05^{\circ} 04' 16.81''$  N,  $52^{\circ} 02' 44.70''$  W). In addition, a sample of queens and males collected in New Caledonia along a forest road ( $20^{\circ} 33' 16.71''$  S,  $164^{\circ} 47' 53.23''$  E), in a coffee-tree plantation ( $22^{\circ} 01' 57.05''$  S,  $166^{\circ} 16' 12.09''$  E) and in a rainforest ( $22^{\circ} 10' 18.13''$  S,  $166^{\circ} 45' 37.16''$  E) were included in this study.

**Nuclear genotyping.** To isolate sperm DNA, the queen's abdomen was dissected as described in ref. 24. Whole individual ants were ground in cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) solution. DNA was extracted and purified in accordance with standard CTAB-based protocols. Queens, males, gynes, workers and seminal fluid were genotyped at 11 highly polymorphic microsatellite loci (*Waur-225*, *Waur-275*, *Waur-418*, *Waur-566*, *Waur-680*, *Waur-716*, *Waur-730*, *Waur-1166*, *Waur-2164*, *Waur-3176* and *Waur-Igam*; see detailed protocol in ref. 25.).

**Microsatellite analyses.** Tests for departure from Hardy–Weinberg equilibrium and genic differentiation between male and female gene pools were assessed with the exact probability tests implemented in GENEPOP 3.2a (ref. 26). Pairwise individual allele-shared distances were estimated over all loci as

$$ASD_{XY} = \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L 1 - [(n_{lX \rightarrow Y} + n_{lY \rightarrow X}) / (G_X + G_Y)]$$

where  $L$  is the number of genotyped loci,  $G_X$  and  $G_Y$  are the numbers of gene copies in individuals  $X$  and  $Y$  ( $G = 2$  for diploid genomes and  $G = 1$  for haploid genomes), respectively, and  $n_{lX \rightarrow Y}$  ( $n_{lY \rightarrow X}$ ) is the number of gene copies at locus  $l$  in individual  $X$  ( $Y$ ) for which the allelic state is also observed (that is, shared) in individual  $Y$  ( $X$ ). Calculations of allele-shared distances between pairs of individuals and construction of neighbour-joining dendrograms were performed with the program TreeMaker (S. Piry, personal communication). Dendrograms were constructed using the TreeView 1.6.6 program<sup>27</sup>.

Received 5 February; accepted 4 May 2005.

- Hamilton, W. D. Extraordinary sex ratios. *Science* **156**, 477–488 (1967).
- Eberhard, W. G. Evolutionary consequences of intracellular organelle competition. *Q. Rev. Biol.* **55**, 231–249 (1980).
- Hurst, L. D. Intragenomic conflict as an evolutionary force. *Proc. R. Soc. Lond. B* **248**, 135–140 (1992).
- Pomiankowski, A. in *Levels of Selection in Evolution* (ed. Keller, L.) 121–152 (Princeton Univ. Press, Princeton, 1999).
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. *The Ants* (Springer, Berlin, 1990).
- Torres, J. A., Snelling, R. R. & Canals, M. Seasonal and nocturnal periodicities in ant nuptial flights in the Tropics (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* **37**, 601–626 (2001).
- Sherman, P. W., Seeley, T. D. & Reeve, H. K. Parasites, pathogens, and polyandry in social Hymenoptera. *Am. Nat.* **131**, 602–610 (1988).

8. Crozier, R. H. & Page, R. E. On being the right size: male contributions and multiple mating in social Hymenoptera. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **18**, 105–115 (1985).
9. Cole, B. J. & Wiernasz, D. C. The selective advantage of low relatedness. *Science* **285**, 891–893 (1999).
10. Pearcy, M., Aron, S., Doums, C. & Keller, L. Conditional use of sex and parthenogenesis for worker and queen production in ants. *Science* **306**, 1780–1783 (2004).
11. Baudry, E. *et al.* Whole-genome scan in thelytokous-laying workers of the Cape honeybee (*Apis mellifera capensis*): central fusion, reduced recombination rates and centromere mapping using half-tetrad analysis. *Genetics* **167**, 243–252 (2004).
12. Koeniger, N., Hemmling, C. & Yoshida, T. Drones as sons of drones in *Apis mellifera*. *Apidologie (Celle)* **20**, 391–394 (1989).
13. Cook, J. M. & Crozier, R. H. Sex determination and population biology in the Hymenoptera. *Trends Ecol. Evol.* **10**, 281–286 (1995).
14. Simon, J.-C., Delmotte, F., Risper, C. & Crease, T. Phylogenetic relationships between parthenogens and their sexual relatives: the possible routes to parthenogenesis in animals. *Biol. J. Linn. Soc.* **79**, 151–163 (2003).
15. Normark, B. B. The evolution of alternative genetic systems in insects. *Annu. Rev. Entomol.* **48**, 397–423 (2003).
16. Werren, J. H., Nur, U. & Eickbush, D. An extrachromosomal factor causing loss of paternal chromosomes. *Nature* **327**, 75–76 (1987).
17. Nur, U., Werren, J. H., Eickbush, D. G., Burke, W. D. & Eickbush, T. H. A 'selfish' B chromosome that enhances its transmission by eliminating the paternal genome. *Science* **240**, 512–514 (1988).
18. Ulloa-Chacon, P. & Cherix, D. Quelques aspects de la biologie de *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera, Formicidae). *Actes Colloq. Insectes Sociaux* **4**, 177–184 (1988).
19. Rice, W. R. Sexually antagonistic male adaptation triggered by experimental arrest of female evolution. *Nature* **381**, 232–234 (1996).
20. Swanson, W. J., Yang, Z., Wolfner, M. F. & Aquadro, C. F. Positive Darwinian selection drives the evolution of several female reproductive proteins in mammals. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **98**, 2509–2514 (2001).
21. Arnqvist, G. & Rowe, L. Antagonistic coevolution between the sexes in a group of insects. *Nature* **415**, 787–789 (2002).
22. Helms-Cahan, S. & Keller, L. Complex hybrid origin of genetic caste determination in harvester ants. *Nature* **424**, 306–309 (2003).
23. Parker, J. D. A major evolutionary transition to more than two sexes? *Trends Ecol. Evol.* **19**, 83–86 (2004).
24. Chapuisat, M. Mating frequency of ant queens with alternative dispersal strategies, as revealed by microsatellite analysis of sperm. *Mol. Ecol.* **7**, 1097–1105 (1998).
25. Fournier, D. *et al.* Characterization and PCR multiplexing of polymorphic microsatellite loci for the invasive ant *Wasmannia auropunctata*. *Mol. Ecol. Notes* **5**, 239–242 (2005).
26. Raymond, M. & Rousset, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* **86**, 248–249 (1995).
27. Page, R. D. M. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput. Appl. Biosci.* **12**, 357–358 (1996).

**Acknowledgements** We are grateful to the Laboratoire Environnement de Petit Saut (EDF-CNEH) for hosting us during field work, the Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) of French Guiana for allowing access to plantations, S. Aron for performing flow cytometry analysis, and M. Chapuisat, P. Christe, D. Haig, R. Hammond, S. Helms Cahan, K. Parker and D. Queller for comments on the manuscript. The work was supported by grants from the French Ministère de l'Écologie et du Développement Durable to A.E. and the Swiss NSF to L.K.

**Author Information** Reprints and permissions information is available at [npg.nature.com/reprintsandpermissions](http://npg.nature.com/reprintsandpermissions). The authors declare no competing financial interests. Correspondence and requests for materials should be addressed to D.F. ([denis.fournier@ulb.ac.be](mailto:denis.fournier@ulb.ac.be)) or A.E. ([estoup@ensam.inra.fr](mailto:estoup@ensam.inra.fr)).

## RARE SEXUAL REPRODUCTION EVENTS IN THE CLONAL REPRODUCTION SYSTEM OF INTRODUCED POPULATIONS OF THE LITTLE FIRE ANT

JULIEN FOUCAUD,<sup>1,2</sup> HERVÉ JOURDAN,<sup>1,3,4</sup> JULIEN LE BRETON,<sup>5,6</sup> ANNE LOISEAU,<sup>1,7</sup> DJOËL KONGHOULEUX,<sup>3,8</sup> AND ARNAUD ESTOUP<sup>1,9</sup>

<sup>1</sup>Centre de Biologie et de Gestion des Populations, Institut National de Recherche Agronomique, Campus International de Baillarguet, CS 30 016, 34988 Montferrier/Lez Cedex, France

<sup>2</sup>E-mail: foucaud@ensam.inra.fr

<sup>3</sup>Laboratoire de Zoologie Appliquée, Institut de Recherche pour le Développement, 98948 Nouméa, New Caledonia

<sup>4</sup>E-mail: herve.jourdan@noumea.ird.nc

<sup>5</sup>Laboratory of Sub-Tropical Zoology, University of the Ryukyus, 903-0213 Nishihara, Okinawa, Japan

<sup>6</sup>E-mail: g046001@agr.u-ryukyu.ac.jp

<sup>7</sup>E-mail: loiseau@ensam.inra.fr

<sup>8</sup>E-mail: konghou@noumea.ird.nc

<sup>9</sup>E-mail: estoup@ensam.inra.fr

**Abstract.**—A unique reproductive system has previously been described in *Wasmannia auropunctata*, a widespread invasive ant species, where males are produced clonally, female queens are parthenogens, and female workers are produced sexually. However, these findings were mostly based on samples originating from only a limited part of the native range of the species in South America. We used microsatellite markers to uncover the reproductive modes displayed by a large number of nests collected in various invasive *W. auropunctata* populations introduced 40 years ago into New Caledonia, where the species now forms a single 450-km-long supercolony. Although the main reproduction system in New Caledonia remained clonality for both male and female reproductives, we found evidence of rare sexual reproduction events that led to the production of both new queen and male clonal lineages. All clonal lineages observed in New Caledonia potentially derived from sexual reproduction, recombination, and mutation events from a single female and a single male genotype. Hence, the male and female gene pools are not strictly separated in New Caledonia and the two sexes do not follow independent evolutionary trajectories. Our results also suggest genetic determination for both parthenogenesis and caste. We discuss the evolutionary implications of the emergence of sex in the clonal reproduction system of introduced populations of *W. auropunctata*.

**Key words.**—Caste determination, invasion, parthenogenesis, reproduction system, *Wasmannia auropunctata*.

Received February 17, 2006. Accepted May 19, 2006.

Insects display a wide variety of genetic systems, such as diploid, thelytoky, haplodiploidy and mixed systems, as well as other rare extrazygotic inheritance mechanisms (reviewed in Normark 2003). Ants (Formicidae) generally produce diploid queens and sterile workers by sexual reproduction (i.e., meiosis and fertilization) and haploid males by arrhenotokous parthenogenesis (i.e., unfertilized meiotic eggs developing into haploid individuals). More unusual modes of reproduction have been described in some ant species (Normark 2003), including the species studied here, *Wasmannia auropunctata* (Fournier et al. 2005a).

In this small myrmecine species, female workers are produced sexually, whereas female queens reproduce by thelytokous parthenogenesis (i.e., diploid eggs produced from female genetic material only, by mitosis or the fusion of meiotic products), a genetic system uncovered in only five other ant species: *Pristomyrmex punctatus* (Tsuji 1988), *Cataglyphis cursor* (Percy et al. 2004), *Platythyrea punctata* (Heinze and Hölldobler 1995), *Cerapachys biroi* (Tsuji and Yamauchi 1995), and *Messor capitatus* (Grasso et al. 2000). The male reproduction system of *W. auropunctata* is even more unique, in that males also reproduce clonally, a feature suspected, but not strictly demonstrated, in only one other social hymenopteran species, *Apis mellifera* (Koeniger et al. 1989). In most ant species, males achieve virtually all their reproductive success through the sexual transmission of their genome to the new generation of female reproductives. The reproductive success of *W. auropunctata* males is thus potentially

reduced to zero by the parthenogenetic production of female queens. Male clonal reproduction could therefore be considered as an evolutionary response to overcome a complete reduction of their fitness (Fournier et al. 2005a). Male clonal reproduction in *W. auropunctata* is thought to involve paternal elimination of the maternal genome from the egg (Fournier et al. 2005a). Although elimination of the paternal genome has been uncovered in a variety of taxa (Normark 2003), *W. auropunctata* represents one of the few known examples of clonal reproduction involving elimination of the maternal genome (McKone and Halpern 2003). This unique reproduction system results in the complete separation of male and female gene pools, potentially allowing the two sexes to follow different evolutionary pathways, provided that they continue to cooperate in the mutualistic production of sterile workers (Queller 2005). This system might allow male and female sexuals to reorganize their genomes independently and potentially escape the load of carrying functional genes from the other sex, thereby directly increasing their own gene transmission rate. Sexual production of workers increases their genetic diversity, potentially enhancing overall colony function through efficient division of labor (Robinson 1992; Percy et al. 2004), resistance to parasites (Hughes and Boomsma 2004), or increasing the range of environments tolerated by the colony (Crozier and Page 1985).

The *W. auropunctata* reproduction system is not the only remarkable feature of this species; it is also a so-called tramp

ant species (Passera 1994). Tramp ants are often ecologically dominant within various habitats of their introduced range, where they pose serious threats to both natural ecosystems and human activities (Sakai et al. 2001; Holway et al. 2002). These ants, which belong to various taxa, usually possess a colony structure known as unicoloniality, in which reproductives, workers, and brood can mix freely between nests. This social organization ultimately leads to the formation of vast cooperative networks of nests showing no intraspecific aggression, called supercolonies (Markin 1968). Four tramp species, including *W. auropunctata*, have been classified among the most damaging invasive species on Earth (Lowe et al. 2000). *Wasmannia auropunctata* originates from the South American rainforest. Long-distance human transport has readily spread the species in nearly all the tropics, from Africa to Oceania (Jourdan 1997; Walsh et al. 2004), where it has now become a serious concern for the conservation of biodiversity and human activities (Jourdan et al. 2001; Le Breton et al. 2003, 2005). It was first recorded in the mid-1960s in New Caledonia (Jourdan 1997), a large Pacific island (19,000 km<sup>2</sup>) classified as a biodiversity hotspot (Myers et al. 2000). In the 40 years since its introduction, *W. auropunctata* has invaded the entire island and now forms a single 450-km-long supercolony (Le Breton et al. 2004).

The unusual reproduction system of *W. auropunctata* may constitute a key element in its invasive success. It is commonly argued that a clonal reproduction system can help a species to establish itself successfully early in invasion, because of the assurance of reproduction of initially small populations (Sakai et al. 2001). Clonal reproduction systems may also constitute a major demographic advantage (the two-fold cost of sex) during the range-expansion phase (Vorburger et al. 2003). Consistent with these hypotheses, clonal plants and animals have been shown to be effective colonists (Baker 1955; Samadi et al. 1999). However, such arguments may not apply to *W. auropunctata* or to ants in general. A single inseminated queen, whether clonal or sexual, alone or with a few workers, may have the reproductive potential to establish a new population, as the queen does not need to encounter a male when already inseminated (Moller 1996). Moreover, the unusual reproduction system of *W. auropunctata* does not render the male sex obsolete because workers are produced sexually.

To date, the unique reproduction system of *W. auropunctata* has been described in a limited part of the native range (i.e., French Guiana) and only in a small sample from the introduced range of the species (i.e., four nests from New Caledonia; Fournier et al. 2005a). However, new ecological conditions encountered by introduced populations of *W. auropunctata* such as those of New Caledonia are likely to represent new selective pressures that may affect their modes of reproduction. In particular, sexual reproduction has the potential to generate new genetic variants more rapidly than parthenogenesis (Colegrave 2002; but see Lushai et al. 2003), a feature that can be critical for the successful establishment and spread of a species in a new environment (Sakai et al. 2001). However, the clonal production of reproductives can maintain efficient combinations of genes over time, whereas sexual reproduction randomly breaks up favorable genetic combinations at each generation (Rouzine et al. 2003). There-

fore, introduced populations of *W. auropunctata* may, at least theoretically, display a mixed reproduction system.

Here, we used microsatellite markers to uncover the reproductive modes displayed by a large number of nests and introduced New Caledonian populations of *W. auropunctata*, with a particular interest in identifying evolutionary transitions between clonal and sexual modes of reproduction. The second aim of this study was to provide insights into the colonization process of New Caledonia by *W. auropunctata*.

## MATERIALS AND METHODS

### *Field Collection*

A total of 82 nests (i.e., an aggregation of workers, brood, and/or queens within a woodstick or between dead leaves) were collected in August 2003 and October 2004 from nine sites located across the main island of New Caledonia (Fig. 1). Sites were separated by 1–451 km (mean  $\pm$  SD = 214  $\pm$  132 km) and represent various types of ecologically disturbed or natural habitats: Port-Laguerre (secondary forest, first known occurrence of *W. auropunctata* in New Caledonia, 25 nests), Boulouparis-Thio (roadside, 20 nests), Bois du Sud (tropical rainforest, 13 nests), Hienghène (plantations, five nests), Paouta (plantations, five nests), Pindaï (tropical dry forest, five nests), Koumac (mesophyll forest, four nests), and two sites in the locality of Mont Panié, Mont Panié 1 (tropical rainforest, two nests) and Mont Panié 2 (secondary forest, three nests). For each nest, at least 30 workers and most if not all of the reproductives present were collected. Queens were present in 68 of the 82 collected nests (one to 37 queens per nest), gynes (i.e., virgin female reproductives) were present in 14 nests (one to 23 gynes per nest), and males were present in seven nests (three to 29 males per nest). The distance between sampled nests was never less than 2 m. Four of these nests included inseminated queens, gynes, and males at the larval stage (i.e., three nests from Mont Panier and one nest from Bois du Sud). Only these latter four nests were previously analyzed by Fournier et al. (2005a) because they provided direct parent-offspring relationships and therefore allowed confirmation of more indirect evidence of clonality obtained from a large number of nests collected in French Guiana. The remaining 78 nests were specifically analyzed for the present survey.

### *Microsatellite Genotyping and Statistical Analysis*

DNA was extracted from at least eight workers and all collected reproductives for each nest. We carried out genotyping at 12 microsatellite loci, as described by Fournier et al. (2005b). We also analyzed the spermathecal contents of 121 queens, as described by Chapuisat (1998). We genotyped 1488 specimens in total (queens, workers, males, and spermathecal contents). The number of genotyped individuals for each caste and site are presented in Table 1. The genotype dataset can be obtained from the authors upon request. Polymerase chain reaction products were separated on a MegaBace DNA sequencer (GE Healthcare, Uppsala, Sweden), and gel files were analyzed using Genetic Profiler (GE Healthcare).

To characterize the reproductive systems and the relation-

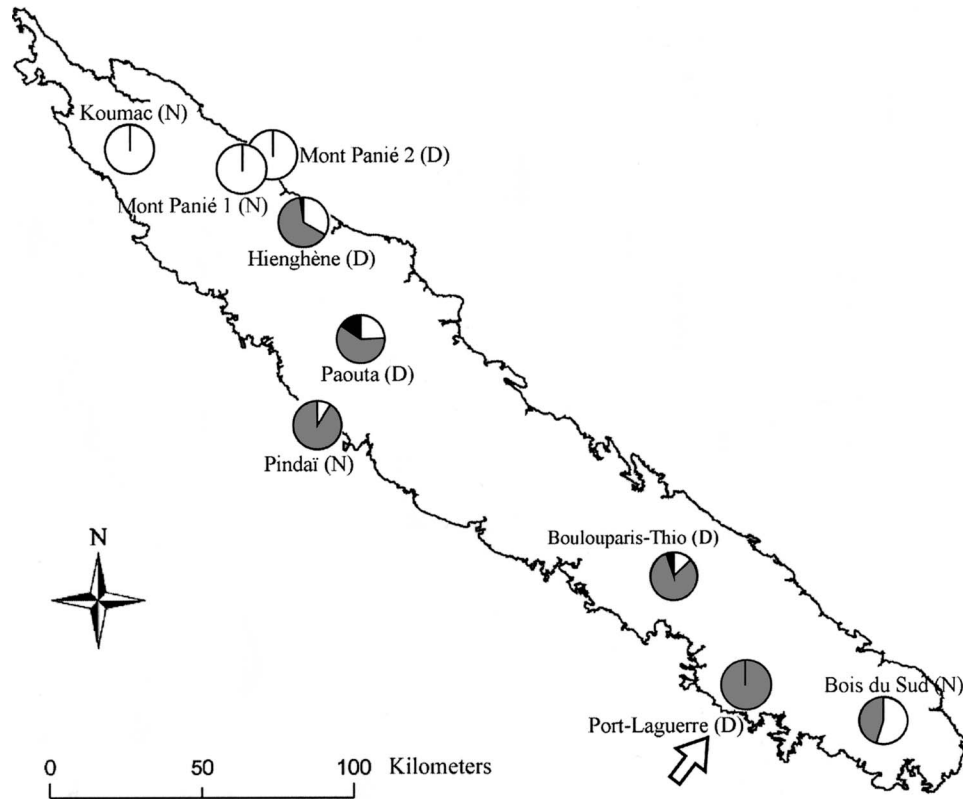


FIG. 1. Study sites and queen type distribution. White, Q0 queens; gray, Q2; black, Q3 queens (for details see results sections Main Modes of Reproduction of Reproductives and Alternative Modes of Reproduction of Reproductives). Ecological status of site in parentheses: D, disturbed; N, natural. The white arrow indicate the original introduction point (Port-Laguerre).

ships between genotypes, individual microsatellite genotypes were investigated visually and using three personal programs developed in the Pascal object programming language (inquiries about details of the programs should be sent to J. Foucaud). The first program was used to identify clones (i.e., identical multilocus genotypes) in a given sample of genotypes. The second program was used to compute the probability of observing identical individual genotypes assuming sexual reproduction given: (1) the number of heterozygous loci in the mother's genotype  $x$ ; (2) the number of genotyped diploid offspring  $y$ ; and (3) the number and size of groups of offspring with identical multilocus genotypes. More specifically, this program simulates the production through sexual reproduction of  $y$  diploid genotypes (without mutation)

from a mother's genotype  $x$  and compares the simulated number and size of groups of offspring with identical genotypes with those observed in the samples. This process is iterated  $10^6$  times, and the probability that the observed configuration can be produced by sexual reproduction alone is computed as the proportion of times the number of groups in the simulated dataset is at least as large as that in the observed dataset. A third personal program was used to construct dendrograms from individual genotypes using the neighbor-joining algorithm. The genetic distance used to construct the dendrograms was a variant of the Chakraborty and Jin's (1993) allele-shared distance, as defined in Fournier et al. (2005a). A four-level hierarchical  $F$ -statistics analysis was performed for the entire worker dataset using HierFstat (Goudet 2005). The hierarchical levels were individual, nest, site, and across New Caledonia.

TABLE 1. Number of genotyped queens, workers, males, and spermathecal contents for each sampled site.

Site	Queens	Workers	Males	Sperm	Total
Bois du Sud	161	104	7	52	324
Pindai	45	40	0	0	85
Mont Panié 1	42	40	16	12	110
Koumac	45	40	29	0	114
Boulouparis-Thio	55	159	0	21	235
Port Laguerre	102	199	0	16	317
Mont Panié 2	40	40	35	18	133
Hienghène	45	40	0	0	85
Paouta	45	40	0	0	85
Total	580	702	87	119	1488

RESULTS

*Main Modes of Reproduction of Reproductives*

For 203 of the 206 male genotypes, at least one other male in the sample displayed an identical genotype at all 12 microsatellite loci. These males clustered into five groups, comprising two to 93 genotypically identical individuals. Of 580 genotyped queens, 512 clustered into 30 groups of two to 242 individuals with identical genotypes at all 12 loci. These results indicate that most male and female reproductives were produced by means of two different clonal reproduction sys-

tems (i.e., clonality for males and thelytokous parthenogenesis for queens).

This pattern is consistent with the findings of Fournier et al. (2005a) in *W. auropunctata* populations from French Guiana (and four nests from New Caledonia, see Materials and Methods section). However, a neighbour-joining dendrogram including reproductives from this study and from the dataset of Fournier et al. (2005a) showed different relationships among the New Caledonian genotypes and among the Guianese genotypes (Fig. 2). Whereas Guianese genotypes gather together into well-defined clusters connected by long branches, the New Caledonian genotypes form a single dense aggregation of genotypes connected by short branches. This pattern indicates a closer coancestry and hence a more recent diversification of New Caledonian genotypes than Guianese genotypes. Moreover, New Caledonian male and queen genotypes do not form strictly separated clusters, as for the Guianese populations. The New Caledonian male and queen main clusters are connected via a number of intermediate queen genotypes, and one New Caledonian male genotype is nested within the New Caledonian queen cluster (Fig. 2). This pattern indicates that male and queen gene pools are not strictly separated in New Caledonia and that sexual reproduction may occur, probably at low frequency, in this area, in contrast to what has been previously found for the Guianese populations (Fournier et al. 2005a). Finally, we note that New Caledonian and Guianese genotypes form two completely distinct clusters, indicating that the introduced New Caledonian population does not originate from the previously sampled sites of French Guiana. Similar individual tree topologies were obtained using genetic distances traditionally used for microsatellite population data (i.e., Nei et al.'s [1983]  $D_A$  distance and Cavalli-Sforza and Edwards' [1967] chord distance; Takezaki and Nei 1996).

The five New Caledonian male clonal groups, plus two unique male genotypes (at the very bottom of the dendrogram in Fig. 2), differed from each other by a single locus, with one allele shorter or larger by a single dinucleotide repeat. This allelic pattern is typical of mutational events at microsatellite loci. The observed genotypes are therefore consistent with the transmission of a single male genome via a clonal reproduction system, which slowly diversifies through rare mutational events. These 205 males will be hereafter referred to as M0 males.

Of the 30 New Caledonian queen clonal groups, 29 included a moderate number of queens (from two to 38), whereas the last group was much larger (242 queens). The genotypes shared by the queens of one small group (three individuals) differed only slightly from that of the largest group, in that these queens were homozygous for one of the two alleles of the largest group at a single locus. Because the two original alleles differed by four dinucleotide repeats, this variation is more likely to result from a recombination event during thelytokous parthenogenesis (Haccou and Schneider 2004) than from a mutational event. The queens of these last two groups (245 of the 580 genotyped queens) will be referred to hereafter as Q0 queens.

Interestingly, Q0 queens and M0 males do not share any alleles at 11 of the 12 genotyped loci. This almost complete separation of the clonal Q0 and M0 gene pools is consistent

with the situation observed by Fournier et al. (2005a). Note that the four nests from New Caledonia analyzed in Fournier et al. (2005a) included only Q0 and M0 genotypes. We hence defined two categories of allele at the 11 loci differing between males and queens: Q0 alleles and their mutational derivatives were classified as "female" alleles, and M0 alleles and their mutational derivatives were classified as "male" alleles (Table 2). This classification facilitated further investigation of the evolutionary origin of non-Q0 queens and non-M0 males.

#### *Alternative Modes of Reproduction of Reproductives*

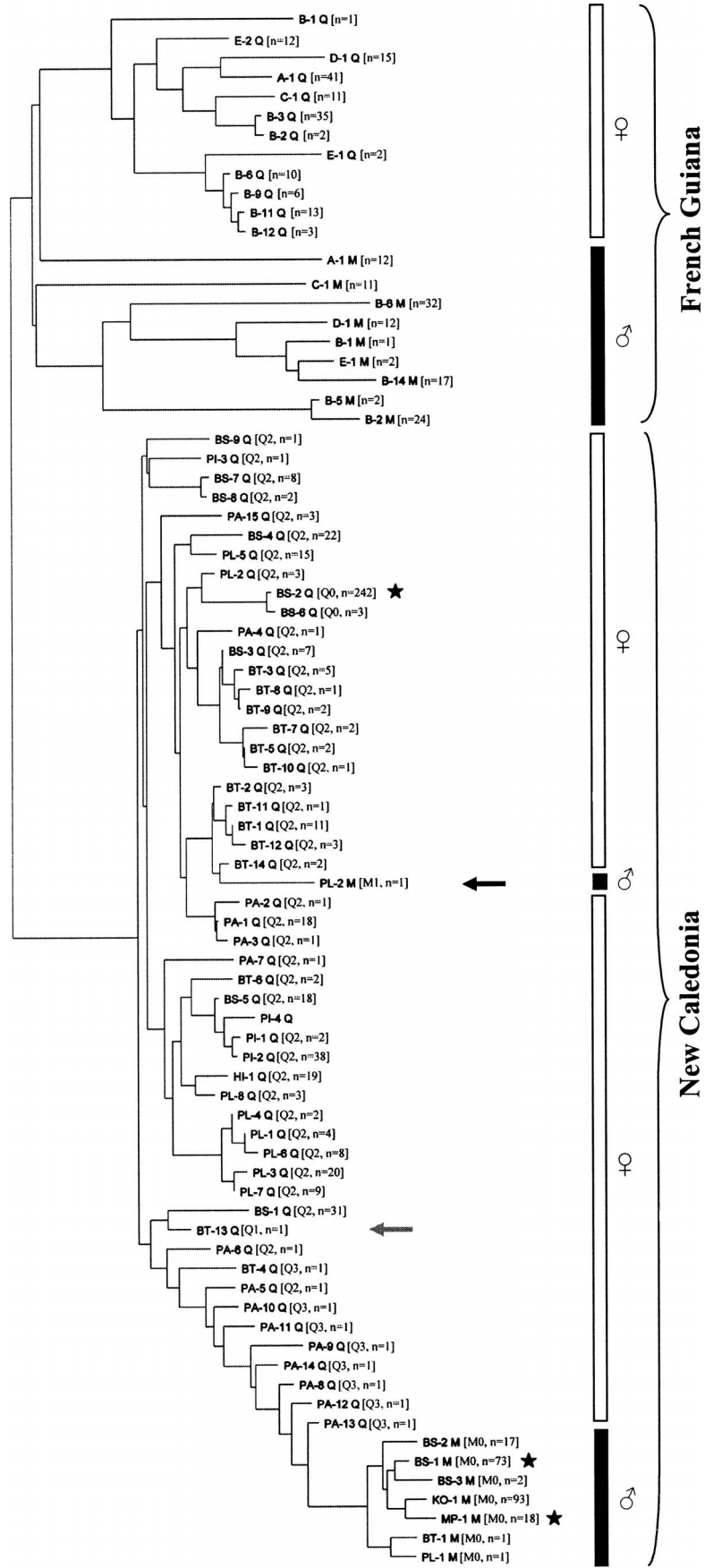
The 335 non-Q0 queens of our sample can be classified into three types according to the number of male alleles present in their genotypes (Fig. 3A).

First, only one queen in our sample, hereafter referred to as Q1, had 50% of male alleles and 50% of female alleles at the diagnostic loci and was, therefore, probably the result of a sexual reproduction event between a Q0 queen and a M0 male (which do not share any alleles, Figs. 3B and 4). This Q1 queen probably produced the only non-M0 male of our sample, hereafter named M1, by classic arrhenotokous parthenogenesis. This unique M1 male had 50% of male alleles and 50% of female alleles at the diagnostic loci. We must stress that no male bearing only female alleles was observed in our sample, indicating that Q0 queens do not produce any male through arrhenotokous parthenogenesis.

Second, we observed 323 queens (Q2 type) with three to 10 male alleles at the 11 diagnostic loci (Fig. 3A). This pattern probably reflects the occurrence of several independent sexual reproduction events between Q0 queens and different M1 male genotypes (Figs. 3B and 4). Finally, 11 queens (Q3 type) had 13 to 18 male alleles at the diagnostic loci (Fig. 3A). Such genotypes probably resulted from several  $Q2 \times M0$  sexual events (Figs. 3B and 4).

Following their production by a  $Q0 \times M1$  sexual reproduction event, we found evidence that most Q2 queens reproduce parthenogenetically. First, Q2 queens formed 28 groups of individuals showing identical genotypes (between two and 38 individuals per group, mean = 9.5). Secondly, all Q2 queens and their daughter gynes collected within the same nest displayed identical genotypes (11 occurrences in four different sites). All genotypes of the 56 Q2 queens that did not belong to any group of clones differed from one of the 28 Q2 clonal lineages by a single mutation step or a single recombination step, as defined above, indicating that they might also have been clonally produced. Some of the 28 clonal lineages also differed by a single mutation step or a single recombination step from each other. Altogether, these observations suggest that Q2 queens mainly reproduce parthenogenetically. Close examination of the relationships between multilocus queen genotypes indicated that the emergence of the 28 Q2 clonal lineages may be explained by 13 independent  $Q0 \times M1$  sexual events, and 14 recombination and two mutation events consistent with parthenogenetic reproduction (Fig. 5). Moreover, as Q3 genotypes imply  $Q2 \times M0$  reproduction events, at least 11 additional sexual reproduction events might have occurred in New Caledonian populations of *W. auropunctata*.





Unlike Q0 and Q2 queens, we found no evidence of clonal reproduction for Q1 and Q3 queens. None of the Q1 or the Q3 queens had strictly identical genotypes or genotypes that could be derived through recombination or mutation events. However, the small sample size for both Q1 (one individual) and Q3 (11 individuals) queens precludes any definitive conclusion on this point. Nonetheless, the strong underrepresentation of Q1 and Q3 queens in our sample may itself indicate that these queens could be unable to reproduce clonally.

*Mode of Worker Production*

Unlike reproductives, we found that the workers were produced by sexual reproduction. In the 31 nests in which the spermathecal content of queens has been genotyped, a majority of worker genotypes (63%) displayed an allelic segregation fully consistent with sexual production by the local queens and their sperm content. The rest displayed either a genotype that differed at a single locus with one allele shorter or larger by a single dinucleotide repeat, hence suggesting a mutational event at this locus (2%), or a genotype consistent with their sexual production in a neighboring nest (35%).

Although 78 groups of two to seven workers displayed identical genotypes, this pattern is still compatible with sexual reproduction being the main, if not the only means of producing workers. First, none of the workers in our sample of 702 individuals carried only female alleles, indicating that at least Q0 queens did not produce workers parthenogenetically. Second, 57 of these 78 groups included workers from geographically remote sites that could not have originated from the same mother queen. Third, the relatively small numbers of male and queen genotypes increases the probability of individuals produced by sexual means having identical genotypes. Simulation-based computations considering Q0-derived workers (Q0 queens being heterozygous at eight loci) showed that the probability of obtaining the observed pattern of groups of individuals with identical genotypes was equal to 0.995 when workers are assumed to be produced by sexual reproduction alone.

*Invasion Scenarios*

All non-Q0 lineages could derive from a single Q0 lineage and a single M0 lineage through sexual reproduction, recombination, and mutation events. This pattern is therefore consistent with the introduction into New Caledonia of a single Q0 genotype and a single M0 genotype.

A first alternative scenario would be that the originally introduced queen type is Q2 or Q3, and that Q0 is a derived

TABLE 2. New Caledonian “male” and “female” alleles at the 11 diagnostic loci. Frequent alleles (i.e., with a frequency >0.25 in the given sex) are in bold-italic characters, other alleles are rare (i.e., with a frequency <0.05). Note that frequent female alleles represent the Q0 genotype and that frequent male alleles represent the M0 genotype (see text for details). Male alleles 326 and 328 of locus *Waur-2164* have been found at high frequency and hence both appear in bold-italic characters. Classification of alleles 118 of locus *Waur-418* and 178 of locus *Waur-730* are tentative, because of their intermediate size between clearly defined male and female alleles. We classified them as male and female, respectively, because they were found in a single male and a single queen.

Locus	Male alleles			Female alleles		
<i>Waur-1gam</i>	298	<b>300</b>		<b>288</b>	<b>294</b>	
<i>Waur-2164</i>	324	<b>326</b>	<b>328</b>	330	288	<b>290</b> <b>292</b>
<i>Waur-225</i>		<b>225</b>			<b>223</b>	
<i>Waur-275</i>		<b>115</b>			<b>113</b>	129 <b>131</b>
<i>Waur-3176</i>		<b>232</b>	234		224	<b>226</b>
<i>Waur-418</i>	118	<b>120</b>	122		<b>102</b>	<b>116</b>
<i>Waur-521</i>		<b>200</b>			206	<b>208</b> 213 <b>215</b>
<i>Waur-566</i>		<b>267</b>			<b>263</b>	
<i>Waur-680</i>		<b>165</b>	167		<b>173</b>	
<i>Waur-716</i>	190	<b>192</b>			<b>184</b>	<b>196</b>
<i>Waur-730</i>	174	<b>176</b>			<b>156</b>	158 178 <b>180</b>

type. This scenario seems much less parsimonious than the above Q0 introduction scenario for at least three reasons. First, a male bearing only female alleles would be required to generate a Q0 queen from a Q2 queen. We never observed such a male genotype despite extensive sampling and the male clonal reproduction. Second, we observed only two groups of Q0 queens, with only slightly different highly heterozygous genotypes. Even if the Q0 queen type was to be a successful Q2-derived type, we would expect to observe many different Q0 genotypes with various level of heterozygosity (as found for the Q2 queen type). Third, generating a Q0 queen type from a Q3 type seems difficult, as this would require many different Q3 genotypes and a number of intermediate male and queen genotypes that were not observed in our sample.

A second alternative scenario would be that the observed genotype pattern is due to multiple introductions of related queens. Again, this scenario seems unlikely for two main reasons. First, given the large distance and the scarcity of trading between New Caledonia and the *W. auropunctata* native area, introduction events are unlikely to be frequent. Second, in its native range in South America, *W. auropunctata* is organized in a patchwork of small (generally less than 1 km<sup>2</sup>) colonies that are genetically different one from another (Fournier et al. 2005a). Therefore, the multiple intro-

←

FIG. 2. Neighbor-joining dendrogram of the genetic (allele-shared) distance between a subset of genotypes of reproductives from New Caledonia and genotypes of reproductives from French Guiana (Fournier et al. 2005a). White bars on the right indicate queens (Q) and black bars males (M). The queen type (Q0, Q1, Q2, Q3) or male type (M0, M1) and the number of identical genotypes (*n*) are indicated in brackets. The New Caledonian subset consists of all male and female clonal lineages (*n* > 1) and 24 randomly chosen unique genotypes of reproductives (*n* = 1). The unique M1 and Q1 genotypes of our sample are indicated with a black and a gray arrow, respectively. Black stars indicate the New Caledonian genotypes in Fournier et al. (2005a). New Caledonian sampling sites are given for each genotype by a two letter code: BS, Bois du Sud; PI, Pindaï; MP, Mont Panié; KO, Koumac; BT, Boulouparis-Thio; PL, Port Laguerre; HI, Hienghène; PA, Paouta (see Fig. 1). French Guiana sites are given by a single letter code as in Fournier et al. (2005a). The rooting shown should not be taken as evidence for evolutionary transitions and cannot be used for inference of the ancestral genotypes first introduced in New Caledonia.

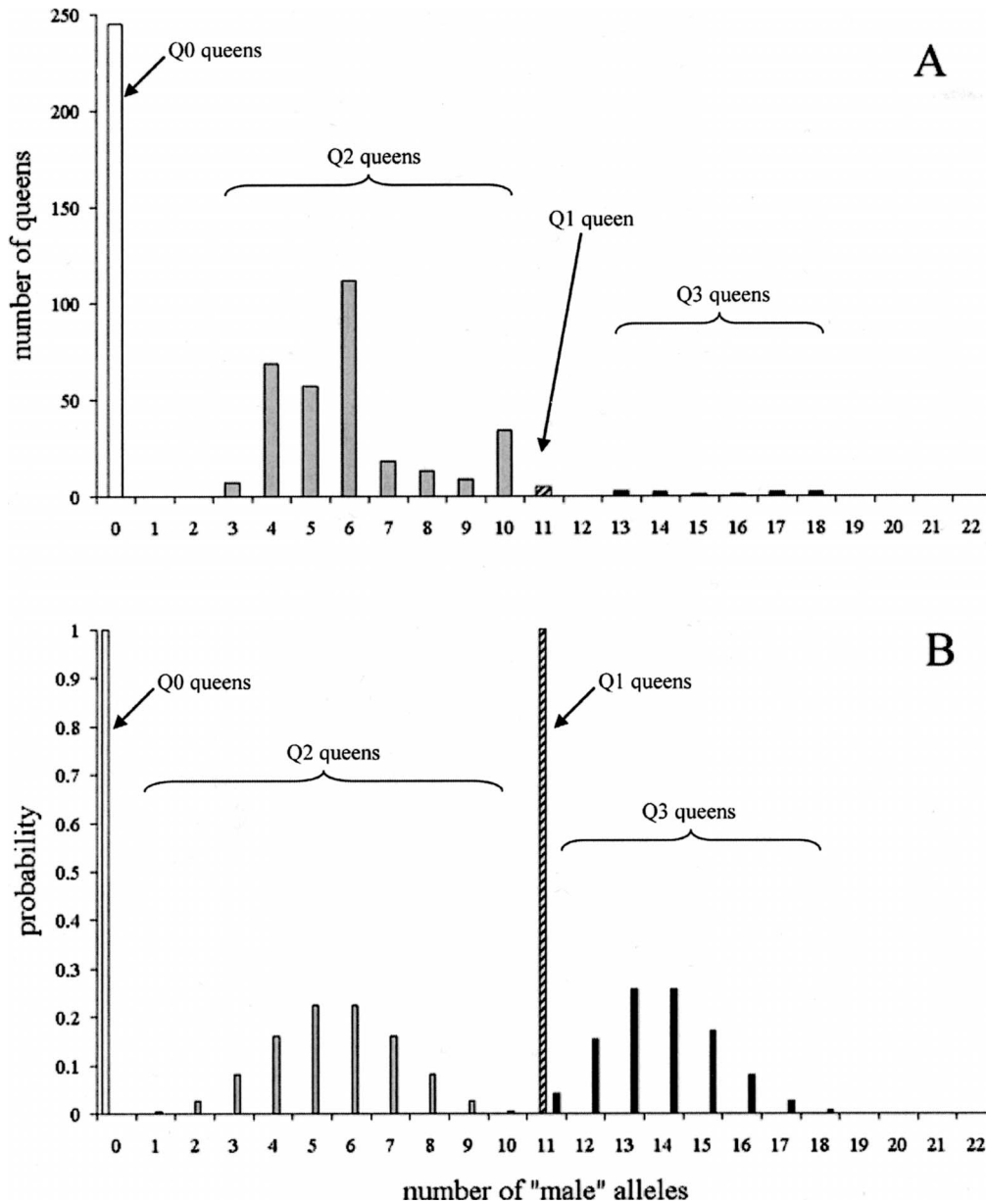


FIG. 3. Distribution of the number of ‘‘male’’ alleles in queens over 11 diagnostic loci: (A) observed distribution; (B) theoretical distribution. White, dashed, gray, and black bars indicate Q0, Q1, Q2, and Q3 queens, respectively. In (B), the probabilities of bearing  $i$  male alleles for Q2 queens and of bearing  $i + 11$  male alleles for Q3 queens were analytically calculated as  $P_{Q2}(i) = \sum_{j=0}^{11} C_{11}^j (1/2)^{11}$  and  $P_{Q3}(i + 11) = \sum_{j=0}^{11} C_{11}^j (3/4)^{11-j} (1/4)^j$  respectively.

ductions postulated under the second alternative scenario are unlikely, because they should originate from a very small geographic area to account for the genotype pattern observed in New Caledonia.

Hence, an invasion scenario involving a single introduction of the Q0 genotype and the M0 genotype, which further differentiate through mutation, recombination, and sexual reproduction events represents the most parsimonious scenario to account for the observed genotype data.

*Spatial Distribution and Dispersal of Reproductives*

The initial introduction site, Port-Laguerre, is a no-Q0, all-Q2 site, whereas the sites the furthest (Koumac, Mont Panié

1 and 2) are all-Q0, no-Q2 sites (Fig. 1). The five remaining sites contained a mixture of Q0 and Q2 queens. The spatial distribution of queen types appears to be related to the distance from the original point of introduction. Although not statistically significant (but note that  $n = 8$ ), a strong positive correlation could be observed between the queen type ratio  $Q0/(Q0 + Q1 + Q2 + Q3)$  and the distance to the point of introduction (linear distance,  $r = 0.66, P = 0.077$ ; distance by road,  $r = 0.62, P = 0.10$ ). We considered both linear distance and distance by road because the large-scale migration of reproductives is thought to be mediated primarily by human transport (Passera 1994; Walsh et al. 2004).

The 28 Q2 clonal lineages were highly structured spatially,

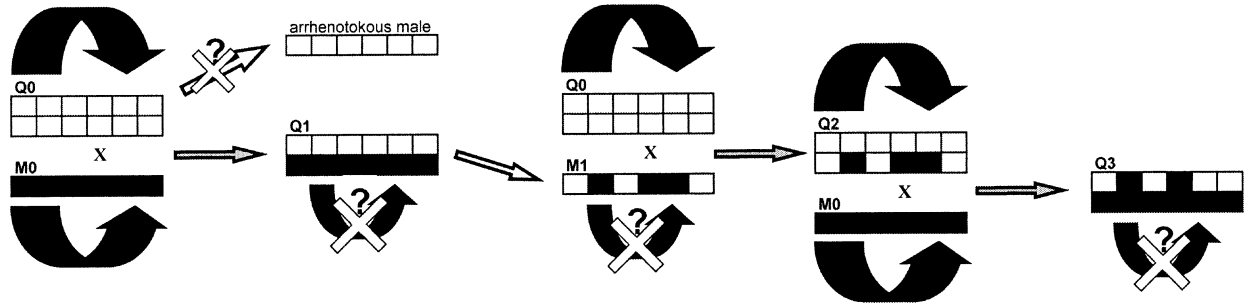


FIG. 4. Reproduction modes of reproductives in New Caledonian populations of *Wasmannia auropunctata*. Black arrow indicates clonal reproduction, gray arrow indicates sexual reproduction, white arrow indicates arrhenotokous parthenogenesis, crossed arrows with question mark indicate other potential but not observed reproductive modes, broad arrows indicate frequent events, and narrow arrows indicate rare events.

with 25 of these lineages found at a single site and most lineages differing by recombination or mutation events found at the same site (Fig. 5). This pattern indicates a low dispersal rate of queens in New Caledonian populations. Consistent with this, significant queen genetic differentiation was observed between sites ( $F_{\text{site-total}} = 0.099, P < 10^{-4}$ ) and between nests within sites ( $F_{\text{nest-site}} = 0.132, P < 10^{-4}$ ). A lower but significant level of worker differentiation was observed between sites ( $F_{\text{site-total}} = 0.025, P < 10^{-4}$ ) and between nests within sites ( $F_{\text{nest-site}} = 0.021, P < 10^{-4}$ ). The lower differentiation for workers than for queens is an expected outcome of the sexual production of workers involving almost exclusively clonal M0 males. Moreover, three of the five M0 clonal groups of males were widely distributed throughout New Caledonia, a pattern compatible with the occurrence of more frequent long-distance dispersal events for males than for queens.

DISCUSSION

A recent genetic survey of *W. auropunctata* restricted to a small geographic area of the native range of the species (French Guiana) and four nests from New Caledonia showed a unique reproduction system in which males and females reproduce separately through clonal systems, while only the workers are produced sexually (Fournier et al. 2005a). The present extensive survey (82 nests collected at various locations across New Caledonia) confirms that reproductives and workers were primarily produced by similar reproduction systems all over New Caledonia. However, we found that, unlike the populations in French Guiana (which only displayed clonal production of reproductives, leading to a strict separation of male and female gene pools), New Caledonian populations showed the hallmarks of rare sexual reproduction events in the production of queens and males. Such sexual

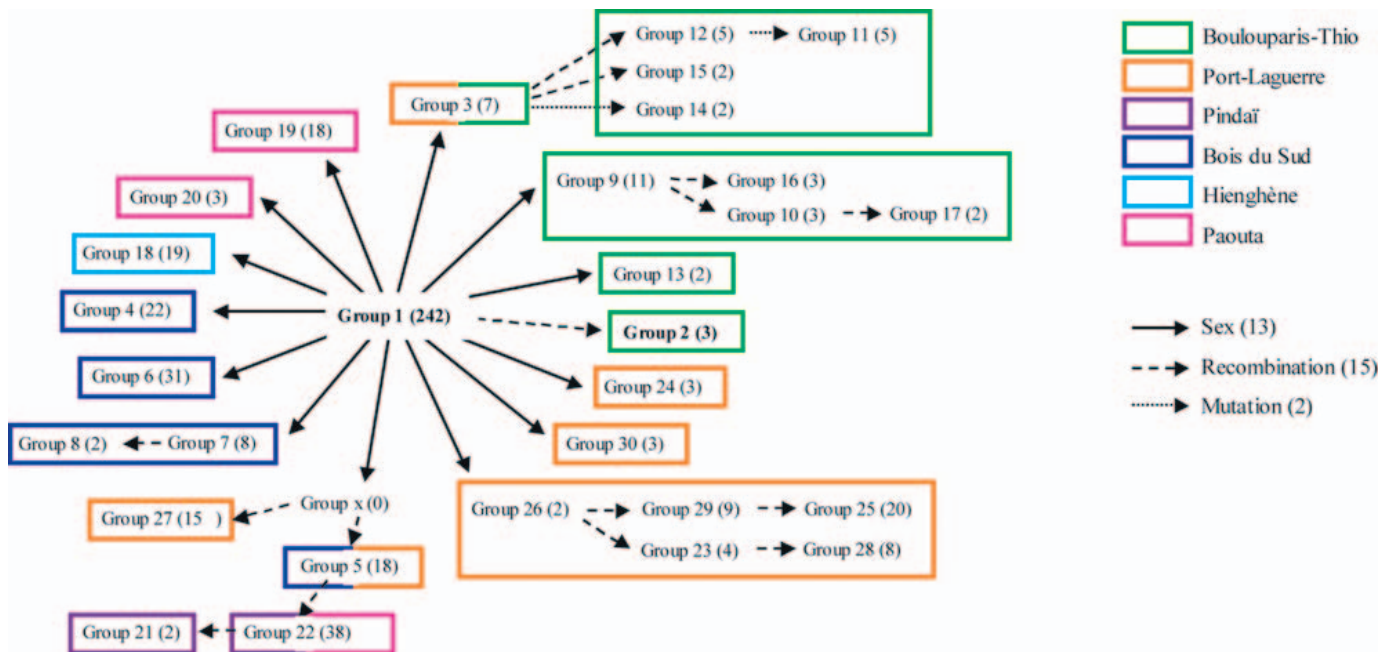


FIG. 5. Evolutionary origin and geographic distribution of the two Q0 and 28 Q2 clonal queen lineages found in New Caledonia. Q0 queens are shown in bold characters, the other queens are Q2 queens. The number of individuals in each group is shown in parentheses. A total of 13 sexual reproduction events, 15 recombination events (14 in Q2 lineages and one in the Q0 lineage), and two mutational events could be inferred. An additional 11 sexual reproduction events were inferred from Q3 queens (not shown).

reproduction events led to the production of new derived clonal lineages. As a consequence, although the separation of male and female gene pools remains strong, this separation is not complete in New Caledonian populations. *Wasmannia auropunctata* males and females therefore do not strictly form separate evolutionary units, at least in the particular historical and ecological context of New Caledonian introduced populations. Our findings also suggest the possibility of variation in the reproduction systems of *W. auropunctata*, with populations showing different rates of clonal versus sexual production of males and queens.

Only a single sampled queen and a single sampled male provided direct evidence of sexual reproduction events in introduced populations of New Caledonia (see Fig. 2). However, close examination of both the relationships between genotypes and the distribution of alleles in the different lineages observed in the 82 nests provided strong indirect evidences of additional rare sexual reproduction events, with a total of at least 24 sexual reproduction events inferred since the introduction of *W. auropunctata* in New Caledonia 40 years ago. Such a pattern could not have been inferred from the four nests from New Caledonia analyzed in Fournier et al. (2005a) because they contained only Q0 and M0 genotypes. Moreover, the relationships between the genotypes of the different clonal lineages observed in populations from French Guiana did not show the close coancestry and recent diversification through sexual reproduction events, as we have found for New Caledonian genotypes (Fig. 2). Although extensive datasets are now available for populations from both French Guiana and New Caledonia, laboratory experiments with controlled pedigrees would be particularly useful to definitively confirm the *W. auropunctata* reproduction systems and to study their proximate mechanisms. These experiments are under way in our laboratory. Given the occasional sexual reproduction events in New Caledonia, such events now seem more plausible than previously expected in both native and introduced populations of *W. auropunctata*.

#### Male Clonality

The male clonality pattern observed in *W. auropunctata* is consistent with a maternal genome elimination mechanism (i.e., the elimination of the maternal genome by the male genome in the egg after fertilization), as hypothesized in Fournier et al. (2005a). Although rarely observed, maternal genome elimination has been previously demonstrated in several species of *Corbicula* clams (Komaru et al. 1998) and in *Bacillus* stick insects (Scali et al. 2003). However, a mechanism of maternal genome elimination induced by the male genome after fertilization cannot easily explain the observed worker to male ratio in *W. auropunctata* nests (i.e., few if any males vs. several hundred workers per nest in most nests; data not shown). The large number of sexually produced workers implies that the maternal genome is not systematically eliminated by the male genetic contribution. Female control would therefore be required to account for the observed worker-to-male ratio in nests, either by queens at the level of fertilization or by workers at the level of egg policing (i.e., worker control on egg raising). A more parsimonious hypothesis would be that clonal males are the outcome of

normal fertilization of eggs lacking maternal genomic material, produced by a limited number of queens.

Our study demonstrated the lack of arrhenotokous male production by Q0 queens. Although this striking feature remains to be explained, we note that worker control over egg raising may account for this absence. Because workers share only 0.25 of their genes with arrhenotokous males and 0.50 of their genes with the competing M0 clonal males, kin selection theory (Hamilton 1964) predicts that workers should favor the rearing of M0 males.

#### Female Parthenogenesis

In Fournier et al. (2005a), only a single queen genotype among the 142 analyzed queens showed evidence of recombination, hence suggesting that queens from Guianese populations were produced by apomictic parthenogenesis (i.e., eggs produced from unreduced diploid cells, without meiosis). Our study (580 queens genotyped) reveals that 14 of the 30 clonal queen lineages sampled in New Caledonia were derived from independent heterozygote-to-homozygote locus recombination events, suggesting that queen parthenogenesis may be automictic (i.e., eggs produced from the fusion of two gametes, allowing restoration of diploidy) rather than apomictic. The rate of recombination was found to be low in *W. auropunctata*, resulting in the maintenance of high levels of heterozygosity. The low rate of recombination in *W. auropunctata* suggests that its female parthenogenesis mechanism might be automixis with central fusion, as recently found in *C. cursor* (Percy et al. 2006) and in the automictic *A. mellifera capensis* subspecies (Baudry et al. 2004).

Not all queen types seem to reproduce parthenogenetically. We found no evidence of clonal reproduction for Q1 and Q3 queens, unlike Q0 and Q2 queens. The main difference between these two groups of queen types is that at least half of the genome of Q1 and Q3 queens is of male origin. This pattern suggests that female parthenogenesis may be under the control of a single locus, with two female alleles required for parthenogenesis, as recently found in *A. mellifera capensis* (Lattorff et al. 2005).

#### Genetic Determination of Caste

In ants, caste is usually considered to be environmentally determined and controlled by the workers (Crozier and Pamilo 1996). However, worker control is unlikely to account for the existing distribution of queen and worker genotypes in *W. auropunctata*. If this were the case, *W. auropunctata* workers should favor the rearing of their own sexually produced sisters (with which they share 0.75 of their genes) as queens. Instead, we found that clonally produced eggs, who share only 0.50 of their genes with workers, invariably develop into the queen caste. Alternatively, queens themselves could favor their clonal eggs to become queens and eliminate sexually produced queen larvae. However, queen control could not account for the pattern uncovered in the male sex, where virtually no queen alleles are transmitted. Caste determination may therefore be under genetic control in this species. Our analyses show that 98% of sampled queens have a high proportion of female alleles (75–100% female alleles, so that most if not all loci possess two female alleles) and that all

workers have a high proportion of male alleles (50–75% male alleles, with no loci possessing two female alleles). A model as simple as a single biallelic locus with homozygotes directed to one caste and heterozygotes to the other would account for the observed distribution of castes in *W. auropunctata*. Although rare in social insects, genetic caste determination has been demonstrated in harvester ants (*Pogonomyrmex rugosus-barbatus*; Cahan et al. 2004), for which a simple model like that the one suggested here may also account for the observed pattern of genetic dimorphism between queens and workers.

#### *Colonization of New Caledonia*

We found our genotypic data to be consistent with the introduction into New Caledonia of a single male and a single female genotype (i.e., the M0 and Q0 genotypes, respectively). Genetically based cues are often assumed to enable nestmate recognition in ants (Vander Meer and Morel 1998). The genetic homogeneity at recognition loci resulting from the extreme bottleneck that occurred in New Caledonia may be insufficient to induce aggressive interactions between non-nestmates (Tsutsui et al. 2000), leading to the formation of a single 450-km-long supercolony (Le Breton et al. 2004).

The geographic distribution of clonal lineages in New Caledonia differs greatly from that observed in French Guiana (Fournier et al. 2005a). The latter populations are characterized by several small supercolonies (a few tens to hundreds of meters long), each one headed by a single male-female pair of genotypes different from that of the neighboring supercolonies. The human-mediated displacement of a small fraction of a single local supercolony from the native range would logically result in the introduction of a single male-female pair of genotypes, as inferred from our data in New Caledonia. Once an introduced propagule has successfully developed, the time to the next introduction event may be sufficiently long for the first propagule to saturate the environment, hence preventing any following propagule from establishing themselves, even if better adapted to the new environment (Tsutsui et al. 2003). Given that New Caledonian habitats are largely saturated by the Q0-M0 clone pair and its derived clonal lineages, the successful establishment of other *W. auropunctata* introduction propagules on the island seems unlikely in the near future.

Unicoloniality is repeatedly cited as one of the most important biological features of invasive ant species, including *W. auropunctata* (Passera 1994; Jourdan et al. 2001; Holway et al. 2002; Tsutsui and Suarez 2003; Le Breton et al. 2004). By definition, an unicolonial ant species is organized into networks of geographically separated nests cooperating as single units (Markin 1968). Several recent genetic studies of unicolonial ant species uncovered a low level of relatedness between workers of the same supercolony, contrary to expectations of kin-selection theory predicting that such situations can be evolutionary unstable (Chapuisat and Keller 1999; Giraud et al. 2002; Tsutsui et al. 2003; Elias et al. 2005). The genetic data obtained for *W. auropunctata* populations (this study; Fournier et al. 2005a) show that the unicoloniality of the species is rather unique as compared to other known unicolonial species (Holway et al. 2002; Tsutsui

and Suarez 2003). The clonal reproductive system of *W. auropunctata* provides each supercolony with a family structure genetically identical (cf. Guianese populations, Fournier et al. 2005a) or close (our New Caledonian populations) to a monogynous-monoandrous colony for which the absolute worker relatedness is theoretically expected to be high (i.e.,  $\approx 0.75$ ). Kin selection theory predicts that the high-relatedness unicoloniality displayed by *W. auropunctata* might be evolutionary more stable and hence persist over longer time than other known unicolonial ant species. The clonal reproduction system may combine the advantage of social cohesion due to high absolute relatedness with the ecological advantage of being demographically polygynous-polyandrous. This system may therefore constitute a key factor of the invasive success of *W. auropunctata*.

#### *Emergence of Sexual Reproduction*

Apart from the size of the supercolonies, the main difference between New Caledonian and Guianese populations of *W. auropunctata* is the occurrence of sexual reproduction events in New Caledonia. The initial introduction site of *W. auropunctata* in New Caledonia (Port-Laguerre) now only comprises sexually derived Q2 clones, suggesting that the original Q0 clone may have been completely replaced at this site. The spatial distributions of Q0 and Q2 + Q3 queens throughout New Caledonia suggests that this putative replacement of the original Q0 clone by sexually derived queens could be a local process currently occurring all over the island. The source population of the New Caledonian supercolony is currently unknown and would be difficult to sample due to the high level of genetic structure observed over short distances in native populations of the species (Fournier et al. 2005a). Therefore, we cannot determine from our data whether rare sexual reproduction events are positively selected or developmentally constrained (as defined by Maynard Smith et al. 1985).

Experimental studies focusing on putative differences of fitness between queen types are needed to assess whether sexual reproduction is beneficial. Temporal surveys of the demography and queen type ratio in New Caledonia could also shed light on the evolution of this supercolony of large size. Together, such studies might lead to a better understanding of the cause and consequences of the emergence of sexual reproduction in the New Caledonian *W. auropunctata* supercolony.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank F. Kjellberg, B. Gauffre, K. Berthier, P. David, J. Shykoff, and D. Fournier for useful discussions; T. Giraud, S. Baird, U. Mueller, and two anonymous reviewers for useful comments on the manuscript; and S. Piry and J.-M. Cornuet for sharing code procedures. This work was supported by a grant from the French Ministère de l'Écologie et du Développement Durable to AE.

#### LITERATURE CITED

- Baker, H. G. 1955. Self-compatibility and establishment after "long-distance" dispersal. *Evolution* 9:347–348.  
 Baudry, E., P. Kryger, M. Allsopp, N. Koeniger, D. Vautrin, F.

- Mougel, J.-M. Cornuet, and M. Solignac. 2004. Whole-genome scan in thelytokous-laying workers of the Cape honeybee (*Apis mellifera capensis*): central fusion, reduced recombination rates and centromere mapping using half-tetrad analysis. *Genetics* 167:243–252.
- Cahan, S. H., G. E. Julian, S. W. Rissing, T. Schwander, J. D. Parker, and L. Keller. 2004. Loss of phenotypic plasticity generates genotype-caste association in harvester ants. *Curr. Biol.* 14:2277–2282.
- Cavalli-Sforza, L. L., and A. W. F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Am. J. Hum. Genet.* 19:233–257.
- Chakraborty, R., and L. Jin. 1993. Determination of relatedness between individuals using DNA fingerprinting. *Hum. Biol.* 65: 875–895.
- Chapuisat, M. 1998. Mating frequency of ant queens with alternative dispersal strategies, as revealed by microsatellite analysis of sperm. *Mol. Ecol.* 7:1097–1105.
- Chapuisat, M., and L. Keller. 1999. Extended family structure in the ant *Formica paralugubris*: the role of the breeding system. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 46:405–412.
- Colegrave, N. 2002. Sex releases the speed limit on evolution. *Nature* 420:664–666.
- Crozier, R. H., and R. E. Page. 1985. On being the right size: male contributions and multiple mating in social Hymenoptera. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 18:105–115.
- Crozier, R. H., and P. Pamilo. 1996. Evolution of social insect colonies: sex allocation and kin selection. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.
- Elias, M., R. Rosengren, and L. Sundström. 2005. Seasonal polydomy and unicoloniality in a polygynous population of the red wood ant *Formica truncorum*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 57: 339–349.
- Fournier, D., A. Estoup, J. Orivel, J. Foucaud, H. Jourdan, J. Le Breton, and L. Keller. 2005a. Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature* 435:1230–1235.
- Fournier, D., J. Foucaud, A. Loiseau, S. Cros-Arteil, H. Jourdan, J. Orivel, J. Le Breton, J. Chazeau, A. Dejean, L. Keller, and A. Estoup. 2005b. Characterization and PCR multiplexing of polymorphic microsatellite loci for the invasive ant *Wasmannia auropunctata*. *Mol. Ecol. Notes* 5:239–242.
- Giraud, T., J. S. Pedersen, and L. Keller. 2002. Evolution of supercolonies: the Argentine ants of southern Europe. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:6075–6079.
- Goudet, J. 2005. Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical *F*-statistics. *Mol. Ecol. Notes* 5:184–186.
- Grasso, D. A. T., T. Wenseelers, A. Mori, F. Le Moli, and J. Billen. 2000. Thelytokous worker reproduction and lack of *Wolbachia* infection in the harvesting ant *Messor capitatus*. *Ethol. Ecol. Evol.* 12:309–314.
- Haccou, P., and M. V. Schneider. 2004. Modes of reproduction and the accumulation of deleterious mutations with multiplicative fitness effects. *Genetics* 166:1093–1104.
- Hamilton, W. D. 1964. The genetical evolution of social behaviour, I and II. *J. Theor. Biol.* 7:1–52.
- Heinze, J., and B. Hölldobler. 1995. Thelytokous parthenogenesis and dominance hierarchies in the Ponerine ant, *Platythyrea punctata*. *Naturwissenschaften* 82:40–41.
- Holway, D. A., L. Lach, A. V. Suarez, N. D. Tsutsui, and T. J. Case. 2002. The causes and consequences of ant invasions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33:181–233.
- Hughes, W. O. H., and J. J. Boomsma. 2004. Genetic diversity and disease resistance in leaf-cutting ant societies. *Evolution* 58: 1251–1260.
- Jourdan, H. 1997. Threats on Pacific Islands: the spread of the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae). *Pac. Conserv. Biol.* 3:61–64.
- Jourdan, H., R. A. Sadlier, and A. M. Bauer. 2001. The impact of the little fire ant invasion (*Wasmannia auropunctata* Roger) on the New Caledonian herpetofauna: results of a study in sclerophyll forest habitat. *Sociobiology* 38:1–19.
- Koeniger, N., C. Hemmling, and T. Yoshida. 1989. Drones as sons of drones in *Apis mellifera*. *Apidologie* 20:391–394.
- Komaru, A., T. Tawagashi, and K. Konishi. 1998. Cytological evidence of spontaneous androgenesis in the freshwater clam *Corbicula leana* Prime. *Dev. Genes Evol.* 208:46–50.
- Lattorff, H. M. G., R. F. A. Moritz, and S. Fuchs. 2005. A single locus determines thelytokous parthenogenesis of laying honeybee workers (*Apis mellifera capensis*). *Heredity* 94:533–537.
- Le Breton, J., J. Chazeau, and H. Jourdan. 2003. Immediate impacts of invasion by *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae) on native litter ant fauna in a New Caledonian rainforest. *Austr. Ecol.* 28:204–209.
- Le Breton, J., J. H. C. Delabie, J. Chazeau, A. Dejean, and H. Jourdan. 2004. Experimental evidence of large-scale unicoloniality in the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Roger). *J. Insect Behav.* 17:263–271.
- Le Breton, J., H. Jourdan, J. Chazeau, J. Orivel, and A. Dejean. 2005. Niche opportunity and ant invasion: the case of *Wasmannia auropunctata* (Roger) in a New Caledonian rainforest. *J. Trop. Ecol.* 21:93–98.
- Lowe, S., M. Browne, and S. Boudjelas. 2000. One hundred of the world's worst invasive alien species. *Aliens* 12S:1–12.
- Lushai, G., H. D. Loxdale, and J. A. Allen. 2003. The dynamic clonal genome and its adaptive potential. *Biol. J. Linn. Soc.* 79: 193–208.
- Markin, G. P. 1968. Nest relationship of the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 41:511–516.
- Maynard Smith, J., R. Burian, S. Kaufmann, P. Alberch, J. Campbell, B. Goodwin, R. Lande, D. Raup, and L. Wolpert. 1985. Developmental constraints and evolution. *Q. Rev. Biol.* 60: 265–287.
- McKone, M. J., and S. L. Halpern. 2003. The evolution of androgenesis. *Am. Nat.* 161:641–656.
- Moller, H. 1996. Lessons for invasion theory from social insects. *Biol. Conserv.* 78:125–142.
- Myers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. da Fonseca, and J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853–858.
- Nei, M., F. Tajima, and Y. Tateno. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J. Mol. Evol.* 19: 153–170.
- Normark, B. B. 2003. The evolution of alternative genetic systems in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 48:397–423.
- Passera, L. 1994. Characteristics of tramp species. Pp. 23–43 in D. F. Williams, ed. *Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species*. Westview Press, Oxford, U.K.
- Pearcy, M., S. Aron, C. Doums, and L. Keller. 2004. Conditional use of sex and parthenogenesis for worker and queen production in ants. *Science* 306:1780–1782.
- Pearcy, M., O. Hardy, and S. Aron. 2006. Thelytokous parthenogenesis and its consequences on inbreeding in an ant. *Heredity* 96:377–382.
- Queller, D. C. 2005. Males from Mars. *Nature* 435:1167–1168.
- Robinson, G. E. 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annu. Rev. Entomol.* 37:637–665.
- Rouzine, I. M., J. Wakeley, and J. M. Coffin. 2003. The solitary wave of asexual evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 587–592.
- Sakai, A. K., F. W. Allendorf, J. S. Holt, D. M. Lodge, J. Molofsky, K. A. With, S. Baughman, R. J. Cabin, J. E. Cohen, N. C. Ellstrand, D. E. McCauley, P. Neil, I. M. Parker, J. N. Thompson, and S. G. Weller. 2001. The population biology of invasive species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 32:305–332.
- Samadi, S., J. Mavarez, J.-P. Pointier, B. Delay, and P. Jarne. 1999. Microsatellite and morphological analysis of population structure in the parthenogenetic freshwater snail *Melanoides tuberculata*: insights into the creation of clonal variability. *Mol. Ecol.* 8:1141–1153.
- Scali, V., M. Passamonti, O. Marescalchi, and B. Mantovani. 2003. Linkage between sexual and asexual lineages: genome evolution in *Bacillus* stick insects. *Biol. J. Linn. Soc.* 79:137–150.
- Takezaki, N., and M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* 144:389–399.

- Tsuji, K. 1988. Obligate parthenogenesis and reproductive division of labor in the Japanese queenless ant *Pristomyrmex pungens*: comparison of intranidal and extranidal workers. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 23:247–255.
- Tsuji, K., and K. Yamauchi. 1995. Production of females by parthenogenesis in the ant, *Cerapachys biroi*. *Insect. Soc.* 42: 333–336.
- Tsutsui, N. D., and A. V. Suarez. 2003. The colony structure and population biology of invasive ants. *Conserv. Biol.* 17:48–58.
- Tsutsui, N. D., A. V. Suarez, D. A. Holway, and T. J. Case. 2000. Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:5948–5953.
- Tsutsui, N. D., A. V. Suarez, and R. K. Grosberg. 2003. Genetic diversity, asymmetrical aggression, and recognition in a wide-spread invasive species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 1078–1083.
- Vander Meer, R. K., and L. Morel. 1998. Nestmate recognition in ants. Pp. 79–103 in R. K. Vander Meer, M. D. Breed, K. E. Espelie, and W. M. L. Winston, eds. *Pheromone communication in social insects*. Westview Press, Oxford, U.K.
- Vorburger, C., M. Lancaster, and P. Sunnucks. 2003. Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two “superclones” in Victoria, Australia. *Mol. Ecol.* 12:3493–3504.
- Walsh, P. D., P. Henschel, K. A. Abernethy, C. E. G. Tutin, P. Telfer, and S. A. Lahm. 2004. Logging speeds little red fire ant invasion of Africa. *Biotropica* 36:637–640.

Corresponding Editor: U. Mueller



## Sex and Clonality in the Little Fire Ant

Julien Foucaud,\* Denis Fournier,\*<sup>1</sup> Jérôme Orivel,† Jacques H. C. Delabie,‡ Anne Loiseau,\*  
Julien Le Breton,† Gaël J. Kergoat,\* and Arnaud Estoup\*

\*INRA, UMR CBGP (INRA/IRD/Cirad/Montpellier SupAgro), Campus international de Baillarguet, Montpellier-sur-Lez, France;  
†Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, UMR-CNRS 5174, Université Toulouse III, Toulouse, France; and ‡Laboratório de Mirmecologia, CEPEC-CEPLAC and UESC, Ilhéus, Bahia, Brazil

Reproduction systems are controlling the creation of new genetic variants as well as how natural selection can operate on these variants. Therefore, they had historically been one of the main foci of evolutionary biology studies. The little fire ant, *Wasmannia auropunctata*, has been found to display an extraordinary reproduction system, in which both males and female queens are produced clonally. So far, native sexual populations of *W. auropunctata* have not been identified. Our goals were to identify such sexual populations and investigate the origins of female parthenogenesis and male clonality. Using mitochondrial DNA and microsatellite markers in 17 native populations, we found that traditional sexual populations occurred in *W. auropunctata* and are likely the recent source of neighboring clonal populations. Queen parthenogenesis has probably evolved several times through mutational events. Male clonality is tightly linked to queen parthenogenesis and thus appears to be female controlled. Its origin could be accounted for by 2 mutually exclusive hypotheses: either by the expected coevolution of the 2 sexes (i.e., a variant of the maternal genome elimination hypothesis) or by a shared mechanistic origin (i.e., by the production of anucleate ovules by parthenogenetic queens). Our results also show that *W. auropunctata* males and females do not form separate evolutionary units and are unlikely to be engaged in an all-out battle of sexes. This work opens up new perspectives for studies on the adaptive significance and evolutionary stability of mixed sexual and clonal reproduction systems in living organisms.

### Introduction

Living organisms reproduce through a diversity of genetic systems. A significant proportion of these systems can be found in insects, in which diploidy, haploidy, thelytoky, mixed genetic systems, and other rare extra-genetic inheritance mechanisms have been found (Normark 2003). Studies of the origins and mechanisms of such genetic systems are of fundamental importance as they may help to resolve classical evolutionary issues, such as the paradox of sex (Maynard Smith 1978; Howard and Lively 1994; Kondrashov 2001) and the notion of species (Barraclough et al. 2003; Fontaneto et al. 2007). The little fire ant, *Wasmannia auropunctata*, is exceptional in that it displays as many as 3 different genetic systems: haploidy, thelytoky, and male clonality (Fournier et al. 2005a; Foucaud et al. 2006). This myrmicine ant, ranked among the world's worse invasive species (Lowe et al. 2000), is currently widely distributed over all tropics (Wetterer and Porter 2003). In tropical Central and South America where *W. auropunctata* is native, Fournier et al. (2005a) found that female queens reproduced through thelytokous parthenogenesis and males reproduced through an unknown clonal system, whereas the sterile female workers were produced sexually.

All native populations of the little fire ant studied so far have been found to be clonal (i.e., display both parthenogenesis and male clonality). However, this situation may not apply to all populations of the native range for at least 3 reasons. First, most eukaryotic species displaying mainly clonal populations also retain sexual populations, from which new clonal lineages can arise repeatedly (Simon

et al. 2003). Second, it has recently been shown that, although clonal production of reproductives (i.e., queens and males) is largely predominant, some rare sexual reproduction events also occur in populations of the introduced range of *W. auropunctata* (Foucaud et al. 2006). Finally, as previous studies of the *W. auropunctata* reproduction system in its native range were based on small sampling campaigns (5 sites in only one country), putative sexual populations may well have remained unsampled.

The conditions favoring the emergence and simultaneous maintenance of both parthenogenesis and male clonality are largely unknown. The unusual clonal reproduction system of both sexes led to the hypothesis that *W. auropunctata* males and females might be engaged in an all-out evolutionary battle of sexes as male clonality could be seen as a male strategy to counteract the reduction of male fitness by female parthenogenesis (Fournier et al. 2005a). Some authors also argued that *W. auropunctata* males and females might even belong to 2 separate species (Queller 2005). The existence (or absence) of sexual populations and their relationship to clonal populations may provide insights into the origins and conditions of coexistence of the clonal reproduction systems of the little fire ant. There is evidence for 4 main routes to parthenogenesis in animals (Simon et al. 2003). Parthenogenesis may be of spontaneous (i.e., due to the mutation of genes involved in meiosis; Turgeon and Hebert 1994; Johnson and Leefe 1999), contagious (i.e., due to recurrent crossings between parthenogenetic and sexual lineages of the same species; Hebert 1981; Pongratz et al. 1998; Schneider et al. 2002), infectious (i.e., due to vertically inherited microorganisms, such as *Wolbachia* or *Cardinium*; Werren et al. 1995; O'Neill et al. 1997; Zchori-Fein et al. 2001; Huigens and Stouthamer 2003; Groot and Breeuwer 2006), or hybrid (i.e., due to crosses between 2 distinct sexual species; Moritz 1991; Quattro et al. 1992; Spolsky et al. 1992; Delmotte et al. 2003) origin. The origin of parthenogenesis in *W. auropunctata* is currently unknown. The origin of male clonality also remains unresolved, although it has been suggested that male clonality may be an evolutionary

<sup>1</sup> Present address: Behavioral and Evolutionary Ecology—CP 160/12, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium.

Key words: reproduction system, sex, parthenogenesis, male clonality, *Wasmannia auropunctata*.

E-mail: foucaud@supagro.inra.fr.

*Mol. Biol. Evol.* 24(10):1–9, 2007

doi:10.1093/molbev/msm180

Advance Access publication August 28, 2007

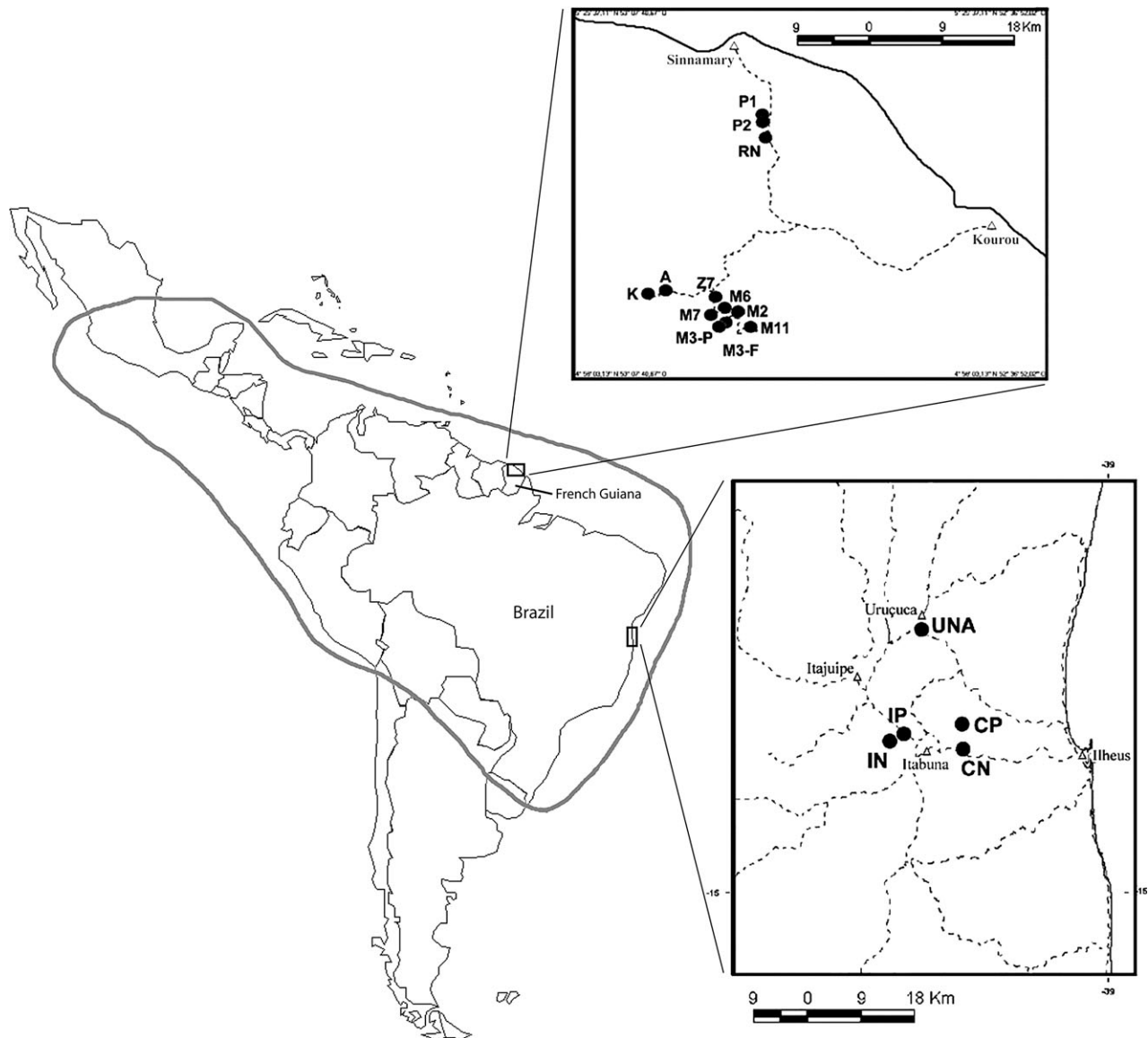


FIG. 1.—Localization of the 17 sampled sites. The large gray line indicates the native range of *Wasmannia auropunctata*. In each frame, sampled sites are indicated with black dots and their code. Plain and dashed lines indicate coastline and roads, respectively. The number of sampled nest and genotyped individuals is detailed in table 1.

response by males to the reduction of their fitness by female parthenogenesis (Fournier et al. 2005a).

95 The mechanisms of parthenogenesis and male clonality in *W. auropunctata* remain a matter of speculation, whereas their determination is of prime importance as it would provide insights into the origins of the 2 systems and make it possible to evaluate the evolutionary stability of male–female clonal populations. To date, male clonality is hypothesized to result from the elimination of the maternal genome by the paternal genome during fertilization (Fournier et al. 2005a), and thelytokous parthenogenesis has been successively hypothesized to be apomictic (i.e., without meiosis; Fournier et al. 2005a) and automictic with central fusion (i.e., with meiosis; Foucaud et al. 2006). However, more data are required to evaluate these hypotheses.

The present study had 2 main aims: 1) to determine whether sexual and potentially ancestral populations of *W. auropunctata* exist in its native range and 2) to gain insight into the origin and mechanisms of the *W. auropunctata* thelytokous parthenogenesis and male clonality systems. To address these questions, we extensively sampled native populations in Brazil and French Guiana (see fig. 1 and table 1), sequenced a region of a mitochondrial DNA (mtDNA) gene and genotyped individuals at 12 microsatellite loci.

## Materials and Methods

### Field Collection

Fieldwork was carried out in areas of Brazil and French Guiana within the native range of *W. auropunctata*

**Table 1**  
**Sampling and Genotyping Design of *Wasmannia auropunctata* Populations**

Country	Site	Sampled Nests	Number of Genotyped		
			Female Reproductives	Males	Workers
Brazil	CN	20	47	35	135
Brazil	CP	16	144	62	152
Brazil	IN	10	9	8	80
Brazil	IP	10	50	30	80
Brazil	UNA	10	0	0	80
French Guiana	M2	8	27	16	126
French Guiana	M3-F	10	26	6	120
French Guiana	M3-P	13	6	5	128
French Guiana	M6	3	10	24	48
French Guiana	M7	15	24	25	168
French Guiana	M11	10	3	3	80
French Guiana	Z7	6	3	1	48
French Guiana	A	5	17	11	40
French Guiana	K	5	29	27	40
French Guiana	P1	4	40	11	32
French Guiana	P2	17	62	57	136
French Guiana	RN	6	11	11	48
Total		168	508	332	1,541

NOTE.—Geographic locations of sampled sites are given in figure 1.

(fig. 1). These areas are separated by approximately 2,650 km. In total, 168 nests (i.e., an aggregation of workers, brood, and/or queens within a woodstick or between dead leaves) were collected in 2004 and 2005 in Brazil (66 nests from 5 sites) and French Guiana (102 nests from 12 sites). The distance between sampled nests was always larger than 2 m. Within each country, the sampled sites were separated by at least 0.1 km and up to 30 km (mean  $\pm$  standard deviation [SD]: 12.6  $\pm$  10.7 km; fig. 1). The 17 sampled sites are representatives of various types of habitat, including plantations, roadsides, primary forest, and natural backwater areas. The number of collected nests per site varies from 3 to 20 (mean  $\pm$  SD: 10  $\pm$  5 nests). In all, 34 of the 168 collected nests, from 5 sites in French Guiana, were previously analyzed by Fournier et al. (2005a). The other 135 nests were specifically sampled and analyzed for this study.

For each nest, at least 30 workers and most if not all the reproductives were collected. Voucher specimens from the investigated Brazilian nests were deposited at the UESC Genetics Laboratory. Queens were present in 107 of the 168 collected nests (1–23 queens per nest), gynes (i.e., virgin female reproductives) were present in 6 nests (1–16 gynes per nests), and males were present in only 2 nests (1 and 15 males per nest).

#### Microsatellite Genotyping and mtDNA Sequencing

For each nest, individual DNA extractions were processed for all collected reproductives and at least 8 workers. These individuals were genotyped at 12 microsatellite loci, as described by Fournier et al. (2005b). We also analyzed the spermathecal contents of 299 queens, as described by Chapuisat (1998). We genotyped 2,381 specimens in total (queens, gynes, workers, males, spermathecal contents, and sexual larvae). The number of genotyped individuals for each caste is presented in table 1. Polymerase chain reaction (PCR) products were separated on a MegaBace DNA se-

quencer (GE Healthcare Bio-Sciences, Uppsala, Sweden), and gel files were analyzed using GENETIC PROFILER (GE Healthcare Bio-Sciences).

We obtained mtDNA sequences for 93 individuals from both Brazil and French Guiana and 3 individuals of the closely related species *Wasmannia rochai* as outgroup (GenBank accession numbers EF459732–EF759824). We used PCR to amplify a 520-bp region of the COI gene with the primers LCO and HCO (Folmer et al. 1994). PCR mixtures contained 1.0  $\mu$ l of DNA solution, 0.1  $\mu$ l MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0.4  $\mu$ l deoxynucleoside triphosphate s (10 mM), 1.0  $\mu$ l 10 $\times$  Qiagen *Taq* Buffer, 0.2  $\mu$ l of each primer (10  $\mu$ M), 5 units of Qiagen *Taq* polymerase, and 7  $\mu$ l H<sub>2</sub>O. Thermal cycling conditions were as follows: denaturation at 95  $^{\circ}$ C for 3 min, then 37 cycles of denaturation at 94  $^{\circ}$ C for 1 min, annealing at 55  $^{\circ}$ C for 1 min, and extension at 74  $^{\circ}$ C for 1 min, followed by a final extension at 74  $^{\circ}$ C for 10 min. PCR products were purified and sequenced by MacroGen Inc.

#### Statistical Treatment of Data

Phylogenetic analysis of the mtDNA data was conducted under the maximum likelihood (ML) optimality criterion. We also performed phylogenetic analyses using distance, maximum parsimony, and Bayesian methods, which yielded similar topologies (not shown). The best model under the likelihood criterion (and the associated parameters) was obtained using Modeltest v3.7 (Posada and Crandall 1998). The best-fit ML tree was further reconstructed using PHYML v2.4.4 (Guindon and Gascuel 2003). Nonparametric bootstrapping (Felsenstein 1985) was performed with 1,000 replicates using the SEQBOOT and CONSENSE programs of the PHYLIP v3.6 package (Felsenstein 1989). We additionally used the likelihood-based nonparametric Shimodaira–Hasegawa (SH) test (Shimodaira and Hasegawa 1999) to compare our phylogeny

(i.e., the best-fit ML tree) with an alternative phylogeny in which clonal and sexual individuals were constrained to form 2 distinct monophyletic groups. The constrained tree was built using TREEVIEW v1.6.6 (Page 1996). For both phylogenetic hypotheses, branch lengths were further reestimated in PAUP\* v4.0b10 (Swofford 2003) using the previous substitution model parameters. The reestimated log likelihoods method (Kishino et al. 1990), as implemented in PAUP\*, was used to resample the log likelihoods (1,000 replicates) in the SH test.

We characterized the reproductive systems and the relationships between genotypes by investigating individual microsatellite genotypes visually and using 2 programs we developed in the Pascal object programming language (inquiries about details of the programs should be sent to the corresponding author). The first program was used to identify clones (i.e., identical multilocus genotypes) in a given sample of genotypes and to compute basic population genetic statistics (i.e., number of alleles, observed heterozygosity, and mean difference in allele size within multilocus genotypes). Within-individual difference in allelic size, DS, was computed as the difference in base pairs between the 2 alleles at a given locus of a single individual, averaged over loci. The second program was used to construct dendrograms from individual genotypes using the Neighbor-Joining (NJ) algorithm (Saitou and Nei 1987). The genetic distance used to construct the dendrograms was a variant of allele-shared distance of Chakraborty and Jin (1993), as defined in Fournier et al. (2005a).

## Results

### Reproduction Systems

On the 508 genotyped female reproductives (i.e., queens, gynes, and female sexual larvae), 268 cluster in 20 groups of genotypes, identical at all 12 microsatellite loci (2–50 queens per group), and hence show direct evidence of clonality (see supplementary table S1 [Supplementary Material online] for an illustration). These clonal queens were found in 64 nests. On the 332 genotyped male reproductives (i.e., males, spermathecae contents, and male sexual larvae), 205 cluster in 24 groups of identical genotypes (2–34 males per group). These clonal males were distributed in 63 nests.

We also indirectly inferred the occurrence of clonal reproduction in 24 other nests. This was the case when genotyped reproductives differed from known clonal reproductive genotypes either 1) by only one dinucleotide repeat at one of the 12 genotyped loci (as this pattern is likely to correspond to one mutational event at a microsatellite locus) or 2) by homozygosity for one allele at a single heterozygous locus of the clonal queen genotype (as this pattern probably corresponds to a recombination event during thelytoky). We also considered a nest to be clonal if, in the absence of sampled reproductives in this nest, the male and female reproductives inferred from the genotypes of workers were identical to known clonal reproductive genotypes. In total, we identified 87 clonal nests among the 168 sampled (63 and 24 presenting direct and indirect evidence of clonality, respectively), located both in Brazil and French Guiana. In

all but 2 nests, if one sex was found to be clonal, the other sex was also found to be clonal. Because ant queens keep the sperm of their mate in a vesicle (the spermatheca), we were able to determine the genotypes of the mates of 299 queens (corresponding to 110 different queen genotypes). All males mated to the 210 clonal queens of this sample were clonal.

Most importantly, we also obtained direct evidence of classical sexual production of reproductives in 39 nests from both Brazil and French Guiana. The female reproductives of these nests never have identical genotypes but clearly display sexual recombination patterns of the same allelic pool (see supplementary table S1 [Supplementary Material online] for an illustration). Some of these queens show allelic patterns consistent with full-sister relationships expected under sexual reproduction of only one mating pair (i.e., sharing 75% of their alleles). The genotypes of the male reproductives of these nests almost always bear alleles found in the female reproductives of the same nest, consistent with arrhenotokous production (i.e., unfertilized meiotic eggs developing into haploid individuals). In these populations, the occurrence of sexual production of reproductives is also clear because queens and workers are indistinguishable on the basis of their genotypes and because males and females share all their alleles (i.e., the male and female gene pools are completely mixed, as expected under sexual reproduction).

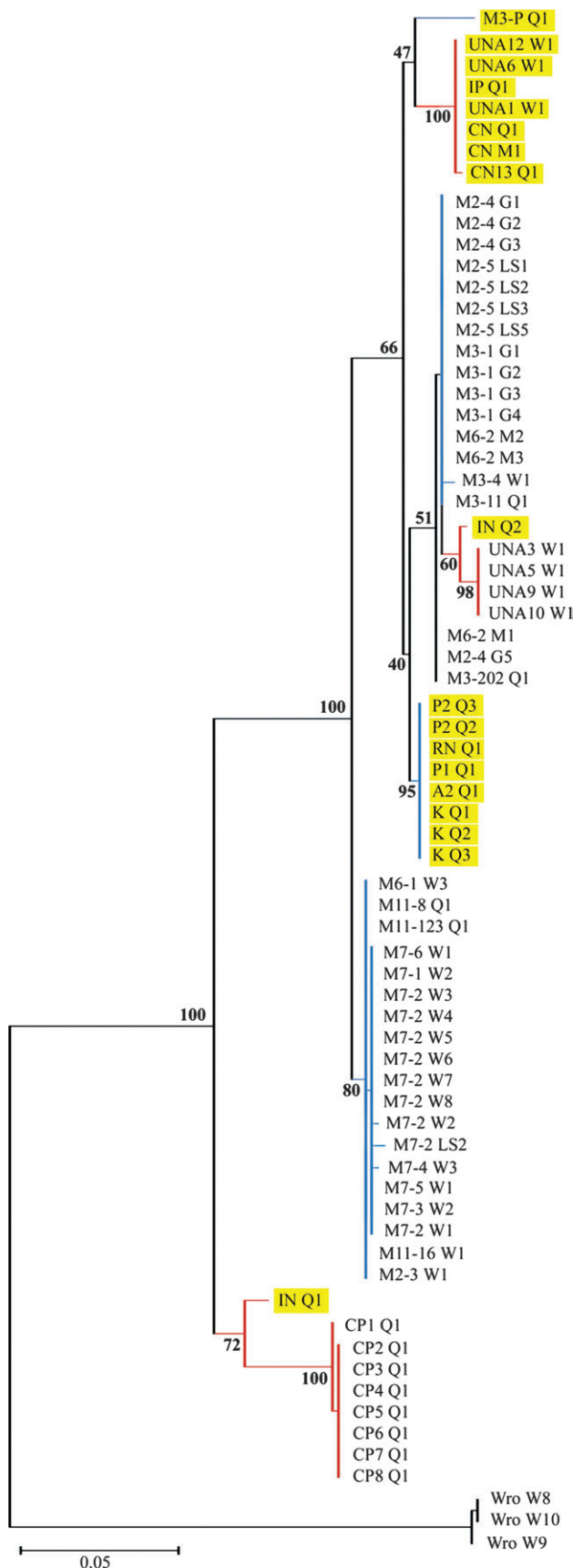
Nests are either clonal or sexual. We almost never found sexually and clonally produced reproductives in the same nest. In all but 2 nests ( $n = 168$ ), if clonal males were sampled, clonal females were also sampled. In the 2 remarkable exceptions, we found direct evidence of sexual production of the female reproductive and some males bearing female alleles and other males displaying identical multilocus genotypes (i.e., arrhenotokous and clonal males, respectively). We never found clonal and sexual nests mixed within a single population. On the contrary, clonal and sexual nests were spatially separated into different populations. Thus, male clonality and female parthenogenesis are almost strictly associated, both at the nest and population level.

The type of reproduction system could not be unambiguously determined for 42 nests. These nests lacked reproductives at the time of collection, and either the parental genotypes could not be confidently inferred from individual worker genotypes or the suggested parental genotypes did not match any known clonal or sexual genotype.

All the individual genotypes of workers in our samples are consistent with their sexual production both in clonal and sexual nests (see supplementary table S1 [Supplementary Material online] for an illustration). In clonal or sexual nests containing a single male–female couple, all workers display a pattern of allelic segregation fully consistent with their sexual production by the local male and female genotypes.

### Relationships between Clonal and Sexual Genotypes

The ML tree obtained from a 520-bp region of the mtDNA COI gene shows that clonal and sexual groups



of individuals do not form 2 distinct clusters (fig. 2). This finding is confirmed by the SH test, which indicated a significant lack of support for the clustering of individuals as a function of reproduction system (SH test:  $P < 10^{-3}$ ). Whatever the reproduction system, all groups of haplotypes are very similar to each other within the *W. auropunctata* clade (the mean pairwise distance between clonal and sexual haplotypes is 1.8% using the K2P model) although being extremely different from the closely related outgroup species, *W. rochai* (mean pairwise distance of 16.9% using the K2P model).

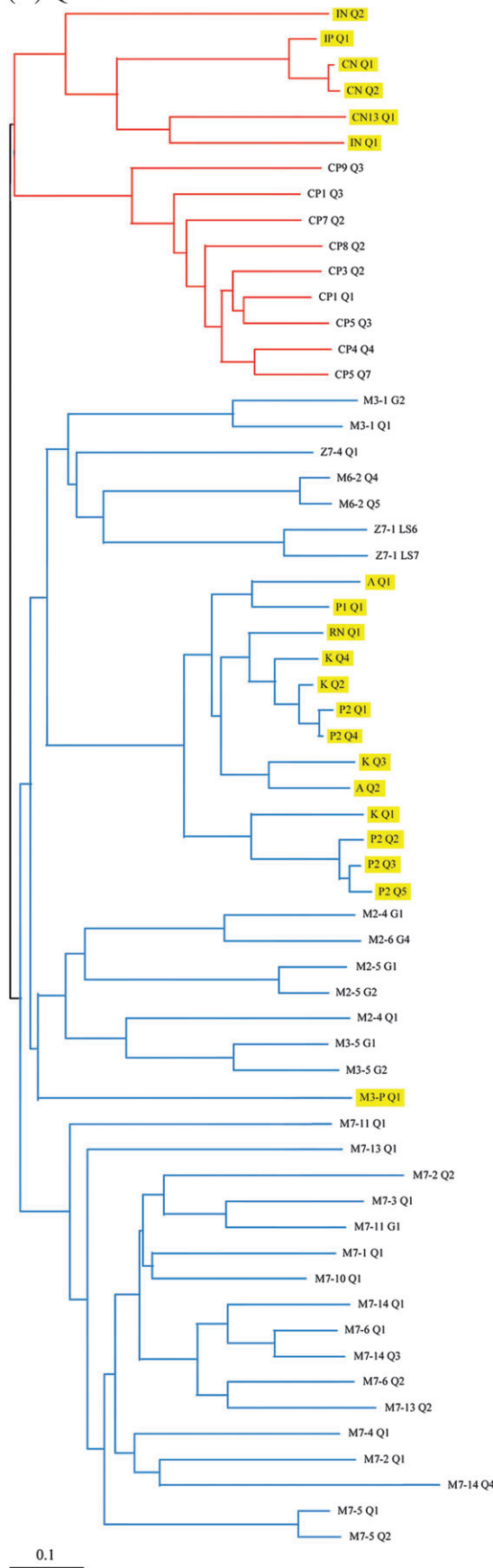
The NJ trees obtained from individual queen and male microsatellite genotypes also show that clonal and sexual groups of individuals do not form 2 distinct clusters (fig. 3). In agreement with this finding, almost all alleles of the clonal queens are observed in local sexual populations of *W. auropunctata*. Likewise, all Brazilian and 6 of the 8 Guianese clonal male genotypes display alleles present in local sexual populations.

Altogether, this pattern of genetic variation indicates that clonal and sexual types do not represent 2 genetically distinct evolutionary units of *W. auropunctata* and that clonal reproductives most probably arose recently from local sexual populations. The alternative scenario of a single origin of asexuality followed by multiple recent reversions to sexuality would be far less parsimonious to account for this pattern of genetic variation. A single origin of asexuality is unlikely because at least some groups of clonal queens are more distantly related than groups of sexual queens, as shown by both mtDNA and microsatellite data. Multiple reversions from asexuality to sexuality are also unlikely because the microsatellite allelic pools of sexual populations are far more diverse than those of clonal populations.

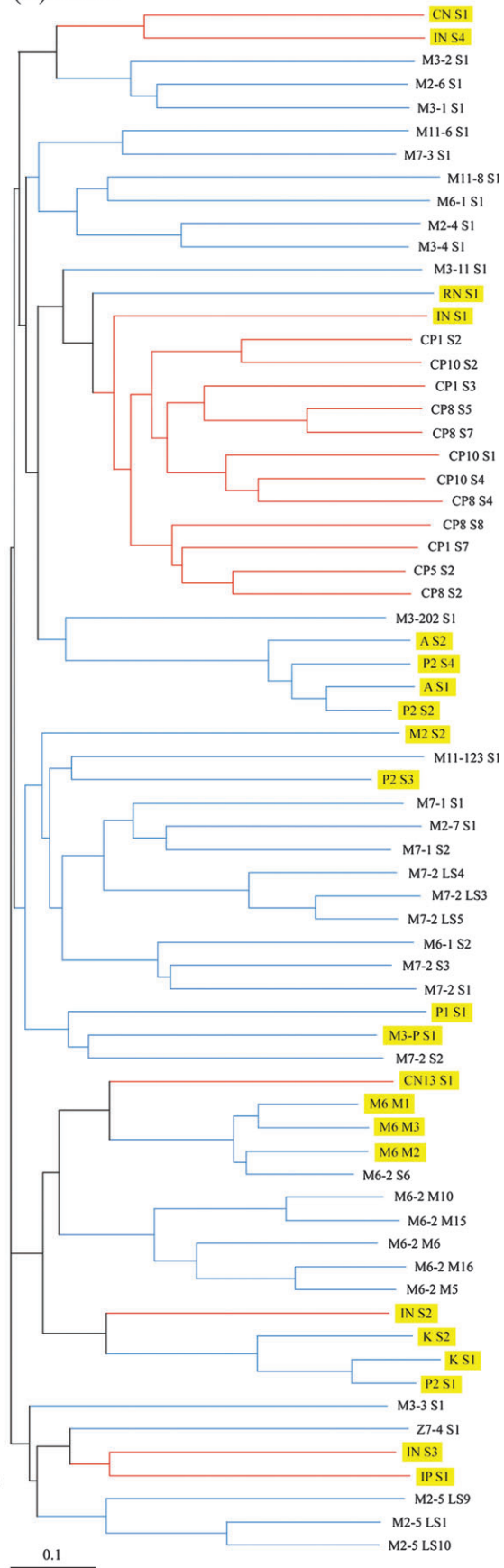
The microsatellite NJ tree of individual queens also indicates that clonal queen genotypes are likely to share a recent ancestor within each country. Visual inspection of those genotypes reveals that the clonal queen clusters could correspond to groups of full sisters that slightly diverged during successive generations of clonality, through a few mutation and parthenogenetic recombination events (results not shown). It is also worth noting that observed heterozygosity ( $H_o$ ) and mean difference in the size of the 2 alleles observed at each locus (DS) are not significantly different between clonal and sexual queens (Mann-Whitney  $U$  tests:

FIG. 2.—Best-fit ML tree of individual haplotypes of the mtDNA COI gene. Branch lengths are included. The best model of evolution (HKY + G; Hasegawa et al. 1985) was determined using Modeltest 3.7. Nonparametric bootstrap values are provided for major nodes. Each represented individual corresponds to a unique microsatellite genotype (clones are hence only represented once). Clonal genotypes (assessed by microsatellite data) are highlighted in yellow and sexual genotypes (also assessed by microsatellite data) are not highlighted. Blue and red branches correspond to individuals collected in French Guiana and Brazil, respectively. Names of the *Wasmannia auropunctata* individuals were coded as follows: name of the site, number of nest (except for clones present in several nests), type of individual (Q = queen, G = gyne, M = male, LS = larval stage, W = worker), and number of individual. Three individuals of the closely related species *Wasmannia rochai* (coded Wro) were used as outgroup.

(A) Queens



(B) Males



$P = 0.34$  and  $P = 0.50$  for  $H_o$  and DS, respectively; fig. 4). Thus, the parents of the clonal queens do not differ more  
 355 genetically than the parents of the sexual queens. Therefore, hybridization is unlikely to be involved in the origin of parthenogenesis in the little fire ant. Altogether, our results suggest that queen parthenogenesis in *W. auropunctata* has arisen several times, through several independent mutational or infectious events within local sexual populations.  
 360

Assuming that male clonality has emerged as a male response to their reduction of fitness by female parthenogenesis (Fournier et al. 2005a), we would expect there to be only one or a few clonal male lineages because it is unlikely that such a male response would evolve independently a large number of times. Contrary to this expectation, the microsatellite NJ tree of individual male genotypes shows that clonal males do not cluster into groups of individuals of close coancestry but are widely dispersed among sexual males. Regarding the issue of the genetic relationship between *W. auropunctata* males and queens (Queller 2005), both the ML tree of the COI gene and an NJ tree of individual queens and males microsatellite genotypes show that queens and males do not form 2 distinct evolutionary units (fig. 2 and supplementary fig. S1 [Supplementary Material online]).  
 375

## Discussion

This study is the first to document the sexual production of *W. auropunctata* reproductives in the native range of the species. These sexual populations were not encountered previously because most occur at low density in remote areas (primary forest and natural backwater areas), whereas clonal populations often occur in accessible areas, such as plantations or roadsides. This impaired our understanding of the reproduction system of the little fire ant to date. mtDNA and microsatellite data have shown that queens, males, and workers do not cluster according to their reproduction system (i.e., clonal or sexual). Most clonal reproductive lineages (i.e., 42 of 44) are characterized by microsatellite genotypes that could have been produced by neighboring sexual populations. Finally, we found 2 nests in which queens were produced sexually and males were produced through clonal or traditional (i.e., arrhenotokous parthenogenesis) reproduction systems. These results indicate that sexual and clonal populations do not form 2 separate evolutionary units and that clonal populations most likely recently arose from local sexual populations.  
 380  
 385  
 390  
 395

Most of the alleles of the clonal queens are present in sexual populations and clonal queens cluster into a few groups of closely related individuals. Thelytokous parthenogenesis therefore seems to appear at low frequency within sexual populations. Hybridization has repeatedly been found to lead to asexuality in various taxa including  
 400

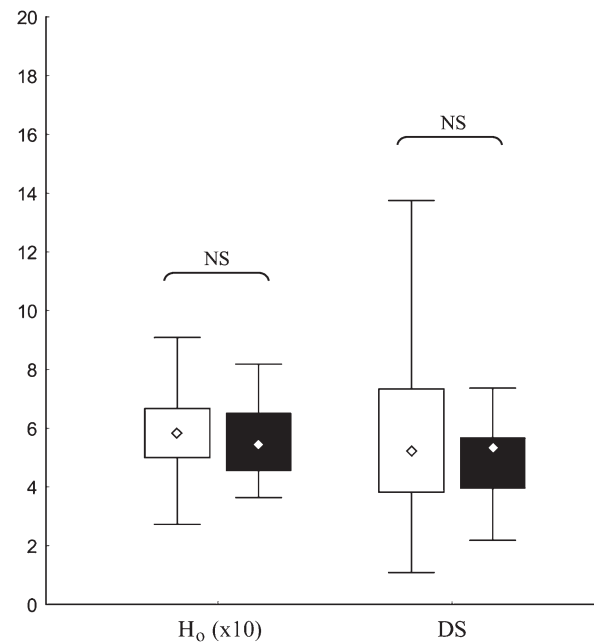


FIG. 4.—Observed heterozygosity ( $H_o$ ) and difference in allele size (DS) of clonal and sexual queens. Difference in allele size, DS, was computed as the difference in base pairs between the 2 alleles at a given locus of a single individual, averaged over loci. Blocks in white and black indicate sexual and clonal nests, respectively. Diamonds indicate means, and blocks and horizontal bars indicate 50% and 95% percentiles, respectively.  $H_o$  values were multiplied by 10 to homogenize scales with DS. Mann–Whitney  $U$  tests: nonsignificant (NS) corresponds to  $P > 0.3$ .

insects (Mantovani et al. 2001; Delmotte et al. 2003; Gomez-Zurita et al. 2006). However, in *W. auropunctata*, we found similar levels of heterozygosity and difference in allele size between clonal and sexual queens and, hence, no evidence of hybridization. Therefore, queen parthenogenesis in the little fire ant is unlikely to be due to hybridization between genetically distant queen and male lineages. Whereas parthenogenesis-inducing bacteria have already been uncovered in Hymenoptera (Stouthamer 1997), they are not expected to occur in haplodiploid species due to their single-locus sex determination system and have already been ruled out as a possible origin of parthenogenesis in the 6 other thelytokous ant species uncovered so far (Wenseleers and Billen 2000). Parthenogenesis in *W. auropunctata* is therefore likely due to rare mutational events (i.e., spontaneous origin of parthenogenesis, Simon et al. 2003).  
 405  
 410  
 415  
 420

It has been suggested that male clonality may arise from the male genetic contribution of the sperm removing the maternal genetic material from the egg during fertilization (Fournier et al. 2005a). A strict “maternal genome elimination” (MGE) mechanism seems unlikely, for at least 3 reasons: 1) all workers are produced sexually without MGE, 2) given the large number of diverse clonal male  
 425

←

FIG. 3.—NJ dendrograms of the microsatellite (allele shared) distances between clonal and sexual queens (A) and males (B). All clonal and, due to space limitation, a randomly chosen subset of sexual genotypes were included for both sexes. Similar results were obtained when using all individual genotypes (not shown). Dendrograms are not rooted due to the absence of PCR amplification of *Wasmannia auropunctata* microsatellite loci in *Wasmannia rochai*. Color and individual name codes are as in figure 2.

genotypes encountered in our sample, male clonality would  
 430 have arisen independently a large number of times, which  
 seems unlikely (McKone and Halpern 2003), and 3) MGE  
 cannot account for the finding that male clonality is almost  
 strictly associated with queen thelytokous parthenogenesis.  
 Queen control over male clonality therefore seems required  
 435 to account for our results. It is thus unlikely that male clonality  
 is an evolutionary response by males to the reduction  
 of their fitness by queen parthenogenesis. It rather appears  
 that any male mated to a clonal queen becomes clonal and  
 that male clonality is a female rather than a male trait. Ex-  
 440 perimental studies are needed to confirm this point.

Two mutually exclusive hypotheses might account for  
 the origin of male clonality. First, a variant of the MGE hy-  
 pothesis—the “permissive MGE” hypothesis—could ac-  
 count for the 3 issues identified above for the strict MGE  
 445 hypothesis. This modified hypothesis stems from the expected  
 history of struggle between males and females for access to  
 the egg. In haplodiploid species like *W. auropunctata*, it is  
 predicted that the egg fate should be determined by a history  
 of male moves and female countermeasures to take over the  
 450 egg because males and females have distinct evolutionary  
 stable strategies. We thus expect the sperm to be adapted for  
 replacing the egg’s nucleus whenever the egg lacks counter-  
 adaptations to prevent it. If outbreeding is favored or if the  
 loss of a gene essential for the production of arrhenotokous  
 455 males occurred in parthenogenetic queens (as may be the  
 case in *W. auropunctata*, see Foucaud et al. 2006), some  
 permissive eggs (i.e., less-defended eggs in which the  
 maternal genetic material could be destroyed by paternal  
 genetic material) could be produced by queens and result  
 460 in the production of clonal males (Normark B, personal  
 communication).

Alternatively, male clonality may result from the pro-  
 duction by parthenogenetic queens of “anucleate ovules”  
 later fertilized. Such production of anucleate ovules by  
 465 queens might occur simultaneously with the production  
 of thelytokous ovules (with the whole nucleus being passed  
 to one daughter cell and only the cytoplasm to the other),  
 accounting for the observed strong linkage between queen  
 parthenogenesis and male clonality. This hypothetical mei-  
 470 otic mechanism differs considerably from the standard  
 mechanism of automictic central-fusion parthenogenesis,  
 which has been put forward to account for the high level  
 of heterozygosity and the pattern of recombination ob-  
 served in parthenogenetic queens (Foucaud et al. 2006).  
 475 As in the permissive MGE mechanism, the production of  
 anucleate ovules may also be favored by an advantage  
 of outbreeding at the worker level or the loss of a male-  
 essential gene. However, the anucleate ovules hypothesis  
 does not necessarily require an ongoing conflict-ridden co-  
 480 evolution of sexes. Cytological studies are required to dis-  
 criminate between the permissive MGE versus anucleate  
 ovules hypotheses.

In conclusion, this study demonstrates that clonal pop-  
 ulations of *W. auropunctata* most likely recently arose from  
 485 local sexual populations and that males and queens do not  
 form separate evolutionary entities. Hence, in contrast to  
 previous suggestions (Queller 2005), *W. auropunctata*  
 males do not merit the title “first all-male species.” As male  
 clonality appears to be a female rather than a male trait, this

unusual reproduction system cannot be seen as a male strat- 490  
 egy to counteract the reduction of male fitness by female  
 parthenogenesis. It therefore seems unlikely that *W. auropunc-*  
*tata* males and queens are currently engaged in an all-  
 out male–female war. However, our study leaves intact the  
 possibility of a more ordinary conflict-ridden coevolution 495  
 of sexes (as expected in haplodiploid species) that could  
 explain the strong linkage between parthenogenesis and  
 male clonality. Alternatively, the anucleate ovules hypoth-  
 esis could mechanistically explain this coexistence of sex-  
 specific clonal systems. This work should pave the way to 500  
 future studies on the adaptive significance and the evolu-  
 tionary stability of mixed sexual and clonal reproduction  
 systems found in many living organisms.

### Supplementary Material

Supplementary table S1 and figure S1 are available at 505  
*Molecular Biology and Evolution* online (<http://www.mbe.oxfordjournals.org/>).

### Acknowledgments

We would like to thank José Crispim Soares do Carmo  
 and José Raimundo Maia dos Santos for help in the field 510  
 and Luciana França Mendes for help with the map. We  
 thank Benjamin Normark, Tatiana Giraud, and Georges  
 Roderick for comments on the manuscript and Marco Antonio  
 Costa, Riviane Hora, Julien Grangier, and Aude Gilabert  
 for support. We acknowledge the “Laboratoire Environnement 515  
 de Petit Saut, Hydreco” and Centro de Pesquisas do  
 Cacau and Universidade Estadual de Santa Cruz for equip-  
 ment and laboratory facilities. This work was supported by  
 a grant from the French “Ministère de l’Ecologie et du Dé-  
 veloppement Durable—appel d’offre ECOTROP” to A.E. 520  
 and J.O., and a grant from CNPq for J.H.C.D.

### Literature Cited

- Barraclough TG, Birky CW, Burt A. 2003. Diversification in  
 sexual and asexual organisms. *Evolution*. 57:2166–2172.
- Chakraborty R, Jin L. 1993. Determination of relatedness between 525  
 individuals using DNA fingerprinting. *Hum Biol*. 65:875–895.
- Chapuisat M. 1998. Mating frequency of ant queens with  
 alternative dispersal strategies, as revealed by microsatellite  
 analysis of sperm. *Mol Ecol*. 7:1097–1105.
- Delmotte F, Sabater-Munoz B, Prunier-Leterme N, Latorre A, 530  
 Sunnucks P, Rispe C, Simon J-C. 2003. Phylogenetic  
 evidence for hybrid origins of asexual lineages in an aphid  
 species. *Evolution*. 57:1291–1303.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an  
 approach using the bootstrap. *Evolution*. 39:783–791. 535
- Felsenstein J. 1989. PHYLIP—phylogeny inference package  
 (Version 3.2). *Cladistics*. 5:164–166.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. 1994. DNA  
 primers for amplification of mitochondrial cytochrome c  
 oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol* 540  
*Mar Biol Biotechnol*. 3:294–299.
- Fontaneto D, Herniou EA, Boschetti C, Caprioli M, Melone G,  
 Ricci C, Barraclough TG. 2007. Independently evolving  
 species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS Biol*. 5:e87.



- 545 Foucaud J, Jourdan H, Le Breton J, Loiseau A, Konghouleux D, Estoup A. 2006. Rare sexual reproduction events in the clonal reproduction system of introduced populations of the little fire ant. *Evolution*. 60:1646–1657.
- Fournier D, Estoup A, Orivel J, Foucaud J, Jourdan H, Le Breton J, Keller L. 2005a. Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature*. 435:1230–1235.
- Gomez-Zurita J, Funk DJ, Vogler AP. 2006. The evolution of unisexuality in *Calligrapha* leaf beetles: molecular and ecological insights on multiple origins via interspecific hybridization. *Evolution*. 60:328–347.
- 555 Groot TVM, Breeuwer JAJ. 2006. *Cardinium* symbionts induce haploid thelytoky in most clones of three closely related *Brevipalpus* species. *Exp Appl Acarol*. 39:257–271.
- Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol*. 52:696–704.
- 560 Hasegawa M, Kishino H, Yano T. 1985. Dating the human-ape splitting by molecular clock of mitochondrial DNA. *J Mol Evol*. 21:160–174.
- 565 Hebert PDN. 1981. Obligate asexuality in *Daphnia*. *Am Nat*. 117:784–789.
- Howard RS, Lively CM. 1994. Parasitism, mutation accumulation and the maintenance of sex. *Nature*. 367:554–557.
- Huigens ME, Stouthamer R. 2003. Parthenogenesis associated with *Wolbachia*. In: Bourtzis K, Miller TA, editors. *Insect symbiosis*. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 247–266.
- 570 Johnson, Leefe. 1999. Clonal diversity and polyphyletic origins of hybrid and spontaneous parthenogenetic *Campeloma* (Gastropoda: Viviparidae) from the south-eastern United States. *J Evol Biol*. 12:1056–1068.
- 575 Kishino H, Miyata T, Hasegawa M. 1990. Maximum likelihood inference of protein phylogeny and the origin of chloroplasts. *J Mol Evol*. 31:151–160.
- Kondrashov AS. 2001. Sex and U. *Trends Genet*. 17:75–77.
- 580 Lowe S, Browne M, Boudjelas S. 2000. 100 of the world's worst invasive alien species. *Aliens*. 12S:1–12.
- Mantovani B, Passamonti M, Scali V. 2001. The mitochondrial cytochrome oxidase II gene in *Bacillus* stick insects: ancestry of hybrids, androgenesis, and phylogenetic relationships. *Mol Phylogenet Evol*. 19:157–163.
- 585 Maynard Smith J. 1978. *The evolution of sex*. Cambridge: Cambridge University Press.
- McKone MJ, Halpern SL. 2003. The evolution of androgenesis. *Am Nat*. 161:641–656.
- 590 Moritz C. 1991. The origin and evolution of parthenogenesis in *Heteronotia binoei* (Gekkonidae): evidence for recent and localized origins of widespread clones. *Genetics*. 129: 211–219.
- Normark BB. 2003. The evolution of alternative genetic systems in insects. *Annu Rev Entomol*. 48:397–423.
- 595 O'Neill SL, Hoffmann AA, Werren JH. 1997. *Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction*. New York: Oxford University Press.
- Page RDM. 1996. *TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers*. *Comput Appl Biosci*. 12:357–358.
- Pongratz N, Sharbel TF, Beukeboom LW, Michiels NK. 1998. Allozyme variability in sexual and parthenogenetic freshwater planarians: evidence for polyphyletic origin of parthenogenetic lineages through hybridization with coexisting sexuals. *Heredity*. 81:38–47. 605
- Posada D, Crandall KA. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*. 14:817–818.
- Quattro JM, Avise JC, Vrijenhoek RC. 1992. Mode of origin and sources of genotypic diversity in triploid gynogenetic fish clones (Poeciliopsis: Poeciliidae). *Genetics*. 130:621–628. 610
- Queller DC. 2005. Males from mars. *Nature*. 435:1167–1168.
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*. 4:406–425. 615
- Schneider MV, Beukeboom LW, Driessen G, Lapchin L, Bernstein C, Van Alphen JJM. 2002. Geographical distribution and genetic relatedness of sympatric thelytokous and arrhenotokous populations of the parasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera). *J Evol Biol*. 15:191–200. 620
- Shimodaira H, Hasegawa M. 1999. Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference. *Mol Biol Evol*. 16:1114–1116.
- Simon J-C, Delmotte F, Rispé C, Crease T. 2003. Phylogenetic relationships between parthenogens and their sexual relatives: the possible routes to parthenogenesis in animals. *Biol J Linn Soc*. 79:151–163. 625
- Spolsky CM, Phillips CA, Uzzell T. 1992. Antiquity of clonal salamander lineages revealed by mitochondrial DNA. *Nature*. 356:706–708. 630
- Stouthamer R. 1997. *Wolbachia*-induced parthenogenesis. In: O'Neill S, Hoffmann AA, Werren J, editors. *Influential passengers*. New York: Oxford University Press. p. 102–124.
- Swofford DL. 2003. PAUP\*. *Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods)*. Version 4 in S. Sunderland (MA): Sinauer Associates. 635
- Turgeon J, Hebert PDN. 1994. Evolutionary interactions between sexual and all-female taxa of *Cyprinotus* (Ostracoda: Cyprididae). *Evolution*. 48:1855–1865.
- Wenseleers, Billen. 2000. No evidence for *Wolbachia*-induced parthenogenesis in the social Hymenoptera. *J Evol Biol*. 13:277–280. 640
- Werren J, Zhang W, Guo L. 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 261:55–63. 645
- Wetterer JK, Porter SD. 2003. The little fire ant, *Wasmannia auropunctata*: distribution, impact, and control. *Sociobiology*. 42:1–41. 645
- Zchori-Fein E, Gottlieb Y, Kelly SE, Brown JK, Wilson JM, Karr TL, Hunter MS. 2001. A newly discovered bacterium associated with parthenogenesis and a change in host selection behavior in parasitoid wasps. *Proc Natl Acad Sci USA*. 98:12555–12560. 650

Diethard Tautz, Associate Editor

Accepted August 22, 2007

655

1 **Invasive populations within native area: evidence from the little fire ant,**  
2 ***Wasmannia auropunctata***

3 *(soumis à Biological Invasions)*

4  
5 Jérôme Orivel <sup>1</sup>, Julien Grangier <sup>1</sup>, Julien Le Breton <sup>1,2</sup>, Julien Foucaud <sup>3</sup>, Denis Fournier <sup>3\*</sup>,  
6 François-Xavier Andrès <sup>2</sup>, Hervé Jourdan <sup>2</sup>, Jacques H. C. Delabie <sup>4</sup>, Philippe Cerdan <sup>5</sup>,  
7 Arnaud Estoup <sup>3</sup> & Alain Dejean <sup>1,6</sup>

8  
9 <sup>1</sup> Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, UMR-CNRS 5174, Université Paul Sabatier,  
10 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France

11  
12 <sup>2</sup> Laboratoire de Zoologie Appliquée, Centre IRD de Nouméa, BP A5, 98948 Nouméa cedex,  
13 Nouvelle-Calédonie

14  
15 <sup>3</sup> INRA, UMR CBGP (INRA / IRD / Cirad / Montpellier SupAgro), Campus international de  
16 Baillarguet, CS 30016, F-34988 Montferrier-sur-Lez cedex, France

17  
18 <sup>4</sup> U.P.A. Laboratório de Mirmecologia, Convênio UESC/CEPLAC, C.P.7, 45600-000 Itabuna,  
19 Bahia, Brazil

20  
21 <sup>5</sup> Laboratoire Environnement de Petit Saut (HYDRECO), BP 823, 97388 Kourou cedex,  
22 France.

23  
24 <sup>6</sup> CNRS-Guyane, UPS 2561 (and UMR-CNRS 5174), Résidence "Le Relais", 16 avenue  
25 André Aron, 97300 Cayenne, France

26  
27 \* Present address: Behavioral and Evolutionary Ecology – CP 160/12, Université Libre de  
28 Bruxelles, 50 av F.D. Roosevelt, 1050 Brussels, Belgium

29  
30  
31  
32 Corresponding author:

33 Jérôme Orivel

34 Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, Université Paul Sabatier, 118 route de  
35 Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France

36 Email: [orivel@cict.fr](mailto:orivel@cict.fr)

37 Fax: +33 (0) 5 61 55 73 27

38

39 **Abstract**

40 Because of the large size of the geographic areas affected and strong negative effect on  
41 native communities, human-assisted biological invasions in remote introduction areas are  
42 being increasingly studied. On the other hand, the biology of most invasive species remains  
43 largely understudied in their native geographical areas. Such studies are however crucial to  
44 shade light on the ecological and evolutionary processes underlying biological invasions.  
45 Here we focus on the little fire ant *Wasmannia auropunctata*, a species native from Central  
46 and South America that has been widely introduced and became invasive throughout the  
47 tropics. Ecological traits of native populations in French Guiana have been characterized and  
48 compared with those in one of its introduced ranges, New Caledonia. We found two clearly  
49 distinct types of populations of *W. auropunctata* coexisting in the native range of the species.  
50 First, we found populations restricted to naturally-perturbed areas of the undisturbed forest  
51 (especially flood lands) and characterized by low nest densities. Second, we found dominant  
52 populations that had a negative impact on the ant community in human-disturbed areas. With  
53 respect to their demographical features and impact on the ant community, the latter  
54 populations were similar to the invasive populations introduced in remote areas: they hence  
55 also can be considered as invasive. The expression of invasive traits of the little fire ant in its  
56 native area seems to rely on a combination of both intrinsic (disturbance-specialist trait) and  
57 biotic (competition) factors. Our study illustrates that invasive populations can arise in the  
58 native range of introduced species, and calls for increasing research efforts to uncover the  
59 basic biology of alien invasive species in their native range.

60

61 **Key words:** biological invasion, disturbance, ecological traits, native, *Wasmannia*  
62 *auropunctata*

## 63 **Introduction**

64 Biological invasions, defined as the successful establishment and spread of species to  
65 new areas outside their native range (Lockwood et al., 2007), are now considered to be one of  
66 the leading contributors to biodiversity loss. Historically, expansions, declines, or shifts in the  
67 geographical distributions of species have been a major driver of the evolutionary processes  
68 generating and maintaining biodiversity. However, the explosion of human activities are  
69 currently the key vector of the transfer of exotic species (Ricklefs, 2005; Vermeij, 2005).  
70 Such human-assisted invasions in remote introduction areas by non-native species are among  
71 the most harmful to the ecosystems because they affect large geographic areas and lead to the  
72 disruption of native communities (Sanders et al., 2003; Ricciardi, 2007). The success of  
73 invasive species in their introduced range has mainly been attributed to behavioural and  
74 genetic changes, as well as escape opportunities from natural enemies and niche  
75 opportunities, which apparently occurred in the introduction area (Shea & Chesson, 2002;  
76 Prenter et al., 2004). However, the biology of most invasive species remains largely  
77 understudied in their native geographical areas so that the timing and location of such changes  
78 may be questioned (e.g. Facon et al., 2006). Studies devoted to the biology of known invasive  
79 alien species in their native range appears crucial to shed light on the timing and location of  
80 the ecological and evolutionary processes underlying biological invasions.

81 Ants occupy a central place in the functioning of ecosystems because of their ubiquity  
82 and the relationships they have developed with a variety of animal and vegetal taxa. A subset  
83 of species is considered as the most devastating invaders known, and the studies on ants'  
84 invasions highlighted major direct and indirect ecological consequences (Holway et al., 2002;  
85 O'Dowd et al., 2003). Here we focus on the little fire ant *Wasmannia auropunctata*, one of the  
86 few ant species nominated as among 100 of the "World's Worst" invaders (Lowe et al., 2000).  
87 Native from Central and South America, it has been widely introduced throughout the tropics  
88 including several West-African countries, Caribbean and Pacific islands (Wetterer & Porter,  
89 2003). The invasive populations of *W. auropunctata* have major impacts on the ecosystems  
90 by competing with and displacing most native ant species, and preying on other invertebrates  
91 (Lubin, 1984; Le Breton et al., 2003; Walker, 2006). Because most studies on this species  
92 have been conducted so far on introduced populations, little is known about the biology of the  
93 little fire ant populations within the native area. In its native range, *W. auropunctata* has been  
94 recorded as a quite common species with opportunistic habits for both nesting and food  
95 resources (Tennant, 1994; de la Fuente & Marquis, 1999; Hahn & Wheeler, 2002). Nests are  
96 mainly found on the ground and in the leaf litter, but colonies can also shelter in  
97 myrmecophytic plants, epiphytes and in the tree canopies in plantations (Delabie, 1990;  
98 Tennant, 1994; Blüthgen et al., 2000; Alvarez et al., 2001; Armbrecht et al., 2001; Armbrecht  
99 & Ulloa-Chacon, 2003).

100 The aim of this study was to conduct a detailed survey of the ecological traits of the  
101 populations of the little fire ant in its native range (French Guiana). To this end, we made a  
102 census of the populations in human-disturbed and undisturbed areas and characterized their  
103 demographic features, as well as their potential impact on the ant species communities. These  
104 results were then compared with those of a similar survey performed in an invasive  
105 population of its introduced ranges, the island of New Caledonia, to determine whether and  
106 how the native populations were different from the introduced ones.

## 107 **Materials and Methods**

### 108 *Study sites*

109 The study was carried out in the area of the Petit Saut hydroelectric reservoir in French  
110 Guiana (4°59 N, 53°08 W) between 2002 and 2004 and in the areas of Pindaï and of the  
111 Rivière Bleue National park in New Caledonia in 2001 (Figure 1). In French Guiana, the  
112

113 survey areas were located along the road to the dam (human-disturbed sites) and along a dirt  
114 road going from the main road to the dam for undisturbed sites (flood lands along creeks and  
115 surrounding forests). The road going to the Petit Saut dam was built between 1988 and 1989  
116 (i.e. before building of the dam, 1989-1994) to gain access to the site. In New Caledonia, the  
117 survey areas were both located in undisturbed sites that had been recently invaded by *W.*  
118 *auropunctata*. The area of Pindaï was dominated by xerophyllous forest remnants and the  
119 presence of *W. auropunctata* has been noticed since 1991. The Rivière Bleue National park  
120 was dominated by evergreen forest areas and experienced invasion by the little fire ant since  
121 1995-1997 (Jourdan, 1999).

122

#### 123 *Occurrence of W. auropunctata in French Guiana*

124 During the survey along roadsides (human-disturbed sites), the ants presence was  
125 monitored at each site along two parallel transects separated by 20 m, extending from the  
126 open land close to the road pavement to 50 m inside the undisturbed forest. In total, 20 sites  
127 separated by 500 m each were sampled along 10 km of the main road going to the Petit Saut  
128 dam (i.e., 40 transects). Each transect crossed three types of habitats namely "open land"  
129 which is the herbaceous strata close to the road, "forest edge" which is a secondary forest that  
130 grew since 20 years after the road construction and the "undisturbed forest". Each habitat  
131 varied in disturbance, canopy cover and floristic composition. On each transect, 10 baits were  
132 disposed at the ground level at five meters intervals and we assessed the number of workers of  
133 any ant species foraging on the baits after 60 minutes. In addition to the ant presence on the  
134 baits, we also visually search for *W. auropunctata* workers around the baits for two minutes.  
135 Baits consisted of a combination of tuna tined in oil, honey and cookie crumbs considered as  
136 attractants for a wide range of ant species (Human & Gordon, 1999).

137 The surveys of *W. auropunctata* in natural areas were performed in flood lands along  
138 creeks and in the adjacent forest of each site. We focused on flood lands because a previous  
139 preliminary census of ant diversity in the study site highlighted the presence of *W.*  
140 *auropunctata* in such areas (JO and JLB pers. obs.). These sites were also selected because  
141 the *W. auropunctata* colonies recorded were unlikely the result of human introduction. In  
142 total, 10 sites distributed along 6 km of a dirt road were sampled (Figure 1). At each site, two  
143 transects were performed, one in the flood land and one in the surrounding forest. As  
144 mentioned above, on each transect 10 baits were placed at the ground level at five meters  
145 intervals and we assessed the number of workers foraging on the baits after 60 minutes. In  
146 addition, baits were disposed on each tree trunk with a diameter greater than 10 cm  
147 encountered along each transect (N = 387 and 245 in the flooded areas and in the forest,  
148 respectively). Finally, the epiphytes located up to 3 m high along the transects (N = 223) in  
149 the flood lands were visually inspected for the presence of ant colonies. No epiphytes at this  
150 height were present in the surrounding forest.

151

#### 152 *Demographic structure of the native and introduced populations*

153 The nest densities per m<sup>2</sup> as well as the number of queens, workers and brood per m<sup>2</sup>  
154 were recorded both from populations of human-disturbed areas of French Guiana and from  
155 the New Caledonian population. In both countries the sampling protocol was the same and  
156 consisted of the exhaustive sampling of all the nests of *W. auropunctata* in 1m<sup>2</sup> quadrates of  
157 leaf litter. In each site, the sampled 1m<sup>2</sup> quadrates were distant by at least 5 m from each  
158 other. All the nests encountered were subsequently stored in ethanol or frozen and the  
159 numbers of individuals and brood counted. Three sites (two secondary forest fragments and  
160 one forest edge) were sampled in French Guiana and two sites (one evergreen forest fragment  
161 and one sclerophyllous forest fragment) in New Caledonia. Twenty 1m<sup>2</sup> quadrates were

162 sampled in each of the two Guianian secondary forest fragments, 23 in the forest edge and 40  
163 in each of the two New Caledonian forest fragments.

164 In the natural areas, a rough estimation of the nest densities of *W. auropunctata* was also  
165 calculated from the above mentioned transects in the flood lands, together with others aimed  
166 at the collection of entire nests of *W. auropunctata*. We estimated the range of baits at two  
167 meters across, which was multiplied by the transect lengths to give the surface areas sampled.

168

#### 169 *Impact of W. auropunctata on the ant community in French Guiana*

170 The potential impact of dominant populations of *W. auropunctata* on the diversity of the  
171 ant community in French Guiana was evaluated along the human-disturbed areas studied. The  
172 40 transects performed along roadsides (see above) were divided in three categories according  
173 to the presence and abundance of *W. auropunctata*: dominated, present or absent. We focused  
174 only on the baits deposited from the open land to the forest edge as the latter were the main  
175 habitats of the little fire ant (see the results section for details). For each transect, the diversity  
176 of ant species was noticed.

177 Moreover, in one site heavily dominated by *W. auropunctata* (forest fragment 1, Figure  
178 1), we assessed more precisely the ant community's diversity foraging on baits in the leaf  
179 litter. Baits were deposited along nine transects parallel to the forest edge at five meters  
180 interval, the first transect being just at the edge. Ten baits, separated by five meters, were  
181 deposited by transect. This grid arrangement allowed us to obtain precise data on the ant  
182 community distribution from the edge to the inner forest and thus to evaluate the impact of the  
183 dominant *W. auropunctata* population. The number of individuals of each ant species on each  
184 bait was monitored after 5, 30 and 60 min.

185

## 186 **Results**

### 187 *Census of native populations from disturbed and undisturbed areas*

188 Our surveys revealed that in French Guiana *W. auropunctata* was commonly observed  
189 along roadsides as it was detected in 85% (17 out of 20) sampled sites. Workers of *W.*  
190 *auropunctata* were not uniformly distributed among habitats. They were more frequent in the  
191 open habitat (42.5% of the baits) than in the secondary forest (26.6% of the baits) and almost  
192 absent in the inner forest (Figure 2).

193 The surveys performed in the undisturbed sites confirmed the rarity of the little fire ant in  
194 all the samples from the primary forest of the study area but from the flooded sites along  
195 creeks (Table 1). *W. auropunctata* was almost strictly confined to these latter peculiar areas  
196 which are temporarily flooded during the rainy season. Workers were recorded in 9 out of 10  
197 of the flooded areas sampled either on baits on the ground or on tree trunks, or nesting insides  
198 the root clusters of epiphytes. Compared to the human-disturbed sites, *W. auropunctata* was  
199 less frequent and represented 22.6, 9.4 and 13.2% of the ant species recorded on the ground,  
200 tree trunks or epiphytes respectively.

201

### 202 *Demographic structure of the native and introduced populations*

203 The mean densities of nests in the two secondary forest fragments (mean  $\pm$  SD:  $2.4 \pm 1.8$   
204 and  $3.8 \pm 2$  nests/m<sup>2</sup>) and in the forest edges ( $4.6 \pm 3.6$  nests/m<sup>2</sup>) of French Guiana were not  
205 significantly different. Such nest densities were however significantly lower than those  
206 recorded in the two forest areas of New Caledonia ( $8.3 \pm 3.4$  and  $19.6 \pm 9.3$  nests/m<sup>2</sup>) (Figure  
207 3A). The two New Caledonian forest types also significantly varied in their nest densities of  
208 *W. auropunctata* with the sclerophyllous forest harbouring more than twice time more nests  
209 per m<sup>2</sup> than the evergreen forest. Note that in the undisturbed forest areas, the nest densities  
210 were much lower than in any of the disturbed sites of French Guiana and were estimated to  
211 0.014 nest/m<sup>2</sup>.

212 The nest compositions also varied between the different areas and forest types sampled.  
213 The main difference between the Guianian and New Caledonian populations concerned the  
214 number of queens per m<sup>2</sup> (Figure 3B). In the two New Caledonian forest areas, the number of  
215 queens per m<sup>2</sup> was large although highly variable (mean  $\pm$  SD:  $35.7 \pm 24.8$  and  $90.0 \pm 81.9$   
216 queens/m<sup>2</sup> in the evergreen and in the sclerophyllous forests, respectively), while it was  
217 significantly lower in the three types of secondary areas of French Guiana ( $2.2 \pm 2.5$ ,  $0.9 \pm 1.4$   
218 and  $1.8 \pm 2.4$  queens/m<sup>2</sup> in the two secondary forest fragments and in the forest edge,  
219 respectively). In New Caledonia, the proportion of nest sheltering at least one queen was also  
220 high and mostly linked to the high number of queens per m<sup>2</sup> (Figure 4). Nevertheless, this  
221 proportion of queenright nests was not significantly higher in the sclerophyllous forest  
222 fragment of New Caledonia than in most of the sampled areas of French Guiana.

223 The numbers of workers and brood per m<sup>2</sup> did not show any clear pattern when  
224 comparing populations from New Caledonia and French Guiana (Figure 3C-D).

### 225 *Impact on the ant community*

227 If the little fire ant was commonly recorded along roadsides from the open land to the  
228 forest edge, it was dominant in only a few cases (four transects). When dominant, almost all  
229 the baits were always monopolised by a high number of workers and only few others ant  
230 species have been observed. Only eight species were indeed occasionally recorded in such a  
231 situation while a larger diversity was always noticed on baits when *W. auropunctata* was  
232 present on only a few baits of the transects but not dominant (21 species in total) or absent (36  
233 species).

234 The impact on the ant community was confirmed in the Guianian disturbed site we  
235 studied more precisely. *Wasmannia auropunctata* completely dominated the zone from the  
236 edge to the 20 first meters of the secondary forest (Figure 5A). No other ant species have been  
237 detected on baits on the three first transects and very few heterospecific workers were  
238 detected at 15 and 20 m (Figure 5B). After 30 and 60 min., the numbers of recruited *W.*  
239 *auropunctata* workers on baits were significantly higher than the number recruited by other  
240 ants. Note that even after 5 min numerous *W. auropunctata* workers were already collected on  
241 the baits. Between 20 and 25 m the abundance of *W. auropunctata* detected on baits suddenly  
242 and drastically decreased, and no workers were recorded further than 30 m. Conversely,  
243 foraging workers of other ant species were detected from 25 m and their abundance increased  
244 with the distance from the edge and the disappearance of *W. auropunctata*. The species  
245 recorded on the baits mainly belonged to the genera *Pheidole*, *Solenopsis*, *Crematogaster*,  
246 *Ochetomyrmex* and *Camponotus* whose species are among the most common in the secondary  
247 forests of the studied area.

### 248 **Discussion**

250 This study demonstrates the existence of two clearly distinct categories of populations of  
251 *W. auropunctata*. First, we found populations that dominate large areas and have a negative  
252 impact on the ant community both in the native and introduced range of the species. Such  
253 populations are to a large extent similar to those that most studies on neotropical ant diversity  
254 in human-disturbed ecosystems have highlighted (Armbrecht & Ulloa-Chacon, 2003;  
255 Wetterer & Porter, 2003). Second, besides these dominant populations, *W. auropunctata*  
256 colonies also occur in a strikingly different ecological form in natural forest areas of its native  
257 range. These latter populations are characterized by low nest densities which are highly  
258 comparable to the densities found in Panama (0.05-0.13 nest/m<sup>2</sup>, Levings & Franks, 1982).  
259 They are, at least in the study area, restricted to the flood lands near the creeks and almost  
260 absent from the surrounding forest. Note that all these populations have been confirmed to  
261 belong to a single species, *W. auropunctata*. No differences could have been highlighted from

262 both morphological and genetical (microsatellites and mtDNA) analyses (Foucaud et al.,  
263 2007).

264

265 *Invasive status of native dominant populations*

266 Although a global lack of consensus in the definition of the key terms used in invasion  
267 biology still exists, recent reviews of the terminology suggested the use of 'invasive' only to  
268 refer to alien organisms that have established in a new area with negative impacts on the  
269 native communities (Colautti & MacIsaac, 2004; Falk-Petersen et al., 2006; Lockwood et al.,  
270 2007). Such definition precludes the importance of the processes occurring in the native range  
271 of a species before its introduction that could favour the invasiveness of a species. Our results  
272 regarding the worker numbers and their impact on the ant community, indicate that the  
273 dominant populations of *W. auropunctata* located in disturbed areas of its native range can be  
274 considered as invasive. As a matter of fact, the demographic structure of the native  
275 populations from human-disturbed areas, together with their strong negative impact on the ant  
276 communities, make these populations similar to the invasive populations introduced in remote  
277 areas (Le Breton et al., 2003). The recorded workers' densities are also of similar magnitude  
278 than the densities reported in another widespread invasive species, the Argentine ant  
279 *Linepithema humile*, from native and introduced populations (Heller, 2004).

280 The existence of invasive native populations might be more common than currently  
281 considered. First, native pest species with recurrent pullulation cycles share much  
282 demographic and ecological features with traditional alien invasive species. Second, by  
283 altering the functioning of ecosystems, introduced invasive species can themselves give rise  
284 to native invasive species, by developing new mutualistic or predatory relationships (Ness &  
285 Bronstein, 2004). This latter point corresponds to an extension of the concept of 'invasional  
286 meltdown' (Simberloff & Von Holle, 1999), where the facilitation of native species by  
287 introduced species is considered (and not only the facilitation between introduced species).  
288 Based on this body of evidences and our own results on *W. auropunctata*, we suggest that the  
289 definition of an 'invasive' species should better acknowledge the possibility for invasive trait  
290 to arise within the native range of a species. To our view, invasive species are characterized  
291 by three major features: (i) the extension of the effective range of the species, (ii) the  
292 demographic burst of the species, and (iii) the functional disruption of the invaded ecosystem.  
293 In contrast to previous definitions of the term 'invasive', we consider here that the 'effective  
294 range' of a species may be different from its 'native range'; this is because the native area  
295 effectively occupied by a species (its 'effective' or 'realized' native range) may be smaller in  
296 size than, and included within, its 'native range'. The above definition has the merit to include  
297 invasive populations that emerged within the native range of the species since it does not  
298 require any remote introduction event to take place in order to designate a species as  
299 'invasive'.

300 Regarding *W. auropunctata*, several major characteristics differs, however, between the  
301 invasive native and introduced populations. First, only one supercolony has invaded most  
302 disturbed and undisturbed areas of the New Caledonia island (Le Breton et al., 2004), while  
303 several supercolonies covering limited disturbed areas coexist in French Guiana (pers. obs.,  
304 and see Errard et al., 2005 for Brazilian populations). Second, although bearing similar  
305 worker forces, the nest densities of the native and introduced populations strongly differ,  
306 highlighting the existence of fewer but populous nests in the native populations *versus*  
307 numerous but smaller nests in the introduced populations. The latter difference in nest  
308 densities does not seem to be correlated with ecological factors such as the availability of  
309 nesting sites or effective enemies. *Wasmannia auropunctata* is an opportunistic and flexible  
310 species in its nesting requirements and it seems unlikely that the lower nest densities observed  
311 in the Guianian populations could be the result of a limitation on nesting sites. Moreover, the



312 level of parasitism was found to be low in these populations. The few *Oreasema* Eucharitid  
313 wasps found in less than 10% of the nests (unpublished results) and already described as  
314 parasites of *Wasmannia* colonies (Heraty, 1994) could not account for effective enemies.  
315 Finally, the similar negative effect on the diversity of the ant community recorded in both  
316 native and introduced populations also exclude a potential role of competitors in the observed  
317 variations. Nevertheless, competition should not be totally excluded as the absence of  
318 effective competitors is the main factor creating a niche opportunity for the global invasion of  
319 New Caledonia by *W. auropunctata* (Le Breton et al., 2005). Interspecific competition is also  
320 likely thought to be of importance in the disturbed areas of French Guiana as a limiting factor  
321 of expansion at the population level as the invasive supercolonies were always spatially  
322 restricted.

323 One demographic factor could explain at least partly variation in nest densities. In New  
324 Caledonia, the density of queens was significantly higher than in French Guiana, but the  
325 proportions of queenright nests were mostly not significantly different. As the formation of  
326 new nests within populations is mainly the result of a budding process (i.e. the formation a  
327 new colony from a group of queens and workers from the parent colony), the number of  
328 queens could itself explain the observed differences in nest densities. These invasive  
329 populations have also been characterized by a unique reproduction system in which new  
330 queens and males are both produced clonally (Fournier et al., 2005). Some rare sexual  
331 reproduction events occurred in New Caledonia thus generating derived clonal lineages  
332 (Foucaud et al., 2006) that could have an influence on the rate of queen production.

333

#### 334 *Coexistence with non-invasive native populations*

335 The non-invasive populations are, at least in the study area, restricted to the flood lands  
336 near the creeks and almost absent from the surrounding forest. Such a restriction suggests the  
337 existence of factors enabling the development of *W. auropunctata* colonies in these flood  
338 lands. The regular floods during the rainy seasons that occur in these areas make them to be  
339 considered as naturally-perturbed sites. Even if the level of perturbation is low and transient  
340 compared to human-caused disturbances, this could be in favour of *W. auropunctata* by  
341 lowering the intensity of interspecific competition. Biotic rather than abiotic factors seem  
342 more appropriate in the explanation of these patterns of occurrence in the undisturbed areas.  
343 No differences in the climatic conditions could have been recorded between the flood lands  
344 and the surrounding forest (unpublished data). The disturbance specialist qualification of this  
345 species, which was defined by Majer & Delabie (1999) for populations from  
346 anthropogenically-disturbed areas, seems hence to apply to the populations from naturally-  
347 disturbed areas.

348 The expression of invasive traits of *W. auropunctata* in its native area or in ecosystems in  
349 which it has been introduced seems rather dependent on a combination of both intrinsic and  
350 biotic factors. The absence of competitors in the pioneer formations created by the human  
351 disturbance (forest edges, plantations) has probably favoured the installation of the little fire  
352 ant. Consequently, the disturbance-specialist trait, associated with other characteristics such  
353 as the absence of clear colony boundaries favouring unicoloniality and high flexibilities in the  
354 nesting and food requirements, are of importance in the development of potential invasive  
355 status in *W. auropunctata* (Chapman & Bourke, 2001). Such pattern has also been noticed in  
356 two other well-studied invasive ant species, *L. humile* and *S. invicta* (Pedersen et al., 2006;  
357 Tschinkel, 2006; Bolger, 2007). Above unicoloniality, which can be either an original trait of  
358 a species or a consequence arising after its introduction, the disturbance-specialist attribute  
359 appears as one of the key factor in the ecological success of invasive ants (Lockwood et al.,  
360 2007).

361

362 *Conclusion*

363 This study highlights the fact that invasive populations can arise within the native range  
364 of a species. The existence of such invasive native populations, especially if adapted to  
365 anthropogenic habitats occurring widely throughout the Earth (Vitousek et al., 1997), might at  
366 least partly explain the apparent lack of adaptive deficit shown by some if not many  
367 successfully introduced species and hence provide an answer to the so-called ‘paradox of  
368 invasion’ stressed by Sax & Brown (2000). More attention should be paid to the biology of  
369 known invasive alien species in their native range, in order to shed light on the nature and  
370 timing of the ecological and evolutionary processes underlying biological invasions. With  
371 regards to *W. auropunctata*, we hope that detailed survey of native invasive and non-invasive  
372 populations will help to decipher the relative contributions of ecological, genetical and  
373 behavioural traits in the emergence of invasiveness in the native range of this major invasive  
374 species.

375

376 **Acknowledgements**

377 We are grateful to the Laboratoire Environnement de Petit Saut (EDF – CNEH), Kourou  
378 (French Guiana) for logistical help in the field and to Andrea Dejean for proofreading the  
379 manuscript. This work was supported by grants from the French Ministère de l'Ecologie et du  
380 Développement Durable – Programme Ecosystèmes Tropicaux.

381

382 **References**

383

- 384 Alvarez G, Armbrrecht I, Jimenez E, Armbrrecht H, Ulloa-Chacon P (2001) Ant-plant  
385 association in two *Tococa* species from a primary rain forest of Colombian Choco  
386 (Hymenoptera : Formicidae). *Sociobiology* 38:585-602
- 387 Armbrrecht I, Jimenez E, Alvarez G, Ulloa-Chacon P, Armbrrecht H (2001) An ant mosaic in  
388 the Colombian rain forest of Choco (Hymenoptera : Formicidae). *Sociobiology*  
389 37:491-509
- 390 Armbrrecht I, Ulloa-Chacon P (2003) The little fire ant *Wasmannia auropunctata* (Roger)  
391 (Hymenoptera: Formicidae) as a diversity indicator of ants in tropical dry forest  
392 fragments of Colombia. *Environ. Entomol.* 32:542-547
- 393 Blüthgen N, Verhaagh M, Goitia W (2000) Ant nests in tank bromeliads - an example of non-  
394 specific interaction. *Insect. Soc.* 47:313-316
- 395 Bolger DT (2007) Spatial and temporal variation in the Argentine ant edge effect:  
396 Implications for the mechanism of edge limitation. *Biol. Conserv.* 136:295-305
- 397 Chapman RE, Bourke AFG (2001) The influence of sociality on the conservation biology of  
398 social insects. *Ecol. Lett.* 4:650-662
- 399 Colautti RI, MacIsaac HJ (2004) A neutral terminology to define ‘invasive’ species. *Divers.*  
400 *Distrib.* 10:135-141
- 401 de la Fuente MAS, Marquis RJ (1999) The role of ant-tended extrafloral nectaries in the  
402 protection and benefit of a Neotropical rainforest tree. *Oecologia* 118:192-202
- 403 Delabie JHC (1990) The ant problems of cocoa farms in Brazil. In: Vander Meer RK, Jaffe K,  
404 Cedeno A (eds) *Applied myrmecology, a world perspective*. Westview Press, Boulder,  
405 pp. 555-569
- 406 Errard C, Delabie J, Jourdan H, Hefetz A (2005) Intercontinental chemical variation in the  
407 invasive ant *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera Formicidae): a key to  
408 the invasive success of a tramp species. *Naturwissenschaften* 92:319-323

- 409 Facon B, Genton BJ, Shykoff J, Jarne P, Estoup A, David P (2006) A general eco-  
410 evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends Ecol. Evol.* 21:130-  
411 135
- 412 Falk-Petersen J, Bøhn T, Sandlund OT (2006) On the numerous concepts in invasion biology.  
413 *Biol. Invasions* 8:1409-1424
- 414 Foucaud J, Fournier D, Orivel J, Delabie JHC, Loiseau A, Le Breton J, Kergoat GJ, Estoup A  
415 (2007) Sex and clonality in the little fire ant. *Mol. Biol. Evol.* accepted
- 416 Foucaud J, Jourdan H, Le Breton J, Loiseau A, Konghouleux D, Estoup A (2006) Rare sexual  
417 reproduction events in the clonal reproduction system of introduced populations of the  
418 little fire ant. *Evolution* 60:1646-1657
- 419 Fournier D, Estoup A, Orivel J, Foucaud J, Jourdan H, Le Breton J, Keller L (2005) Clonal  
420 reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature* 435:1230-1234
- 421 Hahn DA, Wheeler DE (2002) Seasonal foraging activity and bait preferences of ants on  
422 Barro Colorado Island, Panama. *Biotropica* 34:348-356
- 423 Heller NE (2004) Colony structure in introduced and native populations of the invasive  
424 Argentine ant, *Linepithema humile*. *Insect. Soc.* 51:378-386
- 425 Heraty JM (1994) Biology and importance of two eucharitid parasites of *Wasmannia* and  
426 *Solenopsis*. In: Williams DF (ed) *Exotic ants. Biology, impact, and control of*  
427 *introduced ant species.* Westview Press, Boulder, pp. 104-120
- 428 Holway DA, Lach L, Suarez AV, Tsutsui ND, Case TJ (2002) The causes and consequences  
429 of ant invasions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33:181-233
- 430 Human KG, Gordon DM (1999) Behavioral interactions of the invasive Argentine ant with  
431 native ant species. *Insect. Soc.* 46:159-163
- 432 Jourdan H (1999) Dynamique de la biodiversité de quelques écosystèmes terrestres néo-  
433 calédoniens sous l'effet de l'invasion de la fourmi peste *Wasmannia auropunctata*. Ph.  
434 D. thesis, Université Paul Sabatier, Toulouse
- 435 Le Breton J, Chazeau J, Jourdan H (2003) Immediate impacts of invasion by *Wasmannia*  
436 *auropunctata* (Hymenoptera : Formicidae) on native litter ant fauna in a New  
437 Caledonian rainforest. *Austral Ecol.* 28:204-209
- 438 Le Breton J, Delabie JHC, Chazeau J, Dejean A, Jourdan H (2004) Experimental evidence of  
439 large-scale unicoloniality in the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Roger). *J. Insect*  
440 *Behav.* 17:263-271
- 441 Le Breton J, Jourdan H, Chazeau J, Orivel J, Dejean A (2005) Niche opportunity and ant  
442 invasion: the case of *Wasmannia auropunctata* in a New Caledonian rain forest. *J.*  
443 *Trop. Ecol.* 21:93-98
- 444 Levings S, Franks NR (1982) Patterns of nest dispersion in a tropical ground ant community.  
445 *Ecology* 63:338-344
- 446 Lockwood JL, Hoopes MF, Marchetti MP (2007) *Invasion Ecology.* Blackwell Publishing,  
447 Malden, MA
- 448 Lowe S, Browne M, Boudjelas S (2000) 100 of the world's worst invasive alien species.  
449 *Aliens* 12:1-12
- 450 Lubin YD (1984) Changes in the native fauna of the Galapagos Islands following invasion by  
451 the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*. *Biol. J. Linn. Soc.* 21:229-242
- 452 Majer JD, Delabie JHC (1999) Impact of tree isolation on arboreal and ground ant  
453 communities in cleared pasture in the Atlantic rain forest region of Bahia, Brazil.  
454 *Insect. Soc.* 46:281-290
- 455 Ness JH, Bronstein JL (2004) The effects of invasive ants on prospective ant mutualists. *Biol.*  
456 *Invasions* 6:445-461
- 457 O'Dowd DJ, Green PT, Lake PS (2003) Invasional 'meltdown' on an oceanic island. *Ecol.*  
458 *Lett.* 6:812-817

- 459 Pedersen JS, Krieger MJB, Vogel V, Giraud T, Keller L (2006) Native supercolonies of  
460 unrelated individuals in the invasive argentine ant. *Evolution* 60:782-791
- 461 Prenter J, MacNeil C, Dick JTA, Dunn AM (2004) Roles of parasites in animal invasions.  
462 *Trends Ecol. Evol.* 19:385-390
- 463 Ricciardi A (2007) Are modern biological invasions an unprecedented form of global change?  
464 *Conserv. Biol.* 21:329-336
- 465 Ricklefs RE (2005) Taxon cycles. Insights from invasive species. In: Sax DF, Stachowicz JJ,  
466 Gaines SD (eds) *Species invasions: insights into ecology, evolution, and*  
467 *biogeography*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, pp. 165-199
- 468 Sanders NJ, Gotelli NJ, Heller NE, Gordon DM (2003) Community disassembly by an  
469 invasive species. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100:2474-2477
- 470 Sax DF, Brown JH (2000) The paradox of invasion. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 9:363-371
- 471 Shea K, Chesson P (2002) Community ecology theory as a framework for biological  
472 invasions. *Trends Ecol. Evol.* 17:170-176
- 473 Simberloff D, Von Holle B (1999) Positive interactions of nonindigenous species: invasional  
474 meltdown? *Biol. Invasions* 1:21-32
- 475 Tennant LE (1994) The ecology of *Wasmannia auropunctata* in primary tropical rainforest in  
476 Costa Rica and Panama. In: Williams DF (ed) *Exotic ants*. Westview Press, Oxford,  
477 pp. 80-90
- 478 Tschinkel WR (2006) *The fire ants*. The Belknap Press and Harvard university Press,  
479 Cambridge, MA
- 480 Vermeij GJ (2005) Invasion as Expectation. A historical fact of life. In: Sax DF, Stachowicz  
481 JJ, Gaines SD (eds) *Species invasions: insights into ecology, evolution, and*  
482 *biogeography*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, pp. 315-339
- 483 Vitousek PM, D'antonio CM, Loope LL, Rejmanek M, Westbrook R (1997) Introduced  
484 species: a significant component of human-caused global change. *N. Z. J. Ecol.* 21:1-  
485 16
- 486 Walker KL (2006) Impact of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*, on native forest ants  
487 in Gabon. *Biotropica* 38:666-673
- 488 Wetterer JK, Porter SD (2003) The little fire ant, *Wasmannia auropunctata*: distribution,  
489 impact, and control. *Sociobiology* 42:1-41

490 Legend of the figures

491  
 492 Figure 1. Locations of the sampling sites in French Guiana (A) and in New Caledonia (B). In  
 493 French Guiana, M1 to M10 refer to the flood lands that had been sampled.

494  
 495 Figure 2. Percentage of baits monopolized by *Wasmannia auropunctata* along roadside  
 496 transects according to the type of habitats. Data were averaged from the 17 sampled sites in  
 497 which the species was detected.

498  
 499 Figure 3. Differences in nest densities (A), queen numbers (B), worker numbers (C) and  
 500 brood numbers (D) of *Wasmannia auropunctata* between three disturbed areas of French  
 501 Guiana and two invaded sites in New Caledonia (surface unit = 1m<sup>2</sup>). The symbols bearing  
 502 the same letters indicate values that are not significantly different at the 5% level of  
 503 significance [Mann-Whitney U test followed by a Bonferroni correction].

504  
 505 Figure 4. Comparison of the proportions of queenright and queenless nests between three  
 506 disturbed areas of French Guiana and two invaded sites in New Caledonia. The bars bearing  
 507 the same letters indicate values that are not significantly different at the 5% level of  
 508 significance [ $\chi^2$  test followed by a Bonferroni correction].

509  
 510 Figure 5. Mean number of workers ( $\pm$  SE) of *Wasmannia auropunctata* (A) and other ant  
 511 species (all pooled) (B) in a secondary forest area of French Guiana. Workers were recorded  
 512 after 5, 30 and 60 min. on baits located at different distances from the edge of the forest.

513  
 514  
 515  
 516  
 517  
 518  
 519 Table 1. Occurrence of *W. auropunctata* and other ant species (all pooled) on baits deposited  
 520 on the ground or on tree trunks, and in epiphytes in undisturbed areas of French Guiana.

521

	Flooded areas				Surrounding forest			
	<i>Wasmannia auropunctata</i>	Other ant species	Empty	N	<i>Wasmannia auropunctata</i>	Other ant species	Empty	N
Ground	17	75	8	100	0	87	13	100
Tree trunks	22	234	131	387	1	137	107	245
Epiphytes	19	144	60	223	/	/	/	/

522

523 Figure 1

524

526

530

532

535

539

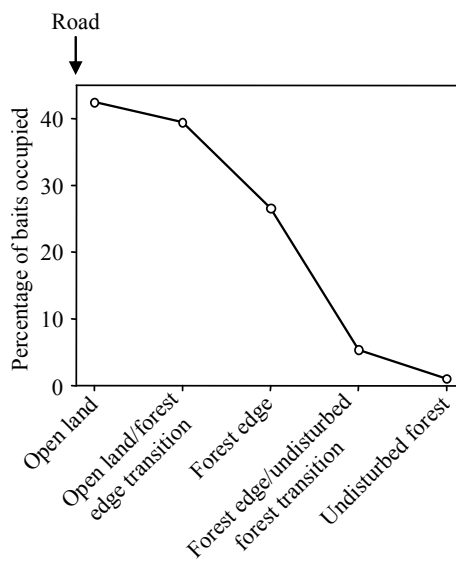
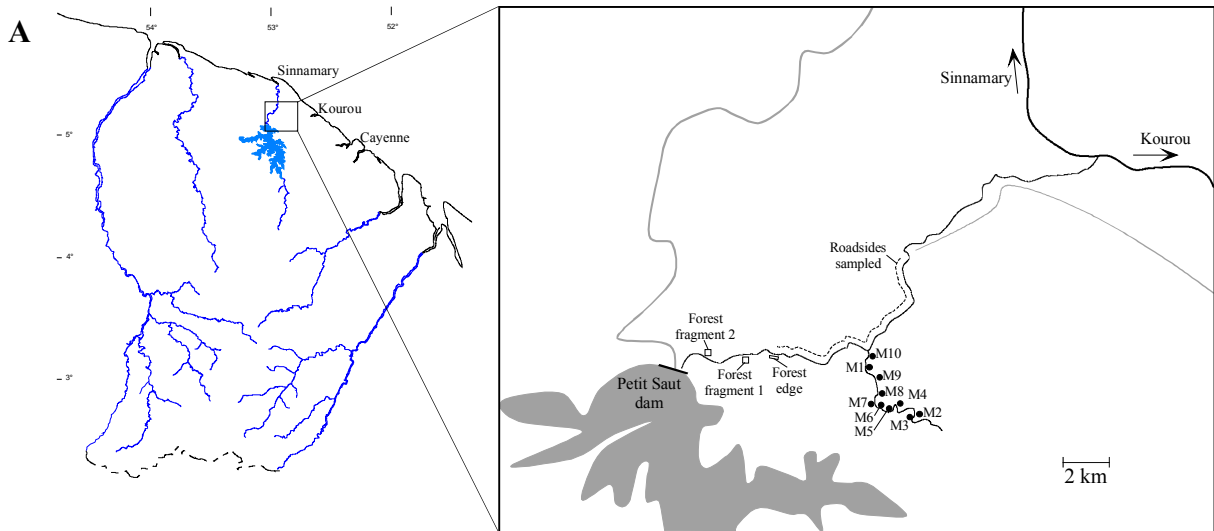
541

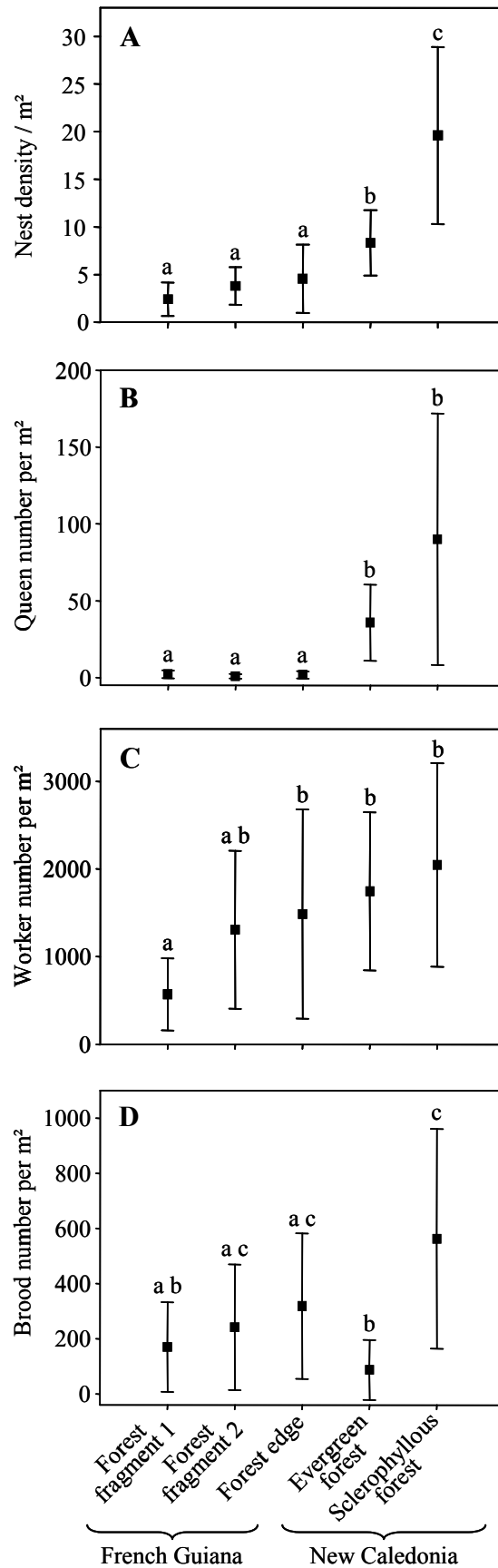
542

543

544

545 Figure 2





548 Figure 4.

550

552

554

556

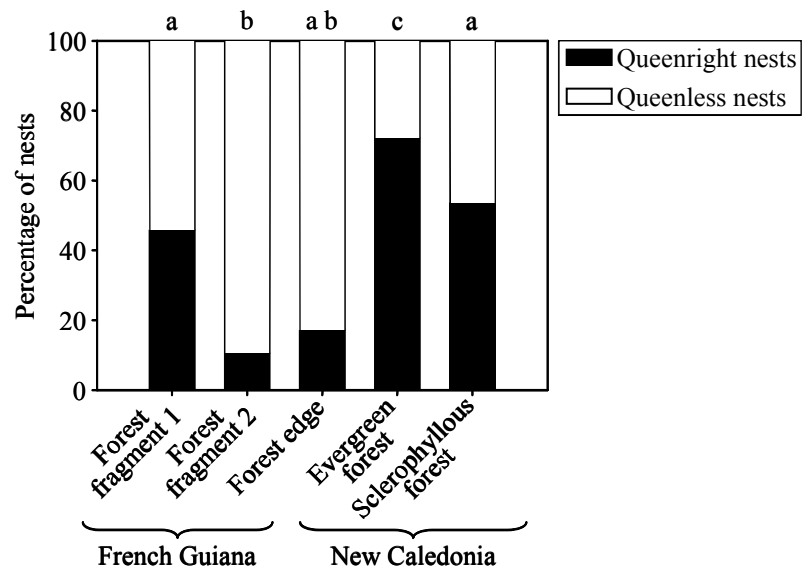
558

560

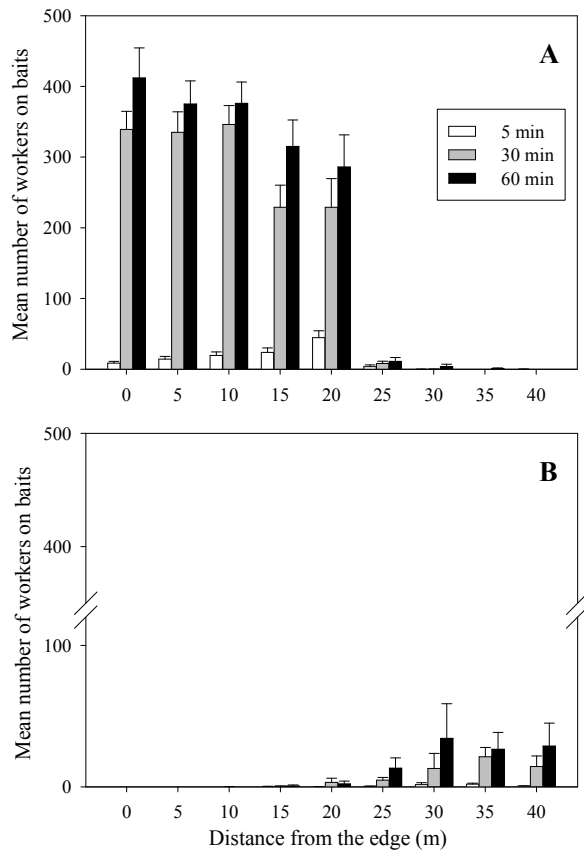
562

564

565



567 Figure 5.





1 **Reproduction system, social organization, human disturbance and**  
2 **invasive success in native populations of the Little Fire Ant,**  
3 ***Wasmannia auropunctata*.**

4 *(soumis à Molecular Ecology)*

5  
6 **Julien Foucaud<sup>1\*</sup>, Jérôme Orivel<sup>2</sup>, Denis Fournier<sup>1,3</sup>, Jacques H. C. Delabie<sup>4</sup>,**  
7 **Anne Loiseau<sup>1</sup>, Julien Le Breton<sup>3</sup>, Arnaud Estoup<sup>1</sup>**

8  
9 <sup>1</sup>INRA, UMR CBGP (INRA / IRD / Cirad / Montpellier SupAgro), Campus  
10 international de Baillarguet, CS 30016, F-34988 Montferrier-sur-Lez cedex, France.

11 <sup>2</sup>Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, UMR-CNRS 5174, Université  
12 Toulouse III, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 4, France

13 <sup>3</sup>present address: Behavioral and Evolutionary Ecology - CP 160/12, Université Libre  
14 de Bruxelles, 50 av. F.D. Roosevelt, 1050 Brussels, Belgium

15 <sup>4</sup>Laboratório de Mirmecologia, CEPEC-CEPLAC & UESC, 45650-000 Ilhéus, Bahia,  
16 Brazil

17  
18 **Keywords:** biological invasion, clonality, parthenogenesis, social organization,  
19 human impact, *Wasmannia auropunctata*.

20  
21 **\*To whom correspondence should be addressed. E-mail: [foucaud@supagro.inra.fr](mailto:foucaud@supagro.inra.fr)**

22  
23 **Running head:** Factors of invasive success in *W. auropunctata*

24 **ABSTRACT**

25 *Wasmannia auropunctata* is an exceptional ant species, not only because it displays  
26 an extraordinary clonal reproduction system, but also because it is one of the most  
27 successful invasive species of the tropics. The main three factors that could  
28 theoretically explain the invasive success of *W. auropunctata* are (i) its clonal  
29 reproduction system, through demographic and/or adaptive advantages (ii) its  
30 unicolonial social organization, through lower intraspecific and efficient interspecific  
31 competition and (iii) the human disturbance of its natural range, through the  
32 modification of biotic and abiotic environmental conditions. We used microsatellite  
33 markers and behavioural tests to uncover the reproductive modes and social  
34 organization of invasive and non-invasive native populations in natural and human-  
35 modified habitats. We found that the reproduction system (clonal or sexual) and the  
36 social organization (unicolonial only) are neither necessary nor sufficient factors to  
37 explain *W. auropunctata* invasive success. Unicoloniality may be a promoting factor  
38 during the range-expansion phase rather than a triggering factor of invasions.  
39 Invasions rather seem to be set off by unknown ecological factors modified by human  
40 activities, as every recorded invasion took place in human-modified habitats. We  
41 found that the clonal reproduction of *W. auropunctata* may however indirectly  
42 contribute to its invasive success by allowing the species to expand its environmental  
43 niche, through the fixation over time of specific combinations of highly variable  
44 genotypes. The *W. auropunctata* model thus seems to illustrate the strong impact of  
45 human disturbance on species invasive success and the adaptive potential of the  
46 clonal reproduction system.

47

48     **INTRODUCTION**

49

50             Biological invasions are a major component of the current global change (Sax  
51 *et al.*, 2005), and can have huge detrimental effect on public health (Ruiz *et al.*,  
52 2000), agriculture (Pimentel *et al.*, 2001), and biodiversity (Lodge, 1993). There has  
53 thus been an increasing interest among biologists in understanding why some species  
54 become successful invaders (Cadotte *et al.*, 2006; Sax *et al.*, 2005). Paradoxically,  
55 there is still debate on the definition of what is an ‘invasive’ species in the literature.  
56 We chose here to consider a species or one of its populations to be invasive when it is  
57 abundant and ecologically damaging (Orivel *et al.*, submitted). This definition has the  
58 merit to equally considers the ‘range extension’ (Facon *et al.*, 2006), ‘high local  
59 abundance’ (Suarez *et al.*, 1999) and ‘disruption of ecosystem function’ (Mooney,  
60 Hobbs, 2000) components of biological invasions. Becoming a successful invader  
61 hence requires a species to expand its range and reach high population densities so  
62 that its presence affects the functioning of recipient ecosystems. Invasive success  
63 appears to result from a favourable combination of ecological and genetical traits of  
64 both the invasive species and the recipient ecosystem, together with historical  
65 elements allowing the arrival of the invader in the recipient ecosystem (Facon *et al.*,  
66 2006; Heger, Trepl, 2003; Sakai *et al.*, 2001). Disentangling the role of each key  
67 feature of both the invasive species and the invaded ecosystem explaining invasive  
68 success remains however challenging.

69             *Wasmannia auropunctata*, a small myrmicine ant, is considered as one of the  
70 most successful invasive species (Lowe *et al.*, 2000), now present in nearly all  
71 tropical regions (Jourdan, 1997; Wetterer, Porter, 2003). In its native range (i.e.  
72 tropical Central and South America), *W. auropunctata* displays both non-invasive  
73 populations (Levings, Franks, 1982, Tennant, 1994) and high-density populations that  
74 severely affect the functioning of some ecosystems (Delabie *et al.*, 1994; Majer *et al.*,  
75 1994), namely invasive populations (Orivel *et al.*, submitted). Three characteristics  
76 seem potentially relevant in explaining the *W. auropunctata* invasive success. First,  
77 native populations of *W. auropunctata* have been shown to display either a  
78 haplodiploid reproduction system that is traditional in Hymenopterans, or an  
79 extraordinary clonal reproduction system, where males are produced clonally, female  
80 queens are parthenogens and workers are produced sexually (Foucaud *et al.*, 2007;  
81 Fournier *et al.*, 2005). It has been commonly argued that a clonal reproduction system  
82 could help species to become invasive, both during the establishment and the range-  
83 expansion phases (e.g., Baker, 1955; Samadi *et al.*, 1999). A clonal reproduction  
84 system may ensure the reproduction in initially small populations of invading species  
85 (Pysek, 1997; Sakai *et al.*, 2001) and may also lead to a rapid increase in population  
86 size by providing a clear demographic advantage over sexual species (i.e. the ‘two-  
87 fold cost of sex’; Maynard Smith, 1978). However, these demographic advantages  
88 may not hold for *W. auropunctata*, because (i) in ants only one inseminated queen is  
89 needed to establish a new population and (ii) workers are still sexually produced in  
90 clonal populations. On another hand, the clonal reproduction system of *W.*  
91 *auropunctata* could also enhance if not explain the invasive success of the species  
92 because clonal reproduction may fix some favorable combination of genes over time,  
93 while sex cannot. A striking example of clonal advantage via the conservation of an  
94 adaptive gene combination is the recent invasion of African lakes by a single water  
95 flea clonal genotype (Mergeay *et al.*, 2006). In the case of *W. auropunctata*, mating  
96 pairs of clonal males and clonal females can be maintained over time and some could  
97 invade if their sexually produced worker offspring perform particularly well in their

98 new environment. This clonal reproduction system may therefore at least indirectly  
99 explain the invasive success of *W. auropunctata* through adaptive advantages, if not  
100 through direct demographic advantages.

101 Second, it has been shown that invasive populations of the introduced range of  
102 *W. auropunctata* are organized in vast cooperative networks of nests showing no  
103 intraspecific aggression, where workers, reproductives and brood can mix freely (Le  
104 Breton *et al.*, 2004). This social organization, termed unicoloniality (Hölldobler,  
105 Wilson, 1977), is opposed to multicoloniality, displayed by most ant species, in  
106 which colonies are genetically differentiated and mutually aggressive. A large  
107 proportion of invasive ant species has been shown to be unicolonial (Abbott, 2005;  
108 Holway *et al.*, 2002a), and seems to benefit from unicoloniality during their range-  
109 expansion phase to attain high worker densities (Holway *et al.*, 1998).

110 Third, due to the expansion of human activities in the native range of the  
111 species, *W. auropunctata* populations are increasingly found in contact with human-  
112 modified habitats. Human disturbance through the use of the land for agronomical or  
113 urban purposes has recurrently been shown to enhance invasions of various taxa  
114 (Hobbs, 2000; McKinney, Lockwood, 1999). Interestingly, human-modified habitats  
115 seem to promote the successful establishment of other invasive ant species such as  
116 *Linepithema humile* (Carpintero *et al.*, 2004; Holway *et al.*, 2002b), *Solenopsis*  
117 *invicta* (Forys *et al.*, 2002; Tschinkel, 1988), *Pheidole megacephala* (Greenslade,  
118 1972; Hoffmann *et al.*, 1999) and *Anoplolepis gracilipes* (O'Dowd *et al.*, 1999).  
119 These four invasive ant species, together with *W. auropunctata*, share the  
120 characteristic of belonging to the top 100 most threatening invasive species of the  
121 world (Lowe *et al.*, 2000). Human disturbance of ecosystems may hence constitute a  
122 key factor triggering *W. auropunctata* invasions.

123 In this study, we have tested the potential role of the reproduction system, the  
124 social organization and the human disturbance level in the invasive success of some  
125 populations of *W. auropunctata* in the native range of the species. To address this  
126 question, we used a combination of genotypic and behavioural data sets of queens,  
127 males and workers collected in nests from both invasive and non-invasive populations  
128 within the native range, together with historical information and direct observations  
129 regarding human land use at sampled sites (Figure 1 and Table 1). We found that the  
130 clonal reproduction system and the unicolonial social structure are neither necessary  
131 nor sufficient factors to explain *W. auropunctata* invasive success. On the other hand,  
132 invasions of *W. auropunctata* always occur in areas ecologically disturbed by human  
133 activity. A detailed analysis of the genotypes of sexual and clonal mating pairs and  
134 workers, together with computer simulations, suggests, however, that the clonal  
135 reproduction system may still represent an important indirect component of *W.*  
136 *auropunctata* invasive success, by allowing the production of highly heterozygous  
137 workers that may enable the species to colonize human-modified environments.

138

## 139 MATERIALS AND METHODS

140

### *Field Collection*

141 Field work was conducted in a Brazilian area and a French Guianese area that  
142 both belong to the native range of *W. auropunctata* (Figure 1). These areas are  
143 separated by approximately 2650 km. A total of 168 nests (i.e. an aggregation of  
144 workers, brood and/or queens within a woodstick or between dead leaves) were  
145 collected in 2004 and 2005 in Brazil (5 sites) and French Guiana (12 sites). The  
146 number of collected nests per site varies from three to 20 nests (Mean  $\pm$  S.D.:  $10 \pm 5$   
147 nests). For each nest, a large number of workers (>100) and most if not all of the

148 reproductives were collected. The distance between sampled nests was always larger  
149 than two meters. All nests collected in the field are those used for a previous genetic  
150 study focusing on the reproduction system of *W. auropunctata* (Foucaud *et al.*, 2007).  
151 The entire behavioral and ecological data set associated with this nest sampling has  
152 been specifically collected for this study.

153

154

#### *Ecological Variables*

155

156 The 17 sampled sites represent various types of natural habitats or habitats  
157 ecologically disturbed by human activity (see Table 1). We recorded two binary  
158 ecological variables describing the habitat of each collected nest: the human  
159 disturbance level as assessed by historical data and direct visual inspection of sites (0  
160 = sites non disturbed by human activity, which corresponded to primary forests; 1 =  
161 sites disturbed by human activity, which corresponded to secondary forests,  
162 plantations, and roadsides) and the invasive status (0 = non invasive; 1 = invasive).  
163 We consider as invasive a nest belonging to an abundant and ecologically damaging  
164 population. A recent ecological study specifically dedicated to the description of  
165 invasive populations of *W. auropunctata* in French Guiana and based on objective  
166 measures of population densities and impact on native ant fauna, was used for  
167 classifying most of the sites studied here as invaded or non-invaded (Orivel *et al.*,  
168 submitted). However, because we lacked such information for some sampled areas,  
169 we considered that a sampled nest belonged to an invasive population when the nest  
170 density in the area was high as assessed by visual inspection of the site. For sites  
171 recorded as invaded (either using objective measures or by visual assessment), local  
172 abundance of *W. auropunctata* nests was so high that their discovery and sampling  
173 was immediate and straightforward, whereas for sites recorded as non-invaded, the  
174 low nest density made it necessary to spend several days per site in order to collect a  
175 sufficiently large number of nests. This clear-cut difference in local densities among  
176 populations allowed an easy and safe assignment of the invasive status to the studied  
177 sites.

177

178

#### *Intraspecific aggression tests*

179

180 In order to delimitate colony boundaries and hence assess the social  
181 organization of *W. auropunctata* populations, we conducted behavioral tests using the  
182 standard aggression assays processed in several studies of invasive ant species,  
183 including *W. auropunctata* (Le Breton *et al.*, 2004; Pedersen *et al.*, 2006). Each trial  
184 consisted of two individual workers of different nests confronted one-on-one in a  
185 neutral arena (diameter = 2 cm; height = 1 cm), whose walls were coated with fluon  
186 to prevent the ants from climbing. We scored the interactions between the workers  
187 during 5 min using the following 1-4 scale: 1 = touch (physical contact without  
188 aggressive behavior); 2 = prolonged antennary contact (one or both ants inspect  
189 meticulously the cuticle of the other, without aggression); 3 = aggressiveness (a  
190 physical attack of one or both workers including charge, biting or leg pulling); 4 =  
191 fighting (prolonged aggressiveness of one or both workers, including the use of the  
192 sting). Between five and ten trials were conducted for each nest pair tested. The  
193 highest score was averaged across trials. If this average was over 2.5, the two nests  
194 were considered aggressive to each other and therefore belonging to different  
195 colonies. On the contrary, when this average was below 2.5, the two nests were  
196 considered non-aggressive and belonging to the same colony. We conducted both  
197 intra and inter-site behavioral assays for all nests from four of the five Brazilian sites,  
and all but five French Guianese nests. A total of 3,090 independent tests were

198 performed to uncover the behavioural relationships between 343 nest pairs.

199

200

#### *Microsatellite genotyping*

201

202

203

204

205

206

207

208

#### *Statistical treatment of data*

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

#### *Computer simulations*

240

241

242

243

244

245

246

247

A previous genetic study of the *W. auropunctata* reproduction system using the same population samples showed that sexual populations were the recent source of neighboring clonal populations (Foucaud *et al.*, 2007). The results we obtained here further raised the question of whether the queen-male couples founding clonal populations were compatible with random mating between individuals from sexual populations or whether these couples were the result of non-random matings of queens and males originating from the same or different sexual populations. We therefore used computer simulations to determine whether the  $Ho_b$  and  $DS_b$  statistic

248 values of the observed clonal and sexual couples were compatible with males and  
249 queens randomly drawn from the same or from different sexual supercolonies  
250 identified through aggression tests. Using a predefined worker data set (see below),  
251 we randomly chose a worker genotype to be the female of the simulated couple and  
252 randomly picked the half of another worker genotype to be the male of the simulated  
253 couple, either from the same supercolony or from different supercolonies. We then  
254 computed  $Ho_b$  and  $DS_b$  for each simulated couple. This process was iterated  $10^6$   
255 times. We then computed the joint densities of  $Ho_b$  and  $DS_b$  for a “within  
256 supercolony” and a “between supercolonies” treatments, using the locfit function  
257 (Loader, 1996) implemented in version 2.2.1 of the R package (Ihaka, Gentleman,  
258 1996; <http://cran.r-project.org>). Because we needed several sexual populations in  
259 order to compute every statistics, we only ran this simulation with the Guianese data  
260 set, using the workers of all sexual populations as the baseline for the generation of  
261 simulated couples (except M11-B, because of the low number of nests collected in  
262 this population). It is worth stressing here that we found different levels of genetic  
263 structure within sexual supercolonies (see Results section). Therefore, we also ran  
264 simulations for each supercolony individually ( $n = 5$ ) and for each pair of  
265 supercolony ( $n = 10$ ). Finally, we plotted the data set of observed clonal and sexual  
266 Guianese couples within a  $Ho_b \times DS_b$  plan including the simulated joint densities.

267

## 268 RESULTS

269 Our 17 sampled sites encompassed seven invaded and ten non-invaded sites  
270 (Figure 1; Table 1). We found both invaded and non-invaded sites in Brazil ( $n_{invaded} =$   
271 2 and  $n_{non-invaded} = 3$ ) and French Guiana ( $n_{invaded} = 5$  and  $n_{non-invaded} = 7$ ).

272

273

### *Reproduction System*

274 Over the 168 nests analysed for the type of reproduction system, the  
275 reproductives (i.e. males and queens) reproduce exclusively clonally in 87 nests and  
276 exclusively sexually in 39 nests. Two nests display a mix of clonality and sex,  
277 whereas the reproduction system could not be unambiguously determined in the 40  
278 remaining nests. These latter nests lacked reproductives at the time of collection and  
279 either parental genotypes could not be confidently inferred from individual worker  
280 genotypes, or the suggested parental genotypes did not match any known genotype  
281 (see Foucaud *et al.*, 2007 for details).

282 Each of the 168 nests collected in invaded and non-invaded sites could be  
283 labelled as “invasive” ( $n = 63$ ) and “non-invasive” ( $n = 105$ ), respectively. Over the  
284 63 invasive nests, 16 are sexual (25%), 46 are clonal (73%) and one is undetermined  
285 (2%). Over the 105 non-invasive nests, 23 are sexual (22%), 41 are clonal (39%), two  
286 are mixed clonal and sexual (2%), and 39 are undetermined (37%).

287

288

### *Social organization*

289 Results of aggression tests were highly polarized. Nearly all aggression tests  
290 show either a complete lack of aggression, or intense fights between nests pairs. The  
291 behavioural boundaries of colonies were hence confidently assessed. The 141 tested  
292 nests were organized in 20 supercolonies of a few hundreds to a few thousands square  
293 meters (i.e. networks of geographically separated nests showing no intraspecific  
294 aggression and cooperating as single units; Markin, 1968). All populations tested for  
295 aggressiveness were hence unicolonial. Most importantly, we found both invasive  
296 and non-invasive populations to be unicolonial; thus the social organization is clearly  
297 not a sufficient factor to explain the invasive success of *W. auropunctata*.

298 Each supercolony includes either clonal or sexual nests. The 83 clonal nests  
299 tested for aggressiveness are organized in 13 supercolonies. Clonal supercolonies are  
300 generally headed by a single and unique queen genotype. The queens of the clonal  
301 supercolonies are usually mated to only one clonal male (9 supercolonies), more  
302 rarely to two or three different clonal males (4 supercolonies). Two different clonal  
303 male genotypes are shared between three and four supercolonies, respectively, a  
304 situation never encountered with clonal queens. This suggests that workers of a given  
305 clonal supercolony may recruit alien male genotypes, whereas alien queen genotypes  
306 might not be accepted. Consistent with this observation, controlled fertilization  
307 experiments using males and queens from different supercolonies showed that all  
308 fertilized gynes are accepted back in their supercolony of origin, but killed if placed  
309 in the supercolony of their male mate (n = 22, unpublished results). The 39 sexual  
310 nests are also organized in supercolonies. Three supercolonies consist of only known  
311 sexual nests, one contains both sexual nests and nests for which the reproduction  
312 system could not be confidently assessed, and three supercolonies include only nests  
313 of the latter type.

314

315 *Relationships between invasive success, social organization, reproduction system*  
316 *and human disturbance*

317 Because both invasive and non-invasive populations turned out to be  
318 unicolonial, social organization alone can obviously not explain invasive success in  
319 *W. auropunctata*, and was not included in our contingency and factorial analyses.

320 Using all nests for which the reproduction system could be unambiguously  
321 inferred (n = 126 nests), a contingency analysis showed that the invasive status of a  
322 population is significantly associated to human disturbance (Cramer's V = 0.647 ; p <  
323 10<sup>-3</sup>). The same analysis using populations as observations (n = 18) showed the same  
324 significant association (Cramer's V = 0.598 ; p = 0.011). All invasive populations of  
325 *W. auropunctata* were indeed found in areas where human activities were present  
326 now or in the near past (e.g. secondary forests, quarries or roadside; Table 1). On the  
327 contrary, no invasion occurred in areas that were never exploited by man (e.g.  
328 primary forests; Table 1). The contingency analyses also showed that the invasive  
329 status of a population is not significantly associated with the reproduction system  
330 (nests as observations: Cramer's V = 0.135 , p = 0.12 ; populations as observations:  
331 Cramer's V = 0.329 ; p = 0.163). As a matter of fact, although most invasive  
332 supercolonies have a clonal reproduction system, one human-modified area is  
333 invaded by a sexual supercolony (CP, Table 1), and two clonal supercolonies are not  
334 invasive although located in human-modified habitats (CN and IN, Table 1). On the  
335 other hand, the reproduction system was significantly associated with human land use  
336 (nests as observations: Cramer's V = 0.466 , p < 10<sup>-3</sup> ; populations as observations:  
337 Cramer's V = 0.679 , p = 0.004). This is because, in disturbed zones, clonal  
338 production of reproductives is much more common than sexuality (83% of sampled  
339 nests), and in natural zones, the majority of nests were found to be sexual, even if one  
340 clonal supercolony was sampled in a primary forest.

341 Our factorial analysis confirmed the three main findings of the contingency  
342 analysis. First, the factorial analysis showed a first factor (explaining as much as 52%  
343 and 69% of the total variance using nests and populations as observations,  
344 respectively) strongly linking the invasive status of *W. auropunctata* populations to  
345 the human disturbance level recorded in their area (Figure 2). Second, the type of  
346 reproduction system was not linked to the invasive success of *W. auropunctata*  
347 populations (Figure 2). Finally, the clonal reproduction system is associated with the



348 presence of human disturbance, as shown by the large positive values of both  
349 variables on the second factor of the analysis, which explains 39% and 22% of the  
350 total variance using nests and populations as observations, respectively (Figure 2).

351

352

#### *Genetic structure and mating pattern*

353

354 Consistent with the behavioural assays results, a hierarchical *F*-statistics  
355 analysis shows that the highest level of genetic structure is found between  
356 supercolonies (Table 2). This partitioning of genetic variation is more pronounced for  
357 clonal than sexual populations, suggesting that clonal supercolonies are genetically  
358 more isolated and hence accept fewer recruits than sexual supercolonies. The level of  
359 genetic structure within supercolonies was found to considerably differ for the seven  
360 non-clonal supercolonies, with some supercolonies showing no genetic structure,  
361 while some others showed substantial structure at the nest level (Table 3). The levels  
362 of genetic structure within supercolonies were especially high within supercolonies  
363 including nests undetermined with regards to their reproduction system, because most  
364 of these nests consist of monogynous and monandrous worker lineages.

364

365 Using the sperm stored in the queens' spermatheca, we could determine the  
366 genotype of each mate of 299 queens (corresponding to 105 individual queen  
367 genotypes). We found that the heterozygosity ( $H_{ob}$ ) and difference in allelic size  
368 ( $DS_b$ ) between the male and queen genotypes of a given couple were both  
369 significantly larger in the 21 clonal couples sampled than in the 89 sexual couples  
370 sampled (Mann-Whitney U test :  $p < 10^{-3}$  ; Figure 3A). Consistent with this trend for  
371 outbreeding observed in all clonal populations relatively to sexual populations, we  
372 found that the heterozygosity ( $H_{ow}$ ) and difference in allelic size ( $DS_w$ ) were both  
373 significantly higher in workers of clonal nests than in workers of sexual nests (Mann-  
374 Whitney U tests:  $p < 10^{-3}$ ; Figure 3B).

374

375 Computer simulations confirmed that the clonal couples tend to be more  
376 outbred than the sexual couples. The comparison of the joint distributions of  $H_{ob}$  and  
377  $DS_b$  for the 'within-supercolony' and 'between-supercolonies' simulations show that  
378 a large proportion of observed sexual couples could have been formed only by  
379 individuals originating from the same supercolony (Figure 4). On the contrary, clonal  
380 couples could have been formed only within the few supercolonies showing  
381 substantial genetic structure at the nest level (e.g. M3-F, M11-A in Table 3) or by  
382 individual originating from different supercolonies (Figure 4). Most clonal couples  
383 were hence formed by a males and queen originating from differentiated genetic  
384 pools whereas most sexual couples were formed of males and females coming from  
385 similar genetic pools.

385

## **DISCUSSION**

386

387

388

#### *Role of reproduction system in invasion*

389

390 Although clonal reproduction is often argued to be a key factor enabling some  
391 species to become invasive (Baker, 1955; Kolar, Lodge, 2001), we did not find a  
392 strict association between the clonal/sexual reproduction systems and the  
393 invasive/non-invasive status of *W. auropunctata* populations. We found both one  
394 sexual population to be invasive and several clonal populations to be non-invasive.  
395 The results of the factorial analyses consistently show that the reproduction system is  
396 not the best predictor of invasiveness of *W. auropunctata* populations. The low  
397 densities of several clonal populations suggest that there might not be any  
demographical advantage associated with the clonal reproduction system in this

398 species. This result is congruent with the fact that even in clonal populations of *W.*  
399 *auropunctata* both sexes remain necessary to produce workers through sexual  
400 reproduction.

401 We found that the ecological variable that best predicts the type of  
402 reproduction system occurring in a nest is human disturbance. Although the  
403 association between reproduction system and human disturbance is not strict, sexual  
404 populations were found in most cases in natural zones and clonal populations in  
405 disturbed zones, irrespective of the invasive status of the population. It therefore  
406 seems that clonal and sexual populations occupy different ecological niches, and that  
407 human disturbance commonly drives habitats toward ecological conditions favouring  
408 the establishment of clonal populations. Although clonal reproductives of both sexes  
409 most likely originate from local sexual populations (Foucaud *et al.*, 2007), we found  
410 that clonal couples tend to be composed of a male and a female with genotypes more  
411 different than those observed in sexual couples (i.e. clonal couples are more outbred  
412 than sexual couples).

413 Altogether, these results suggest that the clonal reproduction system of *W.*  
414 *auropunctata* might be selected for because it enables the species to maintain over  
415 time particular combinations of male and female genotypes that produce highly  
416 heterozygous workers. In addition to the putative advantage of worker heterozygosity  
417 (see below), special combinations of male and female genotypes could allow the  
418 species to expand its environmental niche and colonize disturbed environments. A  
419 clonal reproduction system is expected to favour adaptive processes by enabling  
420 selection to act strongly on queen, male and worker genomes through the conversion  
421 of non-additive into additive genetic variance (Neiman, Linksvayer, 2005). The  
422 production of reproductives through sexual reproduction might be counter-selected as  
423 it would break possible beneficial combinations of alleles, lead to a loss of alleles by  
424 genetic drift, and increase diploid male load (i.e. the cost of producing sterile diploid  
425 males, homozygous for the sex determination locus; Foucaud *et al.*, 2006). *W.*  
426 *auropunctata* may hence illustrate that consequences on adaptive potential might be  
427 at least as important as demographic differences in driving the evolution of sexual  
428 versus clonal reproduction systems (Lushai *et al.*, 2003). Laboratory investigations on  
429 the absence of demographic differences between clonal and sexual *W. auropunctata*  
430 nests, and the respective performances of clonal and sexual nests in various  
431 environmental conditions are needed to thoroughly test the hypothesis of different  
432 reproduction systems selected for in different habitats.

433 The question of why highly heterozygous genotypic combinations seem to be  
434 more adapted to disturbed habitats remains opened. Most studies of heterozygosity-  
435 fitness correlations uncovered two non-exclusive hypotheses. First, some studies  
436 argued that heterozygosity excess could enable species to survive in extreme or  
437 changing environments (Ferreira, Amos, 2006; Frankham, 2005; Kearney, Shine,  
438 2004). In the case of *W. auropunctata*, ground temperature and humidity measures in  
439 natural and disturbed zones in French Guiana show only slightly different modes, but  
440 significantly higher variances in disturbed than in natural areas (unpublished results).  
441 Heterozygosity excess may thus help *W. auropunctata* workers to deal with a much  
442 larger spectrum of environmental conditions in habitats disturbed by human activities.  
443 Second, several studies hypothesized that genetic diversity enables individuals to  
444 better exploit their environment, particularly when resources are abundant (Reznick *et*  
445 *al.*, 2000; Vorburger, 2005). *W. auropunctata* populations have recurrently been  
446 shown to be very successful in disturbed habitats where high densities of Homoptera  
447 or plant extrafloral nectaries are present (Wetterer, Porter, 2003). Highly

448 heterozygous *W. auropunctata* workers from clonal populations may hence  
449 outcompete workers from sexual populations in such resourceful anthropized  
450 habitats.

451

452

#### *Roles of social organization in invasion*

453

454

455

456

457

458

459

460

461

462

463

464

465

466

467

468

469

470

The unicolonial social organisation seems to provide a predominant ecological advantage to invasive ant species showing this trait, through both lower intraspecific competition and efficient interference competition with other ant species (Holway, Suarez, 2004; Le Breton *et al.*, 2005). However, we found that all studied invasive and non-invasive populations of *W. auropunctata* are unicolonial. Therefore, contrary to previous ideas (Jourdan *et al.*, 2001; Le Breton *et al.*, 2004; Passera, 1994), the unicolonial social structure does not seem to be the critical factor enabling *W. auropunctata* to become invasive. In the same vein, Pedersen *et al.* (2006) found that the Argentine ant also displays non-invasive supercolonies of small size in its native range. These two examples support the idea that unicoloniality, even if undoubtedly associated with ant invasions (Abbott, 2005; Holway *et al.*, 2002a), may be a promoting factor during the range-expansion phase rather than a triggering factor of invasions. As a matter of fact, the benefits of lower intraspecific competition and efficient interspecific competition are expected especially when the density of the invading species is becoming high, in the latter stages of the invasion. Social organization may hence be important only at the latter stages of ant invasions, whereas ecological transitions may be the key factors during the early stages of invasions.

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

Our results also showed that the supercolonies encountered in the native range of *W. auropunctata* are several orders of magnitude smaller than the supercolonies of the introduced range of the species. In Brazil and French Guiana, the size of the supercolonies ranged between few hundred to few thousands of meters square, while the whole island of New Caledonia (approximately 19,000 km<sup>2</sup>) is invaded by a single supercolony (Le Breton *et al.*, 2004). This difference in size between native and introduced supercolonies could only be due to the rarity of remote introduction events, allowing introduced supercolonies to attain greater sizes than native supercolonies.

481

482

#### *Roles of human land use in invasion*

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495

496

497

We found *W. auropunctata* invasions to be strongly associated with habitats modified by human activities. The fact that human activities often facilitates species invasions is now widely recognized, for various invasive taxa (e.g., Ervin *et al.*, 2006; Hobbs, 2000; Occhipinti-Ambrogi, Savini, 2003), including other invasive ants such as *Linepithema humile* (Carpintero *et al.*, 2004; Holway *et al.*, 2002b) and *Solenopsis invicta* (Forys *et al.*, 2002; Tschinkel, 1988). The impact of human activities on ecosystems is certainly complex, so that isolating the specific ecological factor(s) that promote(s) *W. auropunctata* invasions in disturbed habitats appears to be difficult. Potential mechanisms include the modification of abiotic conditions (Salmun, Molod, 2006; Shukla *et al.*, 1990) in human-modified habitats, the reduction of biotic interactions with natural enemies or competitors (i.e. the enemy release hypothesis, Keane, Crawley, 2002), or the increase of food sources (Davis, Pelsor, 2001).

Human disturbance of a natural zone generally favours the establishment of clonal populations of *W. auropunctata*, and also often leads to conditions increasing the invasiveness of the present populations. It is hence not surprising that most invasive populations were found to be clonal. We also expect most populations

498 introduced in remote non-native areas (e.g. in Pacific islands, tropical Africa, Florida;  
499 Jourdan, 1997; Wetterer, Porter, 2003) to be clonal for at least three reasons. First,  
500 nests that disperse outside their native range through human means are likely to  
501 originate from zones disturbed by human activities and hence probably clonal nests.  
502 Second, the environment where the introduced nests have to settle is also probably  
503 highly disturbed by human activities (e.g. ports, urban areas...), and hence probably  
504 only fits the presumed environmental niche of clonal nests. Finally, clonal *W.*  
505 *auropunctata* populations are protected from any cost associated with the erosion of  
506 genetic diversity due to successive bottleneck events, contrary to sexual populations.  
507 In agreement with this, we only found remote introduced populations of *W.*  
508 *auropunctata* to be clonal so far (unpublished data).

509  
510

### Conclusion

511 This study shades light on the relative importance of the reproduction system,  
512 the social organization and human disturbance in explaining the invasive success of  
513 populations of *W. auropunctata* in the native range of the species.

514 *W. auropunctata* has been shown to be non-invasive, mostly sexual and rarely  
515 clonal in areas where man was not present, while it is an invasive, mostly clonal and  
516 rarely sexual species in human-modified habitats. The *W. auropunctata* model  
517 therefore illustrates how the presence of human activities may lead to extensive  
518 changes in selective pressures over species that can result in spectacular shifts in both  
519 ecological and genetical traits. Contrary to the optimistic view of Kolar and Lodge  
520 (2001), we argue that, given the amplitude and unpredictability of these shifts for a  
521 single species, one might face great difficulties to predict the impact of human  
522 activities on the functioning of whole natural ecosystems or on the emergence of new  
523 invasive species.

524 Besides the importance of human activity in the invasion process, our results  
525 also appear to illustrate the adaptive potential of clonal genomes. The debate over the  
526 evolution of sex might have seriously overlooked the significance of clonality in  
527 terms of power of selection (Neiman, Linksvayer, 2005), while the demographical  
528 ‘two-fold cost of sex’ retained much attention (Agrawal, 2001; Doncaster *et al.*, 2000;  
529 West *et al.*, 1999). The *W. auropunctata* model reminds us that the evolution of  
530 reproductive systems is only a part of a much larger question regarding the evolution  
531 of genomic recombination, and its role in creating new genetic variants and in  
532 adjusting the power of selection over these variants, which are the bases of the natural  
533 selection theory.

534

## 535 REFERENCES

536

537 Abbott KL (2005) Supercolonies of the invasive yellow crazy ant, *Anoplolepis*  
538 *gracilipes*, on an oceanic island: Forager activity patterns, density and  
539 biomass. *Insectes Sociaux*, **52**, 266-273.

540 Agrawal AF (2001) Sexual selection and the maintenance of sexual reproduction.  
541 *Nature*, **411**, 692-695.

542 Baker HG (1955) Self-compatibility and establishment after 'long-distance' dispersal.  
543 *Evolution*, **9**, 347-349.

544 Cadotte MW, McMahon SM, Fukami T (2006) *Conceptual Ecology and Invasion*  
545 *Biology: Reciprocal Approaches to Nature*. Springer, Dordrecht.

546 Carpintero S, Reyes-Lopez J, Arias de Reyna L (2004) Impact of human dwellings on  
547 the distribution of the exotic Argentine ant: a case study in the Donana  
548 National Park, Spain. *Biological Conservation*, **115**, 279-289.

549 Davis MA, Pelsor M (2001) Experimental support for a resource-based mechanistic  
550 model of invasibility. *Ecology Letters*, **4**, 421-428.

551 Delabie JHC, Encarnaçao AMV, Carzola IM (1994) Relations between the little fire  
552 ant, *Wasmannia auropunctata*, and its associated mealybug *Planococcus citri*  
553 in Brazilian coca farms. In: *Exotic ants: biology, impact, and control of*  
554 *introduced species* (ed. Williams DF), pp. 91-103. Westview Press, Boulder,  
555 CO.

556 Doncaster CP, Pound GE, Cox SJ (2000) The ecological cost of sex. *Nature*, **404**,  
557 281-285.

558 Ervin G, Smothers M, Holly C, Anderson C, Linville J (2006) Relative importance of  
559 wetland type versus anthropogenic activities in determining site invasibility.  
560 *Biological Invasions*, **8**, 1425-1432.

561 Facon B, Genton BJ, Shykoff J, *et al.* (2006) A general eco-evolutionary framework  
562 for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology & Evolution*, **21**, 130-135.

563 Ferreira AGA, Amos W (2006) Inbreeding depression and multiple regions showing  
564 heterozygote advantage in *Drosophila melanogaster* exposed to stress.  
565 *Molecular Ecology*, **15**, 3885-3893.

566 Forsys EA, Allen CR, Wojcik DP (2002) Influence of the proximity and amount of  
567 human development and roads on the occurrence of the red imported fire ant  
568 in the lower Florida Keys. *Biological Conservation*, **108**, 27-33.

569 Foucaud J, Fournier D, Orivel J, *et al.* (2007) Sex and clonality in the little fire ant.  
570 *Mol Biol Evol*, msm180.

571 Foucaud J, Jourdan H, Le Breton J, *et al.* (2006) Rare sexual reproduction events in  
572 the clonal reproduction system of introduced populations of the little fire ant.  
573 *Evolution*, **60**, 1646-1657.

574 Fournier D, Estoup A, Orivel J, *et al.* (2005) Clonal reproduction by males and  
575 females in the little fire ant. *Nature*, **435**, 1230-1235.

576 Frankham R (2005) Stress and adaptation in conservation genetics. *Journal of*  
577 *Evolutionary Biology*, **18**, 750-755.

578 Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation  
579 indices (version 2.9.3). Available from  
580 <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995).

581 Goudet J (2005) Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-  
582 statistics. *Molecular Ecology Notes*, **5**, 184-186.

583 Greenslade PJM (1972) Comparative ecology of four tropical ant species. *Insectes*  
584 *Sociaux*, **19**, 195-212.

- 585 Heger T, Trepel L (2003) Predicting biological invasions. *Biological Invasions*, **5**, 313-  
586 321.
- 587 Hobbs RJ (2000) Land-Use changes and invasions. In: *Invasive species in a changing*  
588 *world* (eds. Mooney HA, Hobbs RJ), pp. 55-64. Island Press, Washington  
589 D.C.
- 590 Hoffmann BD, Andersen AN, Hill GJE (1999) Impact of an introduced ant on native  
591 rain forest invertebrates: *Pheidole megacephala* in monsoonal Australia.  
592 *Oecologia*, **120**, 595-604.
- 593 Hölldobler B, Wilson EO (1977) The number of queens: an important trait in ant  
594 evolution. *Naturwissenschaften*, **64**, 8-15.
- 595 Holway D, Suarez A (2004) Colony-structure variation and interspecific competitive  
596 ability in the invasive Argentine ant. *Oecologia*, **138**, 216-222.
- 597 Holway DA, Lach L, Suarez AV, Tsutsui ND, Case TJ (2002a) The causes and  
598 consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics*,  
599 **33**, 181-233.
- 600 Holway DA, Suarez AV, Case TJ (1998) Loss of intraspecific aggression in the  
601 success of a widespread invasive social insect. *Science*, **282**, 949-952.
- 602 Holway DA, Suarez AV, Case TJ (2002b) Role of abiotic factors in governing  
603 susceptibility to invasion : a test with Argentine ants. *Ecology*, **83**, 1610-1619.
- 604 Ihaka R, Gentleman R (1996) R: a language for data analysis and graphics. *Journal of*  
605 *Computational and Graphical Statistics*, **5**, 299-314.
- 606 Jourdan (1997) Threats on Pacific Islands : the spread of the tramp ant *Wasmannia*  
607 *auropunctata* (Hymenopterae: Formicidae). *Pacific Conservation Biology*, **3**,  
608 61-64.
- 609 Jourdan H, Sadlier RA, Bauer AM (2001) The impact of the little fire ant invasion  
610 (*Wasmannia auropunctata* (Roger)) on the New Caledonian herpetofauna:  
611 results of a study in sclerophyll forest habitat. *Sociobiology*, **38**, 1-19.
- 612 Keane RM, Crawley MJ (2002) Exotic plant invasions and the enemy release  
613 hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 164-170.
- 614 Kearney M, Shine R (2004) Developmental success, stability, and plasticity in closely  
615 related parthenogenetic and sexual lizards (*Heteronotia*, Gekkonidae).  
616 *Evolution*, **58**, 1560-1572.
- 617 Kolar CS, Lodge DM (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders.  
618 *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 199-204.
- 619 Le Breton J, Delabie JHC, Chazeau J, Dejean A, Jourdan H (2004) Experimental  
620 evidence of large-scale unicoloniality in the tramp ant *Wasmannia*  
621 *auropunctata* (Roger). *Journal of Insect Behavior*, **17**, 263-271.
- 622 Le Breton J, Jourdan H, Chazeau J, Orivel J, Dejean A (2005) Niche opportunity and  
623 ant invasion: the case of *Wasmannia auropunctata* (Roger) in a New  
624 Caledonian rainforest. *Journal of Tropical Ecology*, **21**, 93-98.
- 625 Levings SC, Franks NR (1982) Patterns of nest dispersion in a tropical ground ant  
626 community. *Ecology*, **63**, 338-344.
- 627 Loader CR (1996) Change-point estimation using nonparametric regression. *Annals*  
628 *of Statistics*, **24**, 1667-1678.
- 629 Lodge DM (1993) Biological invasions: lessons for ecology. *Trends in Ecology &*  
630 *Evolution*, **8**, 133-137.
- 631 Lowe S, Browne M, Boudjelas S (2000) 100 of the world's worst invasive alien  
632 species. *Aliens*, **12S**, 1-12.
- 633 Lushai G, Loxdale HD, Allen JA (2003) The dynamic clonal genome and its adaptive  
634 potential. *Biological Journal of the Linnean Society*, **79**, 193-208.

- 635 Majer JD, Delabie JhC, Smith MRB (1994) Arboreal ant community patterns in  
636 Brazilian cocoa farms. *Biotropica*, **26**, 73-83.
- 637 Markin GP (1968) Nest relationship of the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis*  
638 (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*,  
639 **41**, 511-516.
- 640 Maynard Smith J (1978) *The Evolution of Sex*. Cambridge University Press,  
641 Cambridge.
- 642 McKinney ML, Lockwood JL (1999) Biotic homogenization: a few winners replacing  
643 many losers in the next mass extinction. *Trends in Ecology & Evolution*, **14**,  
644 450-453.
- 645 Mergeay J, Verschuren D, De Meester L (2006) Invasion of an asexual American  
646 water flea clone throughout Africa and rapid displacement of a native sibling  
647 species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **273**, 2839-  
648 2844.
- 649 Mooney HA, Hobbs RJ (2000) *Invasive species in a changing world*. Island,  
650 Washington DC.
- 651 Neiman M, Linksvayer TA (2005) The conversion of variance and the evolutionary  
652 potential of restricted recombination. *Heredity*, **96**, 111-121.
- 653 O'Dowd DJ, Green PT, Lake PS (1999) Status, impact and recommendations for  
654 research and management of exotic invasive ants in Christmas Island National  
655 Park. In: *Report to Environment Australia*, p. 60. Monash University,  
656 Melbourne.
- 657 Occhipinti-Ambrogi A, Savini D (2003) Biological invasions as a component of  
658 global change in stressed marine ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, **46**,  
659 542-551.
- 660 Passera L (1994) Characteristics of tramp species. In: *Exotic ants: biology, impact,*  
661 *and control of introduced species* (ed. Williams DF), pp. 23-43. Westview  
662 Press, Boulder, CO.
- 663 Pedersen JS, Krieger MJB, Vogel V, Giraud T, Keller L (2006) Native supercolonies  
664 of unrelated individuals in the invasive Argentine ant. *Evolution*, **60**, 782-791.
- 665 Pimentel D, McNair S, Janecka J, *et al.* (2001) Economic and environmental threats  
666 of alien plant, animal, and microbe invasions. *Agriculture, Ecosystems &*  
667 *Environment*, **84**, 1-20.
- 668 Pysek P (1997) Clonality and plant invasions: can a trait make a difference? In: *The*  
669 *Ecology and Evolution of Clonal Plants* (eds. de Kroon H, van Groenendael  
670 J), pp. 405-427. Backhuys publishers, Leiden.
- 671 Reznick D, Nunney L, Tessier A (2000) Big houses, big cars, superfleas and the costs  
672 of reproduction. *Trends in Ecology & Evolution*, **15**, 421-425.
- 673 Ruiz GM, Rawlings TK, Dobbs FC, *et al.* (2000) Global spread of microorganisms by  
674 ships. *Nature*, **408**.
- 675 Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS, *et al.* (2001) The population biology of invasive  
676 species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **32**, 305-332.
- 677 Salmun H, Molod A (2006) Progress in modeling the impact of land cover change on  
678 the global climate. *Progress in Physical Geography*, **30**, 737-749.
- 679 Samadi S, Mavarez J, Pointier J-P, Delay B, Jarne P (1999) Microsatellite and  
680 morphological analysis of population structure in the parthenogenetic  
681 freshwater snail *Melanoides tuberculata*: insights into the creation of clonal  
682 variability. *Molecular Ecology*, **8**, 1141-1153.

- 683 Sax DF, Stachowicz JJ, Gaines SD (2005) *Species invasions: insights into ecology,*  
684 *evolution, and biogeography.* Sinauer Associates, Inc., Sunderland,  
685 Massachusetts, USA.
- 686 Shukla J, Nobre C, Sellers P (1990) Amazon deforestation and climate change.  
687 *Science*, **247**, 1322-1325.
- 688 Suarez AV, Tsutsui ND, Holway DA, Case TJ (1999) Behavioral and genetic  
689 differentiation between native and introduced populations of the Argentine  
690 ant. *Biological Invasions*, **1**, 43-53.
- 691 Tennant LE (1994) The ecology of *Wasmannia auropunctata* in primary tropical  
692 rainforest in Costa Rica and Panama. In: *Exotic ants: biology, impact, and*  
693 *control of introduced species* (ed. Williams DF), pp. 80-90. Westview Press,  
694 Boulder, CO.
- 695 Tschinkel WR (1988) Distribution of the fire ants *Solenopsis invicta* and *S. geminata*  
696 (Hymenoptera: Formicidae) in northern Florida in relation to habitat and  
697 disturbance. *Annals of the Entomological Society of America*, **81**, 76-81.
- 698 Vorburger C (2005) Positive genetic correlations among major life-history traits  
699 related to ecological success in the aphid *Myzus persicae*. *Evolution*, **59**,  
700 1006-1015.
- 701 West SA, Lively CM, Read AF (1999) A pluralist approach to sex and  
702 recombination. *Journal of Evolutionary Biology*, **12**, 1003-1012.
- 703 Wetterer JK, Porter SD (2003) The little fire ant, *Wasmannia auropunctata*:  
704 distribution, impact, and control. *Sociobiology*, **42**, 1-41.

705  
706

#### 707 **ACKNOWLEDGEMENTS**

708 We would like to thank José Crispim Soares do Carmo and José Raimundo Maia dos  
709 Santos for help in the field and Luciana França Mendes for help with the map.  
710 Tatiana Giraud, Georges Roderick, Gaël Kergoat for comments on the manuscript.  
711 Marco Antonio Costa, Riviane Hora, Julien Grangier, and Aude Gilabert for support.  
712 We acknowledge the “Laboratoire Environnement de Petit Saut, Hydreco” and  
713 Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC/CEPLAC) and Universidade Estadual de  
714 Santa Cruz (UESC) for equipment and laboratory facilities. This work was supported  
715 by a grant from the French *Ministère de l’Ecologie et du Développement Durable* –  
716 *appel d’offre ECOTROP* to AE and JO, and a grant from CNPq for JHCD.



717 **FIGURE LEGENDS**

718

719 **FIGURE 1: Localization of the 17 sampled sites**

720 Note: Sampled sites are indicated with their code. Dots and stars represent natural  
721 sites and sites ecologically disturbed by human activities, respectively. Red and green  
722 colors represent invaded and non-invaded sites, respectively. See Table 1 for  
723 sampling details for each site. The large blue line indicates the native range of *W.*  
724 *auropunctata*. In each frame, plain and dashed lines indicate coast line and roads,  
725 respectively.

726

727 **FIGURE 2: Projection of the invasive status, the type of reproduction system and the**  
728 **human land use onto a plane defined by the first and second factor axes of the**  
729 **factorial analyses.**

730 Note: Crosses and circles represent the factorial analyses using nests and populations  
731 as observations, respectively (see Materials & Methods). Factors 1 and 2 represent  
732 52% and 39% of the total variance using nests as observations, respectively, and they  
733 represent 69% and 22% of the total variance using populations as observations,  
734 respectively.

735

736 **FIGURE 3: Observed heterozygosity ( $H_o$ ) and difference in allelic size (DS) of clonal**  
737 **and sexual queen-male couples and workers.**

738 Note: Blocks in white and in black indicate sexual and clonal nests, respectively.  
739 Diamonds indicate means, blocks and horizontal bars indicate 50% and 97.5%  
740 percentiles, respectively. Within-individual heterozygosity,  $H_{o_w}$ , was computed as the  
741 number of loci showing different alleles in a given individual, averaged over loci.  
742 Within-individual difference in allelic size,  $DS_w$ , was computed as the difference in  
743 base pairs between the two alleles at a given locus of a single individual, averaged  
744 over loci. Heterozygosity of a couple (i.e. a mating pair),  $H_{o_b}$ , was computed as the  
745 mean number of times the male allele was different from each queen allele at a given  
746 locus, averaged over loci. Difference in allelic size of a couple,  $DS_b$ , was computed as  
747 the mean difference between the male allele and the two queen alleles at a given  
748 locus, averaged over loci.  $H_o$  values were multiplied by ten to homogenize scales  
749 with DS. Mann-Whitney U tests: \*\*\* corresponds to  $p < 10^{-3}$ .

750

751 **FIGURE 4: Plot of the joint densities for the correlated pair of statistics  $H_{o_b}$  and  $DS_b$**   
752 **for simulated couples.**

753 Note: Queen-male couples were formed with genotypes randomly drawn within the  
754 same supercolony (A) or between different supercolonies (B) from French Guiana  
755 (see Materials & Methods section for details). In (A) and (B), white and black  
756 diamonds represent observed sexual ( $n = 31$ ) and clonal ( $n=13$ ) couples, respectively.  
757 In (A), the large blue line represents the 95% highest density contour of the global  
758 within supercolony simulation. Other colored lines represent the 95% highest density  
759 contours of individual within supercolony simulations as follows: turquoise = M3-F,  
760 violet = M11-A, green = M7, light green = Z7-A and yellow = Z7-B. In (B), the large  
761 violet line and the thin red lines represents the 95% highest density contours of the  
762 global between supercolonies simulation and of the between supercolonies  
763 simulations for each pair of supercolonies ( $n = 10$ ), respectively.

## 764 TABLES

765

766 TABLE 1: Sampling design, habitat type, level of human disturbance and invasive  
767 status of sampled sites.

768

769 Note: Sites ecologically disturbed by human activities are indicated by 'D', natural  
770 sites by 'ND', invaded sites by 'I', non-invaded sites by 'NI'.

771

Site	Country	Sampled Nests	Habitat	Human Disturbance	Invasive Status
CN	Brazil	20	Secondary forest	D	NI
CP	Brazil	16	Cacao plantation	D	I
IN	Brazil	10	Secondary forest	D	NI
IP	Brazil	10	Cacao plantation	D	I
UNA	Brazil	10	Primary forest	ND	NI
M2	French Guiana	8	Natural backwater area	ND	NI
M3-F	French Guiana	10	Natural backwater area	ND	NI
M3-P	French Guiana	13	Primary forest	ND	NI
M6	French Guiana	3	Natural backwater area	ND	NI
M7	French Guiana	15	Natural backwater area	ND	NI
M11	French Guiana	10	Natural backwater area	ND	NI
Z7	French Guiana	6	Primary forest	ND	NI
A	French Guiana	5	Roadside	D	I
K	French Guiana	5	Open quarry	D	I
P1	French Guiana	4	Plantation	D	I
P2	French Guiana	17	Plantation	D	I
RN	French Guiana	6	Roadside	D	I
<b>Total</b>		168			

772

773

774 TABLE 2: Hierarchical *F*-statistics analysis.

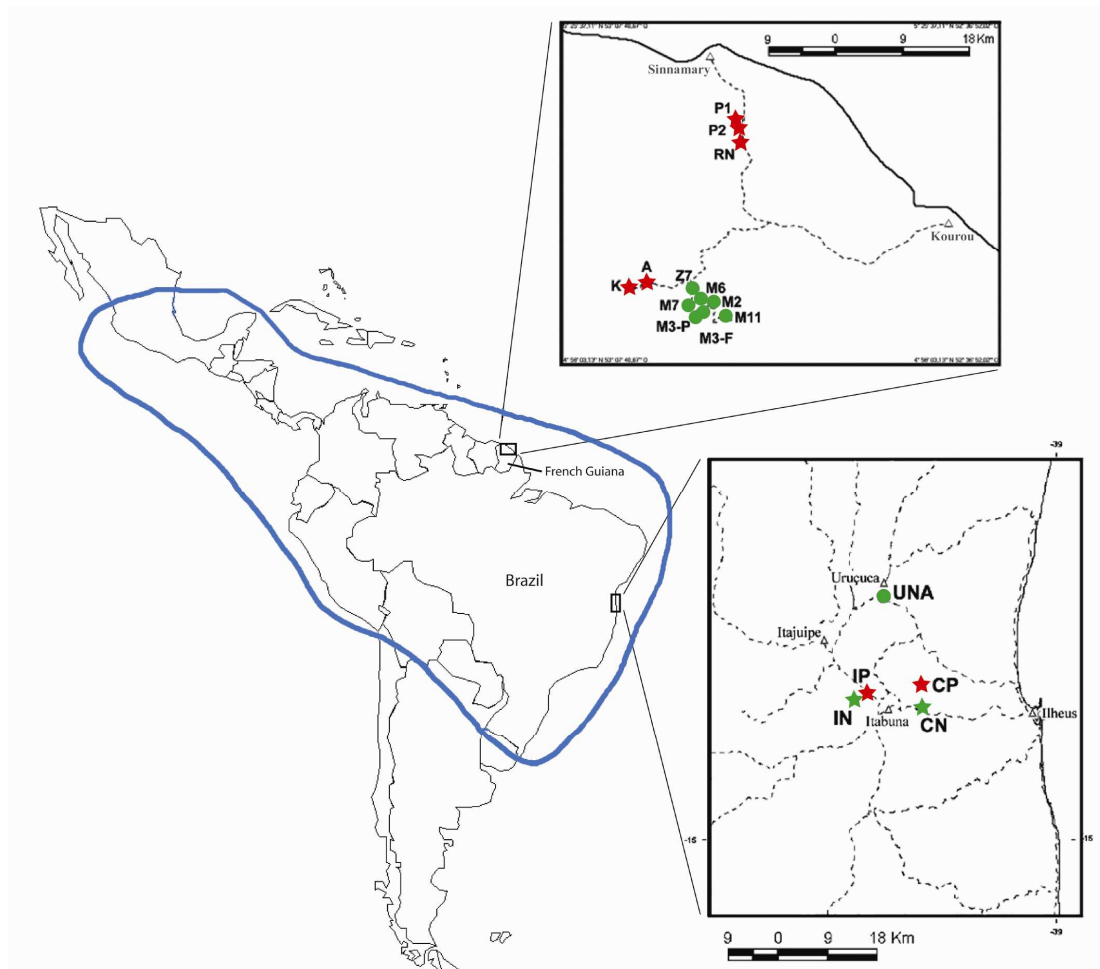
775 Note: Computations were processed over all nests, over clonal nests only, and over  
776 sexual nests only. The analysis includes three hierarchical levels: country,  
777 supercolony and nest. Because the Brazilian nests that were confidently assessed as  
778 sexual were found in a single supercolony, the hierarchical analysis for sexual nests  
779 included only two levels and was based only on samples from French Guiana. NC:  
780 not computed.

	All nests	Clonal nests	Sexual nests
<i>F</i> Country-Total	0.048	0.099	NC
<i>F</i> Supercolony-Country	0.265	0.329	0.149
<i>F</i> Nest-Supercolony	0.143	0.109	0.122

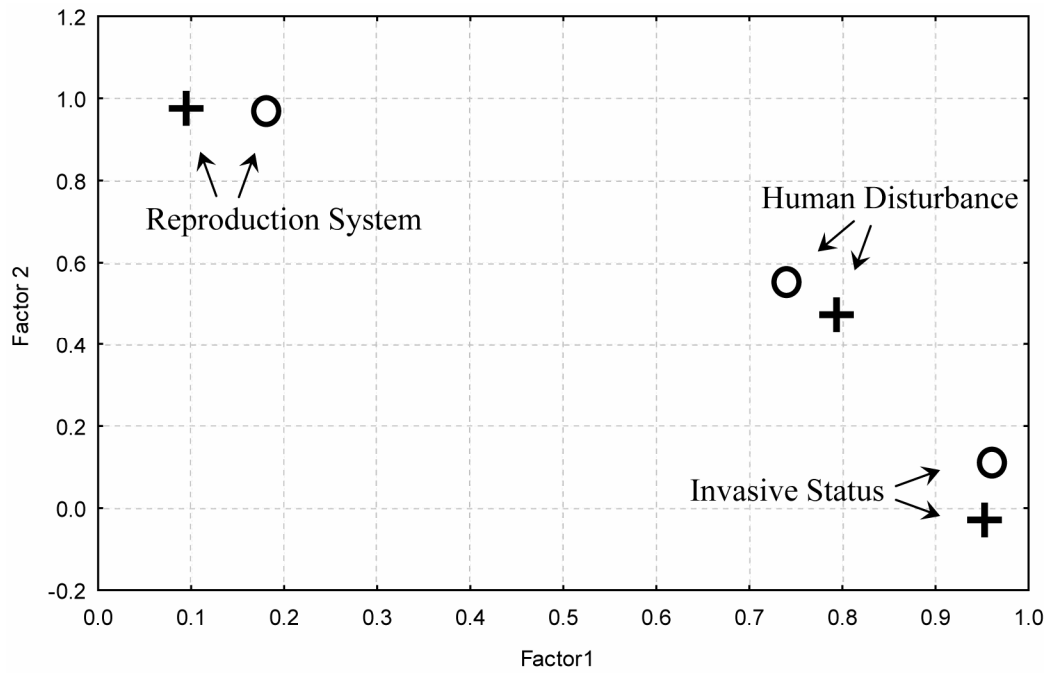
781 TABLE 3:  $F_{\text{nest-supercolony}}$  statistics for each of the seven non-clonal supercolonies.  
 782 Note: Supercolony names were coded with the name of the site, followed by a letter if  
 783 the site includes several supercolonies. The presence of sexual nests and nests of  
 784 undetermined type of reproduction is indicated with the letter ‘S’ and ‘U’,  
 785 respectively. Estimated  $F$ -values are given  $\pm$  standard deviation.  
 786

788	Supercolony	Nests Type	$F_{\text{nest-supercolony}}$
790	Z7-A	S	0.006 $\pm$ 0.009
792	CP	S	0.008 $\pm$ 0.007
794	M7	S	0.038 $\pm$ 0.004
796	M11-B	U	0.085 $\pm$ 0.025
798	Z7-B	U	0.233 $\pm$ 0.052
800	M3-F	S/U	0.255 $\pm$ 0.014
801	M11-A	U	0.278 $\pm$ 0.024

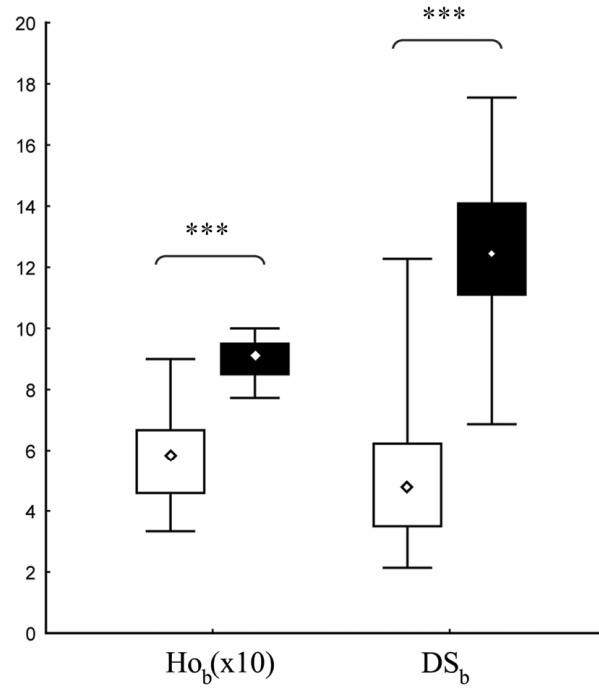
802  
803 FIGURE 1:



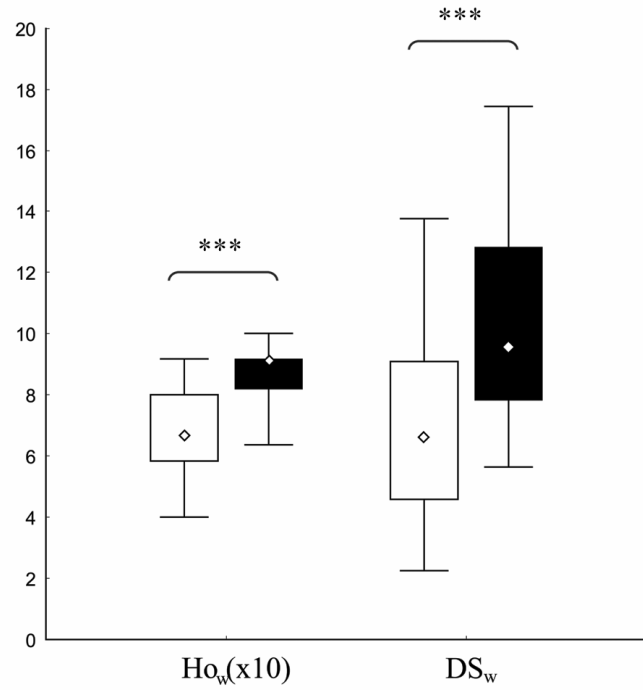
804 FIGURE 2:



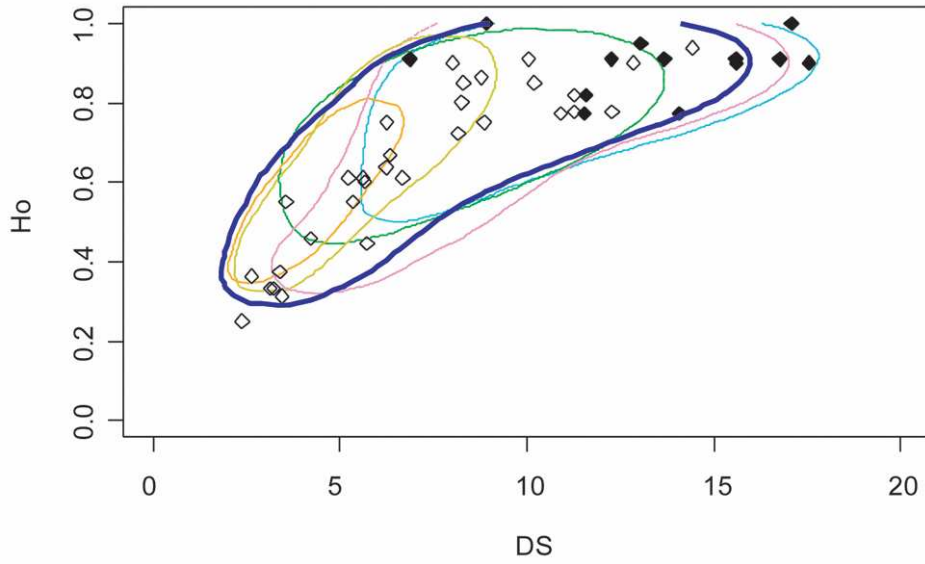
(A) Couples



(B) Workers



(A) Within supercolonies



(B) Between supercolonies

