

# THÈSE

Pour obtenir le grade de  
Docteur

Délivré par le  
**Centre international d'études supérieures en sciences  
agronomiques**  
Montpellier

Préparé au sein de l'école Doctorale **SIBAGHE\***  
Et de l'unité de recherche **UMR CBGP**  
Spécialité **Écologie, Évolution, Ressources Génétiques, Paléontologie**

## Évolution du fardeau génétique et des traits liés à la reproduction au cours d'une invasion biologique

Présentée par  
**Guillaume J. M. LAUGIER**

Soutenue le 12 décembre 2013 devant le jury composé de :

M <sup>me</sup>	RUTH HUFBAUER	Professeur, Colorado State University	(Rapporteur)
M.	THOMAS GUILLEMAUD	DR, INRA Sophia Antipolis	(Rapporteur)
M <sup>me</sup>	SANDRINE MAURICE	MdC, Université Montpellier II	(Examinatrice)
M <sup>me</sup>	PATRICIA GIBERT	CR, CNRS, Lyon	(Examinatrice)
M.	ARNAUD ESTOUP	DR, INRA Montpellier	(Directeur)
M.	BENOÎT FACON	CR, INRA Montpellier	(Co-directeur)

\* **SIBAGHE** : SYSTÈMES INTÉGRÉS EN BIOLOGIE, AGRONOMIE, GÉOSCIENCES, HYDROSCIENCES ET ENVIRONNEMENT



# THÈSE

Pour obtenir le grade de  
Docteur

Délivré par le  
**Centre international d'études supérieures en sciences  
agronomiques**  
Montpellier

Préparé au sein de l'école Doctorale **SIBAGHE\***  
Et de l'unité de recherche **UMR CBGP**  
Spécialité **Écologie, Évolution, Ressources Génétiques, Paléontologie**

## Évolution du fardeau génétique et des traits liés à la reproduction au cours d'une invasion biologique

Présentée par  
**Guillaume J. M. LAUGIER**

Soutenue le 12 décembre 2013 devant le jury composé de :

M <sup>me</sup>	RUTH HUFBAUER	Professeur, Colorado State University	(Rapporteur)
M.	THOMAS GUILLEMAUD	DR, INRA Sophia Antipolis	(Rapporteur)
M <sup>me</sup>	SANDRINE MAURICE	MdC, Université Montpellier II	(Examinatrice)
M <sup>me</sup>	PATRICIA GIBERT	CR, CNRS, Lyon	(Examinatrice)
M.	ARNAUD ESTOUP	DR, INRA Montpellier	(Directeur)
M.	BENOÎT FACON	CR, INRA Montpellier	(Co-directeur)

\* **SIBAGHE** : SYSTÈMES INTÉGRÉS EN BIOLOGIE, AGRONOMIE, GÉOSCIENCES, HYDROSCIENCES ET ENVIRONNEMENT



*À ma famille, à mes amis, à tous ceux pour qui je compte...*



## REMERCIEMENTS

Dans un article, les remerciements sont placés à la fin et rarement lus. Dans une thèse ils sont placés au début. Peut-être sont-ils lus avec plus d'attention, même si personne n'en parle. Je vais donc m'appliquer quand même un peu, et faire une liste à thème pour tâcher de n'oublier personne. Notons toutefois qu'à l'image de la nature, il est difficile de catégoriser ses créditeurs, et qu'un certain nombre de personnes ont leur place dans deux cases (ou plus).

\*\*\*

Je dois avant tout remercier mes encadrants, Arnaud et Ben, qui ont eu confiance en moi et m'ont confié ce sujet de thèse. Merci de m'avoir épaulé, recentré et guidé tout au long de cette thèse, et de vous être investi autant dans son encadrement. Vous avez su vous compléter de sorte que j'ai toujours quelqu'un de disponible pour m'assister dans mes choix et vos compétences complémentaires ont été précieuses dans les diverses étapes de mon étude.

Je suis aussi reconnaissant à tous les membres du CBGP pour leur sympathie, leur bonne humeur et leur expertise dans différents domaines. En particulier celles et ceux qui m'ont aimablement donné un coup de main pendant mes longs mois d'expériences, ainsi que ceux qui m'ont soutenu pour l'aspect informatique (Monsieur Veyssier, on a tous besoin de quelqu'un plus *geek* que soi).

Je ne pourrais pas aller bien plus loin sans remercier « Maître Mog' ». Merci donc, Gilles, car j'ai pu compter sur toi pour tes conseils statistiques (je n'en ai peut-être retenu qu'un tiers mais sur la montagne que tu m'as inculquée, c'est déjà pas mal), mais aussi pour m'avoir remonté le moral lorsqu'il était un peu flageolant, et pour tout le reste. Et tant que j'y suis, merci à Maître Mun' aussi pour m'avoir transmis son goût de la modélisation au cours de mon M2.

Merci à toi aussi Ashraf pour tous les coups de main en conditions expérimentales —tu es le roi de la manip'— et pour ta simple présence. On s'est serré les coudes, et c'était super important.

J'en profite pour remercier tous les thésards que j'ai fréquentés au cours de ma thèse, qui m'ont donné un repère, tels une multitude de phares dans le brouillard, et m'ont permis d'arriver à bon port. Pour citer les noms qui me passent par la tête au moment où j'écris ces lignes, merci à Olivier, Martin, Lucie, Pascaline, Guitou, Nadine, Matthias... Certains ont fini avant moi, d'autres me suivent de près, mais au final, on aura tous traversé les mêmes épreuves. Merci à ceux avec qui j'ai fait de l'enseignement. Ça a vraiment été une expérience unique, que je veux à tout prix réitérer.

Merci à mes collaborateurs éloignés, qui êtes la preuve que la recherche est avant tout une un réseau international dont tout nœud est prêt à rendre service ou participer au projet de ces homologues qu'il ne connaît parfois que de nom. Je nomme par exemple 王甦(Wang Su), 徐星(Xu Hongxing) *et al.* pour la Chine; Olda Nedvěd & Mona Awad pour la république Tchèque; 大澤 直哉(Osawa Naoya) pour le Japon.

\*\*\*

Je tiens aussi à remercier tous mes « amis d'avant »; ceux qui sont la preuve vivante que l'amitié persiste même si on ne se voit plus guère. C'est important d'en être persuadé quand on se lance à corps perdu dans un projet chronophage comme une thèse. Encore quelques noms en vrac :

☞ Les racines : Coco, Éric, Eloi, Paul...

☞ Le gourum virat : Tim & Josh – FIE les gars!

☞ Les facanciers : Marcouille, Grand, Dédée, Léo *et alii*

☞ Les gens du master BGAE, *e.g.* MM. R. Eudeline et S. M. V. Taugourdeau

Mention spéciale à ceux qui ont prouvé que la vie était possible pendant (malgré) la thèse en faisant des alliances pour la vie devant Dieu et les Hommes : Djû & Alice et 🍷 Josh & Naïs 🍷 (points bonus pour avoir tous les deux cloné la moitié de votre ADN).

Dans les miscellanées, je remercie Éric Cartier, Hal, et toute l'équipe de VF pour l'aspect de narration séquentielle; les Mombelli au grand complet, Blandine, Damien, Lucie, et les autres pour le soutien spirituel. Merci à Étienne « Photon » & Małgosia pour mes chouettes vacances à Cracovie, à l'aube de la rédaction de cette thèse!

Derniers, mais non des moindres, merci à tous les membres de ma famille. Chers de ma chair, je vous dois tout ou presque. Merci Papa, merci Maman... merci Romain (qui l'eu cru?). Merci à tous les autres, la liste est trop longue pour vous nommer ici.

\*\*\*

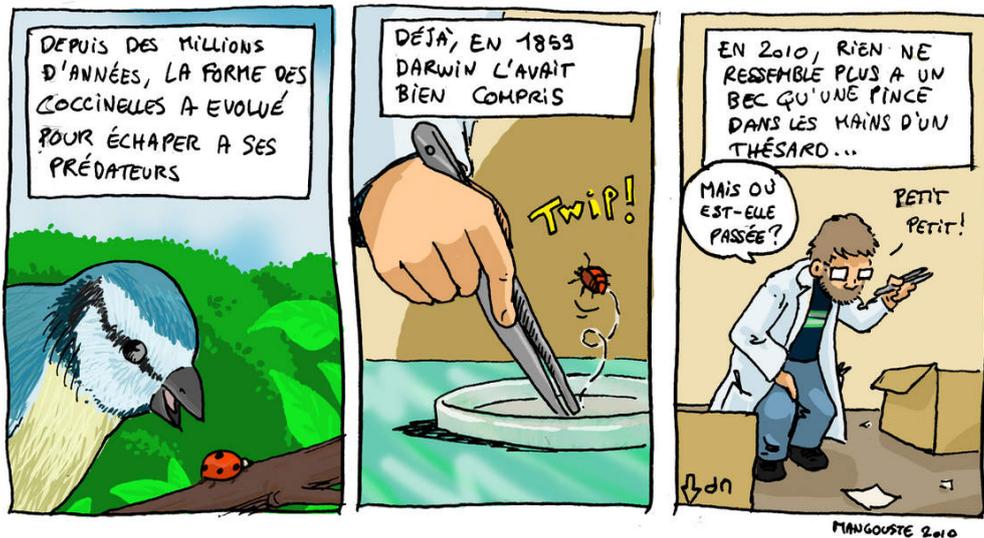
J'ai aussi une pensée émue pour mes meilleures ennemies (*frenemies*) : mes petites coccinelles chéries. Je vous ai utilisées contre votre gré, et vous m'en avez fait voir de toutes les couleurs (avec des points noirs). Je vais aussi citer quelques noms : Hong 15, Qué 5b, SAF 18, B 182 etc. Nous avons quelque chose en commun, un motto emprunté à la littérature enfantine :

Je sers la Science et c'est ma joie !

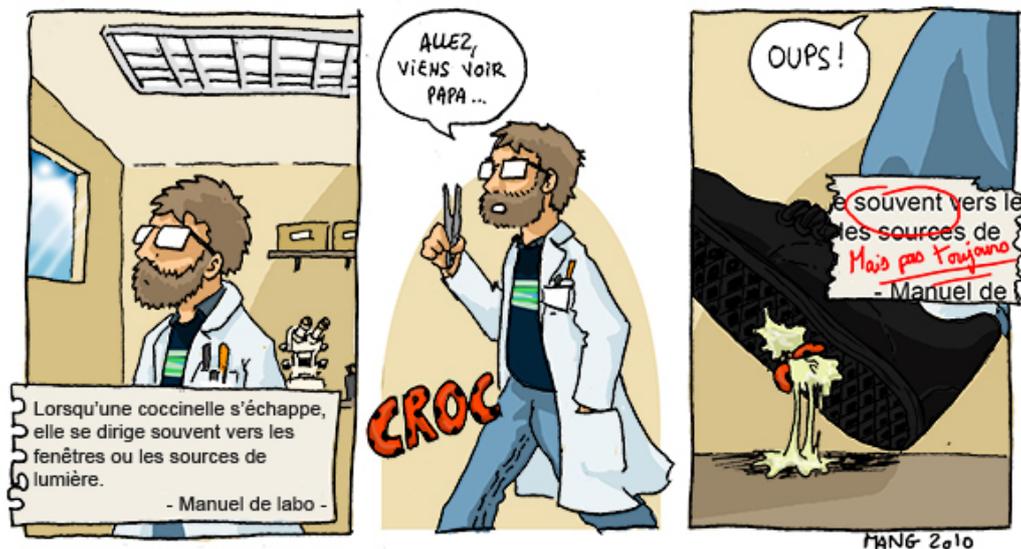
Bob de Groot, Léonard.

Pour honorer votre mémoire, voici deux de mes bandes préférées, inspirées de faits réels.

### INVOLUTION NATURELLE



### PROBABILITÉ: 95%



\*\*\*

Si vous avez lu ces pages, mais pas trouvé votre nom, c'est qu'il se trouve entre les points de suspension. Il est simplement impossible de n'oublier personne, et j'ai volontairement omis quelques noms de personnes qui méritent de figurer ici. Laissez-moi donc le bénéfice du doute.



# TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	x
<b>1 INTRODUCTION GÉNÉRALE</b>	<b>1</b>
1.1 LES INVASIONS BIOLOGIQUES : QUELQUES CONSIDÉRATIONS ÉCOLOGIQUES, DÉMOGRAPHIQUES ET ÉVOLUTIVES . . . . .	1
1.1.1 Considérations écologiques et démographiques . . . . .	1
1.1.2 Considérations évolutives . . . . .	2
1.2 LES DIFFÉRENTES APPROCHES ÉVOLUTIVES EN BIOLOGIE DES INVASIONS . . . . .	4
1.2.1 Étude de traits phénotypiques . . . . .	4
1.2.2 Étude de la valeur sélective . . . . .	4
1.3 CHANGEMENTS ÉVOLUTIFS AU COURS D'UNE INVASION BIOLOGIQUE . . . . .	7
1.3.1 Dérive génétique, fardeau, et dépression de consanguinité au cours d'une invasion biologique . . . . .	8
1.3.2 Évolution des traits phénotypiques au cours d'une invasion . . . . .	9
1.3.3 Interactions entre traits phénotypiques et mécanismes génétiques . . . . .	10
1.4 MODÈLE BIOLOGIQUE ÉTUDIÉ DANS CETTE THÈSE . . . . .	11
1.4.1 La coccinelle asiatique comme espèce modèle . . . . .	11
1.4.2 Évolution de <i>H. axyridis</i> au cours de son invasion . . . . .	11
1.5 PRINCIPAUX OBJECTIFS ET GRANDS AXES DE LA THÈSE . . . . .	13
<b>2 ÉVOLUTION EXPÉRIMENTALE DE LA DÉPRESSION DE CONSANGUINITÉ CHEZ UNE ESPÈCE ENVAHISSANTE</b>	<b>15</b>
2.1 INTRODUCTION . . . . .	15
2.2 MATÉRIEL ET MÉTHODES . . . . .	17
2.2.1 Échantillonnage et plan expérimental . . . . .	17
2.2.2 Traitement statistique des données . . . . .	19
2.3 RÉSULTATS . . . . .	20
2.3.1 Taux d'éclosion . . . . .	20
2.3.2 Survie larvaire . . . . .	22
2.4 DISCUSSION . . . . .	23
2.4.1 Variabilité des réponses . . . . .	23
2.4.2 Evolution rapide de la purge . . . . .	24
2.4.3 Purge et fixation simultanées des allèles délétères . . . . .	25
2.4.4 Limites de cette étude . . . . .	26
2.4.5 Conclusions et perspectives . . . . .	26
<b>3 MODÉLISATION D'UN GOULOT D'ÉTRANGLEMENT</b>	<b>29</b>
3.1 INTRODUCTION . . . . .	29
3.2 MODÈLE MATHÉMATIQUE . . . . .	31
3.2.1 Description générale . . . . .	31
3.2.2 Formalisation mathématique . . . . .	32
3.2.3 Paramètres du modèle et implémentation . . . . .	34
3.3 DYNAMIQUE GÉNÉTIQUE EN ESPÉRANCE . . . . .	34

3.3.1	Dynamique de l'espérance de la fréquence de l'allèle délétère au cours d'un goulot sans rebond démographique . . . . .	34
3.3.2	Dynamique de l'espérance de la fréquence de l'allèle délétère après un goulot avec rebond démographique . . . . .	36
3.3.3	Espérance du fardeau génétique au cours d'un goulot d'étranglement . . . . .	38
3.4	ÉTUDE DES DISTRIBUTIONS ET DES VALEURS EXTRÊMES . . . . .	39
3.4.1	Étude des distributions des probabilités de fréquences alléliques . . . . .	39
3.4.2	Probabilités de purge et de fixation totale . . . . .	43
3.5	CONSÉQUENCES SUR LE SUCCÈS D'INVASION . . . . .	46
3.5.1	Conditions optimales de goulot pour le succès d'une invasion biologique . . . . .	46
3.5.2	Conclusions et perspectives . . . . .	48
<b>4</b>	<b>BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION D'UNE ESPÈCE ENVAHISSANTE</b>	<b>51</b>
4.1	INTRODUCTION . . . . .	51
4.2	PUBLICATIONS . . . . .	53
4.2.1	Increase of reproductive success and female reproductive investment in invasive populations of the harlequin ladybird <i>Harmonia axyridis</i> . . . . .	53
4.2.2	Polyandry in wild-caught ladybirds <i>Harmonia axyridis</i> (Coleoptera coccinellidae) . . . . .	64
<b>5</b>	<b>DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES</b>	<b>79</b>
5.1	LE JEU DE L'AMOUR ET DU HASARD DANS LES INVASIONS BIOLOGIQUES . . . . .	79
5.1.1	Le jeu de de l'amour des invasions biologiques . . . . .	79
5.1.2	Le jeu du hasard des invasions . . . . .	80
5.2	QUELQUES PERSPECTIVES DE CETTE THÈSE . . . . .	82
5.2.1	Évitement de la consanguinité : quel rôle joue le temps de maturation sexuelle? . . . . .	82
5.2.2	Systèmes de reproduction et invasions biologiques : le rôle de la polyandrie . . . . .	83
5.2.3	Étude théorique de la purge dans le contexte des invasions . . . . .	84
	<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>87</b>
<b>A</b>	<b>ANNEXES</b>	<b>97</b>
A.1.1	Evolution in biocontrol strains : insight from the harlequin ladybird <i>Harmonia axyridis</i> . . . . .	99
A.2.1	Résumé des résultats de la purge expérimentale . . . . .	108
A.3.1	Materiel supplémentaire de l'article 1 . . . . .	108



# INTRODUCTION GÉNÉRALE

## 1.1 LES INVASIONS BIOLOGIQUES : QUELQUES CONSIDÉRATIONS ÉCOLOGIQUES, DÉMOGRAPHIQUES ET ÉVOLUTIVES

### 1.1.1 Considérations écologiques et démographiques

Une invasion biologique correspond à la pullulation et/ou à l'expansion spatiale d'une population d'une espèce exogène hors de son aire d'origine suite à une introduction (Richardson *et al.* 2000). Bien qu'elles puissent se produire naturellement, ces invasions sont le plus souvent causées ou facilitées par les activités humaines (Perrings *et al.* 2005, Wilson *et al.* 2009, Rey *et al.* 2012). Avec la mondialisation galopante des derniers siècles, de telles invasions sont de plus en plus fréquentes. Elles peuvent avoir une ampleur mondiale et un impact important, notamment sur les écosystèmes, au point qu'elles sont parfois considérées comme un changement global à part entière (Vitousek *et al.* 1997, Lövei 1997). À cause des impacts écologiques considérables qu'elles peuvent causer, la majorité des études sur les invasions biologiques avant les années 2000 a porté sur l'aspect écologique de celles-ci, catalysée par la vision de Charles S. Elton (1958, mais voir Richardson et Pyšek 2008, Simberloff 2010).

D'un point de vue écologique et démographique, on peut décomposer une invasion en trois phases distinctes (voir figure 1.1 et *e.g.* Kolar et Lodge 2001). La première est la migration longue distance (1) durant laquelle des propagules — c'est à dire des individus colonisateurs — sont transportés dans l'aire d'introduction sous la forme d'une ou de plusieurs populations. Cette phase peut correspondre à plusieurs patrons, parmi lesquels, on compte la dispersion par corridor, la dispersion à très longue distance, la dispersion de masse et l'introduction volontaire (voir Wilson *et al.* 2009, et figure 1.2). Le nombre d'introductions et la taille des populations introduites, en particulier, sont positivement corrélés au succès de l'implantation (Forsyth et Duncan 2001, Berggren 2001, Drake et Lodge 2006).

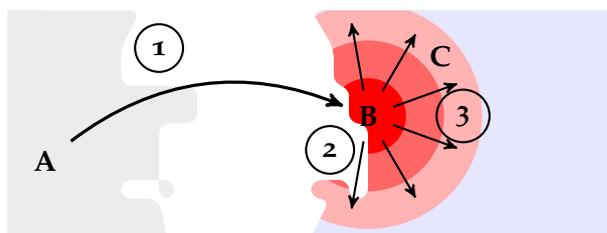


FIGURE 1.1 – *Représentations schématique d'une invasion biologique* Une population est échantillonnée dans son aire native (A). La phase de migration longue distance (1) lui permet de s'introduire dans une aire d'introduction (B). Commence alors la phase d'implantation (2) qui peut durer plusieurs générations. Une fois établie, la population peut proliférer au cours de la phase d'expansion (3). On différencie alors le foyer d'introduction (B) du front de l'invasion (C).

L'implantation (ii) est la phase au cours de laquelle les individus introduits vivent et se reproduisent localement dans l'aire d'introduction. La phase d'implantation peut s'étendre sur plusieurs années et plusieurs générations, constituant un temps de latence, avant de commencer à proliférer (*invasion time lag* en anglais) (Crooks 2010). L'expansion (iii) quant-à-elle correspond à la phase où l'aire d'invasion s'étend par le biais de la migration. Cette phase peut être divisée spatialement en foyer, qui est le lieu de départ de l'invasion, et front, qui est la limite de colonisation de la population envahissante. Cette distinction se justifie notamment par le fait que la densité démographique peut être très forte au foyer pendant la phase d'expansion, alors qu'elle est généralement faible sur le front.

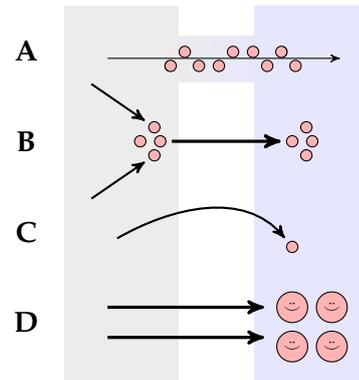


FIGURE 1.2 – *Principaux types de migration longue distance*  
**A :** Corridor. **B :** Migration en masse, avec mise en contact d'individus provenant de populations natives différentes. **C :** Migration à très longue distance. **D :** Cultures et introductions humaines volontaires. Modifiée d'après Wilson *et al.* (2009).

### 1.1.2 Considérations évolutives

Déjà, dans son œuvre fondatrice, Darwin (1859) crée le lien entre invasions et évolution, mais ce n'est que depuis la fin des années 1990 qu'un nombre croissant de publications a véritablement abordé le sujet sous l'angle de l'évolution (*e.g.* Blossey et Nötzold 1995, Parker *et al.* 2003, Kanarek 2010, Facon *et al.* 2006). En effet, même si les invasions sont visibles à l'échelle des temps écologiques – de quelques générations seulement – les processus évolutifs sont néanmoins à l'œuvre à court terme (Stockwell *et al.* 2003, Hairston *et al.* 2005, García-Ramos et Rodríguez 2002). Au cours d'une introduction, les individus peuvent être confrontés à un changement d'environnement parfois radical, qui décale les optima évolutifs, remodèle les pressions de sélection et engendre une évolution rapide (Stockwell *et al.* 2003). De plus, les introductions mettent parfois en contact des individus provenant de populations éloignées, très différents génétiquement. Des croisements jusqu'alors impossibles peuvent ainsi conduire à des réarrangements génotypiques importants (Kolbe *et al.* 2004, Gillis *et al.* 2009, et encadré 1.1). Ces réarrangements constituent un terrain propice à l'évolution sur lequel la sélection (naturelle et sexuelle) va pouvoir s'exercer.

L'approche évolutive apporte des éléments permettant d'expliquer le succès de certaines invasions (Lee 2002, Novak 2007). En effet, les populations introduites, étant généralement confrontées à un environnement différent de leur milieu d'origine, leur implantation – puis leur prolifération – peut nécessiter une phase d'adaptation. À l'inverse, les populations envahissantes sont parfois introduites dans des conditions plus favorables que celles dont elles sont issues (*Enemy Release Hypothesis*, Crawley 1987). Les individus peuvent alors ré-allouer des ressources dans des traits liés à la compétition ou la reproduction. Bien que cette ré-allocation puisse relever de la plasticité phénotypique (Lande 2009), elle peut aussi être adaptative (Blossey et Nötzold 1995).

## ENCADRÉ 1.1 – Evènements démo-génétiques

Il existe deux évènements démo-génétiques majeurs susceptibles d'affecter le succès d'une invasion biologique : le goulot d'étranglement et l'admixture.

Un **goulot d'étranglement** est la diminution transitoire de la taille efficace d'une population. D'une façon générale, les goulots d'étranglement induisent des changements rapides des fréquences alléliques dans une population. La diminution de taille efficace à l'origine du début du goulot correspond à un échantillonnage. Plus cet échantillonnage est réduit, plus les chances de ne pas échantillonner certains allèles sont importantes, provoquant une perte de diversité génétique (cf. figure 1.3 A-B). De plus, durant un goulot d'étranglement, les processus stochastiques, comme la dérive, ont plus d'importance, si bien que la diversité génétique de la population peut encore diminuer (Figure 1.3 B-D).

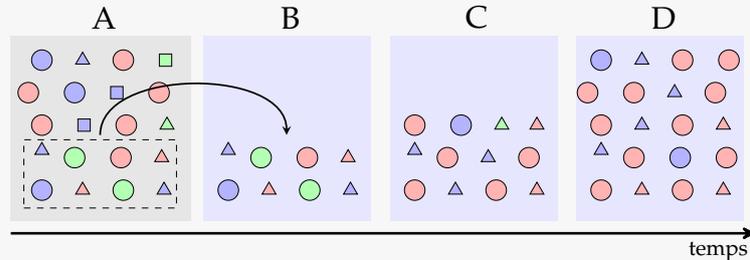


FIGURE 1.3 – **Perte de diversité au cours d'un goulot d'étranglement** Des propagules sont échantillonnées dans une population d'origine, représentée par l'aire grisée (A), et sont introduites dans un nouveau milieu, représenté par l'aire bleue (B). L'échantillonnage entraîne la perte du génotype « carré ». La taille de la population introduite augmente au cours des générations suivantes avant que la taille efficace de la population ancestrale ne soit restaurée (C et D). Cependant, le génotype « vert » est perdu par dérive, et les fréquences alléliques dans la population ont fortement changé.

L'**admixture** est la reproduction entre individus provenant de populations génétiquement différentes, suite à une mise en contact. Cette mise en contact augmente la diversité génétique par simple addition : celle-ci est plus importante que dans chacune des deux populations d'origines (voir figure 1.4 A-B). Dans un second temps, la reproduction permet la recombinaison des allèles et potentiellement l'apparition de nouveaux génotypes absents des populations d'origine (figure 1.4 C).

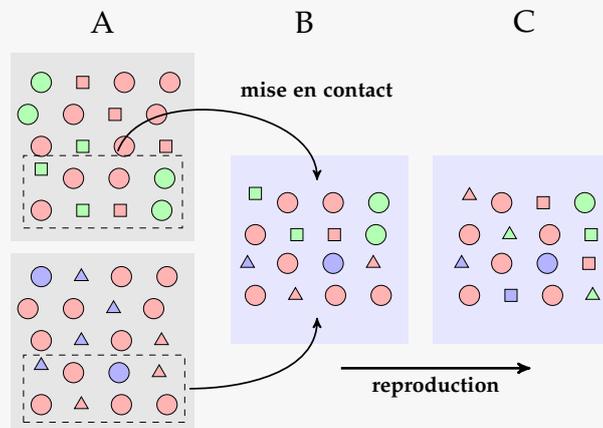


FIGURE 1.4 – **Gain de diversité au cours d'un évènement d'admixture** Deux populations génétiquement différentes (A) sont introduites dans un nouveau milieu (B). Les croisements au sein de la nouvelle population permettent l'apparition des génotypes « triangle vert » et « carré bleu » (C), absents des populations parentales.

On note que les goulots d'étranglement et l'admixture peuvent se produire simultanément ou successivement, de sorte que la diversité perdue au cours de deux introductions parallèles (ayant subi un goulot d'étranglement) pourrait être restaurée par l'admixture des populations-filles (Kolbe *et al.* 2004) et ainsi augmenter la probabilité de succès de l'invasion (Verhoeven *et al.* 2011).

Dans certains cas, l'évolution peut être la clef du succès de l'invasion, qui n'aurait autrement pas pu avoir lieu (Lee et Petersen 2002). L'évolution prend alors la forme d'une course « contre la montre » où la population confrontée à un changement de milieu s'éteindra en l'absence d'évolution suffisamment rapide (Bell et Gonzalez 2009, Orr et Unckless 2008). On parle alors de « sauvetage évolutif » (*evolutionary rescue* en anglais). Certaines définitions des invasions biologiques vont d'ailleurs jusqu'à inclure la notion d'évolution (Valéry *et al.* 2008). Les invasions biologiques constituent donc un contexte favorable à l'évolution rapide des populations, et représentent une occasion unique pour étudier l'évolution à une échelle temporelle réduite, compatible avec les réalités de laboratoire (Huey *et al.* 2005).

## 1.2 LES DIFFÉRENTES APPROCHES ÉVOLUTIVES EN BIOLOGIE DES INVASIONS

### 1.2.1 Étude de traits phénotypiques

Jusqu'à très récemment, les études sur la biologie évolutive des invasions biologiques se focalisaient sur des traits phénotypiques, comme la dispersion (Phillips *et al.* 2006), la résistance contre les ennemis (Müller-Schärer *et al.* 2004) ou les traits d'histoire de vie (Bufford et Daehler 2010). Outre ceux directement liés à l'adaptation locale, certains traits d'histoire de vie génériques, comme la fécondité et la durée du cycle de vie, ont un impact évident sur la valeur sélective, sans pour autant être spécifique à l'environnement d'introduction. Tous ces traits jouent un rôle potentiel sur la survie de la population introduite, et donc sur le succès de l'invasion. Quels que soient les traits étudiés, leur évolution au cours du processus d'invasion ne peut être convenablement étudiée qu'en comparant des populations envahissantes à celles provenant de l'aire native. Il a ainsi été démontré, en particulier chez les plantes, que les populations envahissantes ont souvent un cycle de vie plus rapide et une fécondité supérieure aux populations natives de l'espèce envahissante (Bossdorf *et al.* 2005, Rejmánek et Richardson 1996).

### 1.2.2 Étude de la valeur sélective

La biologie évolutive au sens large ne se cantonne pas à l'étude des traits phénotypiques. La discipline embrasse aussi classiquement une approche plus formaliste, basée non pas sur un trait particulier, mais sur la valeur sélective d'un individu, ou sur la fréquence d'un allèle dans une population (Thomas *et al.* 2010). Il existe une littérature théorique abondante, notamment sur la dépression de consanguinité (Wright 1937, Glémin 2003, Charlesworth et Willis 2009, et encadré 1.2), le fardeau génétique (Kimura *et al.* 1963, Barrett et Charlesworth 1991) ou encore la diversité génétique dans une population (Kimura et Crow 1964). Ces travaux théoriques permettent l'étude d'évènements démo-génétiques responsables de mécanismes génétiques et évolutifs affectant les probabilités de survie d'une population. En particulier, les goulots d'étranglements démographiques peuvent augmenter la dérive génétique et ainsi causer la fixation de certains allèles délétères dans la population, entraînant l'extinction de cette dernière (voir encadré 1.1). Ils peuvent aussi, au contraire, permettre la purge des allèles délétères en augmentant les croisements entre apparentés, de sorte que la valeur sélective moyenne de la population augmente (Bataillon et Kirkpatrick 2000, Glémin 2003). Ces études théoriques sont appuyées par de nombreuses études expérimentales, en particulier appliquées

au domaine agronomique (Rollins *et al.* 1949, Luo *et al.* 2001, par exemple) et à la biologie de la conservation (Frankham et Ralls 1998).

Dans le contexte des invasions biologiques, l'approche basée sur la valeur sélective reste cependant largement négligée. Seule une poignée d'études se sont réellement intéressées au rôle des traits génériques associés à la valeur sélective dans le succès des invasions (Roman et Darling 2007, Keller et Taylor 2008, Verhoeven *et al.* 2011, Facon *et al.* 2011b). Les populations introduites subissent pourtant des conditions propices à l'évolution du fardeau génétique et de la dépression de consanguinité qui reflètent la valeur sélective moyenne de la population. En particulier, les événements d'introduction correspondent à des goulots d'étranglements démographiques qui sont susceptibles d'amplifier la dérive génétique. De plus, les petites populations introduites peuvent souffrir de la dépression de consanguinité (encadré 1.2). D'autre part, l'admixture entre populations d'origines différentes peut faire apparaître des génotypes nouveaux (voir encadré 1.1). Ces événements démo-génétiques sont donc susceptibles de jouer un rôle majeur dans le succès d'une invasion (Roman et Darling 2007), comme l'attestent de plus en plus d'études théoriques (Facon *et al.* 2006, Wilson *et al.* 2009) et expérimentales (Lee et Petersen 2002, Lavergne et Molofsky 2007, Facon *et al.* 2011b).

Il est important de souligner que même lorsque l'évolution n'est pas requise pour permettre le succès d'une invasion, elle peut tout de même avoir lieu une fois l'invasion en marche. Par exemple, l'invasion de l'escargot dulçaquicole<sup>1</sup> (*Melanoïdes tuberculata*) dans les cours d'eau de Martinique était déjà réussie lorsque des changements génétiques ont été détectés. Ces changements ont toutefois accentué le succès de cette invasion (Facon *et al.* 2006, encadré 1).

---

1. vivant dans les eaux douces

**Définitions et mesures** Le fardeau génétique est une mesure dérivée de la valeur sélective. Le fardeau génétique causé par un allèle délétère correspond à la diminution de valeur sélective moyenne dans une population par rapport à une population « témoin » qui en serait dépourvue. Cette population idéale est souvent considérée comme ayant une valeur sélective de référence fixée à 1, et le fardeau est donc exprimé comme  $1 - \bar{w}$ , où  $\bar{w}$  est la valeur sélective moyenne de la population considérée. La **dépression de consanguinité** est une composante du fardeau qui mérite d'être portée à notre attention. Il s'agit de la différence entre la valeur sélective des individus issus de croisements consanguins et celle de ceux issus de croisement non consanguins. Pour mesurer la dépression dans une population, on utilisera des croisements entre plein-frères, ou de l'autofécondation comme croisements consanguins selon l'espèce considérée. De même, les croisements non-consanguins peuvent correspondre à des croisements entre individus non apparentés (allogamie) ou à un croisement aléatoire parmi les individus de la population (panmixie). Le plus souvent, on considère la dépression en tant que mesure relative, que l'on exprime par la formule  $\delta = \frac{w_o - w_i}{w_o}$  aussi noté  $1 - \frac{w_i}{w_o}$  où  $w_o$  et  $w_i$  sont respectivement les valeurs sélectives des descendants des croisements non-consanguins (*outcross*) et consanguins (*inbred*).

**Mécanismes et causes de la dépression de consanguinité** La dépression de consanguinité provient de la différence de valeur sélective entre génotypes homozygotes et hétérozygotes. En effet, la conséquence principale de la consanguinité est la diminution de la fréquence des génotypes hétérozygotes dans le génome – et dans la population – au profit des génotypes homozygotes (augmentation de l'homozygotie moyenne). Il y a de la dépression lorsque la valeur sélective des hétérozygotes est supérieure à celle des homozygotes délétères (Charlesworth et Charlesworth 1999).

Il y a deux mécanismes susceptibles de causer la dépression de consanguinité (Charlesworth et Willis 2009).

**Allèles délétères récessifs** L'augmentation de la fréquence des homozygotes délétères lors de croisements consanguins diminue la valeur sélective moyenne. Ce type de dépression est aussi valable, dans une moindre mesure, dans le cas d'allèles délétères partiellement récessifs.

**Super-dominance** Le cas où un allèle dont la valeur sélective à l'état hétérozygote est supérieure à celle des deux génotypes homozygotes est appelé super-dominance (*overdominance* en anglais). Dans un tel cas, la diminution de la fréquence des hétérozygotes à forte valeur sélective lors de croisements consanguins diminue la valeur sélective moyenne.

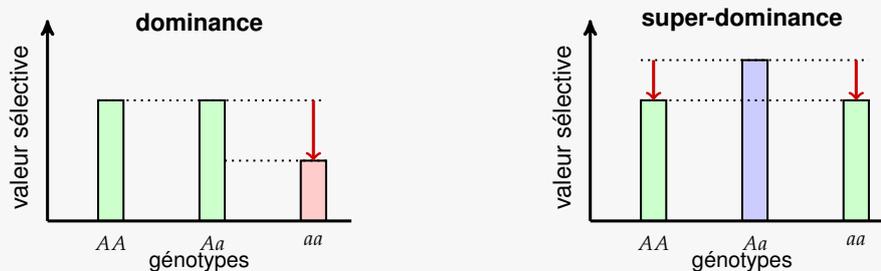


FIGURE 1.5 – **Modèles de dominance** Dominance et valeur sélective : Les homozygotes délétères ont une valeur sélective inférieure à celle des hétérozygotes et des homozygotes dominants (ici, la dominance est complète). Super-dominance : couple d'allèles dont les hétérozygotes sont meilleurs que les deux homozygotes

Même si la super-dominance est peut être importante dans certains cas (voir par exemple Li *et al.* 2001), il semble que la dépression de consanguinité soit majoritairement causée par des allèles délétères récessifs chez la plupart des espèces (Roff 2002, par exemple). Dans ce cas, la dépression de consanguinité est bien une composante du fardeau génétique puisqu'elle représente une diminution de valeur sélective causée par l'expression d'allèles délétères. Elle est donc souvent utilisée comme mesure indirecte du fardeau génétique dans une population et reste un outil intéressant quelle que soit la mesure utilisée. On nomme d'ailleurs parfois « fardeau de dépression » la dépression de consanguinité latente dans une population sans tendance à l'homogamie. On notera que la dépression de consanguinité peut aussi être observée dans les populations de petite taille où l'apparentement moyen entre les individus est grand.

## 1.3 CHANGEMENTS ÉVOLUTIFS AU COURS D'UNE INVASION BIOLOGIQUE

Dans la section précédente, j'ai comparé les deux façons d'étudier l'évolution associée aux invasions biologique ; présenté d'une façon générale les évènements démo-génétiques susceptibles d'en être la cause (au moins partielle) ; et expliqué comment ils peuvent influencer le succès d'une invasion. Je vais à présent préciser dans quels contextes et comment peuvent agir les forces évolutives. Je donnerai aussi quelques exemples d'évolution de traits phénotypiques au cours d'une invasion ainsi que de l'effet retour que ceux-ci peuvent avoir sur les évènements démo-génétiques.

Au cours d'une invasion biologique, trois des quatre forces évolutives jouent en effet un rôle important dans l'évolution des populations introduites (voir encadré 1.3), notamment au travers des évènements démo-génétiques listés plus haut, à savoir les goulots d'étranglement et l'admixture. Ces forces évolutives peuvent agir tout au long des différentes phases de l'invasion et peuvent avoir un effet aussi bien sur le fardeau génétique que sur les traits phénotypiques.

### ENCADRÉ 1.3 – Les forces évolutives en jeu au cours d'une invasion

On définit classiquement quatre forces évolutives, toutes susceptibles de modifier le polymorphisme génétique et les fréquences alléliques dans une population : la sélection, la migration, la mutation, et la dérive.

**Sélection** La sélection de certains allèles ou combinaisons d'allèles permet à une population de s'adapter aux nouvelles conditions rencontrées au cours du processus d'invasion. Il s'agit donc d'un moteur important de l'évolution post-introduction et potentiellement de la clef du succès d'une invasion. Cependant, la sélection n'est possible que lorsqu'il y a de la diversité génétique, cette dernière provenant de la migration ou de la mutation.

**Migration** La migration joue un rôle évident dans l'arrivée d'une espèce dans le milieu d'introduction (figure 1.1). Les événements d'introductions sont parfois répétés au cours d'un scénario d'invasion (Kolbe *et al.* 2004). Ces introductions multiples permettent l'admixture des populations introduites (voir par exemple Culley et Hardiman (2009) et l'encadré 1.1). En tant que principale source de diversité génétique à court terme, la migration est donc un facteur qui peut jouer un rôle important dans le succès d'une invasion.

**Mutation** Les mutations se produisent à des fréquences relativement faibles. Elles n'ont donc généralement qu'un impact à long terme, et ne jouent probablement pas un grand rôle au cours d'une invasion biologique (voir Orr et Unckless 2008, Bell et Gonzalez 2009). On peut toutefois considérer le cas de l'augmentation du taux de mutations en conditions de stress chez les bactéries comme étant susceptible de générer rapidement de la variation génétique nécessaire à l'adaptation à un nouvel environnement (Sniegowski *et al.* 1995). Ceci reste cependant un cas assez particulier que je néglige par la suite dans ce document de thèse.

**Dérive** La dérive génétique correspond à la variation stochastique — c'est à dire liée au hasard — des fréquences alléliques par simple effet du hasard (Hartl et Clark 1997). Celle-ci a lieu dans les populations de tailles limitées où les processus aléatoires ont un effet important. D'un point de vue démographique, une introduction correspond à un goulot d'étranglement au cours duquel la taille de la population peut être très réduite (cf. encadré 1.1). La dérive génétique est donc importante au début d'une invasion, et est souvent associée à une perte de diversité (Roman et Darling 2007, Bai *et al.* 2012). De ce fait, la dérive génétique est traditionnellement considérée comme ayant un rôle négatif sur le succès d'une invasion (mais voir le paragraphe 1.3.1).

### 1.3.1 Dérive génétique, fardeau, et dépression de consanguinité au cours d'une invasion biologique

La première étape d'une invasion biologique, la phase de migration longue distance, correspond à l'échantillonnage, au transport et l'introduction des individus qui seront à l'origine de l'invasion (cf. figure 1.1). L'échantillonnage de propagules parmi une population de l'aire native peut ne pas être représentatif de la population source. Par exemple, si l'échantillon est réduit, il risque d'omettre une partie de la diversité génétique, et conduire ainsi à une première perte de diversité (voir l'encadré 1.1). Cette érosion pourra se poursuivre par dérive au cours de la phase suivante, et aboutir à un appauvrissement génétique extrême de la population introduite. En effet, au cours de la phase d'implantation, la taille de la population est le plus souvent limitée (Davis *et al.* 2004). Le goulot d'étranglement initié par l'échantillonnage de la phase précédente est ainsi prolongé car la population ne retrouve pas une taille efficace importante avant plusieurs générations. Par exemple, lors de son invasion dans la Méditerranée depuis la mer Rouge, le poisson flûte *Fistularia commersonii* a vu la diversité génétique mitochondriale réduite à deux haplotypes seulement (Golani *et al.* 2007).

On a longtemps pensé que la perte de diversité par dérive était là règle au cours d'une invasion biologique, contribuant à établir ce qui a été appelé le « paradoxe des invasions » (Sax et Brown 2000). En effet, la diversité génétique constitue le terreau de l'adaptation, elle-même cruciale au cours d'une invasion biologique, et il peut sembler paradoxal que l'invasion puisse réussir dans de telles conditions. Cependant, dans certains cas, la diminution de la diversité des populations envahissantes peut ne pas porter préjudice à l'invasion, voire être la clef de son succès (Roman et Darling 2007). Par exemple, la perte de diversité génétique serait la cause de la diminution de l'agressivité intra-spécifique chez la fourmi d'Argentine (*Linepithema humile*). C'est cette particularité comportementale qui serait à l'origine de la création de super-colonies envahissantes autour du bassin méditerranéen (Tsutsui *et al.* 2000).

Un autre aspect de la dérive est de diminuer l'efficacité de la sélection, ce qui peut permettre aux allèles délétères, d'ordinaire maintenus à de faibles proportions de devenir plus fréquents, voire se fixer par hasard dans la population (Glémin 2003). Par exemple, dans une petite population suédoise de vipère péliade (*Vipera berus*) qui a été isolée pendant trente ans, la valeur sélective moyenne est réduite par rapport à la population principale. Cette diminution serait due en partie à une baisse de la diversité génétique et à la quasi-fixation de certains allèles délétères, mais aussi à une forte expression de la dépression de consanguinité (Madsen *et al.* 1996). Cette dernière est en effet plus importante dans les populations de petite taille car la probabilité de reproduction avec un apparenté y est plus grande (voir l'encadré 1.2). Ainsi, à fréquences génétiques égales, une population de petite taille aura une valeur sélective moyenne plus faible qu'une population plus grande. Il est intéressant de noter qu'un nombre croissant d'études récentes montre que la diversité des populations envahissantes reste importante, voire augmente par rapport à une population native de la même espèce (Kolbe *et al.* 2004). Cette forte diversité génétique peut provenir d'introductions multiples de propagules issues de populations génétiquement différentes, suivies de l'admixture entre les populations introduites. L'admixture entre populations introduites peut aussi diminuer la dépression de consanguinité en diminuant l'apparentement moyen des individus (Verhoeven *et al.* 2011).

Dérive et sélection peuvent aussi agir de concert, notamment au travers de la purge des allèles délétères récessifs dans les populations de petites tailles (Glémin 2003) caractéristiques

des goulots d'étranglement associés aux introductions. Puisque les croisements entre apparentés y sont fréquents, l'homozygotie moyenne est importante (voir encadré 1.2). Les allèles récessifs sont ainsi démasqués et la sélection peut alors les éliminer. À ce type de purge s'ajoute la perte par dérive – au sens strict – des allèles délétères, généralement maintenus à faible fréquence dans les populations à l'équilibre (Kirkpatrick et Jarne 2000, Glémin 2003).

### 1.3.2 Évolution des traits phénotypiques au cours d'une invasion

Les traits phénotypiques peuvent évoluer dès la première phase d'une invasion. Les conditions nécessaires à la migration longue distance peuvent en effet être contraignantes, et ainsi jouer le rôle d'un filtre au cours de l'introduction. Il peut s'agir d'un échantillonnage biaisé, laissant de côté les individus les moins aptes à disperser, ou d'une sélection au cours du transport. Par exemple, la daphnie *Daphnia lumholtzi*, a été introduite involontairement aux États-Unis, transportée dans les eaux de ballast des bateaux. La survie prolongée de ce crustacé dans un milieu clos n'est possible que grâce à une diapause. Des différences de conditions de levée de cette diapause entre populations natives et envahissantes suggèrent qu'une sélection ait eu lieu sur ce trait au cours du transport (Panov *et al.* 2004).

De plus, l'environnement d'introduction diffère souvent de celui d'origine. Ces différences peuvent concerner les conditions climatiques, l'accès aux ressources ou les interactions avec les autres espèces. Les traits correspondants sont donc soumis à des pressions de sélection importantes et peuvent ainsi évoluer rapidement après l'introduction. Par exemple, chez le carabique *Merizodus soledadinus* originaire de Patagonie, une adaptation aux conditions de haute salinité aurait permis le succès de son invasion aux îles Kerguelen (Siaussat *et al.* 2013).

Les pressions démographiques peuvent également varier au cours d'une invasion. Dans les premiers stades, il n'y a pas de régulation par la densité car la capacité biotique du milieu n'est pas atteinte. Les traits associés à des stratégies *r* (*i.e.* cycle de vie court, grand nombre de descendants) seront donc positivement sélectionnés. De plus, les populations où ces traits se répandent retrouveront une taille appréciable plus rapidement, ce qui augmente la probabilité de succès de l'invasion. C'est pourquoi, en cas d'invasion réussie, les populations concernées présentent souvent un investissement reproducteur plus important que les populations de l'aire d'origine (Rejmánek et Richardson 1996, Bossdorf *et al.* 2005, Brown et Eckert 2005). Par exemple, le corégone blanc (*Coregonus albula*), originaire du lac Inari en Finlande, a envahi le lac Vaggatjern entre la Norvège et la Russie. Les populations envahissantes de cette espèce sont caractérisées par une taille adulte plus faible et un âge de première reproduction plus jeune que les populations natives (Amundsen *et al.* 2012). On peut également citer l'exemple du jonc fleuri *Butomus umbellatus*, dont l'investissement dans la reproduction est plus importante dans les populations envahissantes (Brown et Eckert 2005).

Les traits liés aux stratégies de reproduction sont susceptibles d'être fortement sous sélection et ont tendance à évoluer rapidement au cours d'une invasion (Phillips *et al.* 2010). Au cours de la phase d'expansion, la densité démographique reste généralement faible sur le front d'invasion. Les pressions de sélections associées aux faibles densités y seront donc toujours présentes, et malgré les forts effets de dérive causées par les faibles densités, ces pressions sélectives pourront être importantes. Rappelons néanmoins qu'une fois l'implantation réussie, les populations envahissantes peuvent atteindre de fortes densités démographiques au niveau du foyer d'introduction (Horvitz 2010), et la compétition intra-spécifique y sera im-

portante (e.g. Jirotkul 1999, Levitan 2004). La sélection peut alors favoriser les traits liés à la compétition et à la sélection sexuelle (Kokko et Rankin 2006).

Dans le cas d'une expansion rapide, la colonisation de l'espace sur le front d'invasion est souvent issue d'un petit nombre de migrants, descendant eux-même des quelques migrants de la génération précédente. Puisque la migration se limite à quelques individus, la taille efficace de la population peut être très réduite localement, créant un goulot d'étranglement spatial (Slatkin et Excoffier 2012). Ces effets de dérive ponctuels se produisent au cours des vagues de migration, ils ont été baptisés avec esprit « surf génétique », par opposition aux effets de la dérive génétique classique, moins dynamiques spatialement (voir par exemple Excoffier et Ray 2008, Burton et Travis 2008, Burton *et al.* 2010). Précisons que ce surf génétique peut ainsi se produire même si la taille de la population reste, dans l'ensemble, toujours relativement importante. En particulier, les effets de la dérive peuvent être observés même en l'absence de goulot d'étranglement lors des événements d'introduction.

Toutefois, les traits liés à la reproduction ne sont pas les seuls à montrer une forte vitesse d'évolution. D'autres traits peuvent en effet évoluer rapidement sur le front de l'invasion, en particulier ceux liés à la dispersion. L'invasion du crapaud buffle (*Bufo marinus*) en Australie en est un bon exemple. Au sein de l'aire envahie, cette espèce présente un gradient de la taille des pattes postérieures elle-même corrélée à la capacité de dispersion (Phillips *et al.* 2006).

### 1.3.3 Interactions entre traits phénotypiques et mécanismes génétiques

Bien que je distingue l'approche basée sur les traits phénotypiques de celle basée sur le fardeau génétique, elles ont toutes deux leur importance dans la discipline. D'autant plus que certains traits phénotypiques peuvent interagir avec les mécanismes évolutifs responsables de l'évolution du fardeau génétique. En plus de leur impact direct sur la valeur sélective, ces traits phénotypiques peuvent avoir un effet retour sur les conditions démographiques favorisant ou non les événements évolutifs clefs que sont l'admixture et la purge ou la fixation des allèles délétères (Lambrinos 2004, Barrett *et al.* 2008, Burton *et al.* 2010).

En particulier, les faibles densités des premiers stades d'une invasion favorisent une évolution rapide des régimes de reproductions permettant l'assurance reproductive, comme le passage de l'allofécondation à l'auto-fécondation (MacArthur et Wilson 1967, Barrett *et al.* 2008, Bufford et Daehler 2010). En affectant la dynamique démographique de la population, les traits liés à la reproduction modifient la taille efficace de la population, et peuvent aussi affecter la dérive et l'efficacité de la sélection. Par exemple, la perte de certains allèles dans les populations envahissantes de la jacinthe d'eau *Eichhornia paniculata* a conduit à des modifications morphologiques de la fleur permettant l'assurance reproductive de la plante, ce qui serait à l'origine du succès de son invasion. (Barrett *et al.* 1989). Ce changement de régime de reproduction a diminué la taille efficace de la population, ce qui l'expose fortement à la dérive (Husband et Barrett 1992). Un tel régime de reproduction peut aussi favoriser la purge des allèles délétères (Byers et Waller 1999, Glémin 2003) mais réduit les opportunités d'admixture entre populations génétiquement distantes.

Pour une bonne compréhension des invasions biologiques et des mécanismes évolutifs associés, il est donc primordial d'utiliser conjointement les deux approches, à savoir l'étude des traits liés à la reproduction et celle de l'évolution du fardeau génétique.

## 1.4 MODÈLE BIOLOGIQUE ÉTUDIÉ DANS CETTE THÈSE

Pour étudier les changements évolutifs impliqués dans les invasions biologiques, j'ai utilisé une approche expérimentale complétée par une approche théorique. Pour l'approche expérimentale de ma thèse, je me suis basé sur l'étude d'un coléoptère envahissant : la coccinelle asiatique *Harmonia axyridis* Pallas.

### 1.4.1 La coccinelle asiatique comme espèce modèle

*H. axyridis* est un agent de lutte biologique extensivement étudié et dont le scénario d'invasion a récemment été reconstitué (cf. encadré 1.4). Cette espèce, originaire d'Asie orientale a en effet été introduite en Amérique du nord et en Europe au cours du siècle dernier. Elle y a été utilisée pour la lutte biologique contre les pucerons pendant de nombreuses années, avant d'y proliférer puis d'envahir l'Amérique du sud et l'Afrique du sud (voir encadré 1.4).

L'utilisation de cette coccinelle comme espèce modèle présente un certain nombre d'avantages. Il s'agit tout d'abord une espèce relativement facile à élever, et dont le temps de génération plutôt court (entre trois et six semaines) permet de réaliser des expériences d'évolution en laboratoire et des croisements contrôlés. Ce n'est par ailleurs pas un organisme de quarantaine, ce qui facilite les conditions d'importation et de manipulation.

Enfin et surtout, grâce à au travail de thèse d'Éric Lombaert (2011) réalisé en collaboration entre le CBGP et l'INRA de Sophia Antipolis, on dispose d'une bonne connaissance des routes d'invasion de cette espèce. De surcroît, on dispose aussi de bonnes compétences au sein du CBGP pour ce qui est des techniques d'élevage et de mesure de traits d'histoire de vie.

### 1.4.2 Évolution de *H. axyridis* au cours de son invasion

La coccinelle asiatique est une espèce extrêmement étudiée, et on peut aisément trouver des informations sur sa physiologie, son histoire de vie, ses interactions avec d'autres organismes et son usage en lutte biologique (Koch 2003). À ce jour, seules quelques publications se sont intéressées à l'évolution de cette espèce au cours de son invasion, ou aux mécanismes évolutifs qui en sont responsables. Travailler avec des populations de l'aire native et de l'aire envahie de cette espèce offre pourtant la possibilité de comparer les deux types de population, et d'apporter ainsi de nouveaux éléments concernant l'évolution rapide pouvant se produire au cours de l'invasion. Cela permet aussi de tester les théories d'évolution concernant les invasions. Il est en effet possible de reproduire expérimentalement les mécanismes évolutifs sur des populations de l'aire native et de comparer ensuite les caractéristiques des populations expérimentales avec celles des populations envahissantes.

Parmi les études existantes, certaines comparent directement populations natives et envahissantes. Par exemple, Facon *et al.* (2011b) ont montré que, contrairement à celles de l'aire native de l'espèce, les populations de l'aire envahie ne présentent pas de dépression de consanguinité, et que cette différence serait due à la purge d'allèles délétères dans les populations envahissantes. En parallèle, leur étude montre que les populations envahies ont subi un goulot d'étranglement d'intensité modérée au cours de leur introduction. Les auteurs suggèrent que les allèles responsables de la dépression aient été purgés au cours du goulot, même si aucun lien de causalité entre les deux résultats n'ait pu être prouvé. De plus, dans leur étude, Tayeh

*et al.* (2013) montrent qu'il y a peu d'hétérosis<sup>2</sup> et de dépression hybride<sup>3</sup> lors du croisement entre populations, qu'elles proviennent de l'aire native ou de l'aire envahie. Ceci corrobore d'une part les résultats de Facon *et al.* (2011b) sur la purge dans les populations envahissantes, et d'autre part suggère que les mutations délétères qui ségrègent dans les populations natives sont globalement les mêmes d'une population à l'autre. Cette étude montre aussi la présence de dépression hybride dans les populations natives (à savoir la diminution de valeur sélective chez des individus issus de croisements mixtes), ce qui suggère la présence de gènes co-adaptés. L'absence de dépression hybride dans les populations de l'aire envahie pourrait être due une origine commune de ces populations (cf. effet tête-de-pont, encadré 1.4). Ces deux études montrent aussi que dans les populations envahissantes, les individus tendent à avoir des temps de développement plus courts et une fécondité plus importante que dans les populations natives.

D'autres études se sont focalisées sur les populations de lutte biologique, et ne comparent pas directement les populations natives et envahissantes de cette espèce. Les populations de lutte biologique ont joué un rôle certain dans l'invasion en Europe et pourraient aussi être à l'origine des populations envahissantes américaines, bien que cela reste à démontrer. Tayeh *et al.* (2012, en annexe de cette thèse) montrent que les populations de lutte biologique sont plus sensibles à l'infection par un champignon pathogène que ne le sont les populations natives et envahissantes. De même, la plasticité phénotypique semble plus importante dans les populations envahissantes que dans les populations de lutte biologique (Lombaert *et al.* 2007).

Si toutes ces études apportent des éléments intéressants sur l'évolution qui a eu lieu au cours de l'invasion de cette coccinelle, le rôle des événements démo-génétiques qu'a subi cette espèce au cours de son invasion reste encore méconnus.

---

2. vigueur hybride, *i.e.* cas où les individus hybrides ont une meilleure valeur sélective que les autres  
3. diminution de la valeur sélective chez les hybrides par rapport aux autres (*outbreeding depression*)

## ENCADRÉ 1.4 – Scénario d’invasion de la coccinelle asiatique

**Lutte biologique et invasion** La coccinelle asiatique *H. axyridis* Pallas (*Coleoptera* : *Coccinellidae*) est une coccinelle de grande taille originaire d’Asie orientale (Chine, Sibérie, Mongolie, Kazakhstan, Corée, Japon (Iablokoff-Khnzorian 1982)). Elle a été utilisée en occident comme agent de lutte biologique pour lutter contre les pucerons depuis 1916 aux USA, puis en Europe depuis 1982 et en Amérique du sud depuis 1986. À partir de 1988, un premier foyer d’invasion a été reporté à l’est des USA. Un second foyer s’est déclaré dans les états de l’ouest en 1991, puis trois autres foyers se sont déclarés en Europe, en Amérique du sud et en Afrique du sud en 2001 (Lombaert 2011). Cette espèce étant très polyphage et très compétitive, elle représente une menace pour les espèces locales dans son aire d’invasion (Koch 2003, Roy *et al.* 2008a;b).

**Routes d’invasion et scénario « tête de pont »** Des études récentes ont permis de retracer le scénario de l’invasion mondiale de cette espèce (Lombaert *et al.* 2010, Lombaert 2011). Des individus provenant de l’est de l’aire native seraient à l’origine de la population ouest-Américaine et des populations de lutte biologique Européennes. La population est-Américaine résulterait de l’admixture entre des propagules venant de l’est et de l’ouest de l’aire native. Cette population est-américaine serait à son tour à l’origine des populations du sud de l’Amérique et de l’Afrique. En Europe, les populations envahissantes proviennent d’un mélange d’individus issus de populations américaines et de la souche de lutte biologique européenne (voir la figure ci-dessous).

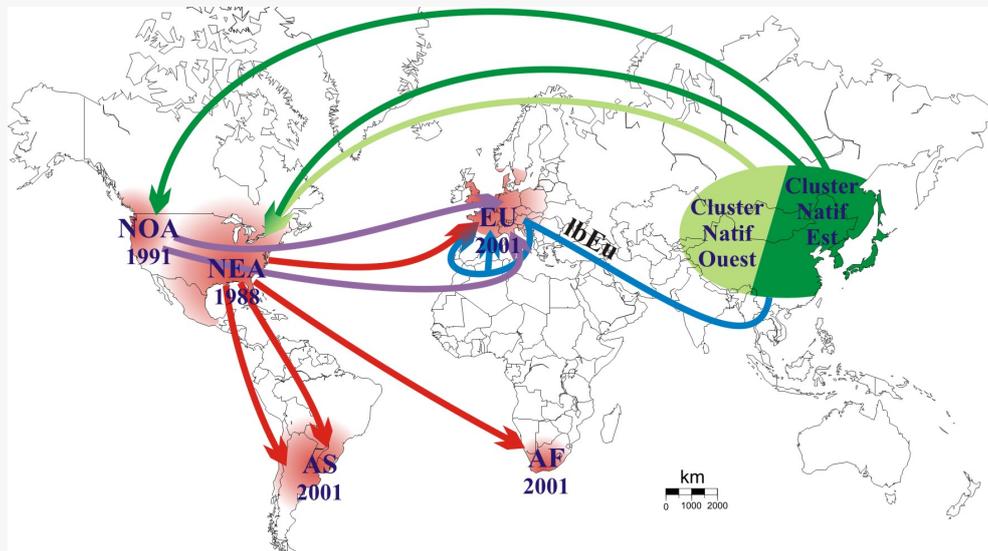


FIGURE 1.6 – **Routes d’invasion de la coccinelle asiatique** Aire native en vert, Aire envahie en rouge. Les introductions sont représentées par des flèches et les évènements d’admixture par des flèches convergentes. Les dates correspondent aux débuts d’invasion. NOA : Amérique du nord-ouest. NEA : Amérique du nord-est, AS : Amérique du sud, EU : Europe, lbEu : Lutte biologique européenne. Figure communiquée par Éric Lombaert, non publiée.

En plus d’évènements d’admixture, les populations envahissantes ont subi des goulots d’étranglement démographiques (Lombaert *et al.* 2010; 2011, Facon *et al.* 2011b, Éric Lombaert, communication personnelle).

## 1.5 PRINCIPAUX OBJECTIFS ET GRANDS AXES DE LA THÈSE

Nous avons vu au cours de ce chapitre introductif que plusieurs mécanismes évolutifs peuvent entrer en jeu au cours de l’introduction d’une espèce exotique et avoir un effet déter-

minant sur le succès de son invasion. Plus spécifiquement, la purge des allèles responsables du fardeau génétique au cours d'une invasion biologique pourrait être un facteur génétique clef dans le succès de celle-ci. En particulier, lorsque les milieux d'origine et d'introduction sont très similaires sur le plan écologique et abiotique, et qu'aucune adaptation locale importante ne semble nécessaire, la purge du fardeau génétique pourrait faire la différence entre le succès d'une invasion et son échec. L'étude du fardeau génétique, pourtant classique en biologie de la conservation, reste cependant largement négligée dans le contexte des invasions.

Par ailleurs, certains traits phénotypiques, notamment ceux liés à la reproduction, sont susceptibles d'influencer – et d'être influencés par – les événements démo-génétiques que sont l'admixture et les goulots d'étranglements.

En conséquence au cours de la thèse, je me suis focalisé sur l'évolution du fardeau génétique au cours des invasions biologiques et sur celle des traits liés à la reproduction. J'ai pour cela réalisé trois grands travaux qui constituent les chapitres de cette thèse.

Dans un premier temps, j'ai étudié expérimentalement le rôle d'un goulot d'étranglement dans la purge de la dépression de consanguinité de la coccinelle asiatique. J'ai indiqué dans la section précédente que les populations envahissantes de cette espèce ne souffrent plus de la dépression de consanguinité, qui est présente dans les populations natives. Dans ce chapitre je montre *via* une expérience en conditions contrôlées, que la dépression de consanguinité peut en effet évoluer rapidement chez cette espèce suite à un bref mais intense goulot d'étranglement. Cependant, contrairement à ce que l'on aurait pu attendre, ce changement consiste le plus souvent en une fixation des allèles délétères plutôt qu'en une purge génétique, au moins dans le contexte expérimental étudié.

Dans un second temps, j'ai étudié les changements des fréquences des allèles délétères dans une population théorique au cours d'un goulot d'étranglement. J'ai pour cela utilisé une approche théorique de modélisation qui permet notamment d'étendre les résultats expérimentaux obtenus chez *H. axyridis* à une espèce quelconque et à d'autres types de goulots. Dans ce chapitre, j'ai utilisé un modèle mathématique pour étudier l'évolution du fardeau et de la dépression de consanguinité au cours d'un goulot. J'ai modélisé des goulots d'amplitudes (*i.e.* de tailles efficaces) et de durées différentes et étudié plusieurs types d'allèles délétères (plus ou moins létaux et récessifs). Je montre également qu'étant basé sur un processus aléatoire, le simple fait de répéter l'événement d'introduction de nombreuses fois augmente la probabilité d'apparition d'un cas favorable, augmentant ainsi la probabilité de succès de l'invasion.

Dans un troisième temps, j'ai étudié des traits liés à la reproductions chez la coccinelle asiatique, afin de caractériser leur évolution au cours du processus d'invasion. Dans ce chapitre, j'ai discuté l'impact potentiel de ces traits sur les mécanismes évolutifs évoqués tout au long de cette thèse. Tout particulièrement, j'ai montré, à l'aide de deux expériences que les populations envahissantes de la coccinelle asiatique ont un succès reproducteur supérieur à celui des populations natives. Cette différence porte à la fois sur la fonction femelle (fécondité, nombre de partenaires sexuels, date de première reproduction) que sur la fonction mâle (accès à la femelle, proportion d'œufs fécondés). J'ai également montré qu'il n'y a pas d'évitement de la consanguinité dans les populations (natives et envahissantes) étudiées, ce qui pourrait avoir favorisé la purge des allèles délétères, observée par Facon *et al.* (2011b) dans les populations envahissantes de cette espèce.

# EVOLUTION EXPÉRIMENTALE DE LA DÉPRESSION DE CONSANGUINITÉ CHEZ UNE ESPÈCE ENVAHISSANTE

# 2

## 2.1 INTRODUCTION

La dépression de consanguinité existe dans la nature chez la plupart des espèces (Hedrick et Kalinowski 2000) et peut affecter considérablement la survie des populations concernées (Frankham et Ralls 1998). Elle est majoritairement causée par l'expression des allèles délétères (partiellement) récessifs lorsqu'ils se retrouvent exposés à la sélection à l'état homozygote (Roff 2002, par exemple). Ce démasquage permet à la sélection d'éliminer ces allèles de la population (purge Hedrick 1994, Glémin 2003), réduisant en retour la dépression de consanguinité au niveau populationnel (Byers et Waller 1999).

Le niveau de dépression de consanguinité dans une population est affecté à la fois par (i) l'apparement moyen entre les individus au sein de celle-ci (processus génétique), et par (ii) la probabilité de croisement avec un apparenté (processus stochastique) (Glémin 2003). Les allèles délétères responsables de la dépression de consanguinité peuvent être purgés à la suite d'un changement de régime de reproduction (vers des croisements consanguins ou passage à l'autofécondation), ou d'une diminution de la taille efficace de la population (Saccheri *et al.* 1998, Glémin 2003). La dépression peut aussi se trouver réduite suite à la fixation d'allèles délétères dans la population, auquel cas la valeur sélective en croisements consanguins est la même qu'en croisements non-consanguins (voir encadré 2.1 et Bataillon et Kirkpatrick 2000). Cette fixation est souvent l'œuvre de la dérive génétique, qui permet aux mutations délétères de s'accumuler dans la population (Glémin 2003). Il est important de souligner que les deux situations (purge et fixation), bien qu'ayant des effets similaires sur la dépression de consanguinité, ont généralement des conséquences opposées sur la survie d'une population. La dépression de consanguinité n'est donc pas fixe, mais peut varier au cours des générations (Charlesworth et Charlesworth 1987). Cette évolution a d'abord été très étudiée dans le cadre de l'évolution des systèmes de reproduction (Porcher et Lande 2005, *e.g.*), et dans un contexte de biologie de la conservation (Hedrick et Kalinowski 2000, Madsen *et al.* 1996, *e.g.*).

Plus récemment, des travaux de recherches ont été fait dans le contexte des invasions biologiques (Daehler 1999, Keller et Fournier 2002, Facon *et al.* 2011b, Verhoeven *et al.* 2011). En effet, le processus d'introduction est souvent lié à des densités de population faibles (Davis *et al.* 2004). Dans de telles conditions, la probabilité de reproduction avec un individu apparenté est importante, même chez des espèces panmictiques, de sorte que la dépression de

consanguinité est plus exprimée que dans des populations plus grandes. Une propagule de petite taille dans laquelle la dépression est importante risque donc de s'éteindre avant que la phase d'implantation ne soit achevée.

### ENCADRÉ 2.1 – Mesure expérimentale de la purge et de la fixation

**Définitions** En génétique, on désigne sous le terme générique de *purge* une perte d'un ou plusieurs allèles délétères dans une population. Symétriquement, on désigne par *fixation* d'un allèle, le cas où les autres allèles associés au même locus ont disparu de la population. La fixation partielle des allèles délétères est parfois aussi appelée « fardeau de dérive » (Glémin 2003)

Par extension, on parle parfois de purge du fardeau ou de la dépression de consanguinité pour désigner la diminution partielle ou totale de ces caractères génétiques suite à la purge d'allèles délétères qui en sont responsables.

**Mesures** La purge des allèles délétères est une notion relative. Elle correspond à une diminution d'allèles délétères fixés ou ségrégeant dans une population par rapport à une situation de référence. Cette référence peut être une population théorique, de taille infinie et à l'équilibre (Glémin 2003) ou, dans un contexte expérimental, une population témoin.

La mesure de la dépression de consanguinité est souvent utilisée comme *proxy* du fardeau génétique pour évaluer la purge ou la fixation dans une population expérimentale.

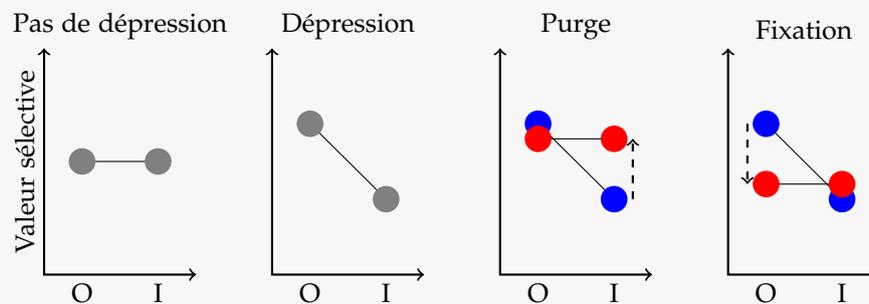


FIGURE 2.1 – *Dépression, purge et fixation* Représentation théorique de la mesure de la dépression de consanguinité, de la purge des allèles délétères et de leur fixation. Mesures d'un trait associé à la valeur sélective pour des croisements en outcross (O) ou en croisement consanguin (I). Les points bleus représentent les mesures chez le groupe de référence (témoin) et les points rouges, chez le groupe focal. Les points gris sont génériques.

De plus, les systèmes de reproduction sont susceptibles d'évoluer rapidement au cours d'une invasion, notamment au travers d'un passage d'allofécondation à autofécondation (MacArthur et Wilson 1967, Barrett *et al.* 2008, Bufford et Daehler 2010). En effet, les variations de fréquences alléliques causées par un goulot d'étranglement rendent l'autofécondation plus avantageuse que l'allofécondation (Lande et Schemske 1985, Kirkpatrick et Jarne 2000).

Ces changements évolutifs peuvent donc théoriquement modifier le niveau de dépression de consanguinité dans les populations envahissantes, ce qui peut avoir un effet retour sur le succès de l'invasion. Par exemple, la coccinelle asiatique *Harmonia axyridis*, originaire d'Asie orientale, a été introduite sur plusieurs continents selon un scénario comportant au moins un goulot d'étranglement (Lombaert *et al.* 2010, Facon *et al.* 2011b). Facon *et al.* (2011b) ont montré que la dépression de consanguinité présente dans les populations de l'aire native de cette espèce est grandement diminuée dans les populations introduites. Cependant, les relations entre goulot d'étranglement, régime de reproduction, dépression de consanguinité et succès de l'invasion restent encore à établir.

La présente étude s'inscrit dans le prolongement de celle de Facon *et al.* (2011b) et a pour but de tester (i) si la dépression de consanguinité peut évoluer rapidement à l'échelle d'une invasion (*i.e.* quelques générations), et (ii) si ces changements sont compatibles avec une purge des allèles délétères. Nous avons utilisé une expérience de croisements contrôlés en laboratoire pour manipuler la taille efficace d'une population native d'*H. axyridis*. Nous avons suivi expérimentalement l'évolution au cours de plusieurs générations de deux groupes de populations de taille efficace et de systèmes de reproduction différents (panmixie réduite et régime plein-frères) et conservé une population témoin de grande taille efficace. Nos résultats sont basés sur la mesure de deux traits de survie juvénile.

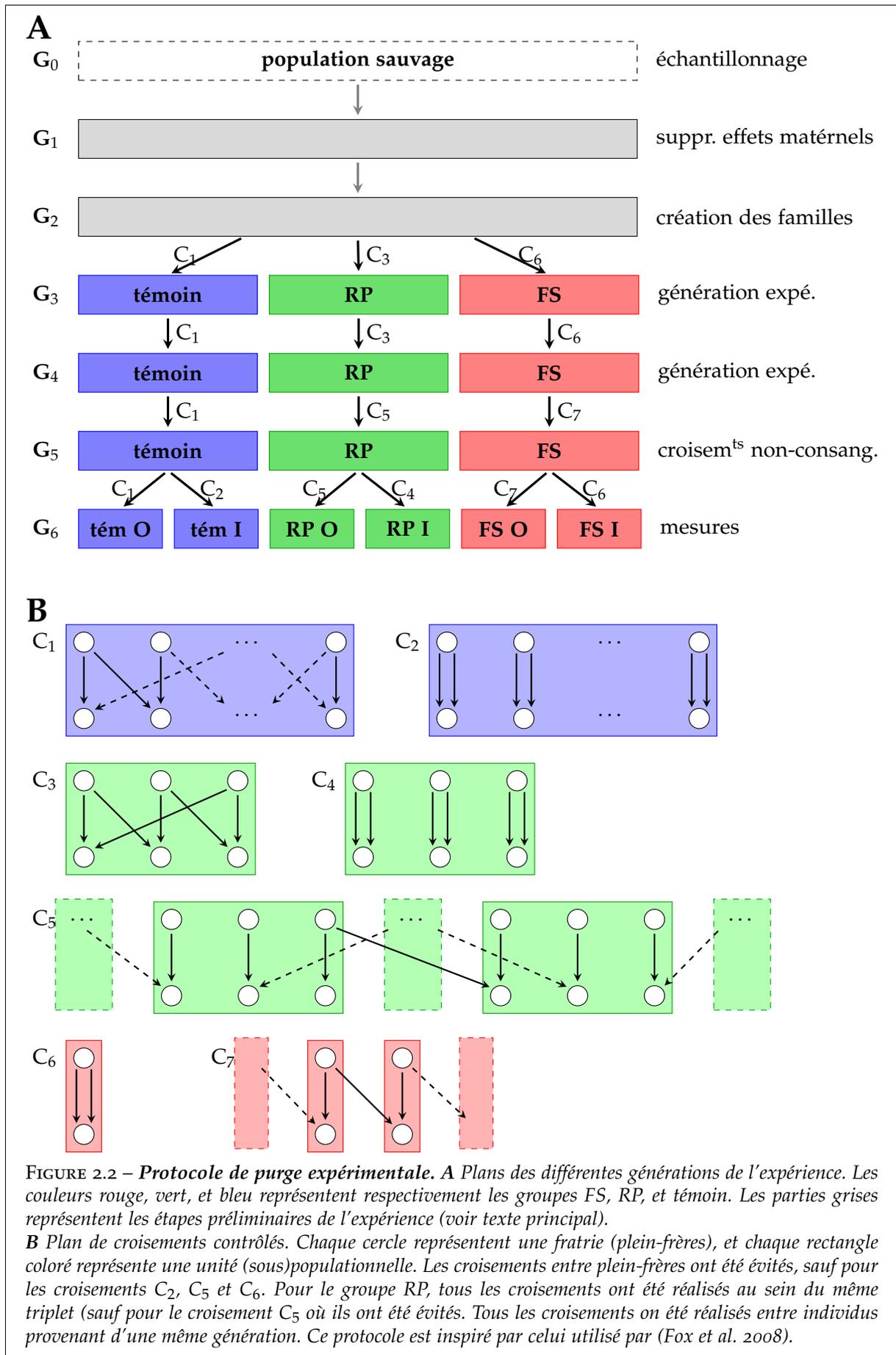
## 2.2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.2.1 Échantillonnage et plan expérimental

Plus de 200 individus ont été échantillonnés dans des vergers de pomme autour de Pékin (Chine), au cours de l'été 2011. Ces individus ont constitué la génération sauvage appelée  $G_0$ . Ils ont été gardés dans des boîtes de plastique et nourris avec des pucerons vivants pendant deux semaines à la Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences à Pékin. Ils ont ensuite été transférés au CBGP de Montferrier-sur-lez (France). A partir de ce point, les individus ont été élevés dans des boîtes de Pétri, par couples (adultes), ou par fratries (larves); et nourris avec des œufs ionisés d'*Ephesia kuehniella* (*Lepidoptera, pyralidae*). Les conditions d'élevage correspondaient à une photopériode de 14 :10 (J :N), et une température constante de 23°C.

La première population à voir le jour au laboratoire ( $G_1$ ) a été obtenue au travers d'un plan de croisement conçu pour (i) limiter la perte de diversité génétique de la population en augmentant artificiellement la taille efficace, et (ii) débarrasser la population des femelles infectées par des parasites tueurs de mâles (*male-killers*) parasitant parfois les populations asiatiques (Majerus *et al.* 1999) en éliminant les femelles ne produisant pas de mâles. A partir de la génération  $G_1$ , chaque adulte n'a été accouplé qu'à un seul autre pour s'assurer que les familles pour la  $G_2$  et les générations suivantes n'étaient constituées que de plein-frères.

La seconde génération ( $G_2$ ) consistait en 105 familles descendant chacune de couples



d'adultes  $G_1$  formés aléatoirement. Chaque famille  $G_2$  a contribué à la création de chacun des trois traitements utilisés à partir de cette génération en fournissant chacune deux adultes (voir figure 2.2). Ce plan expérimental permet de minimiser les différences entre les *pools* génétiques de chacun des traitements au début de l'expérience. Le groupe de traitement de Panmixie Réduite (RP) a été séparé en sous-populations de trois couples (triplets) chacune. Le groupe de traitement Pleins Frères (Full Sibs, FS) a lui aussi été découpé en sous-populations, chacune formée d'un seul couple (fratrie). Le groupe témoin a été gardé en une seule population, mais chaque couple a été élevé individuellement pour contrôler la taille efficace de la population. Les 60 premières familles  $G_2$  à atteindre des tailles suffisantes à la création des groupes — à, savoir trois mâles et trois femelles — ont été assignées au bloc expérimental 1. Les 45 autres familles, ayant atteint une taille suffisante plus tard ont été assignées au bloc 2.

Deux générations ( $G_3$  et  $G_4$ ) de taille efficace contrôlée ont ensuite été produites. Au cours de ces générations, les croisements ont été réalisés au sein de chaque unité populationnelle (*i.e.* respectivement population, triplet et fratrie dans les groupes témoin, RP et FS), en évitant les croisements plein-frères, à l'exception du groupe FS (figure 2.2,  $C_1$ ,  $C_3$  et  $C_6$ ).

La cinquième génération ( $G_5$ ) est une génération de croisements non-consanguins permettant de rétablir l'hétérozygotie dans tous les groupes de traitement (Charlesworth et Charlesworth 1999, Fox *et al.* 2008). Le design expérimental des croisements est exposé en détail dans la figure 2.2 B. Pour compenser la perte de lignées et éviter l'extinction des populations, des réplicats des familles ont été créés à partir des générations  $G_3$  (bloc 2) et  $G_4$  (bloc 1).

La dernière génération de cette expérience ( $G_6$ ) est la génération de mesure, permettant d'estimer la dépression de consanguinité dans chaque groupe à la fin du goulot. Des croisements pleins frères et des croisements non-consanguins ont été effectués dans tous les groupes à cette génération. Les données récoltées étaient des mesures sur des traits qui pour lesquels la purge était la plus importante dans l'étude de Facon *et al.* (2011b) *i.e.* taux d'éclosion et taux de survie jusqu'à l'âge adulte. Deux ou trois pontes par femelle ont été prélevées et placées chacune dans une boîte de Pétri de 7cm de diamètre pour limiter le cannibalisme. Le comptage des œufs avant éclosion et des larves juste après éclosion a permis d'estimer le taux d'éclosion. Jusqu'à huit larves par pontes ont été conservées jusqu'à leur émergence en tant qu'imago. Limiter le nombre de larves par boîte a permis de limiter le cannibalisme larvaire important chez cette espèce (Osawa 1993). Le ratio du nombre d'adulte sur le nombre de larves conservées a permis d'estimer le taux de survie jusqu'à l'âge adulte.

Au final, malgré les pertes de lignées, des données ont pu être récoltées pour 42 familles du premier bloc expérimental et pour 33 familles dans le second (cf. Table A.1 en annexe).

### 2.2.2 Traitement statistique des données

Les données ont été agglomérées par famille, puis analysées avec le logiciel de statistique R (R Core Team 2012). Les données ont été analysées au travers de modèles linéaires généralisés (GLMs) quasi-binomiaux (Crawley 2012, Chap. 16). L'utilisation d'un tel modèle permet de prendre en compte les différences de variance de l'échantillon d'un couple à l'autre. Les effets du croisement, du traitement et du bloc et toutes leurs interactions sont utilisées en tant que variables explicatives pour construire un modèle complet, puis les effets non significatifs sont retirés du modèle un par un, selon la méthode « *backwards* ».

Les estimations de ces GLMs permettent également de tester spécifiquement la dépression

de consanguinité, la purge et la fixation des allèles délétères, grâce à des tests de contrastes unilatéraux (Sokal et Rohlf 1995, Crawley 2012). En d'autres termes, les distributions statistiques des effets estimés par chaque modèle ont été utilisées pour tester la significativité des différences représentées dans la figure 2.1 (encadré 2.1). Des tests ont également été effectués pour comparer les traitements RP et FS, en utilisant cette fois des tests bilatéraux.

Effet testé	LR $\chi^2$	Df	<i>p</i> value
Croisement	5.1425	1	<b>0.02335</b>
Traitement	2.3476	2	0.30918
Crois. :Traitement	8.8134	2	<b>0.01220</b>

TABLE 2.1 – *Effets sur le taux d'éclosion* Table d'analyse de déviance du GLM des effets du croisement (consanguin ou non-consanguin), du traitement (groupe RP, FS ou témoin) et du bloc sur le taux d'éclosion. Tests de type III.

## 2.3 RÉSULTATS

### 2.3.1 Taux d'éclosion

Les résultats présentés dans la table 2.1 montrent que le taux d'éclosion est affecté par le type de croisement (consanguin ou non-consanguin) et par l'interaction entre le type de croisement et le traitement (taille de la population). De plus, les résultats pour les taux d'éclosion ne sont pas significativement différents d'un bloc à l'autre.

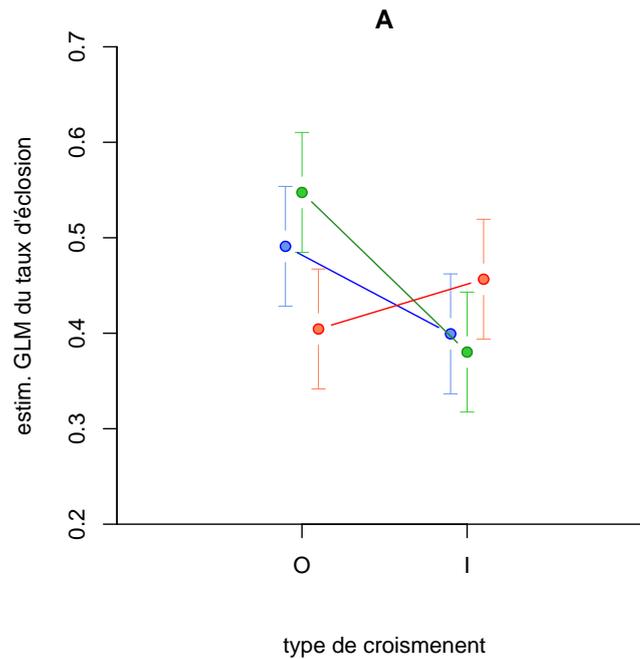
Les effets observés sont dus à une différence de dépression de consanguinité entre les trois traitements (table 2.2 et figure 2.3 A). Les groupes RP et Témoins ont des taux d'éclosion des œufs issus de croisements consanguins significativement inférieurs à celui des œufs issus de croisements non-consanguins, ce qui correspond à de la dépression de consanguinité significative (table 2.2). En revanche, il n'y a pas de dépression dans le groupe FS (table 2.2).

groupes	effets testés	<i>t</i>	d.d.l.	<i>p</i> -value
témoin	dépression de consanguinité	2.262	176	<b>0.012</b>
RP	dépression de consanguinité	2.963	176	<b>0.002</b>
	purge	-0.406	176	0.657
	fixation	-1.128	176	0.870
FS	dépression de consanguinité	-1.007	176	0.842
	purge	1.225	176	0.111
	fixation	1.868	176	<b>0.032</b>
FS-RP	différences en crois. non-consanguins	-2.598	176	<b>0.010</b>
	différences en crois. consanguins	1.437	176	0.152
	différences de dépression	-2.860	176	<b>0.005</b>

TABLE 2.2 – *Tests de dépression de consanguinité, de purge et de fixation pour le taux d'éclosion*. Tests de contrastes unilatéraux pour la purge ou la dépression de consanguinité. Les tests de contrastes sont bilatéraux pour les différences entre les groupes FS et RP. Notons que tous les tests ne sont pas indépendants et que les blocs ont été regroupés.

Pour ce groupe (FS), le taux d'éclosion des individus issus de croisements non-consanguins est significativement inférieur à celui observé dans le groupe témoin (table 2.2) ce qui correspond à la fixation d'allèles délétères. Pour le groupe FS, il y a une tendance à la purge (taux d'éclosion des individus issus de croisements entre pleins frères supérieur à celui des témoins,

## Taux d'éclosion



## Taux de survie larvaire

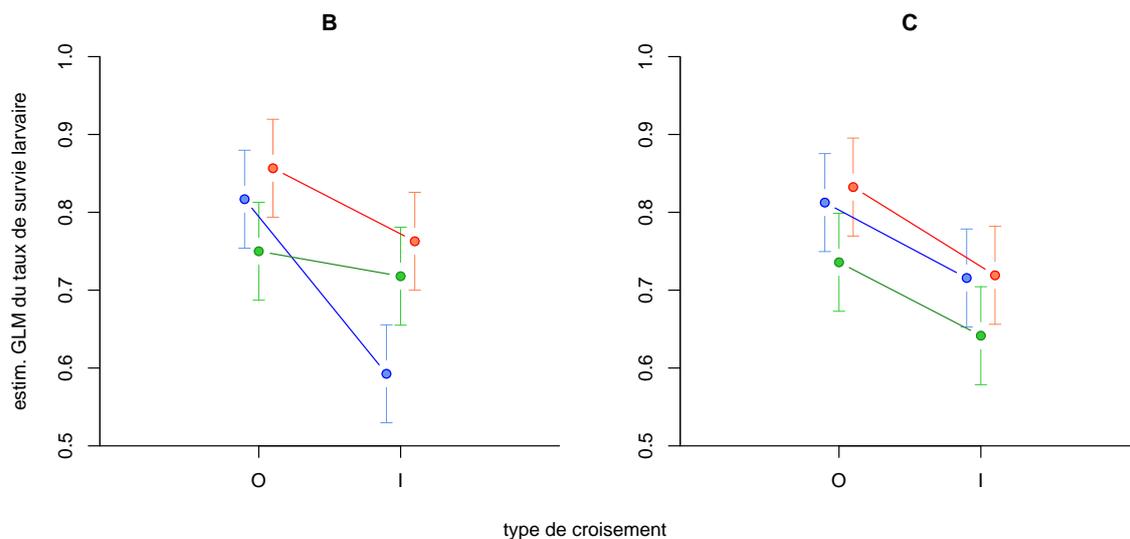


FIGURE 2.3 – Taux de survie estimés dans les croisements non-consanguins (O) et pleins-frères (I) Les différentes couleurs représentent les différents groupes de traitement : Vert pour RP, rouge pour FS et bleu pour le témoin. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95% autour des estimations. Les blocs 1 et 2 sont confondus dans le panneau A. Les panneaux B et C correspondent aux blocs 1 et 2, respectivement.

figure 2.3 A), mais cette tendance n'est pas significative (table 2.2). Les différences entre FS et RP ne sont significatives que pour les croisements non-apparentés (table 2.2) pour lesquels le groupe RP présente un taux d'éclosion supérieur au groupe FS.

Tested effect	LR $\chi^2$	Df	p value
Bloc 1			
Cross	27.6226	1	<b>1.474 · 10<sup>-7</sup></b>
Treatment	12.9605	2	<b>0.001533</b>
Cross :Treatment	8.3293	2	<b>0.015535</b>
Bloc 2			
Cross	15.8050	1	<b>7.022 · 10<sup>-5</sup></b>
Treatment	5.9471	2	0.05112
Cross :Treatment	0.7035	2	0.70345

TABLE 2.3 – *Effets sur la survie larvaire pour chaque bloc expérimental. Table d'analyse de déviance des GLMs des effets du croisement (consanguin ou non-consanguin), du traitement (groupe RP, FS ou témoin) et du bloc sur le taux de survie larvaire. Tests de type III.*

group	tested effect	t	df	p.value
block 1				
control	inbreeding depression	5.182	80	<b>8.03 · 10<sup>-7</sup></b>
RP	inbreeding depression	0.647	80	0.260
	purging	2.400	80	<b>0.009</b>
	fixation	1.664	80	<b>0.050</b>
FS	inbreeding depression	2.137	80	<b>0.018</b>
	purging	3.423	80	<b>4.89 · 10<sup>-4</sup></b>
	fixation	-1.053	80	0.852
FS-RP	differences in outbreeding	2.358	80	<b>0.021</b>
	differences in inbreeding	0.931	80	0.355
	difference in depression	1.181	80	0.241
block 2				
control	inbreeding depression	3.935	74	<b>9.314 · 10<sup>-5</sup></b>
RP	inbreeding depression	2.557	74	<b>0.006</b>
	purging	-2.275	74	0.987
	fixation	2.715	74	<b>0.004</b>
FS	inbreeding depression	3.329	74	<b>0.001</b>
	purging	0.110	74	0.457
	fixation	-0.729	74	0.766
FS-RP	differences in outbreeding	2.933	74	<b>0.004</b>
	differences in inbreeding	2.044	74	<b>0.045</b>
	difference in depression	0.837	74	0.405

TABLE 2.4 – *Tests de dépression de consanguinité, de purge et de fixation pour le taux de survie larvaire. Tests de contrastes unilatéraux pour la purge ou la dépression de consanguinité. Les tests de contrastes sont bilatéraux pour les différences entre les groupes FS et RP. Notons que tous les tests ne sont pas indépendants.*

### 2.3.2 Survie larvaire

L'analyse de déviance du GLM de la survie larvaire montre un effet bloc significatif, qu'il soit seul ou en interaction avec l'effet du traitement (données non-présentées). Les résultats des taux d'éclosion sont donc présentés séparément pour chacun des blocs.

**Bloc expérimental 1** Les effets du croisement et du traitement sur la survie larvaire ainsi que leur interaction sont significatifs (table 2.3). Le taux de survie moyen des larves issues de croisements pleins frères est inférieur à celui des larves issues de croisements non-consanguins pour tous les groupes (figure 2.3A), ce qui correspond à de la dépression de consanguinité.

Cette diminution n'est pas significative dans le cas du traitement RP (table 2.4), même si la dépression est moins marquée chez le groupe FS que chez le groupe témoin.

Pour le groupe RP, le taux de survie des larves issues de croisements non-consanguins est significativement inférieur à celui du groupe témoin (table 2.4 et figure 2.3), ce qui correspond à de la fixation. Pour ce même traitement, le taux de survie des larves issues de croisements pleins frères est significativement supérieur à celui du témoin (table 2.4 et figure 2.3 B), ce qui correspond à de la purge.

Pour le groupe FS, le taux de survie des larves issues de croisements non-consanguins n'est pas inférieur à celui du groupe témoin (figure 2.3A), ce qui correspond à une absence de fixation. Pour ce même groupe, le taux de survie des larves issues de croisements pleins frères est significativement supérieur à celui du témoin (table 2.4 et figure 2.3A), ce qui correspond à de la purge.

**Bloc expérimental 2** Les effets principaux du croisement et du groupe sont significatifs, mais pas l'interaction entre ces deux effets (au seuil de 0.1, voir table 2.3).

Pour tous les groupes, les taux de survie moyens des larves issues de croisements pleins frères sont significativement inférieurs à ceux des larves issues des croisements non-consanguins (table 2.4 et figure 2.3), ce qui correspond à de la dépression de consanguinité pour tous les groupes de ce bloc expérimental.

Pour le groupe RP, le taux de survie des larves issues de croisements non-consanguins est significativement inférieur à celui du groupe témoin (table 2.4 et figure 2.3), ce qui correspond à de la fixation. Pour ce même traitement, le taux de survie des larves issues de croisements pleins frères n'est pas supérieur à celui du témoin (table 2.4 et figure 2.3B), ce qui correspond à l'absence de purge. Les données concernant le groupe RP présentent donc la signature de purge et de fixation d'allèles délétères.

Pour le groupe FS, le taux de survie des larves issues de croisements non-consanguins n'est pas inférieur à celui du groupe témoin (figure 2.3 B), ce qui correspond à une absence de fixation. Pour ce même groupe, le taux de survie des larves issues de croisements pleins frères est légèrement supérieur à celui du témoin, ce qui correspondrait à de la purge; mais cette différence n'est pas significative (table 2.4 et figure 2.3B). On notera que pour les différences entre taux de survie larvaire entre les groupes RP et FS sont significatives en croisements plein-frères et en croisements non-consanguins, en revanche, la différence de dépression entre ces deux groupes n'est pas significative (table 2.4).

## 2.4 DISCUSSION

### 2.4.1 Variabilité des réponses

Les résultats de cette expérience, résumés dans la table 2.5, montrent une grande variabilité des réponses à une diminution de la taille efficace. Cette variabilité se retrouve à tous les niveaux : entre les deux traits de survie mesurés, entre les deux groupes (*i.e.* RP et FS), mais aussi pour un même trait entre les deux blocs expérimentaux. Cette variabilité est en accord avec les résultats de la littérature. Dans leur méta-analyse, Byers et Waller (1999) trouvent globalement une forte variabilité dans l'efficacité de la purge chez les plantes.

	Purge	Fixation
Taux d'éclosion		
FS	Non	<b>Oui</b>
RP	Non	Non
Survie larvaire		
FS	Non	Non
RP	<b>Oui</b>	<b>Oui</b>

TABLE 2.5 – Résultats résumés sur la base des tableaux 2.2 et 2.4. Pour la survie larvaire, les résultats sont considérés positifs si les tests associés sont significatifs au seuil de 5% dans au moins un des deux blocs.

La dérive génétique, qui est très forte pour des tailles efficaces aussi réduites que celles utilisées dans l'expérience, peut expliquer une grande partie de la variation de valeur sélective observée dans notre étude. La grande variabilité des réponses aux conditions expérimentales peut aussi être en partie expliquée par des variations génétiques d'échantillonnage au début de l'expérience. Pray et Goodnight (1995), par exemple, ont trouvé une variabilité de la consanguinité importante entre lignées plein-frères chez le coléoptère *Tribolium castaneum*. Lacy *et al.* (1996) trouvent aussi une grande variabilité entre populations de souris, qu'ils attribuent à des différences de composition génétique initiale entre lignées. Nous avons tâché de minimiser cette variation dans notre expérience grâce à un brassage génétique initial ( $G_1$  et  $G_2$ ) et en s'assurant que les mêmes individus servent de fondateurs aux lignées des trois groupes (FS, RP et témoin).

Si la composition génétique initiale est la même dans tous les groupes, elle peut varier d'un bloc expérimental à l'autre. En particulier, les familles formant le second bloc sont celles chez lesquelles le temps nécessaire à obtenir trois individus de chaque sexe est en moyenne plus long. Cette caractéristique est peut-être associée à l'expression de certains allèles délétères. Il est donc possible qu'une partie des allèles délétères ségrégeant dans ces familles aient été purgés au niveau de la  $G_2$ . En effet, certains traits comme le temps de développement sont susceptibles d'être purgés chez *H. axyridis* (Facon *et al.* 2011b). Ceci pourrait expliquer la faible dépression de consanguinité mesurée pour la survie larvaire dans le bloc expérimental 2 (cf. figure 2.3 B et C).

La variabilité de la valeur sélective observée peut aussi provenir de variations expérimentales (Swindell et Bouzat 2006). Notre expérience s'est en effet étalée sur plus de huit mois, au cours desquels plusieurs événements perturbateurs (*e.g.* pénuries de nourriture, pannes des chambres climatiques) se sont produits. Malgré nos efforts pour minimiser leur impact sur l'expérimentation, il est possible qu'ils soient responsables d'une partie de la variation observée dans les résultats, en particuliers entre les blocs, qui étaient décalés dans le temps et étaient donc affectés par un même accident de parcours à des stades de développement différents.

#### 2.4.2 Evolution rapide de la purge

Nos résultats montrent aussi que la dépression de consanguinité peut évoluer rapidement au cours d'un goulot d'étranglement fort chez *H. axyridis*. Deux générations de croisements plein frères ont suffi pour affecter considérablement la dépression de consanguinité portant sur le taux d'éclosion dans le groupe FS. Ces résultats corroborent ceux issus d'études précédentes, comme ceux de Fox *et al.* (2008) sur le coléoptère *Stator limbatus*, chez lequel la dépres-

sion de consanguinité est purgée en trois génération de croisements pleins frères. Une variation rapide de la dépression avait également été montrée chez les plantes (voir par exemple Barrett et Charlesworth 1991).

Nos résultats pour le taux de survie larvaire chez le groupe RP suggèrent qu'une brève diminution de la taille efficace puisse être suffisante pour réduire la dépression de consanguinité chez *H. axyridis*, même si la purge n'est pas systématique. En admettant, comme je l'ai suggéré plus haut (§ 2.4.1) que les différences inter-blocs expérimentaux peuvent provenir d'une hétérogénéité génétique, il est possible qu'en dépit de nos efforts pour atténuer le goulot d'étranglement génétique lié à l'échantillonnage, la purge des allèles délétères ait commencé dans les générations préliminaires ( $G_1$ - $G_2$ ) et se soit traduite par une expression d'allèles délétères chez certains individus, réduisant notamment leur vitesse de développement. Ces individus seraient alors plus représentés dans le second bloc expérimental, ce qui pourrait expliquer la plus faible dépression de consanguinité observée chez le groupe témoin dans ce bloc-ci (comparer les figures 2.3B et C). Bien que ceci reste une hypothèse, elle suggère que la purge des allèles délétères puisse se produire très rapidement lors de goulots d'étranglements réalistes.

### 2.4.3 Purge et fixation simultanées des allèles délétères

Un autre résultat intéressant de cette étude est que la purge et la fixation d'allèles délétères peuvent se produire simultanément. Bien que peu discuté dans la littérature, l'occurrence simultanée de ces deux mécanismes a déjà été suggérée (voir par exemple Crnokrak et Barrett 2002). Il y a en effet deux moyens de diminuer la dépression de consanguinité : (i) augmenter la valeur sélective en croisements plein-frères, et (ii) la diminuer en croisements non-consanguins (cf. encadré 2.1). Si ces deux processus se produisent en même temps, la diminution de la dépression de consanguinité est importante, mais le fardeau génétique ne diminue que faiblement. Ce fardeau est en effet constitué des effets conjugués d'allèles délétères à plusieurs loci. Il est donc probable que certains d'entre eux aient été fixés par dérive au cours de l'expérience, faisant diminuer la valeur sélective moyenne de la population (pour tout types de croisement). En parallèle, d'autres allèles délétères peuvent être éliminés par la sélection. S'ils sont récessifs, ceux-ci affectent surtout la valeur sélective des individus issus de croisements plein-frères. Il est ainsi probable que certains allèles délétères aient été fixés par dérive dans les populations expérimentales, tandis que d'autres aient été éliminés (purgés). Ce sont les allèles les moins délétères et les plus récessifs qui sont le plus susceptibles d'être purgés, car ils sont moins sensibles à la dérive que des allèles létaux ou codominants (Kirkpatrick et Jarne 2000, Glémin 2003).

Il est aussi possible que la purge ait été réduite par des conditions de laboratoire trop stressantes, ce qui peut, tout comme des conditions trop favorables, diminuer l'intensité de la sélection à l'encontre des allèles délétères (Kishony et Leibler 2003). En effet, si les conditions sont trop mauvaises, même les individus homozygotes pour un allèle sauvage (non-délétère) auront une performance faible. Au cours des six générations qu'ont constitué cette expérience, la population a probablement subi des pressions de sélection dues aux conditions de captivité, en particulier pour la consommation de la nourriture proposée qui n'est pas la source d'alimentation principale dans le milieu naturel (Ferran *et al.* 1997). Si la population avait été

adaptée aux conditions expérimentales au préalable, peut-être les populations auraient-elles présenté une purge plus importante ou plus fréquente.

#### 2.4.4 Limites de cette étude

L'analyse des résultats de cette étude peuvent être légèrement biaisés par deux facteurs propre à cette expérience. D'une part, la génération de croisements non-consanguins ( $G_5$ , figure 2.2), bien que nécessaire pour rétablir l'hétérozygotie, rend possible des croisements entre cousins en tant que non-consanguins à la génération suivante ( $C_5$  et  $C_7$ ), notamment dans le cas du groupe FS, où ces cousins sont également issus de lignées de plein-frères et ont donc un coefficient de parenté élevé. Ces croisements peuvent avoir abouti à des individus « non-consanguins » de faible valeur sélective dans la  $G_6$ , conduisant à une potentielle sur-estimation de la fixation et à la sous estimation de la dépression de consanguinité dans les groupes RP et FS.

Un biais opposé peut être causé par la taille limitée du groupe témoin utilisé dans cette expérience, chez lequel la dérive pourrait être non négligeable. Imaginons une mutation délétère rare présente uniquement dans une des familles de la génération  $G_2$ . Supposons aussi qu'une seule copie de cet allèle soit transmise dans chacun des groupes expérimentaux. Comme dans les lignées du groupe FS, cette mutation ne peut, au maximum, être fixée que dans une seule lignée, et ne pourra donc être présente que dans quelques individus de la génération  $G_6$  de ce groupe. Au contraire, puisque le groupe témoin est en panmixie, cette mutation peut être fixée par dérive, et être ainsi présente dans tous le groupe témoin. Le cas du groupe RP est bien évidemment intermédiaire entre celui du groupe FS et du témoin. Dans ces conditions, la valeur sélective moyenne des individus du groupe témoin, pourra être sous-estimée dans les deux types de croisement. Il est donc possible que les résultats présentés ici sur-estiment la purge des allèles délétères par rapport au groupe témoin.

#### 2.4.5 Conclusions et perspectives

Dans l'ensemble, les résultats de cette étude vont dans le sens du scénario proposé par Facon *et al.* (2011b) puisque notre expérience en laboratoire montre qu'un goulot d'étranglement, même bref, peut causer des changements rapide du niveau de dépression de consanguinité chez *H. axyridis*. Cependant, contrairement au cas des populations envahissantes de cette espèce, ces changements génétiques consistent le plus souvent en une fixation partielle d'allèles délétères, parfois accompagnée de purge partielle.

Les résultats de cette étude ne permettent pas de conclure que la réduction du fardeau génétique observée dans les populations envahissantes de la coccinelle asiatique par Facon *et al.* (2011b), s'est bien produite au cours d'un goulot d'étranglement. La grande variabilité de réaction pointe toutefois du doigt l'importance des processus stochastiques dans les goulots d'étranglements importants qui peuvent avoir lieu au cours d'une invasion. Il est donc possible que les invasions biologiques telles que celle de la coccinelle asiatique correspondent à des *outliers* (c'est à dire des données rares et « aberrantes », loin des autres observations). C'est en effet le cas de l'étude de Reed et Bryant (2001), dans laquelle le meilleur compromis entre purge et fixation est une valeur isolée atteinte par une population issue d'un unique couple fondateur (voir la figure 1 de leur article).

Si les évènements d'introduction sont répétés, alors le risque que l'une des itérations produise un tel cas extrême augmente. Dans le cas particulier d'une espèce de lutte biologique telle qu'*H. axyridis*, les lâchers sont souvent récurrents. En particulier, en Amérique du nord, de nombreux lâchers d'individus provenant directement de l'aire native ont été effectués pendant près de 60 ans, avant qu'une invasion ne se déclare à l'est puis à l'ouest des États-Unis (Koch 2003). Il est donc possible que cette invasion soit le résultat d'une introduction, associée à un goulot d'étranglement, caractérisée par une purge exceptionnellement importante et à une fixation d'allèles délétères particulièrement faible.

Il est aussi probable que les conditions de laboratoire (en termes de taille efficace, de nombre de générations et de stress environnemental) utilisées dans cette étude soient très éloignées des conditions optimales pour purger les allèles délétères responsable du fardeau chez *H. axyridis*. En particulier, Facon *et al.* (2011b) ont montré que le goulot d'étranglement subi par la coccinelle asiatique est très vraisemblablement plus long ( $\approx 20$  générations) et de moindre amplitude (*i.e.* avec des tailles efficaces plus importantes ;  $\approx 150$  individus) que ceux réalisés ici. Il est malheureusement difficile de reproduire cette expérience en utilisant des goulots d'intensité similaire à celui décrit dans leur étude ; et/ou de réaliser un grand nombre de réplicats. Seule une approche de modélisation telle que celle présentée dans le chapitre suivant permettra d'étendre les résultats présentés ici.



# GOULOT D'ÉTRANGLEMENT, DÉRIVE GÉNÉTIQUE ET SUCCÈS D'UNE INVASION : QUELLE INTENSITÉ DE GOULOT FAVORISE LA PURGE DES ALLÈLES DÉLÉTÈRES ?

Travail réalisé en collaboration particulière avec Renaud Vitalis et Gilles Le Moguédec.

## 3.1 INTRODUCTION

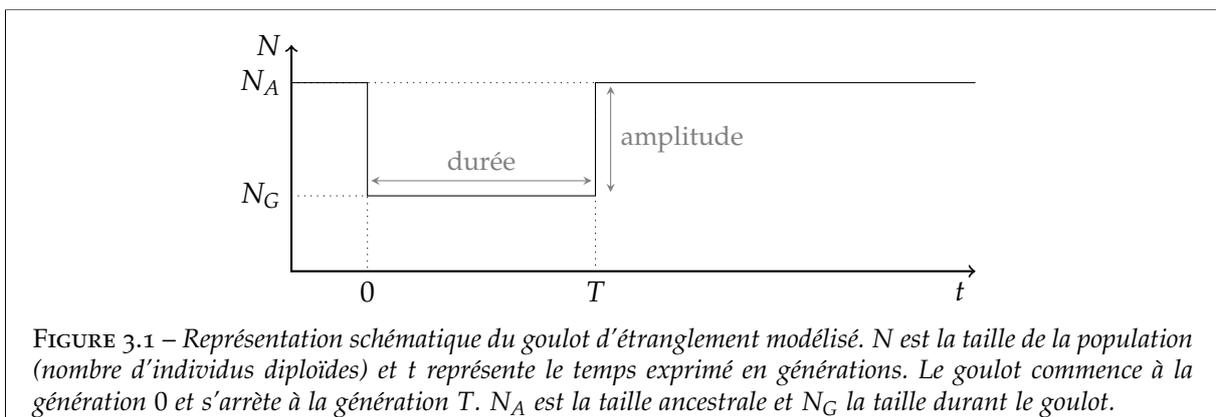
Nous avons vu que la dépression de consanguinité, et donc d'une manière plus générale le fardeau génétique, peut évoluer rapidement en conditions expérimentales. Bien que les résultats du chapitre précédent suggèrent que cette évolution relève en moyenne plus de la fixation que de la purge, ils sont basés sur une expérience dont le protocole est contraint par des facteurs biologiques (propres à l'espèce utilisée) et les moyens disponibles (comme le temps et le matériel). En particulier, les intensités de goulots d'étranglement étudiables en laboratoire, c'est à dire la taille des populations et le nombre de générations effectuées, sont fortement contraintes (limitées par les moyens et le temps disponibles). Enfin, certains paramètres d'intérêt, comme le fardeau génétique, sont difficilement mesurables directement en conditions expérimentales. Leur estimation nécessite en effet des aménagements du protocole expérimental qui peuvent perturber l'analyse des résultats. C'est le cas de la réalisation de croisements non-consanguins juste avant les mesures expérimentales dans le chapitre précédent.

Pour contourner le problème et pour étendre et approfondir les résultats précédents, il est possible d'utiliser une approche de modélisation basée sur les outils de la génétique des populations. Il existe en effet de nombreux modèles génétiques qui étudient les caractères génétiques que sont la fréquence d'un allèle délétère, la dépression de consanguinité et le fardeau génétique dans une population théorique (voir par exemple Fisher 1930, Wright 1931, Crow et Kimura 1970). Cependant, à ma connaissance, il n'existe pour l'instant aucune étude théorique portant sur l'effet de l'intensité d'un goulot d'étranglement sur ces caractères génétiques dans un contexte d'invasion biologique.

Dans ce chapitre, je propose d'utiliser un modèle mathématique pour simuler l'évolution des fréquences alléliques dans une population subissant un goulot d'étranglement d'**amplitude** (*i.e.* de taille efficace) et de **durée** variable (figure 3.1). L'**intensité** d'un goulot d'étranglement, généralement définie comme le produit de ces deux paramètres, est en effet

souvent utilisée pour décrire cet évènement démographique plutôt que d'utiliser directement et séparément amplitude et durée. Ce descripteur est surtout pratique dans le cas où durée et amplitudes ne peuvent être estimées séparément, par exemple à partir de données moléculaires (cf. Facon *et al.* 2011b). Il est cependant probable que les effets de l'amplitude et de la durée d'un goulot ne soient pas multiplicatifs, et qu'ainsi deux goulots de même intensité mais de durées et d'amplitudes différentes aient des effets sensiblement différents. Dans le contexte d'une invasion biologique, où le succès ou l'échec de l'introduction peut dépendre, notamment au travers de la dynamique des caractères génétiques, des paramètres du goulot, savoir quelles sont les conditions favorables (ou défavorables) au succès d'une invasion en termes de nombre de propagule et de durée de phase de latence s'avère particulièrement important. En plus de s'attacher à comprendre comment les paramètres de goulot influencent globalement la dynamique des caractères génétiques, ce chapitre tente de répondre à la question suivante : Quelles caractéristiques d'un goulot d'étranglement, en termes d'amplitude et de durée, favorisent le succès d'une invasion biologique ?

D'un point de vue méthodologique, l'étude analytique d'un modèle mathématique présente indéniablement l'avantage d'apporter des réponses quantitatives (théoriquement) exactes à des questions précises, comme calculer l'état d'un système à l'équilibre. C'est le cas de nombreux modèles classiques de génétique, comme le modèle de Hardy-Heinberg (voir par exemple Crow et Kimura 1970) qui permet de calculer les fréquences génotypiques dans une population de taille infinie, ou celui de Fisher (1930) qui s'intéresse aux fréquences alléliques à l'équilibre dans des populations de tailles finies. De tels modèles ont permis de montrer, que les mutations délétères récessives peuvent être purgées par dérive (par opposition à la purge par croisements consanguins) dans une population de taille réduite, mais qu'en espérance, celles-ci sont fixées dans la population si la taille efficace de cette dernière est trop petite (Glémin 2003). La dépression de consanguinité due à ces allèles est, elle aussi, plus faible dans les populations de petites tailles, et ce, même si ces allèles ont été fixés dans la population (voir Kimura *et al.* 1963 et l'encadré 2.1). En revanche, le fardeau génétique engendré par ces allèles est plus important dans les populations de taille réduite (Bataillon et Kirkpatrick 2000).



Si l'objectif est d'étudier des cas moins triviaux, comme la dynamique d'un système, la modélisation se heurte souvent à un problème de complexité mathématique. L'étude de simulations informatiques permet généralement de contourner le problème. Deux approches sont alors possibles : (i) une approche algorithmique, qui consiste à modéliser directement

les mécanismes biologiques en action ; ou (ii) une approche basée sur un modèle qui utilise la simulation de suites mathématiques décrivant le système. La première approche peut être apparentée à une expérience *in silico*, dont les résultats permettent d'estimer des paramètres d'intérêt, mais dont la précision dépend fortement du nombre de réplicats simulés. La seconde quant-à-elle, permet de calculer exactement (à une précision numérique près) les valeurs de ces paramètres.

Un certain nombre de travaux existant sur la dynamique des allèles délétères se basent sur un modèle mathématique (Glémin 2003), souvent étudié au travers de simulations (Bataillon et Kirkpatrick 2000, Kirkpatrick et Jarne 2000). En utilisant une approche mixte, Bataillon et Kirkpatrick (2000) ont montré par étude analytique et simulations de type « Monte-Carlo » qu'à l'équilibre, la dépression de consanguinité causée par un allèle délétère récessif est toujours plus faible dans une population de petite taille que dans une population de grande taille.

En parallèle, Kirkpatrick et Jarne (2000) ont montré que le fardeau génétique y est toujours plus important que dans une population plus grande. Ces auteurs ont utilisé une analyse analytique et des simulations par calcul de récurrence pour étudier la dynamique de la dépression de consanguinité et du fardeau génétique causés par des allèles délétères indépendants dans une population subissant un bref goulot d'étranglement. Contrairement à Bataillon et Kirkpatrick (2000) qui utilisent l'espérance du fardeau génétique et de la dépression de consanguinité dans une distribution bêta, Kirkpatrick et Jarne (2000) utilisent le fardeau génétique dans une population moyenne dont les allèles délétères sont présents en espérance à la fréquence allélique dans la population. Les auteurs montrent que le fardeau peut être transitoirement légèrement inférieur à celui de la population ancestrale si l'allèle qui le cause est fortement récessif, mais concluent que cette diminution n'a vraisemblablement pas d'effet majeur sur des populations réelles.

Pour répondre aux questions posées dans cette thèse, j'ai retenu une approche de simulation similaire à celle utilisée par Kirkpatrick et Jarne (2000), c'est-à-dire une approche basée sur un calcul itératif d'équations de récurrence. Le modèle employé ici permet d'étudier la dynamique de l'espérance et de la distribution d'un allèle délétère récessif, ainsi que du fardeau génétique associé, au cours d'un goulot d'étranglement dont l'amplitude et la durée sont préalablement définies. En revanche, j'ai utilisé une approche différente pour calculer le fardeau génétique moyen dans la population.

## 3.2 MODÈLE MATHÉMATIQUE

### 3.2.1 Description générale

Le modèle mathématique utilisé ici est une variante de celui de Wright-Fisher (Fisher 1930, Wright 1931) modifié pour prendre en compte la sélection et la mutation. Il est basé sur un modèle non publié de Renaud Vitalis et Donald Waller. On y fait l'hypothèse d'une espèce monoécique (possibilité d'autofécondation, pas de différence entre les sexes), panmictique, à générations non-chevauchantes, et celle que chaque individu produit une infinité de gamètes.

Bien que simplistes, ces hypothèses sont communes dans les modèles classiques de génétique des populations (Crow et Kimura 1970, Thomas *et al.* 2010). L'utilisation de modèles simples permet en effet de mieux se focaliser sur les mécanismes d'intérêt, en l'occurrence

l'effet de la taille de la population sur la dérive génétique et ses conséquences en termes de purge et de fixation.

Considérons, dans un premier temps, une population initiale (population ancestrale) de taille efficace grande mais finie, à l'équilibre<sup>1</sup> sélection-mutation-dérive, et en l'absence de flux de gènes par migration. On considère un seul locus bi-allélique dont l'un des allèles est délétère et au moins partiellement récessif. Une diminution subite de la taille efficace de la population marque le début du goulot d'étranglement (étape de fondation). Le goulot s'achève par le recouvrement instantané de la taille efficace initiale (étape de rebond démographique, voir figure 3.1). La population ayant retrouvé sa taille initiale instantanément, elle la conserve indéfiniment. Ce scénario démographique, bien que peu réaliste, permet de mimer la dynamique démographique d'une petite population introduite dans un nouveau milieu, et qui après une phase de latence, atteint rapidement des densités importantes, comme souvent observées au cours d'une invasion. Mis à part ces changements, la taille efficace de la population est constante.

### 3.2.2 Formalisation mathématique

**Distribution des probabilités de fréquence allélique dans la population initiale** Soit un locus portant un allèle sauvage  $A$  mutant à la fréquence  $\mu$  vers l'allèle délétère  $a$ . Les mutations retours ( $a \rightarrow A$ ) se produisent à la fréquence  $\nu$ . Les valeurs sélectives<sup>2</sup> des génotype  $AA$ ,  $Aa$  et  $aa$  sont les suivantes :

Génotype	$AA$	$Aa$	$aa$
Valeur sélective	1	$1 - hs$	$1 - s$

avec  $s$  le coefficient de sélection et  $h$  le coefficient de dominance (voir par exemple Crow et Kimura 1970).

On notera  $x_t = \frac{k_t}{2N_t}$  l'espérance de la fréquence allélique de  $a$  dans la population à la génération  $t$ , avec  $k$  le nombre de copies de  $a$  dans la population et  $N$  la taille efficace de la population exprimée en nombre d'individus diploïdes. Pour une fréquence  $x$  donnée, la valeur sélective moyenne dans la population vaut donc

$$w(x) = 1 - 2shx(1 - x) - sx^2 \quad (3.1)$$

(Kimura *et al.* 1963, equation 1). Notons  $N_A$  la taille efficace initiale de la population. La distribution de la fréquence allélique délétère (distribution de Wright 1931) peut être approchée par approximation de diffusion par

$$\phi(x_A) = C \cdot w_A^{2N_A} \cdot x_A^{4N_A\mu-1} \cdot (1 - x_A)^{4N_A\nu-1}, \quad (3.2)$$

avec  $\frac{1}{C} = \int_0^1 w(x)^{2N_A} \cdot x^{4N_A\mu-1} \cdot (1 - x)^{4N_A\nu-1}$ .

**Changement de la taille efficace** À la génération  $t = 0$ ,  $N_G$  zygotes diploïdes issus de l'ensemble des gamètes produits sont prélevés aléatoirement dans la population initiale pour

1. Puisque le nombre de copies d'un allèle passant d'une génération à la suivante est aléatoire, on devrait plutôt parler d'état stationnaire car la distribution du nombre de copies de  $a$  est discrète. Cependant, je conserve le terme d'« équilibre », plus fréquent dans la littérature de biologie de la conservation et des invasions.

2. Je précise qu'il s'agit bien de valeur sélective au sens darwinien (*Darwinian fitness*) qui agit sur la survie d'un individu, à opposer au sens malthusien (*Malthusian fitness*) qui agit sur la démographie d'une population.

fonder une nouvelle population de taille efficace  $N_G$  plus petite que la population initiale. De même, à la génération  $t = T$ ,  $N_A$  zygotes diploïdes sont prélevés de sorte que la population retrouve sa taille efficace initiale. L'usage de cette équation 3.2 n'est employé que pour calculer la distribution de la fréquence allélique dans la population initiale.

**Sélection et mutation** Notons  $X$  la variable aléatoire de la fréquence allélique. Pour une fréquence allélique  $x''$  donnée avant sélection et mutation, l'espérance de la fréquence allélique après sélection mais avant mutation  $x'$  s'écrit

$$\mathbb{E}[X' = x' | X'' = x''] = (x'')^2 \frac{(1-s)}{w(x'')} + x''(1-x'') \frac{(1-hs)}{w(x'')} . \quad (3.3)$$

Après mutation, la fréquence allélique vaut en espérance

$$p_t = \mathbb{E}[X = x | X' = x'] = \mu(1-x') + (1-\nu)x' . \quad (3.4)$$

À partir des équations 3.1, 3.3 et 3.4, et sachant que  $x_t = \frac{k_t}{2N_t}$ ,  $p_t$  peut aussi s'exprimer sous la forme

$$p_t = \mu + (1-\mu-\nu) \frac{k_t^2(1-s) + k_t(2N_t - k_t)(1-hs)}{4N_t^2 - 2shk_t(2N_t - k_t) - sk_t^2} . \quad (3.5)$$

**Passage d'une génération à la suivante** A chaque génération  $t$ ,  $2N_{t+1}$  gamètes sont tirés aléatoirement avec remise parmi l'ensemble des copies du gène à la génération précédente, ce qui correspond à un tirage dans une loi binomiale. Notons  $K_t$  la variable aléatoire du nombre de copies de l'allèle  $a$  dans la population à la génération  $t$ . La probabilité de tirer  $k_{t+1}$  copies de  $a$  à la génération suivante peut s'écrire

$$\mathbb{P}[K_{t+1} = k_{t+1} | K_t = k_t] = \binom{2N_{t+1}}{k_{t+1}} p_t^{k_{t+1}} (1-p_t)^{2N_{t+1}-k_{t+1}} , \quad (3.6)$$

où  $\binom{2N_{t+1}}{k_{t+1}}$  est le coefficient binomial (voir aussi Couvet 2002, Lynch *et al.* 1995a;b). L'équation 3.6 implique que  $\{K_t\}$  est une chaîne de Markov<sup>3</sup> gouvernée par une matrice de probabilités de transition  $\mathbf{P}_t \equiv \{P(i, j)\}$ . Le terme général  $P(i, j)$  étant donné par l'équation 3.6.

Si  $N_t$  est constant d'une génération à l'autre, alors la matrice de transition est elle aussi constante. Dans notre modèle,  $N_t$  peut prendre deux valeurs :  $N_G$  au cours de goulot et  $N_A$  après (ou avant) celui-ci, auxquelles correspondent respectivement les matrices de transition  $P_G$  et  $P_A$ . Posons  $\mathbf{x}(t)$  le vecteur colonne décrivant la distribution des probabilités de l'état de la population à la génération  $t$ . On peut alors écrire  $\mathbf{x}(t+1) = \mathbf{P} \cdot \mathbf{x}(t)$ . Ainsi,  $t$  générations après le début du goulot, on a

$$\mathbf{x}(t) = (\mathbf{P}_G)^t \mathbf{x}(0) , \quad (3.7)$$

si  $0 < t < T$  (*i.e.* au cours du goulot), et

$$\mathbf{x}(t) = (\mathbf{P}_A)^{t-T} \mathbf{x}(T) , \quad (3.8)$$

3. Succession dont la prédiction à l'état  $t+1$  ne nécessite que la connaissance de l'état  $t$ , et dont la connaissance des états antérieurs à  $t$  ne rend pas plus précise.

si  $t > T$  (i.e. après le goulot).

**Espérance des caractères génétiques** L'espérance de la **valeur sélective** moyenne dans la population peut être exprimée à partir de l'équation 3.1 sous la forme de

$$\mathbb{E}[w(X)] = 1 - 2sh(\mathbb{E}[X] - \mathbb{E}[X^2]) - s \cdot \mathbb{E}[X^2] . \quad (3.9)$$

On notera  $\mathbb{E}[L] = 1 - \mathbb{E}[w]$  l'espérance du **fardeau génétique**.

### 3.2.3 Paramètres du modèle et implémentation

Dans ce qui va suivre, je considérerai une taille efficace ancestrale  $N_A = 10^4$ , une taille efficace durant le goulot pouvant prendre trois valeurs possibles,  $N_G = \{2; 10; 100\}$ , et des durées de goulot pouvant prendre quatre valeurs  $T = \{2; 10; 70; 100\}$  générations. J'ai étudié cinq types d'allèles délétères différents listés dans le tableau ci-dessous ; cependant, pour des raisons de simplicité, je ne présenterai ici que les cas les plus typiques permettant d'illustrer mes propos au mieux.

	$s$	$h$	description
A1	0.01	0.3	peu délétère et peu récessif
A2	0.01	0.03	peu délétère et très récessif
A3	1	0.03	létalement et très récessif
A4	0.1	0.3	très délétère et peu récessif
A5	0.1	0.03	très délétère et très récessif

Les taux de mutation choisis sont  $\mu = 10^{-5}$  et  $\nu = 10^{-7}$ . Ces paramètres alléliques (et leurs combinaisons) sont comparables à ceux utilisés dans la littérature dans des modèles comparables à celui présenté ci-dessus (e.g. Bataillon et Kirkpatrick 2000, Kirkpatrick et Jarne 2000, Glémin 2003).

Le calcul de la distribution des fréquences alléliques dans la population ancestrale, l'échantillonnage initial ont été réalisés avec le logiciel de statistique R (R Core Team 2012). Les générations (pendant et après le goulot) ont été simulées en utilisant un programme informatique écrit en langage C, modifié d'après celui de Vitalis et Waller (non publié).

## 3.3 DYNAMIQUE DE L'ESPÉRANCE DES CARACTÈRES GÉNÉTIQUES AU COURS D'UN GOULOT D'ÉTRANGLEMENT

### 3.3.1 Dynamique de l'espérance de la fréquence de l'allèle délétère au cours d'un goulot sans rebond démographique

La purge des allèles délétères est une notion relative. Glémin (2003) la définit comme la diminution de la fréquence de l'allèle délétère dans la population par rapport à une population de taille infinie à l'équilibre. Cependant pour plus de clarté, j'appellerai **conditions de purge** la diminution de l'espérance de la fréquence d'un allèle délétère. De plus, je prendrai pour référence l'espérance de la fréquence de cet allèle dans la population d'origine plutôt que dans une population de taille infinie, ce qui a plus de sens dans un contexte d'invasion

où les populations introduites sont comparées aux populations sources. Notons toutefois que si l'on considère une population de grande taille efficace — comme ici,  $N_A = 10^4$  — les deux définitions restent qualitativement très proches (voir Figure 3.2) et valent approximativement  $N_{lim} \approx \frac{1}{4s} \ln\left(\frac{\mu s}{\nu^2}\right)$  (Glémin 2003). Par ailleurs, j'entendrai par **purge d'un allèle délétère** l'élimination totale de cet allèle dans une population. Symétriquement, on peut définir les **conditions de fixation** comme étant l'augmentation de la fréquence allélique délétère par rapport à l'espérance dans la population ancestrale, et la **fixation d'un allèle** dans une population, le cas où la fréquence de cet allèle dans la population vaut un.

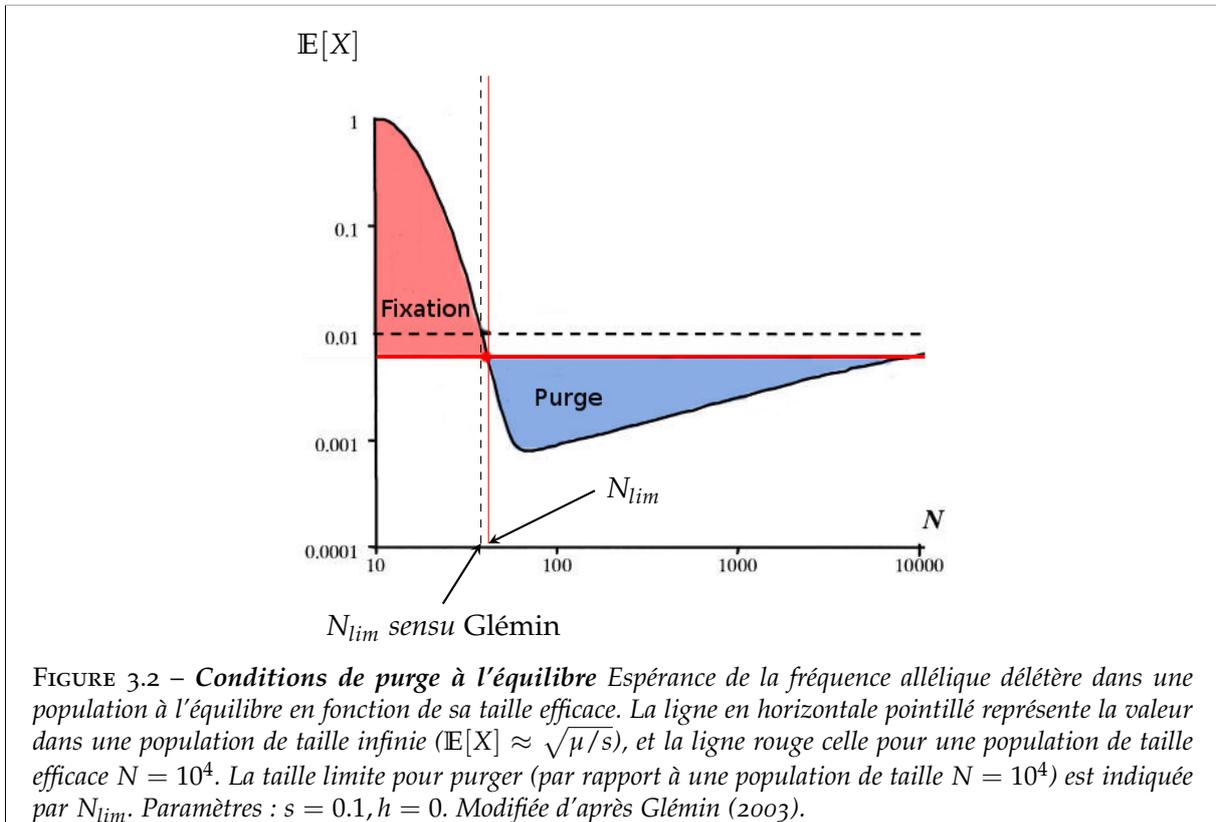
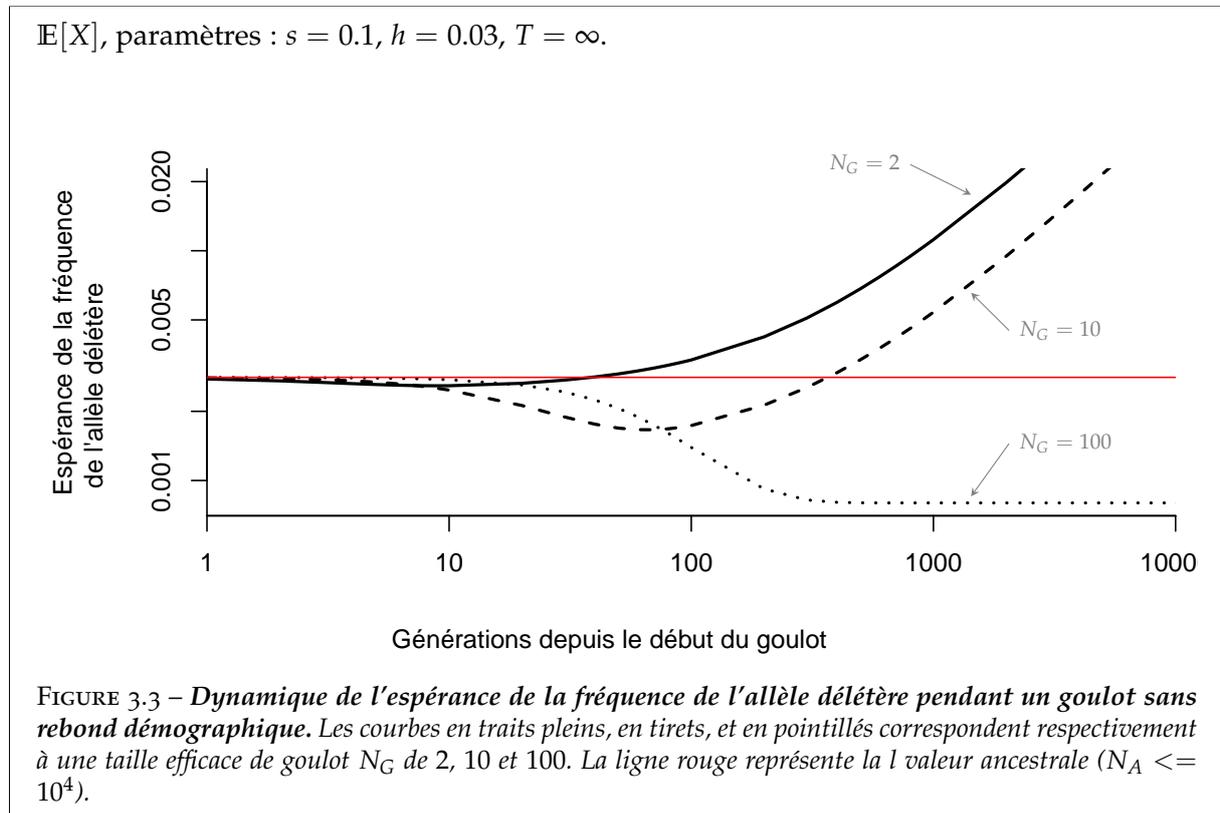


FIGURE 3.2 – **Conditions de purge à l'équilibre** Espérance de la fréquence allélique délétère dans une population à l'équilibre en fonction de sa taille efficace. La ligne en horizontale pointillé représente la valeur dans une population de taille infinie ( $\mathbb{E}[X] \approx \sqrt{\mu/s}$ ), et la ligne rouge celle pour une population de taille efficace  $N = 10^4$ . La taille limite pour purger (par rapport à une population de taille  $N = 10^4$ ) est indiquée par  $N_{lim}$ . Paramètres :  $s = 0.1, h = 0$ . Modifiée d'après Glémin (2003).

Dans son étude analytique, Glémin (2003) montre, à l'équilibre, qu'un allèle délétère est en condition de purge si la taille efficace est au dessus d'une taille limite  $N_{lim}$  (Figure 3.2) qui dépend des paramètres  $s$  et  $h$ . En dessous de cette limite, l'allèle délétère est en condition de fixation. En d'autres termes, on s'attend à ce qu'à la suite d'un goulot d'étranglement où  $N < N_{lim}$ , l'espérance de la fréquence allélique délétère soit supérieure à celle dans la population ancestrale une fois l'équilibre atteint. Cependant, Glémin (2003) ne décrit pas la dynamique temporelle de l'espérance de la fréquence allélique.

Immédiatement après le début du goulot, c'est à dire avant que la reproduction ait lieu dans le goulot proprement dit, l'espérance des fréquences alléliques est la même que dans la population d'origine. En effet, la diminution de taille efficace de la population correspond à un événement d'échantillonnage qui augmente la dispersion autour de l'espérance sans affecter cette dernière. C'est seulement au cours des générations suivantes que la dynamique s'installe au travers de la sélection et de la mutation (Kirkpatrick et Jarne 2000).



Nos résultats, dont un exemple est présenté dans la figure 3.3, montrent que dans la mesure où l'accumulation des mutations délétères prend du temps, les premières générations en conditions de goulot correspondent toujours à des conditions de purge du fait du faible taux de mutation. Ceci reste vrai même si  $N < N_{lim}$ , c'est à dire si la population est en condition de fixation une fois l'équilibre étudié par Glémin (2003) atteint. Comme on peut s'y attendre, la durée de cette phase de conditions de purge transitoire sera courte pour des goulots de forte amplitude ( $N_G$  petite), car l'allèle délétère  $y$  est fixé en espérance plus vite par dérive. Toutefois, cette phase peut s'avérer plus longue si le goulot est d'amplitude plus modérée comme on peut le voir sur la figure 3.3. La durée de la phase transitoire dépend aussi des paramètres alléliques  $s$  et  $h$  qui déterminent la taille limite de purge en espérance à l'équilibre (voir Glémin 2003). Pour les allèles les plus prompts à être purgés (les plus récessifs et les plus délétères, *i.e.*  $h$  faible et  $s$  grand) la phase de purge est plus longue.

### 3.3.2 Dynamique de l'espérance de la fréquence de l'allèle délétère après un goulot avec rebond démographique

La diminution transitoire de la fréquence de l'allèle délétère observée suggère qu'un goulot suffisamment court pourrait être favorable à la purge même si son amplitude (*i.e.* la diminution de taille efficace) est importante. Ces conditions sont pertinentes dans un contexte d'invasion car les tailles de population peuvent être très réduites au moment de l'introduction mais s'accroître rapidement une fois la population est établie.

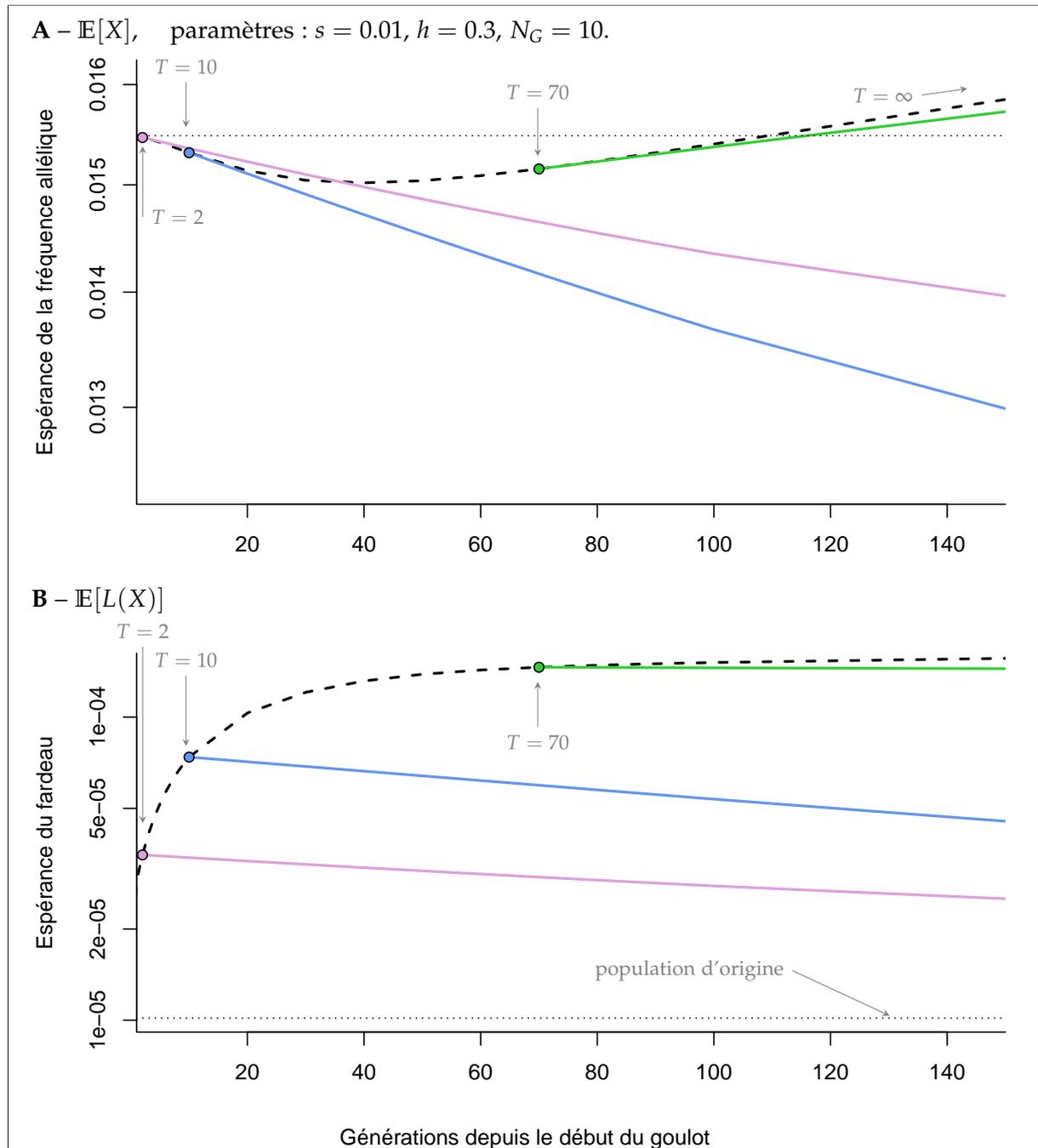


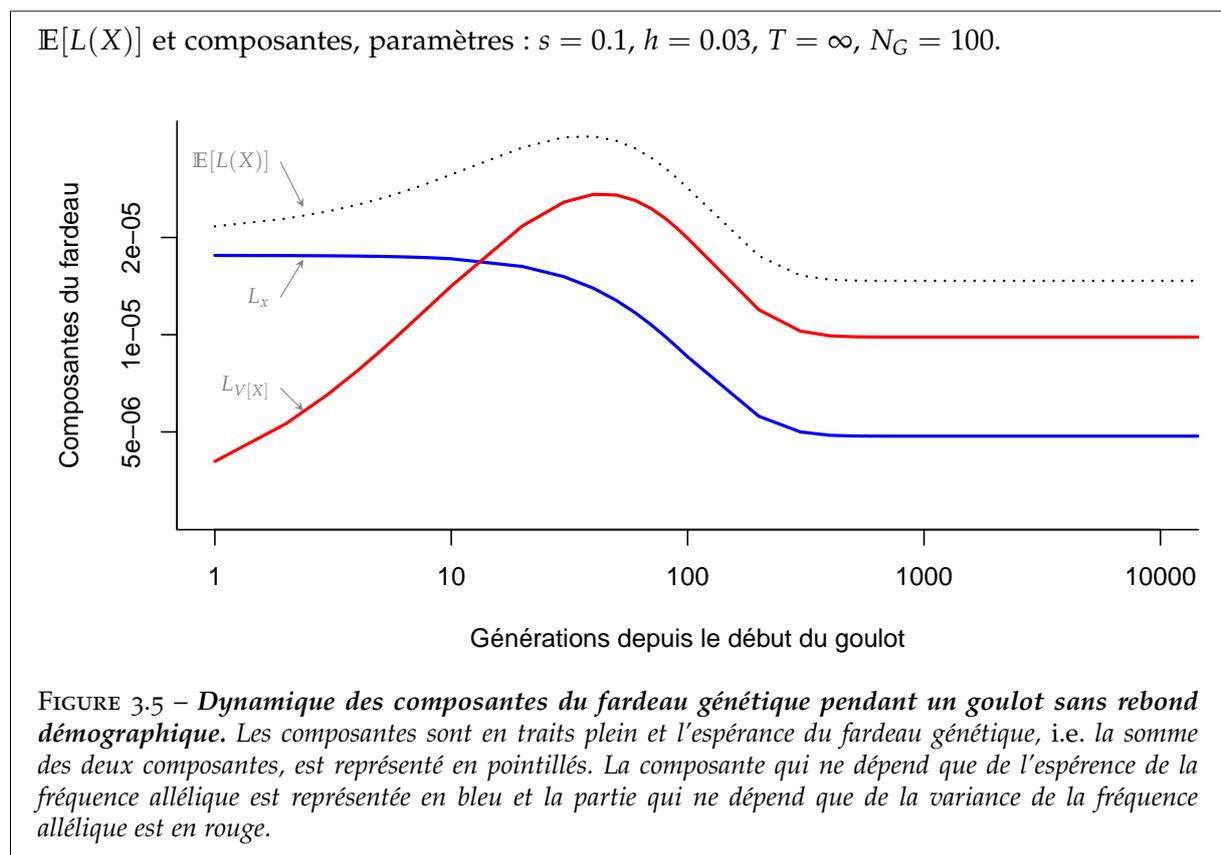
FIGURE 3.4 – *Dynamique de l'espérance de la fréquence de l'allèle délétère (A) et du fardeau génétique associé (B) dans une population subissant un goulot avec rebond démographique* La taille de la population est de 10 pendant le goulot (en noir) et de  $10^4$  après (en couleurs). Les courbes mauves, bleues et vertes représentent respectivement les dynamiques après un goulot durant 2, 10 et 70 générations. Les points de couleurs indiquent la sortie du goulot (i.e. le moment du rebond démographique). Les courbes en tirets noirs représentent la dynamique lorsque le goulot persiste indéfiniment, et les lignes pointillées représentent la valeur dans la population d'origine ( $N_A = 10^4$ ).

En effet, comme on peut le voir sur la figure 3.4 A (courbes mauve et bleue), lorsque le goulot s'achève rapidement (avant la fin de la phase de purge transitoire), la population peut éviter les conditions de fixation. Il est important de préciser que la durée limite du goulot pour rester en condition de purge ne correspond pas exactement à la durée de la phase de purge transitoire. Si le goulot s'arrête juste avant que la population ne passe en conditions de fixation (figure 3.4 A,  $T = 70$  courbe verte), le rebond démographique ne suffit pas à rester

en condition de purge, et la dynamique de la fréquence post-goulot allélique reste proche de celle observée si le goulot persiste, et ce pendant le goulot pendant de nombreuses générations avant de finalement retrouver l'équilibre ancestral. Cette situation se produit lorsque l'espérance de la fréquence allélique délétère est légèrement inférieure à la valeur initiale, mais correspond en fait à de fortes probabilités de fixation et de purge (valeurs élevées pour  $\mathbb{P}[X = 0]$  et  $\mathbb{P}[X = 1]$ ). La dynamique de l'espérance de la fréquence allélique représente alors mal les cas extrêmes, qui sont pourtant prépondérants dans la distribution de probabilité.

### 3.3.3 Espérance du fardeau génétique au cours d'un goulot d'étranglement

Si, en espérance, la fréquence d'un allèle délétère est toujours diminuée, au moins transitoirement, durant un goulot d'étranglement, il n'en va pas de même pour le fardeau qu'il cause. Le fardeau génétique peut en effet être légèrement inférieur à la valeur dans la population ancestrale en cas de purge, mais peut aussi croître de façon importante en cas de fixation. En effet, puisque la fréquence allélique ainsi que le fardeau correspondant sont généralement faibles dans la population ancestrale, la perte complète de l'allèle délétère diminue peu le fardeau génétique (sauf dans le cas d'un allèle très délétère). En revanche, l'augmentation du fardeau due à la fixation de l'allèle délétère peut être considérable (figure 3.4 B).



La dynamique de l'espérance du fardeau dépend fortement des paramètres alléliques  $s$  et  $h$ . Lorsque l'allèle est fortement récessif, le fardeau augmente en espérance. Cette augmentation provient de l'accroissement du taux d'homozygotie délétère. Celle-ci est due à l'augmentation de la probabilité que deux copies de l'allèle délétère soient présentes dans le même individu dans des populations de petites tailles (Kirkpatrick et Jarne 2000, García-Dorado 2012).

Pour illustrer ce phénomène, il est possible de décomposer le fardeau génétique en deux composantes : une composante  $L_x$  ne dépendant que de l'espérance de la fréquence de l'allèle délétère et l'autre, notée  $L_{V[X]}$  de dépendant que de sa variance. A partir de l'équation 3.1, on peut écrire

$$\mathbb{E}[L(X)] = L_x + L_{V[X]} \quad (3.10)$$

$$\text{avec } L_x = 2sh\mathbb{E}[X] + s(1 - 2h)\mathbb{E}[X]^2 \quad (3.11)$$

$$\text{et } L_{V[X]} = s(1 - 2h)V[X] \quad (3.12)$$

La figure 3.5 montre que le fardeau peut augmenter transitoirement même si  $L_x$ , et donc  $\mathbb{E}[x]$ , diminuent. Si la purge élimine ces allèles, alors cette augmentation n'est que transitoire (figure 3.5).

Si l'espérance du fardeau génétique dans la population peut s'avérer plus fort pendant et après le goulot que dans la population ancestrale (avant de retrouver l'état d'équilibre, figure 3.4, tirets noirs), il est possible que le fardeau diminue en espérance si l'allèle qui le cause est très fortement délétère et très récessif (et donc purgé rapidement).

De manière générale nos résultats montrent que **lorsque l'on raisonne en espérance**, les goulots d'étranglement avec ou sans rebond démographique ne diminuent pas sensiblement le fardeau génétique (à part peut-être dans le cas particulier d'allèles très délétères et très récessif) et par voie de conséquence, ne semblent pas favoriser le succès d'une invasion. Ces résultats corroborent les précédentes études théoriques de Kirkpatrick et Jarne (2000) et Bataillon et Kirkpatrick (2000) qui concluent que les effets positifs d'un goulot d'étranglement semblent être négligeables.

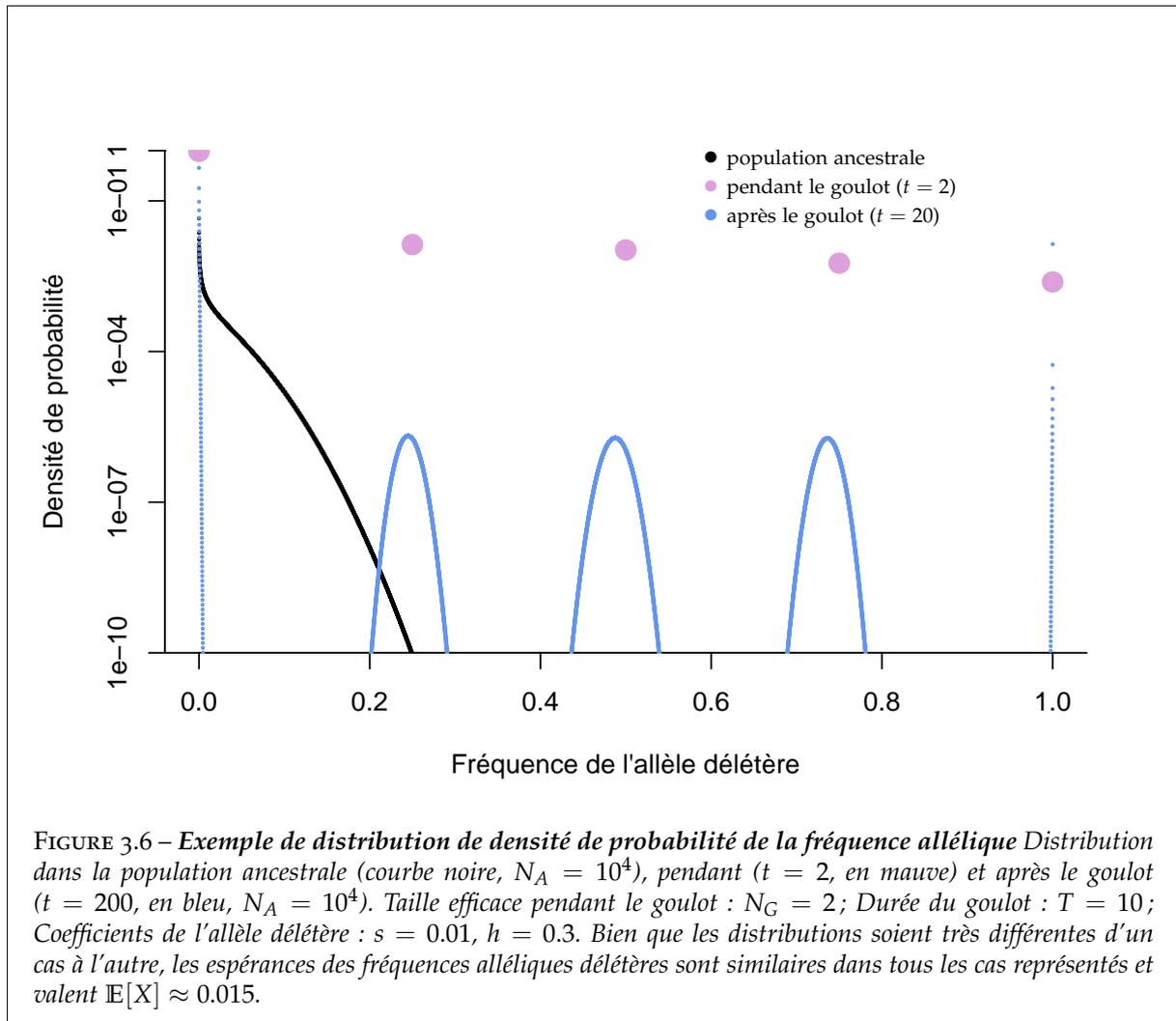
Cependant, comme je l'ai indiqué plus haut, l'espérance des grandeurs génétiques (*e.g.* fardeau et fréquence allélique) représente mal les cas extrêmes (purge et fixation) et une approche utilisant directement la distribution – ou une partie de la distribution – de la fréquence de l'allèle délétère permettra d'appréhender convenablement la dynamique de ces grandeurs génétiques suite à un goulot d'étranglement.

### 3.4 EFFET D'UN GOULOT D'ÉTRANGLEMENT SUR LA DISTRIBUTION DE PROBABILITÉ DES FRÉQUENCES ALLÉLIQUES : CAS DES VALEURS EXTRÊMES

#### 3.4.1 Etude des distributions des probabilités de fréquences alléliques

Dans une population de grande taille, comme ici avant (et après) le goulot d'étranglement, on peut convenablement approcher la loi de probabilité d'une fréquence allélique par une distribution continue (figure 3.6, courbes noires).

En revanche, immédiatement après le début du goulot d'étranglement, cette distribution est fortement discrétisée, mais l'espérance de la fréquence allélique reste inchangée. Au cours des générations suivantes que la distribution sera modifiée, principalement mue par la dérive génétique. Lors d'un goulot d'étranglement, l'effet de la dérive est important et il diminue l'efficacité de la sélection. Cette dérive augmente aléatoirement les probabilités associées aux fréquences alléliques élevées (et donc de fixation) ou faibles (et donc de purge), comme on peut



le voir sur la figure 3.6 (courbe mauve). En ce sens, les conséquences d'un goulot d'étranglement sont comparables à celles de croisements consanguins successifs (Hedrick 1994, Fu *et al.* 1998). Si le goulot est d'amplitude importante (*e.g.*  $N_G = 2$ ), la probabilité de fixation peut augmenter sensiblement, même si l'espérance de la fréquence de l'allèle délétère n'augmente pas considérablement (voir figure 3.6). Il en va de même pour la probabilité de purge. Ainsi les valeurs extrêmes sont sur-représentées en termes de probabilité.

Après rebond démographique, la population retrouve sa grande taille ancestrale et la distribution de probabilité de la fréquence de l'allèle délétère est de nouveau quasi-continue. Comme pour le début du goulot, le changement de taille efficace en soi ne change pas l'espérance de la fréquence allélique. De plus, à la mutation près, la distribution juste avant et juste après le goulot seront donc identiques. En d'autres termes, seules les probabilités associées aux fréquences possibles pendant le goulot (*e.g.* abscisses des points mauves de la figure 3.6 A) seront non négligeables juste après le rebond démographique. Ce n'est que dans les générations suivantes que les forces évolutives étaleront progressivement la distribution de la fréquence allélique, avant de tendre vers la distribution de la population ancestrale. Ainsi, plusieurs générations après la fin du goulot, la distribution de probabilité des fréquences alléliques reste multimodale (voir la courbe bleue de la figure 3.6 A).

Pour autant, l'espérance de la fréquence allélique dans la population peut n'évoluer que très peu, comme c'est le cas dans la figure 3.6, où l'espérance de la fréquence allélique avant, pendant et après un goulot d'étranglement est approximativement la même, malgré des distributions très dissemblables. Il est donc préférable de travailler sur les distributions de probabilités des fréquences alléliques plutôt que sur leur espérance.

Les outils mathématiques offrent de nombreuses méthodes pour comparer deux distributions. Le choix se restreint lorsque l'on a affaire à des distributions discrètes et en particulier lorsque le niveau de discrétisation n'est pas le même dans les distributions comparées, comme ici lorsque la taille efficace varie. Une possibilité serait de comparer les fonctions de répartition cumulées de ces distributions. Celles-ci sont en effet toujours continues par morceaux, et deux courbes de répartition se croisent (ou s'inversent) généralement au moins deux fois. Le premier point de croisement (hors  $x = 0$ ) ainsi que l'aire sous la courbe en dessous de ce point pourraient être des caractéristiques intéressantes pour comparer deux distributions de probabilité de fréquences alléliques. Cependant, l'interprétation biologique de ces critères reste discutable. Aussi nous restreindrons-nous ici, au moins en tant que première approche, aux cas extrêmes correspondant à une purge ou une fixation totale de l'allèle délétère dans la population, c'est-à-dire le cas où la fréquence allélique vaut  $x = 0$  et celui où  $x = 1$ .

$s$	$h$	$N_G$	$T$	$t$ (générations)					
				$Anc^*$	$0^\dagger$	1	5	20	200
0.01	0.3	2	2	0.09348	<b>0.98630</b>	<b>0.99052</b>	0.65239	0.37778	0.16774
			10	0.09348	<b>0.98630</b>	<b>0.99052</b>	<b>0.99493</b>	0.46185	0.17036
			100	0.09348	<b>0.98630</b>	<b>0.99052</b>	<b>0.99493</b>	<b>0.99625</b>	0.12592
			$\infty$	0.09348	<b>0.98630</b>	<b>0.99052</b>	<b>0.99493</b>	<b>0.99625</b>	<b>0.99450</b>
	10	2	2	0.09348	<b>0.93700</b>	<b>0.95796</b>	0.63616	0.36838	0.16357
			10	0.09348	<b>0.93700</b>	<b>0.95796</b>	<b>0.98037</b>	0.45785	0.16888
			100	0.09348	<b>0.93700</b>	<b>0.95796</b>	<b>0.98037</b>	<b>0.99184</b>	0.20822
			$\infty$	0.09348	<b>0.93700</b>	<b>0.95796</b>	<b>0.98037</b>	<b>0.99184</b>	<b>0.99388</b>
	100	2	2	0.09348	<b>0.65850</b>	<b>0.73530</b>	0.51307	0.29711	0.14007
			10	0.09348	<b>0.65850</b>	<b>0.73530</b>	<b>0.85099</b>	0.41708	0.15571
			100	0.09348	<b>0.65850</b>	<b>0.73530</b>	<b>0.85099</b>	<b>0.93540</b>	0.20366
			$\infty$	0.09348	<b>0.65850</b>	<b>0.73530</b>	<b>0.85099</b>	<b>0.93540</b>	<b>0.97602</b>
0.01	0.03	2	2	0.04475	<b>0.94180</b>	<b>0.95930</b>	0.63576	0.36574	0.14857
			10	0.04475	<b>0.94180</b>	<b>0.95930</b>	<b>0.97814</b>	0.45431	0.15332
			100	0.04475	<b>0.94180</b>	<b>0.95930</b>	<b>0.97814</b>	<b>0.98433</b>	0.19620
			$\infty$	0.04475	<b>0.94180</b>	<b>0.95930</b>	<b>0.97814</b>	<b>0.98433</b>	<b>0.98267</b>
	10	2	2	0.04475	<b>0.77920</b>	<b>0.84141</b>	0.57443	0.33045	0.13424
			10	0.04475	<b>0.77920</b>	<b>0.84141</b>	<b>0.92025</b>	0.43833	0.14793
			100	0.04475	<b>0.77920</b>	<b>0.84141</b>	<b>0.92025</b>	<b>0.96766</b>	0.19614
			$\infty$	0.04475	<b>0.77920</b>	<b>0.84141</b>	<b>0.92025</b>	<b>0.96766</b>	<b>0.98263</b>
	100	2	2	0.04475	<b>0.37530</b>	<b>0.44757</b>	0.32795	0.18867	0.08345
			10	0.04475	<b>0.37530</b>	<b>0.44757</b>	<b>0.60106</b>	0.32183	0.11094
			100	0.04475	<b>0.37530</b>	<b>0.44757</b>	<b>0.60106</b>	<b>0.78998</b>	0.18506
			$\infty$	0.04475	<b>0.37530</b>	<b>0.44757</b>	<b>0.60106</b>	<b>0.78998</b>	<b>0.95141</b>
1	0.03	2	2	0.25450	<b>0.99860</b>	<b>0.99913</b>	0.66017	0.40744	0.29895
			10	0.25450	<b>0.99860</b>	<b>0.99913</b>	<b>0.99974</b>	0.47914	0.29902
			100	0.25450	<b>0.99860</b>	<b>0.99913</b>	<b>0.99974</b>	<b>0.99989</b>	0.30364
			$\infty$	0.25450	<b>0.99860</b>	<b>0.99913</b>	<b>0.99974</b>	<b>0.99989</b>	<b>0.99989</b>
	10	2	2	0.25450	<b>0.99300</b>	<b>0.99549</b>	0.65832	0.40630	0.29891
			10	0.25450	<b>0.99300</b>	<b>0.99549</b>	<b>0.99799</b>	0.47862	0.29900
			100	0.25450	<b>0.99300</b>	<b>0.99549</b>	<b>0.99799</b>	<b>0.99916</b>	0.30349
			$\infty$	0.25450	<b>0.99300</b>	<b>0.99549</b>	<b>0.99799</b>	<b>0.99916</b>	<b>0.99923</b>
	100	2	2	0.25450	<b>0.93620</b>	<b>0.95699</b>	0.63841	0.39402	0.29880
			10	0.25450	<b>0.93620</b>	<b>0.95699</b>	<b>0.97798</b>	0.47153	0.29889
			100	0.25450	<b>0.93620</b>	<b>0.95699</b>	<b>0.97798</b>	<b>0.98752</b>	0.30247
			$\infty$	0.25450	<b>0.93620</b>	<b>0.95699</b>	<b>0.97798</b>	<b>0.98752</b>	<b>0.98970</b>

TABLE 3.1 – Probabilités de purge complète (i.e.  $\mathbb{P}[X_t = 0]$ ) dans la population à différents moments (en nombre de générations  $t$ ). Les probabilités correspondant à des temps durant le goulot, c'est-à-dire avant le rebond démographique sont représentées en **caractères gras**. \* probabilité dans la population ancestrale à l'équilibre ( $N_A = 10^4$ ). † probabilité dans la population échantillonnée avant toute génération.

$s$	$h$	$N_G$	$T$	$t$ (générations)						
				$Anc^*$	$0^\dagger$	1	5	20	200	
0.01	0.3	2	2	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$6.74 \cdot 10^{-5}$	0.00048	0.00048	0.00048	
			10	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$6.74 \cdot 10^{-5}$	<b>0.00204</b>	0.00312	0.00308	
			100	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$6.74 \cdot 10^{-5}$	<b>0.00204</b>	<b>0.00357</b>	0.00429	
			$\infty$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$6.74 \cdot 10^{-5}$	<b>0.00204</b>	<b>0.00357</b>	<b>0.00535</b>	
	10	2	2	2	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$
				10	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	0.00004	0.00004
				100	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	<b>0.00065</b>	0.00367
				$\infty$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	<b>0.00065</b>	<b>0.00470</b>
	100	2	2	2	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$
				10	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$
				100	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$
				$\infty$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	<b>0.00020</b>
0.01	0.03	2	2	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$2.97 \cdot 10^{-6}$	0.00243	0.00242	0.00239	
			10	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$2.97 \cdot 10^{-6}$	<b>0.00919</b>	0.01375	0.01355	
			100	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$2.97 \cdot 10^{-6}$	<b>0.00919</b>	<b>0.01535</b>	0.01592	
			$\infty$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$2.97 \cdot 10^{-6}$	<b>0.00919</b>	<b>0.01535</b>	<b>0.01718</b>	
	10	2	2	2	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$
				10	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	0.00024	0.00024
				100	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	<b>0.00310</b>	0.01453
				$\infty$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	<b>0.00310</b>	<b>0.01594</b>
	100	2	2	2	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$
				10	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$
				100	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	0.00003
				$\infty$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	<b>0.00096</b>

TABLE 3.2 – Probabilités de fixation totale (i.e.  $\mathbb{P}[X_t = 1]$ ) dans la population à différents moments (en nombre de générations  $t$ ). Les probabilités correspondant à des temps durant le goulot, c'est-à-dire avant le rebond démographique sont représentées en **caractères gras**. \* probabilité dans la population ancestrale à l'équilibre ( $N_A = 10^4$ ). † probabilité dans la population échantillonnée avant toute génération. Le cas des allèles létaux n'est pas représenté dans ce tableau. En effet dans ce cas, la probabilité de fixation est toujours inférieure à la précision du modèle, à savoir  $10^{-10}$

### 3.4.2 Probabilités de purge et de fixation totale

**Effet de l'échantillonnage initial** La figure 3.7 A (courbe de tirets noirs) et le tableau 3.1 montrent que la probabilité de perte totale de l'allèle délétère dans la population augmente fortement dès le début du goulot ( $t = 0$ ). Cette augmentation correspond à une forte probabilité de non-échantillonnage de l'allèle  $a$  dans la population ancestrale dans laquelle il est présent à faible fréquence (voir aussi Kirkpatrick et Jarne 2000). Il s'agit d'un mécanisme de dérive génétique puisque c'est un effet du hasard. On peut distinguer cette dérive « d'échantillonnage », qui a lieu en un seul évènement (lors de la fondation), de la dérive classique qui se produit pendant plusieurs générations successives. L'augmentation de la probabilité de purge par échantillonnage peut être très importante. Par exemple, immédiatement après le

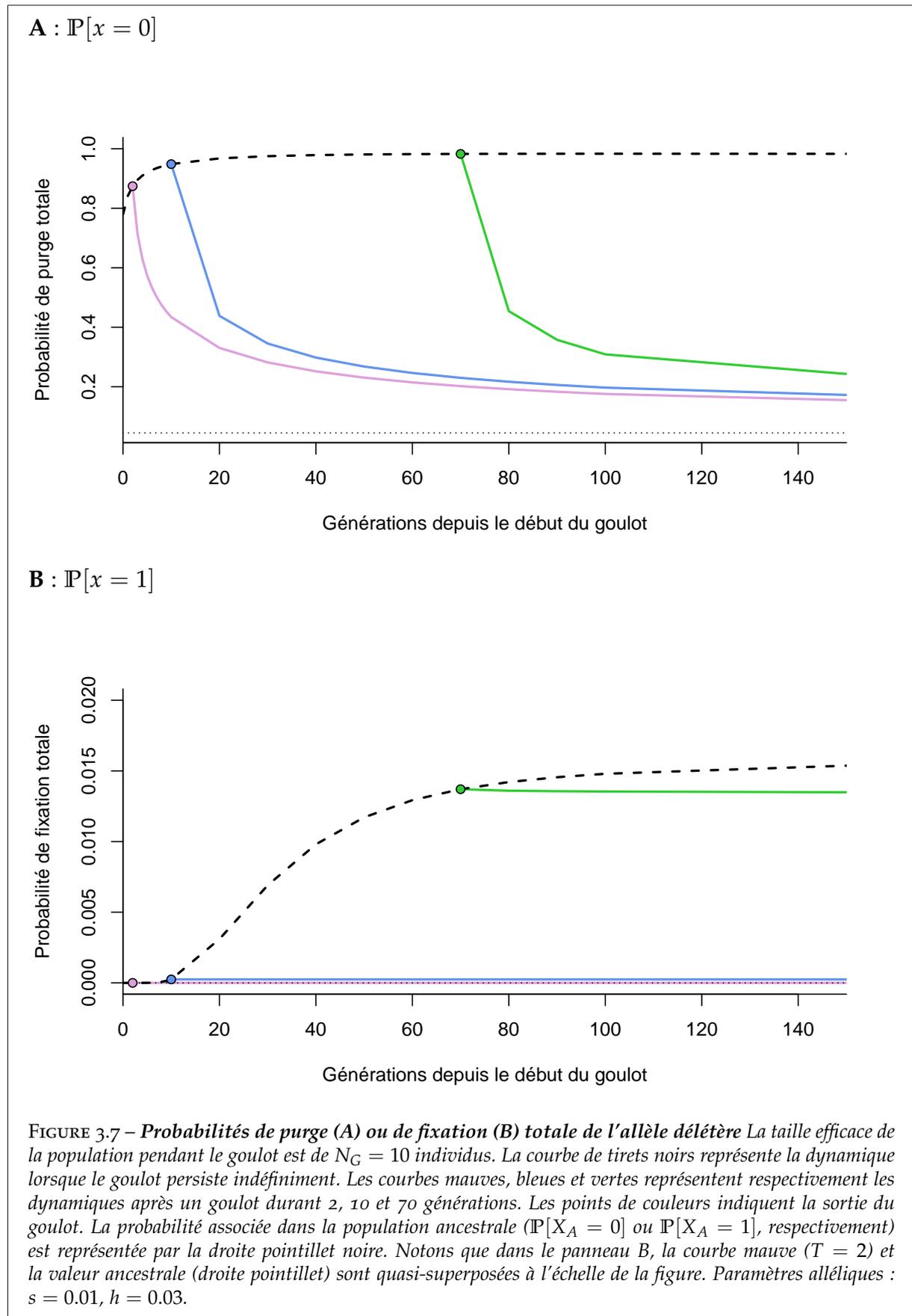
début d'un goulot de 100 individus, dans le cas d'un allèle  $a$  faiblement délétère et fortement récessif ( $s = 0.01$ ,  $h = 0.03$ ), la probabilité de n'avoir aucune copie de  $a$  dans la population passe de 0.045 dans la population ancestrale de  $10^4$  individus à 0.375, soit une augmentation d'un facteur 7. Si l'amplitude du goulot est plus importante,  $N_G = 2$  par exemple, la probabilité peut atteindre 0.94, soit une augmentation d'un facteur 20 (tableau 3.1). L'effet de l'échantillonnage sur la probabilité de fixer complètement l'allèle délétère n'est pas le même. Puisque dans la population ancestrale la fréquence allélique est faible en espérance, la probabilité de fixation complète est virtuellement nulle immédiatement après le début du goulot, tout comme dans la population ancestrale (voir le tableau 3.2 et la figure 3.7). Les effets instantanés d'échantillonnage lors de l'étape de fondation ne favorisent donc pas sensiblement la fixation.

**Au cours du goulot** Lors des générations qui suivent la fondation, la dérive se poursuit et la probabilité de purge totale continue de croître. Même si le goulot est d'amplitude modérée, la probabilité de perte de l'allèle délétère  $a$  peut être importante si le goulot dure longtemps. Par exemple, la probabilité de purge complète vaut approximativement 0.98 après cinq générations d'un goulot de taille  $N_G = 2$  ou après 200 générations d'un goulot de taille  $N_G = 10$  pour  $s = 0.01$  et  $h = 0.3$ . Comme on peut le voir sur la figure 3.7 B (courbe de tirets noirs), la probabilité de fixation complète augmente elle aussi par dérive pendant le goulot au cours des générations. Le tableau 3.2 montre que cette probabilité, quoique faible par rapport à celle associée à la perte de l'allèle délétère, est sensiblement plus importante que dans la populations ancestrale, et peut atteindre dans certains cas des valeurs de l'ordre de 1 à 2%.

**Une fois la taille ancestrale retrouvée** Dès que le goulot s'achève, la dérive diminue fortement (elle retrouve son niveau ancestral). Sur l'échelle de temps d'une invasion (quelques dizaines à quelque centaines de générations), elle est donc négligeable si  $N_A = 10^4$ . La probabilité d'apparition d'au moins une mutation délétère dépend du nombre de copies du locus dans la population. Elle est donc très faible pendant le goulot (elle vaut  $2N_G \cdot \mu$ ), mais bien plus importante une fois celui-ci achevé (elle atteint alors  $2N_A \cdot \mu$ , soit 0.2 dans notre cas). La probabilité de n'avoir aucune copie de l'allèle délétère dans la population (*i.e.* purge complète) diminue donc rapidement, comme le montre la figure 3.7 A. Cependant, la population ne retrouve pas l'état ancestral immédiatement, et les effets du goulot sont encore visibles plusieurs générations après la fin de celui-ci.

La probabilité de fixation diminue elle aussi une fois la taille efficace ancestrale retrouvée, comme le montre le tableau 3.2, mais cette diminution est moins rapide (voir aussi la figure 3.7 B). Dans notre modèle, le taux de mutation retour ( $a \rightarrow A$ ) est en effet cent fois plus faible que le taux de mutation vers  $a$  dans notre modèle, donc la ré-apparition de l'allèle  $A$  est plus lente.

On notera que l'on s'attend à ce que les pressions de sélections en faveur de l'allèle  $A$  (et à l'encontre de  $a$ ) accélèrent la diminution de la probabilité de fixation et atténue la diminution de la probabilité de purge. Cependant, comme nous ne considérons ici que des valeurs ponctuelles (*i.e.*  $x = 1$  ou  $x = 0$ ), une seule mutation suffit à changer le statut, ce qui exacerbe l'effet des mutations.



## 3.5 CONSÉQUENCES POTENTIELLES D'UN GOULOT D'ÉTRANGLEMENT SUR LE SUCCÈS D'UNE INVASION

### 3.5.1 Conditions optimales de goulot pour le succès d'une invasion biologique

Les cas extrêmes de purge et de fixation étudiés correspondent respectivement à un fardeau moyen nul (*i.e.*  $L = 1 - w = 0$ ), ou maximal ( $w = 1 - s$  et  $L = 1 - w = s$ ). Toutes choses étant égales par ailleurs, la probabilité de succès de l'invasion est donc maximale dans le premier cas, et minimale dans le second. Pour évaluer l'impact de chaque type de goulot sur le succès d'une invasion, il faut donc prendre en compte simultanément les probabilités de purge et de fixation complète dans chaque cas. Par exemple, la probabilité de purge totale d'un allèle très récessif et peu délétère vingt générations après le début d'un goulot de dix individus augmente de près de dix pour cent, tandis que la probabilité de fixation totale de l'allèle augmente de près de deux pour cent. On notera aussi que les allèles de plus fort effet ( $s$  et  $h$  grands) sont les plus susceptibles d'être purgés au cours d'un goulot, et que ceux d'effet moindre ont une plus grande probabilité de fixation ce qui est en accord avec les résultats que l'on trouve dans la littérature (Glémin 2003, Hedrick 1994, Keller et Waller 2002).

Il est difficile de comparer ces probabilités sans faire des hypothèses fortes pour relier la valeur sélective de la population avec la probabilité de succès de l'invasion. En première approche, on peut faire l'hypothèse que seules les conditions pour lesquelles probabilité de fixation complète est nulle (au seuil de précision du modèle, *i.e.*  $\mathbb{P}[X = 1] < 10^{-10}$ ) sont favorables au succès de l'invasion. Le tableau 3.2 montre que pour chacun des cas considérés ici (voir § 3.2.3), les goulots d'une centaine d'individus durant dix générations ou moins, satisfont ce critère non seulement au cours du goulot, mais aussi dans les générations qui suivent le rebond démographique. Pour ces conditions de goulot, les probabilités de purge complète sont toujours considérablement plus élevées que dans la population ancestrale, au moins pendant le goulot et au cours des quelques générations qui suivent comme le montrent les tableaux 3.1 et 3.2. Cette période est par ailleurs probablement la plus importante au cours d'une introduction pour des raisons démographiques. En effet, lorsque la taille efficace de la population est faible, la probabilité d'extinction est plus importante, indépendamment des caractéristiques génétiques, en raison des variations stochastiques de la démographie, de la difficulté de trouver un partenaire sexuel disponible etc. (cf. effet Allee). Un goulot court ( $< 100$  générations) serait donc plus favorable au succès de l'invasion qu'un goulot prolongé pour des raisons à la fois génétiques et démographiques.

Les conclusions sont sensiblement différentes si l'on fait l'hypothèse que lorsque la fixation complète est improbable, la probabilité de succès de l'invasion est proportionnelle à la probabilité de purge complète des allèles délétères. Les conditions optimales du goulot sont alors différentes selon les caractéristiques de l'allèle délétère. Les conditions pour purger les allèles délétères faiblement récessifs (*e.g.*  $h = 0.3$ ) et partiellement délétères ( $s = 0.1$  ou  $s = 0.01$ ) sont optimales après deux ou trois générations d'un goulot d'une dizaine d'individus (tableaux 3.1 et 3.2). En revanche pour un allèle très récessif et peu délétère ( $s = 0.01$ ,  $h = 0.03$ ), les conditions sont optimales autour de cent générations après le début d'un goulot d'amplitude modérée ( $N_G = 100$ ) mais de durée relativement importante ( $T \geq 100$ ).

Il est important de souligner que notre modèle ne considère qu'un seul locus, alors qu'en réalité un grand nombre de loci contribuent au fardeau génétique. Plusieurs allèles délétères,

de paramètres différents peuvent donc être présents simultanément à différents loci dans la population avec des fréquences alléliques différentes. Ces allèles peuvent être indépendamment purgés ou fixés dans la population, au moins pour une portion d'entre eux. À ce stade, il est difficile d'étendre les résultats ci-dessus à un modèle multi-locus sans faire d'hypothèses contraignantes sur la structure du fardeau génétique à l'échelle du génome et sur les interactions entre chaque locus. Dans le cas le plus simple où les loci sont tous complètement additifs et indépendants, il semble évident que le succès de l'invasion repose avant tout sur les allèles de plus fort effets (*i.e.* pour des valeurs de  $h$  et  $s$  élevées) dont les conséquences sont les plus grandes sur la valeur sélective moyenne de la population. Les allèles de moindre effet sur la valeur sélective (*i.e.* faiblement délétères ou très récessifs) peuvent toutefois peser lourd sur le devenir d'une population si les loci qui les portent sont en grand nombre dans le génome. L'accumulation de mutations faiblement délétères fixées dans les populations peut en effet être responsable de l'extinction de petites populations (Lynch *et al.* 1995a). Ceci est d'autant plus vrai que ces allèles de moindre effet sont moins éliminés par la sélection ; en conséquence, (i) ils seront présents en espérance en plus forte fréquence dans la population ancestrale, et la probabilité de les échantillonner au moment de l'introduction (*i.e.* événement de fondation) sera plus importante. De plus, (ii) l'efficacité de la sélection sera plus vite gommée par la dérive sur ces allèles que pour des allèles létaux, de sorte que la probabilité qu'ils fixent pendant le goulot est plus importante que pour des allèles d'effet plus fort.

Les proportions de chaque type de locus dans le génome complet d'une espèce sont malheureusement difficiles à estimer (mais voir par exemple Elena *et al.* 1998, García-Dorado *et al.* 2004, Haag-Liautard *et al.* 2007, Lynch *et al.* 1995a). Les résultats de notre étude montrent que la probabilité de fixation des allèles létaux est toujours infime ( $< 10^{-10}$ ) au cours d'un goulot et que la probabilité de purge complète de ces allèles est maximale pour des goulots d'intensité très importante. Toutefois les conditions correspondent aussi à des probabilités non négligeables (1 à 2%) de fixation d'allèles moins délétères, ce qui, cumulé sur un grand nombre de loci peut s'avérer néfaste pour la population concernée.

### 3.5.2 Conclusions et perspectives

**Le rôle du hasard dans les invasions biologiques** Le hasard joue un rôle important dans l'évolution, au point d'être la cause d'une grande partie de la diversité génétique (Kimura 1977). Les processus stochastiques peuvent être à l'origine de la maladaptation, mais aussi de véritables révolutions évolutives qui peuvent changer le devenir évolutif d'une espèce (Lenormand *et al.* 2009). Dans le même esprit, nos résultats suggèrent que le hasard est susceptible d'avoir une part importante dans le succès d'une invasion biologique. En effet, les mécanismes stochastiques qui sont à l'origine de la dérive peuvent conduire à la purge (ou la fixation) des allèles délétères responsables du fardeau (Lynch *et al.* 1995a). La purge peut elle-même être un facteur clef favorisant de l'invasion, tandis que la fixation est susceptible de lui être défavorable.

Nos résultats illustrent le fait que la probabilité qu'un allèle délétère soit absent dans la population introduite augmente fortement suite au simple échantillonnage dans la population d'origine. En supposant l'indépendance des loci, la multiplication des événements d'introduction augmente d'autant la probabilité de réalisation d'une introduction particulièrement favorable d'un point de vue génétique. En d'autres termes, le cas très peu probable où la majorité des allèles délétères a disparu lors de l'introduction devient réalisable si le nombre « d'essais » d'introduction est suffisamment grand. Ceci est en accord avec les résultats empiriques de la littérature, qui suggèrent que le nombre d'évènements d'introduction est positivement corrélé à la probabilité de survie de la population. En cela, nos conclusions constituent une alternative non exclusive aux hypothèses existantes qui proposent que les introductions successives favorisent les invasions au travers de l'augmentation de la diversité génétique et de l'atténuation des effets de densité (voir la revue de Lockwood *et al.* 2005, et les références qu'elle contient).

Dans le même esprit, il est maintenant avéré que seule une fraction des introductions correspond à une invasion réussie (Williamson *et al.* 1986, Williamson et Fitter 1996). Cette fraction pourrait correspondre aux introductions qui, par « chance », ont diminué par purge leur fardeau génétique au cours d'un goulot d'étranglement.

**Intensité du goulot et invasions biologiques** Les résultats de cette étude suggèrent que ce seraient des goulots d'amplitude modérée, et de courte durée qui correspondraient aux conditions les plus favorables pour purger des allèles délétères, sans pour autant augmenter sensiblement leur probabilité de fixation. Un certain nombre d'hypothèses fortes ont été faites dans cette étude pour aboutir à cette conclusion, en particulier pour relier la probabilité de succès d'une invasion aux probabilités associées à la purge et à la fixation complète. Les résultats de cette étude sont néanmoins compatibles avec ceux des travaux expérimentaux qui suggèrent qu'un goulot d'étranglement trop prolongé augmente le risque d'extinction, comme chez la drosophile par exemple (Pekkala *et al.* 2012, mais voir aussi Swindell et Bouzat 2006), et que le succès d'une introduction est faible si le nombre d'individus est trop réduit (par exemple Lande 1988, Grevstad 1999a;b). De plus, ces conclusions correspondent à des conditions réalistes d'introduction de populations de petite taille, suivie d'une augmentation rapide de la taille de la population après une phase de latence de quelques générations. Notons que nos résultats sont compatibles avec l'intensité du goulot qu'aurait subi la coccinelle asiatique au cours de son introduction en Amérique du nord ( $N_A$  = quelques milliers,  $N_G \approx 150$  et  $T \approx 20$ ; Facon *et al.* 2011b).

A l'inverse, les conditions expérimentales utilisées dans le chapitre 2, à savoir une taille efficace  $N_G < 10$  individus pendant deux générations ( $T = 2$ ) correspondent à une forte probabilité de fixation complète dans les générations qui suivent la fin du goulot d'étranglement, ainsi qu'une forte probabilité de purge (cf. tableaux 3.2 et 3.1). De plus, pour les populations de très petites tailles, on s'écarte fortement de l'hypothèse de l'équilibre de Hardy Weinberg faite implicitement dans l'équation 3.1. Dans de telles conditions, le modèle a tendance à sous estimer la sélection en cas de quasi-fixation, et à la sur-estimer en cas de purge quasi-complète. En d'autres termes, on a tendance à sous estimer les probabilités associées aux cas extrêmes, en particulier celles associées à la fixation complète. Toutefois ces biais ne remettent pas en cause nos conclusions puisque nos résultats suggèrent déjà que les conditions de goulot trop sévères tendent à augmenter fortement les probabilités de fixation complète.

Les résultats présentés ici sont malheureusement insuffisants pour conclure s'il est préférable dans l'absolu qu'une population traverse un goulot de forte amplitude très bref ou un goulot prolongé de faible amplitude pour augmenter le succès d'une introduction, et les résultats d'études expérimentales ne fournissent pas non plus de réponse claire (Mikkelsen *et al.* 2010, Kristensen *et al.* 2011).

La vitesse à laquelle une population de petite taille sortira d'un goulot dépend de sa dynamique démographique. Cette dernière est souvent corrélée à la valeur sélective moyenne dans la population. Si l'évènement d'introduction aboutit à la purge de la majorité des allèles délétères dans la population, on peut alors s'attendre à ce que celle-ci voit sa valeur sélective augmenter et échappe ainsi au vortex d'extinction. Elle pourra alors augmenter rapidement en taille, et éviter ainsi la fixation par dérive des allèles qui n'auraient pas été purgés au moment de la fondation. Notons que ces résultats sont compatibles avec une vision purement écologique et démographique, qui prédit que la probabilité de survie d'une population est positivement corrélée à sa taille (cf. l'effet Allee).

Une limite du modèle étudié dans ce chapitre est qu'il fait une simplification extrême de la démographie en faisant l'hypothèse que la taille de la population peut passer d'une taille efficace réduite à une très grande taille en l'espace d'une seule génération. Cette hypothèse est cependant peu réaliste. En général, l'accroissement d'une population se produit suivant une fonction exponentielle ou logistique (selon que la population soit ou non limitée par la capacité biotique du milieu). Toutefois, si le taux de croissance démographique est suffisamment fort, on s'attend à avoir des résultats similaires à ceux obtenus avec notre modèle.

Le taux de croissance est influencé par des traits d'histoire de vie. En particulier, un taux de fécondité élevé est susceptible d'accélérer la vitesse à laquelle la population atteindra une taille suffisante pour éviter de fixer des allèles délétères. La probabilité qu'une invasion se produise suite à cette purge dépendrait donc à la fois de la pression de propagule et de la capacité de la population à atteindre une grande taille rapidement. Nos résultats suggèrent donc que les traits liés à la reproduction pourraient avoir des effets indirects non négligeables sur la purge des allèles délétères et donc aussi sur la probabilité de succès d'une invasion. Ceci renforce l'intérêt d'étudier ces traits dans le contexte d'une invasion biologique tel que nous le verrons dans le chapitre suivant.



# BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION D'UNE ESPÈCE ENVAHISSANTE

# 4

## 4.1 INTRODUCTION

Dans les chapitres précédents, nous avons porté notre attention sur la manière dont le processus d'introduction, au travers d'un goulot d'étranglement, peut impacter le fardeau génétique. Les traits liés à la reproduction peuvent aussi affecter la valeur sélective moyenne dans une population, et donc contribuer au succès ou à l'échec d'une invasion biologique. De plus, comme je l'ai évoqué dans le chapitre introductif, ces traits sont sujets à une évolution rapide et peuvent influencer en retour les processus démo-génétiques. Cet impact peut être direct si l'évolution de ce trait aboutit à un accroissement démographique qui augmente les chances d'échapper au vortex d'extinction ; ou indirect comme si elle favorise les effets d'un goulot d'étranglement ou, au contraire, ceux de l'admixture.

Dans le cas de la coccinelle asiatique, un certain nombre de traits liés à la reproduction sont susceptibles d'avoir subi une évolution rapide au cours de son invasion. Parmi ces changements évolutifs, certains sont susceptibles d'avoir un impact évident sur le succès de l'invasion. Ainsi, plusieurs études suggèrent que les femelles de l'aire envahie sont plus fécondes que celles de l'aire native, notamment chez la coccinelle asiatique (Facon *et al.* 2011b, Tayeh *et al.* 2013). Toutefois, la fonction femelle n'est pas la seule à pouvoir évoluer rapidement. Le succès reproducteur des mâles pourrait lui aussi montrer des signes d'évolution rapide suite à une introduction. Cependant, les traits de reproduction des mâles n'ont que peu été étudiés chez *H. axyridis* jusqu'à présent.

D'autres changements, moins évidents à première vue, pourraient néanmoins avoir influencé le succès de l'invasion. Un éventuel appariement sélectif (*assortative mating*) pourrait ralentir voire empêcher toute admixture entre deux propagules d'origines différentes. D'autre part, puisque la dépression de consanguinité est forte dans les populations natives mais absente des populations de l'aire envahie, on peut émettre l'hypothèse qu'un mécanisme d'évitement de reproduction entre individus apparentés existe (car sélectivement avantageux) dans les premières, et ait potentiellement disparu dans les secondes. Un tel changement comportemental associé à l'absence de dépression donnerait accès à un plus grand nombre de partenaires reproducteurs aux individus vivant dans de petites populations envahissantes, au sein desquelles l'apparement moyen élevé réduirait autrement les chances de se reproduire. La polyandrie pourrait, dans certains cas, être un atout pour conserver la diversité génétique au sein d'une même ponte. Un tel comportement correspondrait à une stratégie de minimisa-

tion des risque (*bet-hedging*) et pourrait, s'il est important, accélérer les effets de l'admixture (Calsbeek *et al.* 2007, De Carvalho *et al.* 2010).

Il est impératif de comparer plusieurs populations de l'aire native de l'espèce avec plusieurs populations de l'aire envahie, pour pouvoir mettre en évidence toute évolution liée au processus d'invasion. Pour étudier les traits liés à la reproduction chez *H. axyridis*, j'ai donc utilisé deux populations « natives » et trois populations « envahissantes » de cette espèce, pour réaliser une expérience en conditions contrôlées. Le protocole mis en place avait pour but de mettre des mâles provenant de populations différentes en compétition pour une femelle d'origine native ou envahissante, de mettre en évidence un éventuel évitement de reproduction entre apparentés, et de (re)mesurer la fécondité des femelles dans les compartiments natifs et envahissants.

Une des difficultés de ce type d'expérience est de mesurer le succès reproducteur des mâles, qui dépend d'une part de la capacité de ces derniers à s'accoupler avec la femelle, mais aussi de leur capacité à féconder ses œufs. On peut en effet séparer le succès reproducteur pré-copulation, (correspondant à la détection de la femelle, à la compétition avec les autres mâles, et à la copulation réussie) d'une part, du succès post-copulation (correspondant à la compétition spermatique et la fécondation des ovules) d'autre part. La femelle peut aussi exercer un choix de partenaire « classique » au cours de la première étape et un « choix cryptique » dans la seconde. Pour tenter de dissocier ces deux étapes, et avoir accès au succès réalisé des mâles (c'est à dire leur capacité à produire des descendants), j'ai d'abord observé le premier mâle à s'accoupler avec chaque femelle, puis estimé le taux de fécondation de chaque mâle en réalisant un test de paternité sur une portion des descendants de chaque femelle.

Les données de paternité ont également permis de comparer la promiscuité des femelles natives et envahissantes en conditions contrôlées. Les conditions de laboratoire sont cependant différentes des conditions naturelles, ce qui peut conduire à sur-estimer le nombre de pères dans la descendance. Pour estimer le degré de promiscuité des femelles dans la nature, j'ai donc complété l'approche expérimentale par des mesures de promiscuité de femelles capturées dans différentes populations envahissantes. Cette approche, réalisée en collaboration avec le Département de Biochimie et de Physiologie de l'Institut d'Entomologie de České Budějovice (République Tchèque), a permis d'estimer le nombre de pères moyen des descendants d'une femelle issue de deux populations européennes de *H. axyridis*. La capture d'individus provenant d'une population Tchèque durant deux saisons différentes a aussi permis de mettre en évidence des différences saisonnières de promiscuité des femelles dans l'aire envahie.

## 4.2 PUBLICATIONS

### 4.2.1 Article 1

Increase of reproductive success and female reproductive investment in invasive populations of the harlequin ladybird *Harmonia axyridis*. **Laugier G. J. M.**, Le Moguédec G., Tayeh A., Loiseau A., Osawa, N, Estoup A. et Facon B. *PLoS ONE*, 2013

Voir les *supplementary materials* associés en annexe A.3.1.

# Increase in Male Reproductive Success and Female Reproductive Investment in Invasive Populations of the Harlequin Ladybird *Harmonia axyridis*

Guillaume J. M. Laugier<sup>1\*</sup>, Gilles Le Moguédec<sup>2</sup>, Ashraf Tayeh<sup>1</sup>, Anne Loiseau<sup>1</sup>, Naoya Osawa<sup>3</sup>, Arnaud Estoup<sup>1</sup>, Benoît Facon<sup>1</sup>

**1** Inra, Centre de Biologie pour la Gestion des Populations, Montpellier, France, **2** Inra, botAnique et bioinforMatique de l'Architecture des Plantes, Montpellier, France, **3** Laboratory of Forest Ecology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japan

## Abstract

Reproductive strategy affects population dynamics and genetic parameters that can, in turn, affect evolutionary processes during the course of biological invasion. Life-history traits associated with reproductive strategy are therefore potentially good candidates for rapid evolutionary shifts during invasions. In a series of mating trials, we examined mixed groups of four males from invasive and native populations of the harlequin ladybird *Harmonia axyridis* mating freely during 48 hours with one female of either type. We recorded the identity of the first male to copulate and after the 48 h-period, we examined female fecundity and share of paternity, using molecular markers. We found that invasive populations have a different profile of male and female reproductive output. Males from invasive populations are more likely to mate first and gain a higher proportion of offspring with both invasive and native females. Females from invasive populations reproduce sooner, lay more eggs, and have offspring sired by a larger number of fathers than females from native populations. We found no evidence of direct inbreeding avoidance behaviour in both invasive and native females. This study highlights the importance of investigating evolutionary changes in reproductive strategy and associated traits during biological invasions.

**Citation:** Laugier GJM, Le Moguédec G, Tayeh A, Loiseau A, Osawa N, et al. (2013) Increase in Male Reproductive Success and Female Reproductive Investment in Invasive Populations of the Harlequin Ladybird *Harmonia axyridis*. PLoS ONE 8(10): e77083. doi:10.1371/journal.pone.0077083

**Editor:** Gabriele Sorci, CNRS, Université de Bourgogne, France

**Received:** June 10, 2013; **Accepted:** September 6, 2013; **Published:** October 18, 2013

**Copyright:** © 2013 Laugier et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** This work was supported by Agropolis Fondation under the reference ID « BIOFIS » 1001-001. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: guillaume.laugier@supagro.inra.fr

## Introduction

Evolutionary processes and genetic attributes of invasive populations may underpin their success in becoming established in a new range [1–3]. Life-history traits associated with reproductive strategy are potentially good candidates for rapid evolutionary shifts during invasions [4], because reproductive strategy affects population dynamics and genetic parameters that can, in turn, have feedback effects on evolutionary processes [5–7]. Indeed, when species shift their range, they encounter a suite of new selective pressures that may affect their reproductive strategy. For instance, the lower population density at an expanding front would be expected to select for higher fecundity, lower age at first reproduction, or even a switch from outcrossing to selfing, all of which increase the individual's rate of reproduction [6,8,9]. Rapid evolution towards higher levels of reproduction following invasions may also result from a relaxation of selection for defence against enemies in the invaded range [10,11]. In accordance with these expectations, a number of studies have shown that invasive populations can display increased reproductive efforts, have higher levels of reproductive investment, shorter generation times or higher selfing rates than native populations [6,10,12–17]. Reproductive strategy can also influence the adaptive potential of invasive populations. The purging of deleterious alleles and admixture between populations are crucial determinants of the

fate of some invasions [18,19]. In particular, low effective population sizes following the introduction should increase the proportion of mating between relatives and thus decrease the mean fitness of the population through inbreeding depression [20]. The response of a species to purging and admixture depends on its mating regime. For example, high selfing rates may slow admixture and accelerate purging, whereas multiple mating and allogamy would be expected to have the opposite effect.

Our current understanding of evolutionary shifts in the reproductive strategies associated with invasions is based largely on plant species (e.g. [6,21,22]). Moreover, most studies have dealt exclusively with female function (with no measurement of male function), focusing particularly on female reproductive effort [12,23,24]. Consequently, very little is known about the effects of invasion processes on other aspects of reproductive systems, including behavioural components, such as male-male competition for access to females and sperm competition. In particular, multiple mating (also referred to as promiscuous mating), although taxonomically widespread, has never been investigated in this context. Multiple mating is known to trigger the rapid evolution of sexual traits [25]. It can provide females with many advantages, such as ensuring fertilisation [26], the laying of larger numbers of eggs [27], greater genetic diversity of the progeny [28,29] and sperm quality selection [30]. Multiple mating also has major evolutionary consequences for males [31], because the net

reproductive success of an individual male is determined by his success in acquiring mates and copulating (*i.e.*, mating success), and by the number of eggs fertilised at each mating (*i.e.*, fertilisation success). Multiple mating may also incur considerable fitness costs, due to greater exposure to sexually transmitted disease, predation, a decrease in lifespan or the risk of physical harm to the female during copulation [32,33]. In species displaying multiple mating, the reproductive success of both sexes depends on processes occurring both before (pre-mating) and after (post-mating) copulation [34].

In this study, we investigated the effects of invasion on reproductive traits in a species with multiple mating as a major reproductive strategy: the invasive harlequin ladybird *Harmonia axyridis* Pallas. *H. axyridis* is native to Asia and was introduced into North America and Europe as a biological control agent. It subsequently became invasive and has spread rapidly worldwide, with a complex invasion history involving admixture events in particular [35,36]. *H. axyridis* displays multiple mating [37], the storage by females of sperm from multiple males [38,39] and the production of up to three generations per year [40]. Studies comparing *H. axyridis* populations have indicated that this species has undergone rapid evolution during the invasion process. Firstly, invasive females have been shown to reproduce earlier than native females [41]. Secondly, while native populations display inbreeding depression, invasive populations do not, probably due to a purging process during invasion [41]. As inbreeding depression exerts a major selective pressure on the mating system, different reproductive traits may evolve in invasive populations in this species. However, it remains unclear whether any other aspects of mating behaviour differ between invasive and native populations.

The aim of this study was to clarify this point by investigating differences in reproductive success, for both males and females, between native and invasive populations of *H. axyridis*. We specifically aimed to determine whether (1) invasive males were at an advantage, in terms of both mating success (probability of being the first male to copulate) and fertilisation success (number of offspring sired), (2) invasive females copulated with more males, were more fecund and began to reproduce at younger age than native females, (3) there was a potential interaction between male and female origin (invasive vs. native) for these traits, and (4) whether there was a difference in inbreeding avoidance between native and invasive females.

## Materials and Methods

### Samples of *H. axyridis*

We used *H. axyridis* individuals sampled from five populations, subsequently reared in laboratory conditions for three generations to minimise maternal effects in mating experiments. Two of these populations came from the native area and were sampled from Beijing (China) and Fuchu (Japan). The other three populations came from the invaded area, and were sampled in Quebec City (Canada), Bataszek (Hungary) and Bethlehem (South Africa). The sampling was conducted in public locations that did neither require specific authorisation nor involve endangered or protected species. The samples included at least 50 individuals of each sex per population. All individuals were reared at 23°C, with 14:10 L:D and fed with an excess of ionised *Ephesia kuehniella* eggs. We used pieces of black cardboard, folded above the food, as oviposition medium.

### Mating trials

We investigated mixed groups of four males from invasive and native populations mating with one female of either type, involving

a total of 129 virgin females and four times as many males (See Table S1 in the supporting information). Females were set individually in arenas (Petri dishes, 7 cm in diameter) into which we had placed four virgin males the day before (see Figure S1 in the supplementary materials for details). Setting the females into the arena after the males ensured that the arenas were not saturated with female pheromones at the start of the experiment. The choice of the four males was inspired by a previous study [41,42]. One of the males was a full-sib of the female, another was an unrelated male from the same population, and the remaining two males were from other populations, one native and the other invasive. The males were identified by means of coloured dots painted onto the elytra. The colour code was randomised to prevent confounding effects of marking. All individuals had emerged about 18 days before the experiment and had been kept alone, ensuring that they were all of the same age, sexually mature, but virgin [43,44].

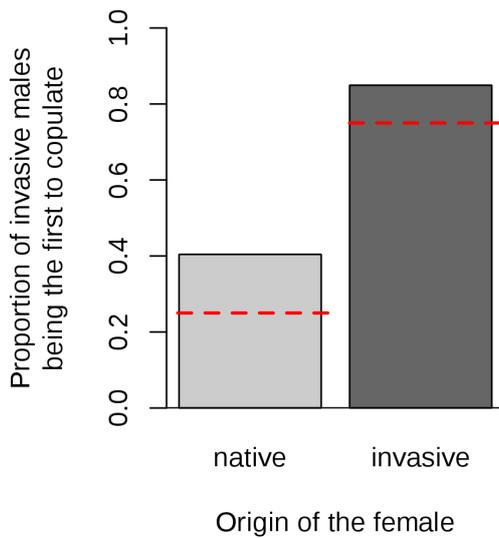
Once all five individuals were present in the arena, we observed them for one hour and recorded the identity of the first male to engage in copulation (successful mounting, phase iv as described by Obata [45]) with the female. The boxes were then left for 48 hours, during which time the individuals were allowed to copulate freely, and the males were then removed and preserved in ethanol for subsequent molecular analysis. Our experimental design differs from mating trials involving the sequential mating of a female with two different males, the second male being proposed to the female after the end of copulation with the first male [46]. The design of our experiment did not allow such a high level of control, and we only recorded the first mating. However, it better reflects natural conditions for a promiscuous species with multiple male partners available at the same time. It did allow free mating between a female and four males over a 48-hour period, including the possibilities of all males remating, not mating at all and possible mate guarding behaviour [47]. The first male to mate may, therefore, also have been the last. It has to be noted that our paternity analyses confirm that *H. axyridis* displays multiple mating [37] and the storage by females of sperm from multiple males. Indeed, the 48-hour period is enough for multiple mating to occur and most females (75%) in all populations studied mothered offspring from several males (see Results).

### Female reproductive investment

Female fecundity was assessed by checking the females for eggs every two to three days after the start of the experiment, and for 23–24 days following their first clutch. Similarly to a previous work [41], we followed the females for up to 63 days (corresponding to the time required for 80% of the females to lay eggs). The remaining females were assumed to be sterile or to have not mated successfully. We recorded the date of the first clutch and the total number of eggs laid during this period. Once counted, the egg clutches were transferred to individual Petri dishes and fresh oviposition medium was provided to the females. The hatching rate was estimated for a mean of three clutches per female. Two of these three clutches per female, laid at least 10 days apart, were allowed to develop to the second larval stage, which was stored in ethanol for subsequent molecular analysis.

### Male reproductive success

Male mating success was estimated by the identity of the male engaged in the first mating. Male fertilisation success was evaluated by the number of offspring sired by each of the four males for all studied females. We genotyped microsatellite loci in up to eight larvae per clutch for the two clutches per female allowed to develop to the second larval stage. We also genotyped



**Figure 1. Effect of the origin of the male on his probability of being the first to copulate.** Observed proportion of invasive males being the first to copulate with native and invasive females. The red dashed lines represent the proportion expected under the null hypothesis.  
doi:10.1371/journal.pone.0077083.g001

all males and females. We used the eight most variable microsatellite loci of those described by Loiseau et al. [48]. Paternity was assessed with PROBMAX software [49]. We found no difference in paternity pattern between the early and late clutches, which were therefore pooled for data analysis. Coupling percentage paternity with the results of the mating trials allowed distinction between mating success and fertilisation. It also allowed the comparison of the realized paternity between different males while controlling for first sperm precedence. The effective number of fathers per female was calculated as  $E_f = 1 / \sum_i f_i^2$ , where  $f_i$  is the frequency of paternity for male  $i$ .

**Modelling and statistical analyses**

We used classic parametric ( $t$ -test, Binomial GLM) and non-parametric (Kruskal-Wallis rank-sum test) statistical tests to assess statistical differences in female traits. We recorded the percentage of egg-laying females, the daily fecundity of egg-laying females and the hatching rate. These traits were analysed with respect to the

female origin (native vs. invasive) and the characteristics of the first male copulating with the female or siring the majority of the female’s offspring. The male characteristics considered were origin and being a full sibling of the female concerned.

We studied male reproductive success by calculating the probability of a male being the first to copulate, and its percentage paternity among the offspring of the female as a function of his characteristics and those of the female. The male characteristics considered were origin (native vs. invasive), population, the relatedness to the female (whether or not the male and the female were full siblings) and, when applicable, involvement in the first copulation. The female characteristics studied were origin (native vs. invasive) and population. We also investigated the potential effects of the body size (measured as the length of elytron) and colour morph of both sexes in preliminary statistical treatments. These two factors were found to have no significant effect (results not shown) and were, therefore, not included in the factors considered in the statistical models presented below.

As the explanatory variables were potentially subject to complex interactions or nesting, we studied the response variable (*i.e.* probability of first copulation and percentage paternity) by a modelling approach. Males were in competition with each other within each Petri dish, and the reproductive success of a given male depended not only on his own characteristics, but also on those of his competitors. The non-independence of the reproductive success of the individual males in each Petri dish precluded the use of classical generalised linear models. The competition between males in terms of copulation and percentage paternity is essentially like a race between competitors. We therefore use multinomial models classically used in competition analysis (e.g. [50,51]). Our modelling approach is described in detail in the supplementary materials. In brief, the probability of a given male copulating with the female or being the father of the offspring in a particular egg is a function of the characteristics of this focal male with respect to those of the other males present in the arena. In each round, four males ‘run to the finish line’ (mounting the female), so the probability  $P_{i,k}$  of a male  $k$  winning a race in ‘arena’  $i$  (a given Petri dish) depends on its ‘fitness score’  $y_{i,k}$  relative to the other three males.

This probability can be written

$$P_{i,k} = \frac{y_{i,k}}{\sum_{k'=1}^K y_{i,k'}}, K=4; y_{i,k} \geq 0 \text{ for all } i, k;$$

and  $\sum_k p_{i,k} = 1$  for all  $i$

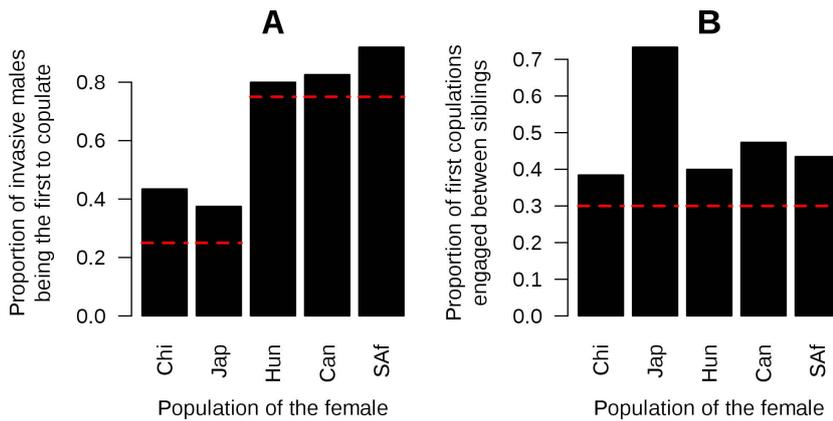
**Table 1.** Statistical models of probability of being the first male to copulate.

	Models	df	Log(L)	Test statistic*	P*
C0	null model	0	-166.4		
C1	♂ origin	1	-161.5	$X^2_1 = 9.62$	$1.9 \times 10^{-3}$
C1.2	♂ population	4	-160.5	$X^2_3 = 2.05$	0.56
C2	♂ origin: ♀ origin	2	-161.5	$X^2_1 = 0.03$	0.86
C2.2	♂ origin+♂ origin : ♀ population	5	-159.3	$X^2_3 = 4.44$	0.22
C3	♂ origin+sibling <sup>‡</sup>	2	-158.2	$X^2_1 = 6.7$	$9.6 \times 10^{-3}$
C4	♂ origin+sibling <sup>‡</sup> : origin	3	-157.7	$X^2_1 = 0.94$	0.33
C4.2	♂ origin+♂ sibling+sibling <sup>‡</sup> : population	6	-156.2	$X^2_3 = 6.32$	<b>0.097</b>

\*Test statistics and P-values from Chi-squared tests of the differences of log likelihood.

‡Whether or not the male was a full sibling of the female. Colons represent interaction factors, according to the conventions of the R language.

doi:10.1371/journal.pone.0077083.t001



**Figure 2. Proportion of females that engaging in a first copulation with an invasive male (A) or with their brother (B).** The red dashed lines are the proportions expected under the null hypothesis (random mating). In panel B, the proportion is calculated for the females first copulated with a male of the same origin (native vs. invasive) only. Chi: China, Jap: Japan, Hun: Hungary, Can: Canada, Saf: South Africa. doi:10.1371/journal.pone.0077083.g002

where the score  $y_{i,k}$  can be generally written as

$$y_{i,k} = \exp\left(\sum_{t=1}^T \mu_{t,k}\right)$$

with  $\mu_{t,k}$  the effect of factor  $t_{i,k}$  (including interaction factors) for male  $k$  in arena  $i$ .

Starting with a null model in which each male has the same probability of success, we then added the effects (or interactions of effects) to be tested. Comparing nested models with likelihood ratio-tests allowed testing if each effect or interaction of effects improves the model [52]. For the relevant models, confidence intervals were calculated with bootstraps of 2,000 samplings and used to test separately the effects that would otherwise been confounded.

The R software [53] was used for both the classical statistical analysis and the modelling approach.

**Results**

**Male reproductive success**

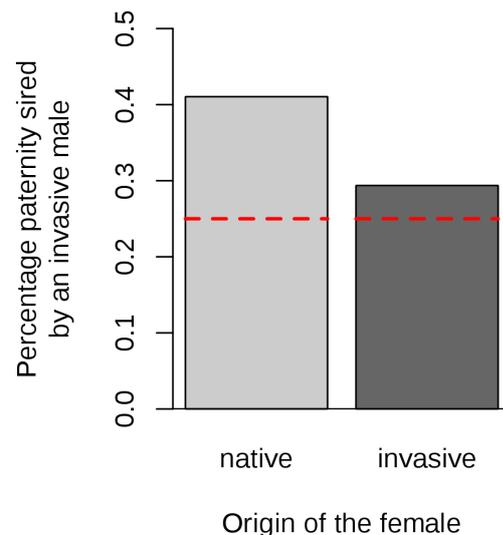
During the first hour of the experiment, 93% of females engaged in copulation (see Table S1, and Dataset S1 in the supporting information for details). We analysed the traits of the males only for these females.

**Invasive males tend to be the first to copulate.** In our experimental design, native females were presented with three native males and one invasive male each, so 25% of first copulations would be expected to be with the invasive male if mate choice were random. Conversely, invasive females were presented with one native male and three invasive males, so 75% of first copulations would be expected to be with invasive males in a context of random choice. We found that 40% of native females and 85% of invasive females first copulated with an invasive male (Figure 1), regardless of the population of the male (see Table S1 in

**Table 2. Estimated effects in models of probability of being the first male to copulate.**

Models	Estimate	P(x≠0)†
C1	$x_{invasive\sigma} = 0.67$	**
C3	$x_{brother} = 0.51$	*
	$x_{invasive\sigma} = 0.70$	**
C4.2	$x_{brother:japan} = 1.11$	-
	$x_{brother:hungary} = -0.01$	NS
	$x_{brother:canada} = 0.37$	NS
	$x_{brother:s.africa} = 0.33$	NS
	$x_{brother} = 0.16$	NS
	$x_{invasive\sigma} = 0.80$	*

†Significance code for probability of the effect estimate being different from zero (the effect taken as a reference), using a bootstrap of 2,000 replicates.  
 \*\* $P \leq 0.01$ ;  
 \* $P \leq 0.05$ ;  
 -  $P \leq 0.1$ ;  
 NS  $P > 0.1$ .  
 Colons represent interaction factors in accordance with the conventions of R language. Only relevant models are presented.  
 doi:10.1371/journal.pone.0077083.t002



**Figure 3. Effect of the origin of the male on his percentage paternity.** Average observed percentage paternity of each invasive male copulating with a native or an invasive female. doi:10.1371/journal.pone.0077083.g003

**Table 3.** Statistical models of percentage paternity.

	Models	df	Log(L)	Test statistic*	P*
P0	null model	0	-1255		
P1	first <sup>†</sup>	1	-990.1	$X^2_1=530$	$3.5 \times 10^{-117}$
P2	first <sup>†</sup> + $\varnothing$ origin	2	-980.6	$X^2_1=18.98$	$1.3 \times 10^{-5}$
P2.2	first <sup>†</sup> +first <sup>†</sup> : $\varnothing$ population	5	-886.1	$X^2_3=140.94$	$2.4 \times 10^{-30}$
P3	first <sup>†</sup> + $\sigma$ origin	2	-957.6	$X^2_1=64.9$	$7.7 \times 10^{-16}$
P3.2	first <sup>†</sup> + $\sigma$ population	5	-942.6	$X^2_3=30.122$	$1.3 \times 10^{-6}$
P4	first <sup>†</sup> + $\sigma$ origin: $\varnothing$ origin	3	-956.6	$X^2_1=2.03$	0.15
P4.2	first <sup>†</sup> + $\sigma$ origin+ $\sigma$ origin : $\varnothing$ population	6	-886.1	$X^2_4=143.0$	$6.5 \times 10^{-30}$
P5	first <sup>†</sup> + $\sigma$ origin+sibling <sup>‡</sup>	3	-955.3	$X^2_1=4.59$	<b>0.032</b>
P6	first <sup>†</sup> + $\sigma$ origin+sibling <sup>‡</sup> : origin	4	-955.3	$X^2_1=0.08$	0.78
P6.2	first <sup>†</sup> + $\sigma$ origin+ $\sigma$ origin+sibling <sup>‡</sup> : population	7	-892.5	$X^2_3=125.5$	$3.1 \times 10^{-27}$

\*Test statistics and P-values from Chi-squared tests of the differences of log likelihood.

†Whether or not the male was the first to copulate with the female.

‡Whether or not the male was a full sibling of the female. Colons represent interaction factors, according to the conventions of the R language.

doi:10.1371/journal.pone.0077083.t003

supporting information). Our modelling-based analysis indicated that being invasive had a significant effect on the model likelihood of being the first male to copulate ( $P=1.9 \times 10^{-3}$ , Table 1, model C1). The estimated effect was positive and significantly different from zero (Table 2, model C1), and no significant difference in estimated effect was found between native and invasive females ( $P>0.1$ , Table 1, model C2) or between populations (Figure 2A; Table 1, models C1.2 and C2.2).

**Invasive males have a higher percentage paternity.** According to the null model, each male should sire 25% of the female's offspring. However, we found that invasive males sired, on average, 41% of the offspring when mating with a native female, and 29% of the offspring when mating with an invasive female (Figure 3A). As invasive males are more likely to mate first, we used our statistical modelling approach to take the advantage of being the first male to mate into account (Table 3, model P1), then estimated the effect of being invasive on his percentage paternity among the offspring. The inclusion of an effect of being invasive significantly improved the model ( $P=7.7 \times 10^{-16}$ , Table 3, model P3), and this effect was positive and significant (Table 4, model P3), although smaller than that of being the first male to copulate. Allowing different estimations between male populations significantly improved the model (Table 3, model P3.2). However, the pattern with two categories of males (Native vs. Invasive) was mainly found again, except that South African males were not significantly different from native ones (Table 4, model P3.3).

There was no significant difference in the effect of being an invasive male between native and invasive females (Table 3, model P4). Allowing the effect of being invasive to differ between female populations significantly improved the model, (Table 3, model P4.2) but the differences between populations were not significant (Table 4, model P4.2).

### Does inbreeding avoidance occur?

**Females do not avoid copulation with their brothers.** According to the null model 25% of the females should first copulate with their brother. We found that 34% of native females and 37% of the invasive females first copulated with their brother. Once the advantage of being invasive was taken into account by the model, being a full sibling was found to have a significant effect on the probability of being the first male to copulate ( $P=9.6 \times 10^{-3}$ ; Table 1, model C3). The estimated effect of being a full sibling was positive and significant (Table 2, model

C3). The model was not improved by allowing differences between native and invasive females (Table 1, model C4).

The Japanese females tended to be more likely to mate with their brothers than were the females of other populations (Figure 2B; Tables 1 and 2, model C4.2). This trend was only marginally significant, but this study lacked statistical power for analyses at the population scale. However, if we fitted the model to the data without the Japanese population (equivalent to model C3 in Table 1), the effect of being a full sibling was not significant (data not shown).

**Percentage paternity of brothers.** According to the null model, each male would be expected to sire 25% of the female's offspring. We found that the brothers of the females sired, on average,  $26 \pm 3\%$  of the female's offspring, with each of the other three males siring, on average,  $25 \pm 0.1\%$  of the offspring. This direct result does not take into account the effects of being the first male to copulate and being invasive into account.

Including the effect of being the female's brother in model P3, in which these effects were already present, significantly improved the model ( $P=0.032$ , Table 3, model P5). The estimated effect was negative, but was not significantly different from zero ( $P>0.1$ , Table 4, model P5), indicating a slight disadvantage of being the female's brother in terms of paternity success. The model was not improved by allowing the effect of being the female's brother to differ between native and invasive populations (Table 3, model P6), but the model was improved by allowing this effect to differ between populations. However, the differences between populations were not significant (Table 4, model P6.2).

### Female reproductive investment

**Invasive females are more fecund and lay eggs earlier than native females.** During the first hour of the experiment, 92% of native females and 95% of invasive females engaged in copulation. This difference is not significant (Fisher's exact test  $P=0.71$ ). Females that did not mate during the first hour laid significantly fewer eggs than those that did ( $P=0.02$ , Table 5). Native females laid their first clutch  $13 \pm 2.7$  days after the start of the experiment, whereas invasive females started laying after only  $2.2 \pm 0.5$  days (Wilcoxon rank-sum test  $P=6.43 \times 10^{-7}$ , Table 5; and Figure 4A). Native females laid fewer eggs than invasive females during the period studied (mean  $\pm$  SEM =  $17.7 \pm 2.1$  and

**Table 4.** Estimated effects in models of percentage paternity.

Models	Factor	Estimate	P( $\alpha \neq 0$ ) <sup>†</sup>
P1	first copulation	1.29	**
P2	first:invasive♀	0.51	NS
	first copulation	1.17	**
P2.2	first:japanese♀	-0.28	NS
	first:hungarian♀	-0.69	NS
	first:canadian♀	-0.76	NS
	first:S.african♀	-0.60	NS
	first copulation	1.78	**
P3	first:invasive♂	0.59	**
	first copulation	1.24	**
P3.2	first copulation	1.23	**
	japanese♀	0.28	NS
	hungarian♀	0.98	**
	canadian♀	0.86	**
	S.african♀	0.46	NS
P4.2	invasive♂:japanese♀	-1.04	NS
	invasive♂:hungarian♀	-0.68	NS
	invasive♂:canadian♀	-0.43	NS
	invasive♂:S.african♀	0.56	NS
	invasive♂	0.99	-
	first copulation	1.23	*
P5	brother	-0.15	NS
	invasive♂	0.58	**
	first copulation	1.26	**
P6.2	brother♂:japanese♀	1.21	NS
	brother♂: hungarian ♀	1.09	NS
	brother♂: canadian ♀	0.88	NS
	brother♂: S.african ♀	0.51	NS
	brother	-0.92	NS
	invasive♂	0.57	**
	first copulation	1.25	**

<sup>†</sup>Significance code for probability of the effect estimate being different from zero (the effect taken as a reference), using a bootstrap of 2,000 replicates.

\*\* $P \leq 0.01$ ;

\* $P \leq 0.05$ ;

-  $P \leq 0.1$ ;

NS  $P > 0.1$ .

Colons represent interaction factors in accordance with the conventions of R language. Only relevant models are presented.

doi:10.1371/journal.pone.0077083.t004

22.7±1.6 eggs per day for native and invasive females, respectively). This difference is significant (Kruskal-Wallis rank-sum test  $P = 0.041$ , Table 5) and can be broken down into a trend towards higher proportions of egg-laying females within invasive populations and a trend for these females to lay more eggs per day (Figure 4B). These trends were not significant when considered separately ( $p > 0.05$ ; Table 5). We found no significant difference in hatching rate between native and invasive females ( $0.7 \pm 0.03$  for both native and invasive females, Table 5). No significant difference was found between populations within status for any of these traits (data not shown).

**Multiple paternity of offspring.** Most of the females producing larvae that survived to the second larval stage (75%)

mothered offspring from two to four different males. Invasive females were fertilised by a significantly larger number of fathers ( $2.18 \pm 0.13$  an mean  $\pm$  SEM =  $1.62 \pm 0.14$  fathers for invasive and native females, respectively; Kruskal-Wallis rank sum test:  $X^2_1 = 9.48$ ,  $P = 2.07 \times 10^{-3}$ ). We found no significant difference between native populations. The Hungarian females mated with slightly more individuals than other invasive ones, but the difference was only marginally significant (Kruskal-Wallis rank sum test:  $X^2_2 = 5.95$ ,  $P = 0.05$ ). Invasive females also were fertilised by a higher effective number of fathers than native females ( $1.68 \pm 0.10$  and mean  $\pm$  SEM =  $1.32 \pm 0.09$  effective fathers for invasive and native females, respectively; Kruskal-Wallis rank sum test:  $X^2_1 = 8.58$ ,  $P = 3.4 \times 10^{-3}$ ). We found no significant difference between invasive populations. The Japanese females had offspring from slightly more effective fathers than Chinese ones, but the difference was only marginally significant (Kruskal-Wallis rank sum test:  $X^2_1 = 3.93$ ,  $P = 0.05$ ).

**Influence of males on female fecundity.** Among females laying viable eggs, fecundity was higher if the principal father was a full sibling, for invasive females (mean  $\pm$  SEM =  $30.0 \pm 2.2$  eggs per day for females whose brother sired most offspring, and  $18.0 \pm 1.5$  for other females,  $P = 3.6 \times 10^{-3}$ , Table 6), but not for native females (mean  $\pm$  SEM =  $22.3 \pm 2.9$  eggs per day for brothers, and  $15.9 \pm 2.3$  for other males,  $P > 0.1$ ; Table 6). Although significant in South African and Hungarian females, this differences was not significant for the Canadian female ( $P > 0.1$ ). The origin (invasive/native) of the first male to copulate or the principal father of the offspring had no effect on any other female trait (male factors in Table 6).

## Discussion

Our results show that invasive populations display changes in both male and female traits associated with reproductive strategy, whose are expected to be selected for during a biological invasion [4,54].

One of the key results of this study is that invasive males have a higher probability of being the first to copulate with both native and invasive females. This result indicates the absence of assortative mating [55] with respect to native/invasive origin and population. The advantage of invasive males over native ones may reflect a more active reproductive behaviour, a better ability to detect and locate females or a greater locomotive ability [56–58]. Indeed, despite of the small size of the arenas, many females ran away from males for a few minutes before accepting copulation. Hence, males with greater locomotory behaviour had more chance to be the first to detect the female than males that stayed still.

Early in the invasion process (and continually at the invasion front) population density is low, reducing the probability of mate encounters (an aspect of the Allee effect, see Elam et al. [59], for example). Higher levels of male sexual activity increase the chances of finding and mating with a female, and are therefore expected to be selected for during invasions [60].

We also found that invasive males have the advantage of siring a greater percentage of the offspring. Moreover, although we found a strong sperm precedence for the first male to copulate (Tables 3 and 4 of this article and figure S2 in supporting information), invasive males sired a greater proportion of the offspring than native ones, even if they were not the first to copulate. This suggests that invasive males outperform native males in terms of both sperm defence and offence [61,62] This feature might come from invasive males producing higher quality, more competitive sperm [63], or larger ejaculates that might dilute or displace the

**Table 5.** Statistical tests of the effects of female factors on female traits.

Effects	Response variable	Values (% or mean $\pm$ SE)	Type of test	Test statistic	Probability	
Female factors						
♀ copulation*	♀ eggs laid daily (eggs/day)	copulation: $9.2 \pm 4.5$ ; no copulation: $21.5 \pm 1.4$	Kruskal-Wallis rank sum test	$\chi^2_1 = 5.3$	<b>0.0213</b>	
♀ origin	daily fecundity (eggs/day)	- all ♀	native: $17.7 \pm 2.1$ ; invasive: $22.7 \pm 1.6$	Kruskal-Wallis rank sum test	$\chi^2_1 = 4.170$	<b>0.0415</b>
		- only egg-laying ♀	native: $24.4 \pm 2$ ; invasive: $26.4 \pm 1.5$	F test	$F = 0.70$	0.4042
♀ origin	% of egg-laying ♀	native: 72.5%; invasive: 85.7%	Likelihood Ratio Test	$\chi^2_1 = 3.32$	0.070	
	♀ mean hatching rate	native: $0.673 \pm 0.034$ ; invasive: $0.657 \pm 0.027$	Kruskal-Wallis rank sum test	$\chi^2_1 = 6.04$	0.6628	
	Time to first clutch (days)	native: $13.3 \pm 2.7$ ; invasive: $2.2 \pm 0.5$	Kruskal-Wallis rank sum test	$\chi^2_1 = 24.8$	<b><math>6.32 \times 10^{-7}</math></b>	

\*Whether or not copulation occurred during the first hour of the experiment.  
doi:10.1371/journal.pone.0077083.t005

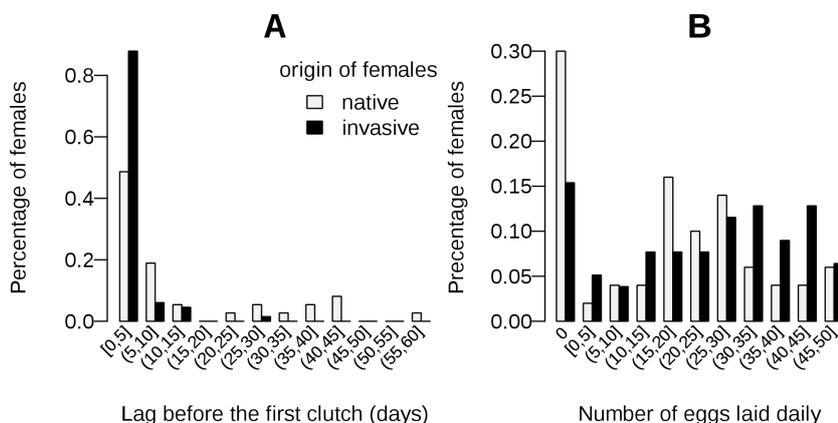
sperm of previous males [46,64]. Alternatively, females might exert directional post-copulation sexual selection in favour of invasive males [25]. Wang Su et al. [65] previously suggested that *H. axyridis* might display cryptic female choice. Unfortunately, our experiments do not allow testing any of these (non-exclusive) hypotheses and further experiments are needed to do so. Regardless of the mechanisms involved, our results are consistent with selection for more sexually competitive males as expected during the invasion process, because the populations densities, although low in the early stages of an invasion can be very high at the outbreak in later stages [66].

This pattern of higher percentage paternity was found for all invasive males, even though it was less pronounced in South African males. Although all these populations are genetically very close (data not shown), a certain amount of variation between invasive populations was indeed expected, because all the populations used in this study have a different invasion scenario [36], and thus possibly different density histories. Unfortunately, information on densities in these populations is scarce if any. Moreover, with only 2–3 populations of each type, the experiment

was not designed to test any effects at population level, and such result should be interpreted with caution.

Native and invasive populations also differed in terms of female reproductive traits. This result provides an additional evidence, monitored over a longer period of time, for greater fecundity, beginning earlier in invasive females of *H. axyridis* (see Facon et al. [41] for initial evidence of this). At least in the early stages, invasive populations are typically in a state of demographic disequilibrium, with little or no regulation by density [67]. This demographic setting may result in the selection for higher levels of fecundity and on earlier onset of reproduction, both of which would accelerate population growth [8].

Invasive females were also fertilised by both a higher total number of fathers and a higher effective number of fathers. This may be the result of a post-copulation selective mechanism. Note that this result may also be at least partly due to our experimental design in which invasive females were presented with one native male and three invasive (therefore more competitive) males, whereas native females were presented with three native males and one invasive male. A higher number of effective fathers would



**Figure 4. Fecundity traits of native and invasive females. A:** Distribution of the time to first clutch after the presentation of native and invasive females to the males. The difference between the mean times to first clutch of native and invasive female is significant (Table 5). **B:** Distribution of the mean number of eggs per day laid by a native and by an invasive female. The means for native and invasive females are significantly different (see Table 5).  
doi:10.1371/journal.pone.0077083.g004

**Table 6.** Statistical tests of the effects of male factors on female traits.

Effects	Response variable	Values (% or mean $\pm$ SE)	Type of test	Test statistic	Probability
first <sup>†</sup> $\sigma$ origin	% of egg-laying $\varphi$	native: 93%; invasive: 97%	Pearson's Chi-squared test	$X^2_1 = 0.084$	0.777
major <sup>‡</sup> $\sigma$ origin	$\varphi$ daily fecundity (eggs/day)	native: 25.0 $\pm$ 1.9; invasive: 25.3 $\pm$ 1.6	Kruskal-Wallis rank sum test	$X^2_1 = 0.043$	0.835
	$\varphi$ mean hatching rate	native: 0.69 $\pm$ 0.03; invasive: 0.69 $\pm$ 0.02	Kruskal-Wallis rank sum test	W = 885	0.929
first <sup>†</sup> $\sigma$ sibling	% of egg-laying $\varphi$	brother: 86%; other: 81%	Pearson's Chi-squared test	$X^2_1 = 2.297$	0.586
major <sup>‡</sup> $\sigma$ sibling	$\varphi$ daily fecundity (eggs/day)				
	- all $\varphi$	brother: 30.0 $\pm$ 2.2; other: 18.0 $\pm$ 1.5	Kruskal-Wallis rank sum test	$X^2_1 = 11.6$	<b>6.7 <math>\times 10^{-4}</math></b>
	- native $\varphi$	brother: 22.3 $\pm$ 2.9; other: 15.9 $\pm$ 2.3	Kruskal-Wallis rank sum test	$X^2_1 = 1.6$	0.21
	- invasive $\varphi$	brother: 32.8 $\pm$ 2.5; other: 19.6 $\pm$ 1.9	Kruskal-Wallis rank sum test	$X^2_1 = 9.83$	<b>1.7 <math>\times 10^{-3}</math></b>
	$\varphi$ mean hatching rate	brother: 0.64 $\pm$ 0.04; other: 0.67 $\pm$ 0.02	Kruskal-Wallis rank sum test	$X^2_1 = 1.2$	0.27

<sup>†</sup>First male to copulate with the female.

<sup>‡</sup>Male siring most of the female's offspring.

doi:10.1371/journal.pone.0077083.t006

ensure greater genetic diversity in the offspring of every single female [68]. This kind of bet-hedging strategy might make admixture more efficient and could be a key element of adaptation to new environments [68,69], especially in the context of a biological invasion, where genetic diversity that may have decreased during the introduction process could be restored [18,70].

Finally, we were interested in determining whether native and invasive individuals displayed different levels of inbreeding avoidance. Facon et al. [41] found that native populations of *H. axyridis* displayed inbreeding depression, whereas invasive populations did not, probably due to the occurrence of a purging process during invasion. Although we expected direct inbreeding avoidance behaviour to occur, at least in the native populations, this study provided no evidence of such mechanism in *H. axyridis*. On the contrary, we found that the brothers of the females tested had a slight, but significant advantage over the other males, increasing the likelihood of copulating first with their sisters, in both native and invasive populations. This advantage might only genuinely exist in the Japanese population studied, but we cannot tell if it reflects a particular feature of the Japanese population as we used only two native populations. Regardless, we found no trend for individuals to avoid copulation with siblings in any population, and the weak negative impact of kinship on paternity did not seem to be strong enough to be considered as an actual direct mechanism of inbreeding avoidance. The probability of encounter of a sibling may be low in the field, for instance, if dispersal occurs before sexual maturity [71,72] as it occurs in *H. axyridis* [73]. This might explain why *H. axyridis* individuals have no mechanisms for preventing copulation between full siblings in the conditions of our experiment. Besides invasive females are, on average, more fecund when fertilised with their brothers contrary to native ones. This result could be linked with the absence of the cost imposed by inbreeding depression in invasive populations [73], and might be explained by kin selection in a context of mate limitation such as expected in the first steps of invasion or at the invasion front.

In conclusion, reproductive traits are expected to evolve during the invasion process as a result of changes in population densities and selective pressures. Our study shows that invasive populations

of *Harmonia axyridis* display higher levels of reproductive investment in both males and females. Interestingly, we found no major interaction between male and female origin on the probability of copulation or its outcome. Invasive males and females have thus higher reproductive success regardless of the origin of their partner. This result matches well the theoretical expectations in this particular evolutionary context [4,54]. Contrary to expectations [41] we found no evidence of inbreeding behaviour during pre- nor post-copulation competition processes in native or invasive populations, suggesting that another mechanism would exist at least in native populations [74]. More work is needed to test this assumption. We hope that this study will stimulate further research into the evolution of reproductive strategy and associated traits during invasion processes.

## Supporting Information

**Table S1** Summary table of the copulation results. \* Population of origin: Chi: China, Jap: Japan, Hun: Hungary, Can: Canada, SAF: South Africa. <sup>†</sup> Number of females that laid eggs. <sup>‡</sup> Number of which copulated with their brother first. <sup>¶</sup> Number of females with viable eggs. <sup>§</sup> Number of females with genotyped larvae. The last three columns only include females that copulated during the first hour, i.e. for which first copulation data were available. (DOCX)

**Figure S1** Design of the mate choice experiment. Each female was placed in a Petri dish containing four males: a full sibling, another unrelated male from the same population and two males from other populations, one native and one invasive. The identity of the first male to mount the female was recorded during the first hour and the insects were then left to copulate freely for the next 47 hours. The males were then removed and the females were left alone for 23 days after the laying of the first clutch of eggs. During this period, female fecundity was recorded and the hatching rate of the eggs was estimated from at least one early and one late clutch. The paternity of eight second-instar larvae was assessed by molecular analysis, in two clutches laid at least 10 days apart. (TIFF)

**Figure S2 Effect of being the first male to copulate with a given female on percentage of paternity within the female's offspring.** **A:** Observed percentage paternity of the first male to copulate with native and invasive females. Red dashed lines are the values expected under the null hypothesis. **B:** Model estimates of the effect of being the first male to copulate with a female on percentage paternity, with corresponding 95% confidence intervals. The expected effect with the null model is zero for both native and invasive females. The effect is significant in both cases, but the difference between native and invasive females is not significant (see models P1 and P2 in Tables 2 and 4). (TIFF)

**Dataset S1 Experimental data used in this study.** This spreadsheet contains the results of the copulation experiments as well as the paternity assignment obtained from microsatellite genotypes. (ODS)

## References

- Lee CE (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 386–391.
- Facon B, Genton BJ, Shykoff J, Jarne P, Estoup A, et al. (2006) A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology & Evolution* 21: 130–135.
- Dlugosch KM, Parker IM (2008) Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology* 17: 431–449.
- Phillips BL, Brown GP, Shine R (2010) Life-history evolution in range-shifting populations. *Evolution* 91: 1617–1627.
- Lambrinos JG (2004) How interactions between ecology and evolution influence contemporary invasion dynamics. *Ecology* 85: 2061–2070.
- Barrett SCH, Colautti RI, Eckert CG (2007) Plant reproductive systems and evolution during biological invasion. *Molecular Ecology* 17: 373–383.
- Burton OJ, Phillips BL, Travis JMJ (2010) Trade-offs and the evolution of life-histories during range expansion. *Ecology Letters* 13: 1210–1220.
- Bufford JL, Daehler CC (2011) Life history strategies. In: Simberloff D, Rejmánek M, editors. *Encyclopedia of biological invasions*: Univ of California Press.
- MacArthur RH, Wilson EO (1967) *The theory of island biogeography*. Princeton, New Jersey.
- Blossey B, Nötzold R (1995) Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis. *Journal of Ecology* 83: 887–889.
- Crawley M (1987) *What makes a community invulnerable?* Blackwell Scientific Publications. pp. 429–453.
- Buckley YM, Downey P, Fowler SV, Hill R, Memmot J, et al. (2003) Are invasives bigger? A global study of seed size variation in two invasive shrubs. *Ecology* 84: 1434–1440.
- Rejmánek M, Richardson DM (1996) What attributes make some plant species more invasive? *Ecology* 77: 1655–1661.
- Bosdorf O, Auge H, Lafuma L, Rogers WE, Siemann E, et al. (2005) Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia* 144: 1–11.
- Brown JS, Eckert CG (2005) Evolutionary increase in sexual and clonal reproductive capacity during biological invasion in an aquatic plant *Butomus umbellatus* (Butomaceae). *American journal of botany* 92: 495–502.
- Davis HG (2005) r-Selected traits in an invasive population. *Evolutionary Ecology* 19: 255–274.
- Amundsen P-A, Salonen E, Niva T, Gjelland KO, Præbel K, et al. (2012) Invader population speeds up life history during colonization. *Biological Invasions* 14: 1–13.
- Kolbe JJ, Glor RE, Schettino LR, Lara AC, Larson A, et al. (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* 431: 177–181.
- Lavergne S, Molofsky J (2007) Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 3883.
- Kirkpatrick M, Jarne P (2000) The effects of a bottleneck on inbreeding depression and the genetic load. *American Naturalist* 155: 154–167.
- Daehler CC (1998) Variation in self-fertility and the reproductive advantage of self-fertility for an invading plant (*Spartina alterniflora*). *Evolutionary Ecology* 12: 553–568.
- Van Kleunen M, Weber E, Fischer M (2010) A meta-analysis of trait differences between invasive and non-invasive plant species. *Ecology Letters* 13: 235–245.
- Blair AC, Wolfe LM (2004) The evolution of an invasive plant: an experimental study with *Silene latifolia*. *Ecology* 85: 3035–3042.
- Parker MA (2002) Evolution in natural and experimental populations of *Amphicarpaea bracteata*. *Journal of Evolutionary Biology* 7: 567–579.
- Birkhead TR, Pizzari T (2002) Postcopulatory sexual selection. *Nature Reviews Genetics* 3: 262–273.
- Hägglund J, Sheldon BC (1998) The cost of reproduction and sexual selection. *Oikos* 478–483.
- Arqvist G, Nilsson T (2000) The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Animal behaviour* 60: 145–164.
- Tregenza T, Wedell N (2002) Polyandrous females avoid costs of inbreeding. *Nature* 415: 71–73.
- Head ML, Hunt J, Jennions MD, Brooks R (2005) The indirect benefits of mating with attractive males outweigh the direct costs. *PLoS Biology* 3: e33.
- Pattarini JM, Starmer WT, Bjork A, Pitnick S (2006) Mechanisms underlying the sperm quality advantage in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 60: 2064–2080.
- Pischedda A, Stewart AD, Little MK (2012) Male×Female Interaction for a Pre-Copulatory Trait, but Not a Post-Copulatory Trait, among Cosmopolitan Populations of *Drosophila melanogaster*. *PLoS one* 7: e31683.
- Daly M (1978) The cost of mating. *American Naturalist* 112: 771–774.
- Simmons LW, Beveridge M, Kennington WJ (2007) Polyandry in the wild: temporal changes in female mating frequency and sperm competition intensity in natural populations of the tettiogniid *Requena verticalis*. *Molecular Ecology* 16: 4613–4623.
- Fedina TY, Lewis SM (2008) An integrative view of sexual selection in *Tribolium* flour beetles. *Biological Reviews* 83: 151–171.
- Lombaert E (2011) *Biologie évolutive d'une espèce envahissante, la coccinelle asiatique Harmonia axyridis*: Systèmes Intégrés en Biologie, Agronomie, Géosciences, Hydrosciences, Environnement.
- Lombaert E, Guillemaud T, Cornuet JM, Malausa T, Facon B, et al. (2010) Bridgehead effect in the worldwide invasion of the biocontrol harlequin ladybird. *PLoS one* 5: e9743.
- Osawa N (1994) The occurrence of multiple mating in a wild population of the ladybird beetle *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Ethology* 12: 63–66.
- Facon B, Crespin L, Loiseau A, Lombaert E, Magro A, et al. (2011) Can things get worse when an invasive species hybridizes? The harlequin ladybird *Harmonia axyridis* in France as a case study. *Evolutionary Applications* 4: 71–88.
- Ueno H (1996) Estimate of multiple insemination in a natural population of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Applied entomology and zoology* 31: 621–623.
- Osawa N (2000) Population field studies on the aphidophagous ladybird beetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): resource tracking and population characteristics. *Population Ecology* 42: 115–127.
- Facon B, Hulbauer RA, Tayeh A, Loiseau A, Lombaert E, et al. (2011) Inbreeding Depression Is Purged in the Invasive Insect *Harmonia axyridis*. *Current Biology* 21: 424–427.
- Tayeh A, Estoup A, Hulbauer RA, Ravigne V, Goryacheva I, et al. (2013) Investigating the genetic load of an emblematic invasive species: the case of the invasive harlequin ladybird *Harmonia axyridis*. *Ecology and Evolution*.
- Reznik S, Vaghina NP (2011) Photoperiodic control of development and reproduction in *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Eur J Entomol* 108: 385–390.
- Stathas GJ, Eliopoulos PA, Kontodimas D, Giannopoulos J (2001) Parameters of reproductive activity in females of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology* 98: 547–549.
- Obata S (1987) Mating Behavior and Sperm Transfer in the Ladybird Beetle, *Harmonia axyridis* PALLAS: Coleoptera: Coccinellidae. *Applied entomology and zoology* 22: 434–442.

**Appendix S1 Details of the statistical model of competition.** (DOCX)

## Acknowledgments

We thank Denis Bourguet, Cathleen Thomas, Stefan Toepfer, Julie Turgeon, and G. Prinsloo for sampling efforts, and Wang Su, Tamsin Majerus, Wolf Blackenhorn and two anonymous reviewers for helpful comments. All molecular data were generated at the molecular genetic analysis technical facilities of the Environment and Biodiversity IFR 119 at Montpellier (France).

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: BF AE. Performed the experiments: GJML BF AE AL AT. Analyzed the data: GJML GLM BF AE. Contributed reagents/materials/analysis tools: GJML AT AL. Wrote the paper: GJML BF AE GLM NO.

46. Ueno H (1994) Intraspecific variation of P2 value in a coccinellid beetle, *Harmonia axyridis*. *Journal of Ethology* 12: 169–174.
47. Shen Z, Yang H, Yuan R, Zhang F (2011) An Investigation in Mating Behavior and Post-copulatory Guarding Behavior of *Harmonia axyridis* Pallas. *Journal of Mountain Agriculture and Biology* 1: 008.
48. Loiseau A, Malausa T, Lombaert E, Martin J-F, Estoup A (2009) Isolation and characterization of microsatellites in the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis* (Coleoptera, Coccinellidae), and cross species amplification within the family Coccinellidae. *Molecular Ecology Resources* 9: 934–937.
49. Danzmann R (1997) PROBMAX: a computer program for assigning unknown parentage in pedigree analysis from known genotypic pools of parents and progeny. *Journal of Heredity* 88: 333.
50. Jullien B, Salanié B (2000) Estimating preferences under risk: The case of racetrack bettors. *Journal of Political Economy* 108: 503–530.
51. Pardoe I, Simonton DK (2008) Applying discrete choice models to predict Academy Award winners. *Journal of the Royal Statistical Society: Series A (Statistics in Society)* 171: 375–394.
52. Whitlock MC, Schluter D (2009) Likelihood. *The analysis of biological data*: Roberts and Company Publishers Colorado. pp. 567–583.
53. R Core Team (2012) R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria.
54. Lee CE (2011) Evolution of invasive populations. In: Simberloff D, Rejmánek M, editors. *Encyclopedia of biological invasions*: Univ of California Press.
55. Vandenberg SG (1972) Assortative mating, or who marries whom? *Behavior genetics* 2: 127–157.
56. Barry KL, Holwell GI, Herberstein ME (2011) A paternity advantage for speedy males? Sperm precedence patterns and female re-mating frequencies in a sexually cannibalistic praying mantid. *Evolutionary Ecology* 25: 107–119.
57. Parker G (1978) Evolution of competitive mate searching. *Annual Review of Entomology* 23: 173–196.
58. Carroll SP, Salamon MH (1995) Variation in sexual selection on male body size within and between populations of the soapberry bug. *Animal behaviour* 50: 1463–1474.
59. Elam DR, Ridley CE, Goodell K, Ellstrand NC (2007) Population size and relatedness affect fitness of a self-incompatible invasive plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 549–552.
60. Kanarek AR, Webb CT (2010) Allee effects, adaptive evolution, and invasion success. *Evolutionary Applications* 3: 122–135.
61. Fiumera AC, Dumont BL, Clark AG (2005) Sperm competitive ability in *Drosophila melanogaster* associated with variation in male reproductive proteins. *Genetics* 169: 243–257.
62. House CM, Simmons LW (2006) Offensive and defensive sperm competition roles in the dung beetle *Onthophagus taurus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60: 131–136.
63. Snook RR (2005) Sperm in competition: not playing by the numbers. *Trends in Ecology & Evolution* 20: 46–53.
64. Birkhead T, Hunter F (1990) Mechanisms of sperm competition. *Trends in Ecology & Evolution* 5: 48–52.
65. Wang S, Michaud J, Zhang R, Liu S, Zhang F (2009) Seasonal cycles of assortative mating and reproductive behaviour in polymorphic populations of *Harmonia axyridis* in China. *Ecological Entomology* 34: 483–494.
66. Horvitz CC (2011) Demography. In: Simberloff D, Rejmánek M, editors. *Encyclopedia of biological invasions*: Univ of California Press. pp. 147–150.
67. Tobin PC, Whitmire SL, Johnson DM, Bjørnstad ON, Liebhold AM (2006) Invasion speed is affected by geographical variation in the strength of Allee effects. *Ecology Letters* 10: 36–43.
68. Calsbeek R, Bonneaud C, Prabhu S, Manoukis N, Smith TB (2007) Multiple paternity and sperm storage lead to increased genetic diversity in *Anolis* lizards. *Evolutionary Ecology Research* 9: 495–503.
69. de Carvalho D, Ingvarsson PK, Joseph J, Suter L, Sedivy C, et al. (2010) Admixture facilitates adaptation from standing variation in the European aspen (*Populus tremula* L.), a widespread forest tree. *Molecular Ecology* 19: 1638–1650.
70. Kolbe JJ, Glor RE, Schettino LR, Lara ADAC, Larson A, et al. (2007) Multiple sources, admixture, and genetic variation in introduced *Anolis* lizard populations. *Conservation Biology* 21: 1612–1625.
71. Moore J, Ali R (1984) Are dispersal and inbreeding avoidance related. *Anim Behav* 32: 94–112.
72. Pusey A, Wolf M (1996) Inbreeding avoidance in animals. *Trends in Ecology & Evolution* 11: 201–206.
73. Ueno H, Sato Y, Tsuchida K (1998) Colour-associated mating success in a polymorphic Ladybird Beetle, *Harmonia axyridis*. *Functional Ecology* 12: 757–761.
74. Charlesworth D, Charlesworth B (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237–268.

#### 4.2.2 Article 2

Polyandry in wild-caught ladybirds *Harmonia axyridis* (Coleoptera coccinellidae). Awad M., Laugier G. J. M., Loiseau A., et Nedvěd O. *Bulletin of Entomological Research*, (Soumis).

# Polyandry in wild-caught ladybirds *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae)

Mona Awad<sup>1,3</sup>, Guillaume J. M. Laugier<sup>2</sup>, Anne Loiseau<sup>2</sup>, Oldřich Nedvěd<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Science, University of South Bohemia, Branisovska 31, 37005 Ceske Budejovice, Czech Republic;

<sup>2</sup>CBGP UMR1062 INRA, Montpellier, France

<sup>3</sup>Institute of Entomology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Branisovska 31, 37005 Ceske Budejovice, Czech Republic

\*Corresponding author: Oldřich Nedvěd, Faculty of Science, University of South Bohemia, Branisovska 31, 37005 Ceske Budejovice, Czech Republic;  
nedved@prf.jcu.cz

## Abstract

Polyandry influences patterns of gene flow and levels of genetic diversity in animals and has implications for sexual conflict over mating. Despite this, surprisingly few studies of insects have quantitatively estimated levels of polyandry in the wild. Ladybird beetles are sexually very active and promiscuous, raising a question of the evolutionary importance of their multiple mating behaviour and mating before overwintering. We investigated the level of polyandry in a European invasive population of the ladybird *Harmonia axyridis* before and after overwintering. Our study using eight microsatellite loci provides the first direct evidence that females of *H. axyridis* are highly polyandrous in the wild and that they not only mate multiple times but also use the sperm from multiple males to fertilize their eggs. Three types of values (minimum number of males, estimated number of males and effective number of males contributing to progeny) were about two times higher in the spring sample (2.9, 5.2, 3.1), in the peak of their reproduction period, than in preceding autumn sample (1.6, 2.8, 1.6) of the same generation in the Czech Republic. Values found in spring sample from southern France were smaller (1.8, 2.3, 1.5) probably due to lower population density in the front of invasion.

**Keywords:** promiscuity; paternity; multiple mating; fertilization; overwintering; reproduction

## Introduction

Knowledge of the genealogical relationships among individuals in a population is important in many research areas, mainly social behaviour, mating systems, and reproductive allocation in animals. Direct observation of all female matings in the wild is logistically difficult and sometimes underestimates true values. Conversely, polyandry does not necessarily imply multiple paternity. In addition to vertebrates, mating systems and mating behaviour in the wild are well studied in insects (Thornhill & Alcock, 1983; Choe & Crespi, 1997; Simmons, 2001). As such, insects have played an important role in developing and testing ideas about sexual selection and sexual conflict (Arnqvist & Rowe, 2005; Chapman, 2006; Haapaniemi & Pamilo, 2012).

In addition to natural selection, Darwin (1871) explained some characteristics of organisms as a result of sexual selection through male competition and female choice. The first species, in which heritable preference of some females for males of particular genotype (melanic colouration) was described, was the two spot ladybird (*Adalia bipunctata*) (Majerus, 2009). Assortative mating was observed also in *H. axyridis* and it varied in seasonal cycles (Wang et al., 2009).

## Multiple mating

One aspect of reproduction is the number of times female mates, and whether those matings are with the same or different males (i.e. multiple mating vs. true polyandry). The level of polyandry is an important variable for understanding the role of females in mating competition, including post-mating, pre-fertilization competition (Eberhard, 1996). Female multiple mating is prevalent

in nature, even when males provide no material benefits such as food or parental care to females (Arnqvist & Nilsson, 2000). Multiple mating in such cases is unexpected because it carries costs such as energy and time spent for mating (Watson et al., 1998). There is increased risk of predation, parasitization and infection during mating (Yasui, 1998) and decreased longevity (Omkar & Mishra, 2005).

## Ladybird reproductive biology

The reproductive biology of ladybirds is characterized by highly promiscuous males and females (Hodek & Ceryngier, 2000). Female ladybirds, like many other insects, store the sperm in spermatheca. Following multiple mating, the spermatheca contains contribution from different males, and the sperm have to compete for the opportunity to fertilize the eggs. Females need to mate only at such a frequency as to ensure satisfactory fertilization rate. It was demonstrated in experiments that females of ladybird *Harmonia axyridis* (Pallas) collected at the overwintering sites before hibernation contained a sufficient amount of sperm to fertilize their eggs for at least three months without further access to males (Awad et al., 2013). However, females of *Adalia bipunctata* (L.) mate about 10 times more than needed for fertilization of all their eggs (Majerus, 2009). Such behaviour may represent a bet-hedging strategy and provides conditions for sperm competition.

From 12 to 41% of the overwintering females of *H. axyridis* in the USA, North Carolina (Nalepa et al., 1996) and 20 to 60% of the autumn females in the Czech Republic (Nedvědová et al., 2013) were mated and had a full spermatheca. Individuals of a number of other ladybird species also mate before diapause in autumn but do not lay eggs until the next spring: 28 to 47% of

*Coccinella septempunctata* L. females had sperm in their spermatheca at overwintering site (Ceryngier et al., 1992; Hodek & Ceryngier, 2000; Ceryngier et al., 2004). In *Coccinella quinquepunctata* L., the proportion of fertilized females was low (10%) in September, but high (80%) in January (Hodek & Ceryngier, 2000), indicating that females mated at the overwintering sites. Two of 15 diapausing females of *Adalia bipunctata* in Belgium had stored sperm (Arnaud et al., 2003).

#### **Multiple mating and paternity in *Adalia bipunctata***

Early studies on paternity in ladybirds relied on genetic markers visible as phenotype of the adults, namely the colour pattern in polymorphic *A. bipunctata* (de Jong et al., 1993, 1998). A conclusion of precedence of the last male in the early study was rejected in the later one.

Multiple paternity was also observed in *A. bipunctata* in the field (de Jong et al., 1998). The proportion of individuals of the respective colour forms differed from the ratio expected by the rule of Mendel (1866) if the last male (whose phenotype was known) sperm prevailed. However, the number of potential fathers was not estimated.

#### **Multiple mating and paternity in *Harmonia axyridis***

Direct observation of marked individuals of *H. axyridis* in the field in Japan probably underestimated their mating frequency – only 14% of individuals were observed mating multiple times and 3–4 matings were rare in both the spring and summer generations (Osawa, 1994). Such observations also do not show how many fathers will contribute to the progeny.

Multiple fertilization in field-collected females of *H. axyridis* in spring in Japan was indirectly measured by comparison of variances of frequencies of alleles defining colour pattern within and among progeny from individual egg clutches (Ueno, 1996). The procedure described by Wilson (1981) indicated 3.8 fathers per egg clutch. The model makes an assumption that sperm from all males contributes equally to the progeny, which underestimates the real number of fathers. Further source of underestimation was using only a single egg clutch from each female.

Precedence of the last of two males (P2-value) was estimated as 0.55 in laboratory experiment but proportions of usage of sperm from more than two males were not studied (Ueno, 1994). A variety of models of sperm displacement in *H. axyridis* was tested and it was concluded that a flushing mechanism was included. The prevalence of progeny of an individual male thus should be controlled by ejaculate size and order of the male.

#### **Molecular methods in paternity estimation**

Molecular genetic studies used for paternity analysis in ladybirds were reviewed by Sloggett and Honěk (2012). These have included allozyme analysis (Ransford, 1997), Restriction Fragment Length Polymorphism and Amplified Fragment Length Polymorphism (Hadrill, 2001), and microsatellite analysis (Hadrill et al., 2008). These studies were all limited to *A. bipunctata*.

Microsatellites loci with their high allelic diversity within wild populations are particularly useful markers for studies of multiple mating and levels of promiscuity. Hadrill et al. (2008) used three extremely variable microsatellite loci to study mating

frequency and paternity in *A. bipunctata* and estimated the number of fathers for individual egg clutch as 2.5–3.5.

### **Aim of the study**

We estimated the level of polyandry (frequency of mixed paternity broods and the number of fathers contributing to mixed paternity broods) in ladybirds in the field. To avoid some of the weaknesses of methods mentioned above, we used eight highly variable microsatellite loci for genotyping the progeny of wild-caught females, analysing two egg clutches separately. We compared two geographically distant populations of the alien invasive ladybird *H. axyridis* to see the importance of distinct invasion history on the pattern of paternity. We also compared two samples within one population which differed in the season of sampling to estimate the importance of mating of ladybirds before overwintering.

### **Materials and Methods**

*H. axyridis* was first recorded in the Czech Republic in 2006 (Brown et al., 2008a; Špryňar, 2008), and in 2009 it has been observed in most areas of the country (Nedvěd, 2009). It has two to three overlapping generations per year; late adults emerge in October and November when a heterogeneous population flies to overwintering sites. Peak breeding is in early June. In south-eastern France, this species established recently (about 2010; Ternois et al., 2012).

#### **Collecting and storage of beetles**

In October 2011, migrating adults of *H. axyridis* were collected in České Budějovice, South Bohemia, Czech Republic (48°58'38"N, 14°27'03"E) on building walls. Beetles were stored in single-sex groups in Petri dishes at 5–7°C. The dishes were lined

with wet filter paper. This group is called autumn sample.

In May 2012, reproducing females of *H. axyridis* were collected on ornamental shrubs in České Budějovice (48°59'21"N, 14°27'10"E). The beetles were individually separated into Petri dishes at 20°C. This group is called spring sample.

A French sample (30 females) was collected on an ornamental tree (*Albizia* sp.) in a residential area near Montpellier, Languedoc-Roussillon, France (43°40'30"N; 3°51'7.76"E) in June and July 2011. Individuals were sexed in the field and females were brought to the CBGP laboratory of Montpellier.

#### **Breeding**

Thirty females from each of the two Czech samples (autumn and spring) were randomly selected and were housed individually in 9cm Petri dishes at 20°C and a 16L:8D photoperiod. They were fed with excess of pea aphids (*Acyrtosiphon pisum*). Eggs were collected daily and larvae from the first and fifth clutches laid by a given female were raised to the fourth instar at the same conditions. Larvae were then killed and preserved in ethanol and stored at –20 °C for molecular analysis. Females were also frozen until DNA extraction. Females that did not lay any eggs or laid unfertilized eggs were discarded. We used all 30 females from each sample and eight larvae from both the first and the fifth egg clutches of each female for the subsequent analysis.

Females from the French population were placed individually in Petri dishes of 5cm diameter and fed with excess ionised *Ephestia kuehniella* eggs. Eggs from the first clutch were collected. A second clutch was collected ten days later. Larvae from all these clutches were reared until the second larval stage in the same conditions (except

9cm dishes), then killed and stored in ethanol for molecular analysis.

### DNA analysis

Genomic DNA was extracted from the females and their progeny using Chelex-based protocol (Estoup et al., 1996). All individuals were genotyped at eight microsatellite loci (Ha 244, Ha 627, Ha 201, Ha 267, Ha 555, Ha 234, Ha 215, Ha 605) that were previously shown to be highly variable (Loiseau et al., 2009). Multiplex PCR were performed using the QIAGEN Multiplex Kit and thermocycler Mastercycler (Eppendorf). 2 $\mu$ l of genomic DNA were added to the 8 $\mu$ l of mix consisting of 1X QIAGEN buffer, water and primers at a final concentration of 0.2  $\mu$ M. PCR conditions were as follows: initial denaturation at 95°C for 15 min; 35 cycles of denaturation (94°C, 30 s), annealing (57°C, 30 s), and elongation 72°C, 1 min); final extension at 60°C for 30 min. Diluted (1:50, 2 $\mu$ l) PCR product was mixed with 0.25  $\mu$ l of 500 LIZ size standard (Applied

Biosystems) and electrophoresed using an ABI PRISM 3130 sequencer (Applied Biosystems).

### Paternity analysis and statistical analysis

Genetic profiles were analysed with GeneMapper software version 4.0 (Applied Biosystems). Data formatting was done with CONVERT 1.31 (Glaubitz, 2004). We assessed the number of fathers by two methods. The minimum number of males that contributed to the progeny of each female was counted as half (rounded up) of the number of non-maternal alleles per locus among all of her offspring (both clutches pooled). For autumn sample for which the genotype of the mother was unavailable, females were all assumed to be heterozygous, and the number of offspring alleles was subtracted by two.

The number of paternal alleles present in each clutch was also estimated by reconstructing parental genotypes and assigning it to each larva using the software Colony (Jones & Wang, 2009), with two

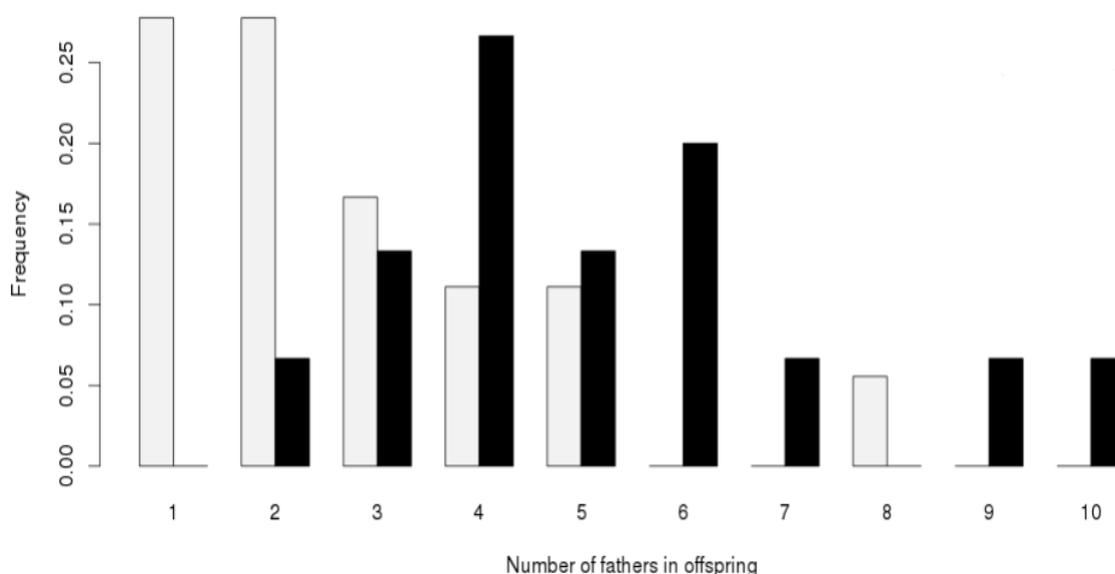


Fig. 1: Distribution of frequencies of the level of polyandry (estimated number of males contributing to the progeny), for each female from the two Czech samples (white bar = autumn, black bar = spring).

medium-length runs per sample. Null allele frequency was estimated with freeNA (Chapuis & Estoup, 2007), for each sample using 2000 bootstrap re-sampling, and provided for paternity assessment.

Although none of the above method reflects the proportion of paternity, a highly unbalanced paternity contribution of paternity is meaningful. We hence calculated the effective number of fathers (Garcia et al., 2005) within each clutch using the formula  $E_{n,j} = 1/\sum_i(p_{ij}^2)$ , where  $E_{n,j}$  is the effective number of father of female  $j$  and  $p_{ij}$  the proportion of paternity of male  $i$  of female  $j$ . This effective number is analogous to the calculation of species diversity in community ecology instead of species richness if the numbers of individuals of particular species are far from being equal. Statistical analysis was conducted using the R statistical software (R Core Team, 2012)

## Results

### Paternity in the wild

The proportion of females that were

fertilized in the autumn sample was 50%, while all spring females laid fertilized eggs. Most fertilized females from the autumn sample laid eggs that were fertilized by one or two males. A few females showed a higher level of polyandry: the maximum estimated number of males was 8 (Fig. 1). We estimated that most females of the Czech spring sample laid eggs that were fertilized by four different males. The values ranged from 2 to 10 males (Fig. 1).

In the autumn sample, the estimated number of males per female was lower than in spring sample (Table 1). This difference was significant (Table 2). The same significant trend exists for the effective number of fathers (Tables 1, 2).

We estimated that on average females from the Czech spring sample produced offspring fathered by a significantly greater number of males than the ones from French spring sample (Tables 1, 2). Effective number of fathers was also greater in Czech spring sample than in French one (Tables 1, 2). The estimated and effective numbers of fathers for the first and fifth clutches

Table 1: Levels of polyandry, i.e. number of males contributing to the progeny of individual wild-caught females of the European invasive population of the ladybird *Harmonia axyridis*

Population	Sample	Clutches	N	Number of fathers per mother		
				Minimum	Estimated	Effective
Czech Republic	Autumn	All	18	1.6 ± 0.15	2.78 ± 0.44	1.57 ± 0.18
		1st	18	-	2.55 ± 0.40	1.57 ± 0.17
		5th	15	-	1.60 ± 0.27	1.38 ± 0.19
	Spring	All	15	2.85 ± 0.22	5.20 ± 0.60	3.13 ± 0.44
		1st	14	-	3.29 ± 0.47	2.57 ± 0.39
		5th	14	-	3.92 ± 0.43	3.03 ± 0.74
Southern France	Spring	All	20	1.84 ± 0.15	2.25 ± 0.28	1.54 ± 0.13
		1st	20	-	1.80 ± 0.24	1.37 ± 0.11
		5th	20	-	1.85 ± 0.21	1.52 ± 0.14

Values are given as mean ± SE.

Table 2: Statistical tests for differences in polyandry.

Tested difference	Type of test	Test statistics	Probability
<b>Spring vs. autumn Czech populations</b>			
Estimated number of males	Wilcoxon rank sum test	$W = 47.5$	$P = 1.5 \times 10^{-3}$
Effective number of males	Wilcoxon rank sum test	$W = 6.5$	$P = 1.4 \times 10^{-3}$
<b>Czech vs. French spring populations</b>			
Estimated number of males	Wilcoxon rank sum test	$W = 269.5$	$P = 5.73 \times 10^{-5}$
Effective number of males	Wilcoxon rank sum test	$W = 259.5$	$P = 2.6 \times 10^{-4}$
<b>Early vs. late clutches (Estimated number of males)</b>			
Czech autumn pop.	Wilcoxon rank sum test (paired)	$V = 25.5$	$P = 0.06$
Czech spring population	Wilcoxon rank sum test (paired)	$V = 10.5$	$P = 0.09$
French spring population	Wilcoxon rank sum test (paired)	$V = 25$	$P = 0.84$
<b>Early vs. late clutches (Effective number of males)</b>			
Czech autumn pop.	Wilcoxon rank sum test (paired)	$V = 30.5$	$P = 0.37$
Czech spring population	Wilcoxon rank sum test (paired)	$V = 16$	$P = 0.08$
French spring population	Wilcoxon rank sum test (paired)	$V = 33$	$P = 0.40$

separately were not significantly different (Tables 1, 2).

## Discussion

### Paternity in the wild

This study provides direct evidence that females of *H. axyridis* are highly polyandrous in the wild and that they not only mate multiple times but also use the sperm from multiple males to fertilize their eggs. Previous indirect measurement of the level of polyandry in field-collected *H. axyridis* in Japan estimated from variance of frequency of alleles for diverse colour patterns indicated 3.8 fathers per individual egg clutch (Ueno 1996). It is very close to our estimation for the spring sample in the Czech Republic (3.3 to 3.9 males). Thus it seems that the invasive population has similar level of multiple fertilization as the native one.

The model used for Japanese data was based on the assumption that all males contributed equally to the progeny, while our method measures directly the number of fathers even when they contribute unequally.

We thus calculated the effective number of fathers that better describes the evolutionary significance of observed polyandry. The effective number of fathers was 1.28 times less than the simple estimated number, meaning that the contribution of all males for paternity was not balanced.

Explanation preferred by Ueno (1994) for identifying the mechanism responsible for unequal male contribution was flushing of the sperm of the preceding male by the later mating male. However, in our parallel study (Awad et al., unpublished) we found precedence of the first mating male over the second male, questioning the flushing hypothesis. Another mechanism was found by Michaud et al. (2013) in *Coccinella transversalis* – progeny of virgin fathers had higher rates of survival (hatching rate of eggs and larval survival) than progeny of five times mated fathers.

The main source of underestimation of the level of polyandry by both methods (Ueno's variance of frequency of colour pattern related alleles and our frequency of microsatellites) would be caused by using a single egg clutch from each female. By combining progeny from two clutches we

found that the total number of fathers was 1.4 times larger than in an average single clutch. However, this increase of the number of fathers was mainly due to small contributions of additional males. The effective number of fathers thus increased only 1.1 times after merging the two clutches. By combining data from more egg clutches, we might find even a slightly higher total number of fathers, but not higher effective number. While using two distant clutches (1<sup>st</sup> and 5<sup>th</sup>), not two subsequent ones, we already exploited most of the genetic variability of mixed sperm.

Both analytical studies (Ueno, 1996 and ours) showed strong underestimation of the mating frequency and multiple mating by direct observation of marked individuals (Osawa, 1994). While observation showed rarely 3 and more matings, we found that 5 fathers is a common phenomenon.

### Geographical variation

Due to the high population density of the invasive beetle *H. axyridis* in the area of the study in the Czech Republic (about one beetle per square meter in spring), all females had an opportunity to re-mate several times and achieve high level of polyandry (5.2 fathers). The spring sample of the southern French population, where the ladybird beetle arrived in about 2010 (Ternois, 2012), showed lower values (2.3 estimated fathers) than in the Czech population (5.2). These small values, similar to the autumn sample in the Czech Republic, can be explained by the initial low population density and is expected to increase in subsequent years. By comparison, the number of paternal contributions in *A. bipunctata* in spring in Cambridge and Paris (minimum 2.5, estimated 3.7, Haddrill *et al.* 2008) are also smaller probably due to lower population

density of this species, that will probably further decrease due to the decline of this native species due to the invasion of *H. axyridis* (Roy *et al.* 2012).

### Seasonal variation

All three types of values (minimum number of males, estimated number of males and effective number of males contributing to progeny) were almost twice as high in the spring sample, in the peak of the reproductive period, than in autumn females. Females of the same generation had an opportunity to increase the level of polyandry from 2.8, measured for autumn sample, to 5.2.

In fact, both our samples of *H. axyridis* contained a mixture of females of several generations. The sample collected during autumn migration may contain both young females that hatched from pupa a short time (less than one month) before migration and older females of the preceding generation. Unlike other ladybirds, *H. axyridis* has been reported to reproduce also late in the season (Brown *et al.* 2008b). A substantial proportion of the new generation does not mate before migration or only mate once, resulting in a single paternity of their progeny. Older females that have already regularly reproduced and mated multiple times formed a smaller proportion of our autumn sample. Since *H. axyridis* is a long lived beetle that can potentially live two to three seasons (Savoiskaya 1970), older females may highly increase the estimated level of polyandry of the autumn sample. It would be possible to discriminate these females according to their deep red colouration in comparison of light red-orange pigmentation of elytra of the new generation.

The trend for a decrease in number of fathers in late clutches (from 2.6 to 1.6) for

autumn females might be due to the depletion of sperm, and we expect it to increase if the female mated again.

### **Fitness consequences**

The differences between estimated number and effective number of fathers indicate that the proportion of paternity is not the same for all males. Variation of paternity percentage may come from sperm competition (Parker, 1990), from higher virility of virgin males than several times mated males (Michaud et al., 2013) or from cryptic female choice (Eberhard & Cordero, 1995).

Both singly mated young females and multiply mated older females of *H. axyridis* may contribute to the rapid spread of the species by the means of accident transportation of a single female to another place, since a single mating is sufficient for lifetime fecundity of about 1200 eggs and high fertilization rate (Awad et al., 2013). Older females containing the sperm of several males would establish a more genetically diverse population. Together with their high dispersal abilities, these polyandrous females have a prominent role in maintaining genetic homogeneity across large geographic distances (cf. Kuepper et al., 2012). High genetic diversity in the invasive population may contribute to the success of the species in new areas (cf. Tayeh et al., 2012).

The mating frequency and level of polyandry need not significantly influence number of progeny of female ladybirds. Haddrill *et al.* (2007) failed to show that females of *A. bipunctata* benefit consistently from polyandry. Lifetime fecundity and fertility did not differ between singly mated, repeated mated (with one male) and multiply mated (with different males) females. It may be the genetic variability of progeny that is

advantageous and maintains the promiscuity in ladybirds. Because the number of fathers was similar to the number of mates, it was suggested that females of *A. bipunctata* had little influence on paternity (Haddrill et al., 2008).

Flushing mechanism that would give advantage to the last mating male was proposed by Ueno (1994) and supported by early results by de Jong et al. (1993) but questioned by later study by de Jong et al. (1998) and by our parallel study (Awad et al., unpublished). Sperm mixing that occurs within multiply mated ladybird females (de Jong et al., 1998; Haddrill et al., 2008) suggest that males should prefer female virgins over previously mated females. On the other hand, virgin males which have higher virility (Michaud et al., 2013) may be preferred by females. Our study represents an early stage of understanding general ladybird high sexual activity.

### **Acknowledgements**

The study was supported by grant number QH82047 from the Ministry of Agriculture of the Czech Republic and by a grant from the Agropolis Fondation (RTRA – Montpellier, BIOFIS project). All molecular data were generated at the molecular genetic analysis technical facilities of the Environment and Biodiversity IFR 119 at Montpellier (France). We are grateful to John Sloggett, Ivo Hodek and Pavel Kindlmann for their valuable comments and corrections of the manuscript.

### **References**

- Arnaud, L., Spinneux, Y. & Haubruge, E.** (2003) Preliminary observations of sperm storage in *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae): sperm size and number. *Applied*

- Entomology and Zoology* **38**, 301–304.
- Arnqvist, G. & Nilsson, T.** (2000) The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Animal Behaviour* **60**, 145–164.
- Arnqvist, G. & Rowe, L.** (2005) *Sexual Conflict*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Awad, M., Kalushkov, P., Nedvědová, T. & Nedvěd, O.** (2013) Fecundity and fertility of ladybird beetle *Harmonia axyridis* after a prolonged cold storage. *BioControl* **58**, 657–666.
- Brown, P.M.J., Adriaens, T., Bathon, H., Cuppen, J., Goldarazena, A., Hägg, T., Kenis, M., Klausnitzer, B.E.M., Kovář, I., Loomans, A.J.M., Majerus, M.E.N., Nedvěd, O., Pedersen, J., Rabitsch, W., Roy, H.E., Ternois, V., Zakharov, I.A. & Roy, D.B.** (2008a) *Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid. *BioControl* **53**, 5–21.
- Brown, P.M.J., Roy, H.E., Rothery, P., Roy, D.B., Ware, R.L. & Majerus, M.E.N.** (2008b) *Harmonia axyridis* in Great Britain: analysis of the spread and distribution of a non-native coccinellid. *BioControl* **53**, 55–67.
- Ceryngier, P., Havelka, J. & Hodek, I.** (2004) Mating and activity of gonads in pre-dormant and dormant ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae). *Invertebrate Reproduction and Development* **45**, 127–135.
- Ceryngier, P., Kindlmann, P., Havelka, J., Dostalkova, I., Brunnhofer, V. & Hodek, I.** (1992) Effect of food, parasitization, photoperiod and temperature on gonads and sexual activity of males of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera, Coccinellidae) in autumn. *Acta Entomologica Bohemoslovaca* **89**, 97–106.
- Chapman, T.** (2006) Evolutionary conflicts of interest between males and females. *Current Biology* **16**, 744–754.
- Chapuis, M. & Estoup, A.** (2007) Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* **24**, 621–631.
- Choe, J.C. & Crespi, B.J.** (1997) *The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Darwin, C.** (1871) *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*. John Murray, London.
- Eberhard, W.G.** (1996) *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Eberhard, W.G. & Cordero, C.** (1995) Sexual selection by cryptic female choice on male seminal products – a new bridge between sexual selection and reproductive physiology. *Trends in Ecology and Evolution* **10**, 493–496.
- Estoup, A., Largiader, C.R., Perrot, E. & Chourrout, D.** (1996) Rapid one-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **5**, 295–298.
- Fitzsimmons, N.N.** (1998) Single paternity of clutches and sperm storage in the promiscuous green turtle (*Chelonia mydas*). *Molecular Ecology* **7**, 575–584.
- Garcia, C., Arroyo, J.M., Godoy, J.A. & Jordano, P.** (2005) Mating patterns,

- pollen dispersal, and the ecological maternal neighbourhood in a *Prunus mahaleb* L. population. *Molecular Ecology* **14**, 1821–1830.
- Glaubitz, J.** (2004) Convert: A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Molecular Ecology Notes* **4**, 309–310.
- Haapaniemi, K. & Pamilo, P.** (2012) Reproductive conflicts in polyandrous and polygynous ant *Formica sanguinea*. *Molecular Ecology* **21**, 421–430.
- Hadrill, P.R.** (2001) The development and use of molecular genetic markers to study sexual selection and population genetics in the two-spot ladybird, *Adalia bipunctata* (L.). Unpublished PhD thesis, University of Cambridge, Cambridge, UK.
- Hadrill, P.R., Shuker, D.M., Mayes, S. & Majerus, M.E.N.** (2007) Temporal effects of multiple mating on components of fitness in the two-spot ladybird, *Adalia bipunctata* (Coleoptera : Coccinellidae). *European Journal of Entomology* **104**, 393–398.
- Hadrill, P.R., Shuker, D.M., Amos, W., Majerus, M.E.N. & Mayes, S.** (2008) Female multiple mating in wild and laboratory populations of the two-spot ladybird, *Adalia bipunctata*. *Molecular Ecology* **17**, 3189–3197.
- Hodek, I. & Ceryngier, P.** (2000) Sexual activity in Coccinellidae (Coleoptera): a review. *European Journal of Entomology* **97**, 449–456.
- Jones, O. & Wang, J.** (2009) Colony: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources* **10**, 551–555.
- de Jong, P.W., Verhoog, M.D. & Brakefield, P.M.** (1993) Sperm competition and melanic polymorphism in the 2-spot ladybird, *Adalia bipunctata* (Coleoptera, Coccinellidae). *Heredity* **70**, 172–178.
- de Jong, P.W., Brakefield, P.M. & Geerinck, B.P.** (1998) The effect of female mating history on sperm precedence in the two-spot ladybird, *Adalia bipunctata* (Coleoptera, Coccinellidae). *Behavioral Ecology* **9**, 559–565.
- Kuepper, C., Edwards, S.V., Kosztolanyi, A., Alrashidi, M., Burke, T., Herrmann, P., Arguelles-Tico, A., Amat, J.A., Amezian, M., Rocha, A., Hotker, H., Ivanov, A., Chernicko, J. & Szekely, T.** (2012) High gene flow on a continental scale in the polyandrous Kentish plover *Charadrius alexandrinus*. *Molecular Ecology* **21**, 5864–5879.
- Loiseau, A., Malausa, T., Lombaert, E., Martin, J. & Estoup, A.** (2009) Isolation and characterization of microsatellites in the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis* (Coleoptera, Coccinellidae), and cross-species amplification within the family Coccinellidae. *Permanent Genetic Resources Note* 934–937.
- Majerus, M.E.N.** (2009) Ladybugs. In: Resh, V.H., Cardé, R.T.: *Encyclopedia of Insects*. Academic Press. Second edition. pp. 547–551.
- Mendel, J.G.** (1866) Versuche über Pflanzenhybriden. *Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn*, Bd. IV für das Jahr, 1865 Abhandlungen: 3–47.

- Michaud, J.P., Bista, M., Mishra, G. & Omkar** (2013) Sexual activity diminishes male virility in two Coccinella species: consequences for female fertility and progeny development. *Bulletin of Entomological Research* **103**, 570–577.
- Nalepa, C.A., Kidd, K.A. & Ahlstrom, K.R.** (1996) Biology of *Harmonia axyridis* (Coleoptera; Coccinellidae) in winter aggregations. *Annals of the Entomological Society of America* **89**, 681–685.
- Nedvěd, O.** (2009) Spread and distribution of a non-native coccinellid *Harmonia axyridis* in Europe. In: Soldán T, Papáček M, Boháč J (Eds) *Communications and abstracts, SIEEC 21*. University of South Bohemia, České Budějovice, 64–65.
- Nedvěďová, T., Awad, M., Ungerová, D. & Nedvěd, O.** (2013) Characteristics of ladybird *Harmonia axyridis* during autumn migration. *IOBC Bulletin*, **8x**, in press.
- Omkar & Mishra, G.** (2005) Mating in aphidophagous ladybirds: costs and benefits. *Journal of Applied Entomology* **129**, 32–436.
- Osawa, N.** (1994) The occurrence of multiple mating in a wild population of the ladybird beetle *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera, Coccinellidae). *Journal of Ethology* **12**, 63–66.
- Parker, G.A.** (1990) Sperm competition games: raffles and roles. *Proceedings of the Royal Society B* **242**, 120–126.
- R Core Team** (2012) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Ransford, M.O.** (1997) *Sperm competition in the 2-spot ladybird, Adalia bipunctata*. Unpublished PhD thesis, University of Cambridge, Cambridge, UK.
- Roy, H.E., Adriaens, T., Isaac, N., Kenis, M., Onkelinx, T., San Martin, G., Brown, P.M.J., Hautier, L., Poland, R., Roy, D.B., Comont, R., Eschen, R., Frost, R., Zindel, R., Van Vlaenderen, J., Nedvěd, O., Ravn, H.P., Grégoire, J.C., de Biseau, J.-C. & Maes, D.** (2012) Invasive alien predator causes rapid declines of native European ladybirds. *Diversity and Distribution* **18**, 717–725.
- Sardell, R.J., Arcese, P., Keller, L.F. & Reid, J.M.** (2012) Are there indirect fitness benefits of female extra-pair reproduction? Lifetime reproductive success of within-pair and extra-pair offspring. *American Naturalist* **179**, 779–793.
- Savoiskaya, G.I.** (1970) Coccinellids of the Alma-Ata reserve. *Trudy Alma-Atinskogo Gosudarstvenogo Zapovednika* **9**, 163–187. (In Russian.)
- Simmons, L.W.** (2001) *Sperm Competition and its Evolutionary Consequences in the Insects*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Sloggett, J.J. & Honěk, A.** (2012) Genetic Studies. In: Hodek I, van Emden H, Honěk A: *Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae)*. Wiley-Blackwell, pp. 13–53.
- Špryňar, P.** (2008) Faunistic records from the Czech Republic – 252. Coleoptera: Coccinellidae. *Klapalekiana* **44**, 77–79.

- Tayeh, A., Estoup, A., Laugier, G., Loiseau, A., Turgeon, J., Toepfer, S. & Facon, B.** (2012) Evolution in biocontrol strains: insight from the harlequin ladybird *Harmonia axyridis*. *Evolutionary Applications* **5**, 481–488.
- Ternois, V. et coll.** (2012) Observatoire permanent pour le suivi de la Coccinelle asiatique *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) en France. [http://pagesperso-orange.fr/vinc.ternois/cote\\_nature/Harmonia\\_axyridis/](http://pagesperso-orange.fr/vinc.ternois/cote_nature/Harmonia_axyridis/) (Accessed 4<sup>th</sup> April 2013)
- Thornhill, R. & Alcock, J.** (1983) *The Evolution of Insect Mating Systems*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Ueno, H.** (1994) Intraspecific variation of P2 value in a coccinellid beetle, *Harmonia axyridis*. *Journal of Ethology* **12**, 169–174.
- Ueno, H.** (1996) Estimate of multiple insemination in a natural population of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Applied Entomology and Zoology* **31**, 621–623.
- Wang, S., Michaud, J.P., Zhang, R.Z., Zhang, F. & Liu, S.** (2009) Seasonal cycles of assortative mating and reproductive behaviour in polymorphic populations of *Harmonia axyridis* in China. *Ecological Entomology* **34**, 483–494.
- Watson, P.J., Arnqvist, G. & Stallmann, R.R.** (1998) Sexual conflict and the energetic costs of mating and mate choice in water striders. *American Naturalist* **151**, 46–58.
- Wilson, J.** (1981) Estimating the degree of polyandry in natural-populations. *Evolution* **35**, 664–673.
- Yasui, Y.** (1998) The ‘genetic benefits’ of female multiple mating reconsidered. *Trends in Ecology and Evolution* **13**, 246–250.



Les résultats obtenus au cours de cette thèse contribuent à faire avancer la recherche dans le domaine de l'évolution dans le contexte d'une invasion, en ouvrant plus particulièrement la voie à une approche composite mêlant l'étude du fardeau génétique et celle des traits liés à la reproduction.

Dans ce dernier chapitre, je cherche à assembler les pièces du puzzle et à avoir une vision d'ensemble sur les changements évolutifs en contexte d'invasion. Pour cela, je vais dans un premier temps discuter des conséquences sur le succès d'une invasion des principaux résultats de cette thèse, à savoir (i) l'évolution rapide des traits liés à la reproduction chez une espèce envahissante (le jeu de l'amour), et (ii) l'importance des événements stochastiques dans le succès d'une invasion (le jeu de hasard).

Dans un second temps, je me pencherai particulièrement sur certains résultats et sur les perspectives qu'ils soulèvent. Les points que j'ai choisi de discuter ici concernent (i) le rôle potentiel du temps de maturation en tant que mécanisme d'évitement de la consanguinité chez la coccinelle asiatique, (ii) celui de la polyandrie dans une invasion biologique, et (iii) l'utilisation de modèles génétiques en biologie des invasions.

## 5.1 LE JEU DE L'AMOUR ET DU HASARD<sup>1</sup> DANS LES INVASIONS BIOLOGIQUES

### 5.1.1 Jeu de l'amour dans les invasions biologiques : évolution des traits liés à la reproduction et leur rôle potentiel dans les invasions biologiques

Un des axes de cette thèse concerne l'évolution du fardeau au cours d'un goulot étranglement. Les résultats du chapitre 3 montrent que la durée du goulot est potentiellement un paramètre capital pour le succès d'une invasion. Cette durée peut être altérée par différents facteurs, dont les traits d'histoire de vie. J'ai montré dans le chapitre 4 que certains traits liés à la reproduction chez *H. axyridis* peuvent présenter des différences entre les populations de l'aire native et celles de l'aire envahie. En particulier, l'augmentation de la fécondité des femelles dans l'aire envahissante peut avoir été un facteur clef dans le succès de l'invasion de cette espèce au travers d'une augmentation du taux de croissance des populations introduites. Ce changement est susceptible de réduire l'amplitude et l'intensité des goulots d'étranglements démographiques subis par la coccinelle asiatique lors de ses introductions, limitant ainsi la perte de diversité génétique (utile en termes adaptatifs) et le risque de fixation d'allèles délétères dans la population. Le lien direct entre ce changement phénotypique et l'intensité du goulot reste cependant à préciser chez cette espèce.

---

1. Référence à la pièce de Marivaux (1730)

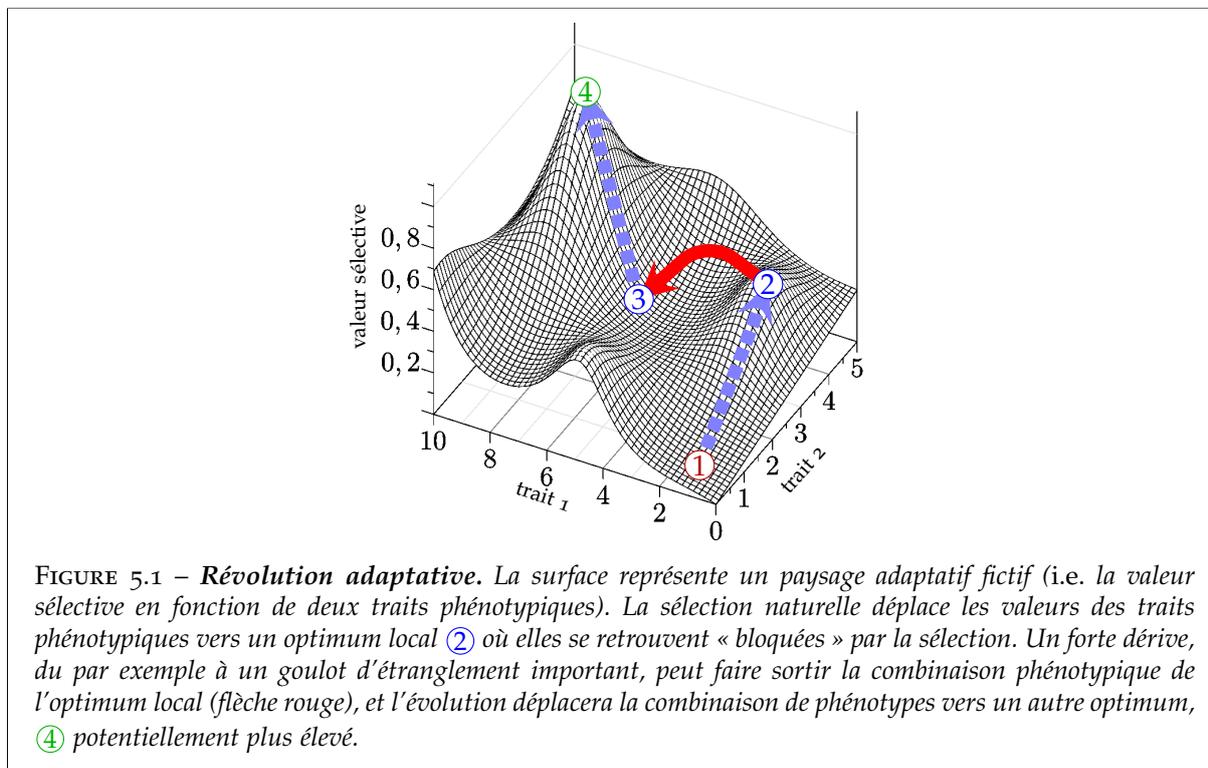
En parallèle, comme je l'ai évoqué dans le chapitre 4, certains traits liés à la reproduction sont susceptibles d'influencer l'efficacité de l'admixture entre populations. Bien que je ne me sois guère étendu sur cet évènement démo-génétique au cours de cette thèse, la littérature lui attribue un rôle potentiellement important dans le succès d'une invasion (voir encadré 1.1 et Facon *et al.* 2006, Roman et Darling 2007, Wilson *et al.* 2009). Je montre dans l'article 1 de cette thèse que la coccinelle asiatique ne présente pas de tendance à la reproduction intra-population, ni avant la copulation, ni au travers de choix cryptiques des femelles. Un tel comportement aurait pour effet de ralentir l'admixture entre populations. Plus intéressant encore, les mâles provenant des populations envahissantes gagnent la compétition intra-sexuelle par rapport aux mâles natifs. Ceci suggère qu'en cas d'évènements d'introduction successifs, l'admixture entre les populations précédemment introduites et des populations fraîchement arrivées pourrait être très rapide, même si le flux de gène est majoritairement à sens unique. Ces croisements sont susceptibles d'avoir des effets importants sur les traits phénotypiques des hybrides, comme le montrent par exemple Facon *et al.* (2011a) et Turgeon *et al.* (2011) chez la coccinelle asiatique, en particulier lorsque l'admixture implique des individus de lutte biologique (mais voir Tayeh *et al.* 2013).

Dans le même esprit, un niveau de polyandrie important, tel qu'observé dans les populations envahissantes d'*H. axyridis* (article 2) peut aussi contribuer à favoriser l'admixture. Une admixture rapide et efficace signifie que les deux populations fusionnent immédiatement, entraînant un accroissement rapide de la taille efficace populationnelle. Ceci peut avoir deux effets positifs sur le succès d'une invasion : d'une part (i) la probabilité d'extinction par stochasticité démographique et effet Allee diminue fortement ; et d'autre part (ii) la dérive génétique est réduite en même temps que la diversité génotypique augmente fortement. Ces deux points permettent notamment d'augmenter les chances d'adaptation locale avant que la population ne risque de s'éteindre (cf. sauvetage évolutif, Gomulkiewicz et Holt 1995, Gonzalez *et al.* 2013).

### 5.1.2 Jeu de hasard dans les invasions : les invasions biologiques, une lotterie de la nature ?

On a longtemps sous-estimé l'importance du hasard dans l'évolution biologique (mais voir Wright 1931, Kimura 1984, Travisano *et al.* 1995). Les invasions biologiques sont souvent initiées par l'introduction d'un petit nombre de propagules qui sont à l'origine de la population envahissante. La réduction de la taille efficace de la population suite à son introduction constitue un goulot d'étranglement démographique qui accentue les effets stochastiques, et donc de la dérive génétique. Nous avons vu dans le chapitre 2 qu'un goulot d'étranglement est susceptible de conduire à une évolution rapide du fardeau génétique et donc de la dépression de consanguinité ; et dans le chapitre 3, que d'une façon plus générale, la probabilité de fixer ou de purger les allèles délétères responsables du fardeau augmentaient de manière drastique au cours d'un goulot. Si la perte des allèles délétères au cours d'une invasion intervient dans la probabilité de succès d'une invasion biologique, alors la répétition d'évènements d'introductions pourrait être la cause de la plupart des invasions biologiques couronnées de succès.

La variation stochastique peut aussi favoriser des révolutions évolutives, c'est à dire le « saut » d'un pic à un autre dans un paysage adaptatif (Wright 1932, Crow et Kimura 1970,



Lenormand *et al.* 2009). La notion de paysage adaptatif est une façon de représenter la valeur sélective associée à une combinaison de génotypes ou de traits phénotypiques. Le phénotype d'un individu est constitué d'un grand nombre de traits, dont certains sont corrélés entre eux, notamment au travers de compromis évolutifs. On peut ainsi représenter la valeur sélective en fonction des valeurs de deux traits phénotypiques par une surface en trois dimensions comportant pics et vallées, appelée « paysage adaptatif ». La sélection naturelle évolue généralement par petits pas, et le phénotype évolue ainsi vers un optimum de valeur sélective local. Le phénotype peut alors se retrouver « bloqué » sur cet optimum, même si ce n'est pas la valeur sélective maximale sur l'ensemble du paysage. Les événements stochastiques comme ceux associés à la dérive, quant à eux, ne sont pas affectés par le paysage adaptatif et peuvent donc éloigner le phénotype de l'optimum. Ce saut est susceptible de réduire la valeur sélective, mais également de « débloquer » le phénotype qui peut alors évoluer, grâce à la sélection naturelle, vers un nouvel optimum (figure 5.1).

Puisqu'un goulot d'étranglement peut augmenter fortement l'effet de la dérive génétique, ce type d'évènement est susceptible de favoriser l'occurrence d'une révolution évolutive. Au cours d'une introduction, un goulot d'étranglement pourrait ainsi déclencher des décalages adaptatifs rapides, en particulier si celle-ci s'accompagne d'un ou plusieurs évènements d'admixture favorisant l'apparition de nouveaux génotypes. Cette formalisation peut aider à mieux comprendre l'évolution rapide de traits phénotypiques au cours des invasions biologiques, en particulier en l'absence apparente de différences de conditions environnementales, et donc de pressions de sélection, entre le milieu d'origine et celui d'introduction. C'est par exemple le cas de l'invasion de la coccinelle asiatique, pour laquelle l'environnement est sensiblement le même d'une aire à l'autre, et dont les populations envahissantes ont subi des évènements de goulot d'étranglement et d'admixture (cf. encadré 1.4).

Ainsi, que se soit au travers de mécanismes génétiques ou démographiques, le hasard

semble jouer un rôle primordial dans le succès d'une invasion biologique. S'il est envisageable de lister tous les cas d'invasions réussies, il est plus difficile d'estimer le nombre d'introductions qui n'ont pas abouti à une invasion. Il est cependant vraisemblable qu'une part importante de ces introductions se solde par un échec ; seule une faible fraction conduisant à une invasion qui soit remarquée par l'Homme. Williamson et Fitter (1996) proposent une « règle de la dizaine » (*tens rule*) : environ un dixième des introductions conduirait à une implantation réussie (phase 2 de l'invasion) parmi lesquelles un dixième conduirait à une invasion proprement dite (phase 3). Ceci correspond donc à un taux de succès d'une invasion de l'ordre du pour-cent. La pression de propagule — c'est à dire le nombre d'introductions et le nombre d'individus introduits à chaque introduction — pourrait avoir une importance capitale dans la probabilité de succès d'une invasion. Cette thèse souligne particulièrement l'idée que des introductions répétées augmenteraient donc la probabilité de succès d'une invasion, à l'image d'un joueur de loto qui continue de jouer tant qu'il n'a pas gagné.

Les espèces susceptibles d'être transportées (ou introduites) de manière répétée en dehors de leur aire de répartition naturelle compteraient donc parmi les envahisseurs potentiels les plus probables. En particulier, pour les espèces de lutte biologique d'origine exogène, le risque d'invasion peut devenir très important. C'est par exemple le cas de la coccinelle asiatique pour laquelle l'invasion ne s'est déclarée que plusieurs décennies après le début d'introductions récurrentes liées à son utilisation en lutte biologique (voir par exemple Lombaert *et al.* 2010).

Une fois qu'une structure génomique particulièrement favorable est présente dans le milieu d'introduction, des migrants issus de cette population peuvent être disséminés dans d'autres parties du Monde, permettant la réalisation d'un scénario « tête de pont » (Lombaert *et al.* 2010, Estoup et Guillemaud 2010, Guillemaud *et al.* 2011). Dans un tel scénario, les introductions secondaires ont une probabilité de succès plus importante que les introductions primaires.

## 5.2 QUELQUES PERSPECTIVES DE CETTE THÈSE

### 5.2.1 Évitement de la consanguinité : quel rôle joue le temps de maturation sexuelle ?

Dans le chapitre 4, je montre que, malgré la forte dépression de consanguinité dans les populations de l'aire native d'*H. axyridis*, il n'existe pas d'évitement de la consanguinité évident, que se soit de manière comportementale ou par choix cryptique des femelles. Dans l'article 1, je suggère que ce mécanisme existe chez *H. axyridis* et qu'il repose sur la dispersion avant maturité sexuelle chez cette coccinelle. Ce type de mécanisme a déjà été mis en évidence chez d'autres espèces (Moore et Ali 1984, Pusey et Wolf 1996), et il serait intéressant de confirmer cette hypothèse chez *H. axyridis*.

Le raccourcissement de la phase de maturation sexuelle chez les populations envahissantes de cette espèce pourrait être corrélé à la purge des allèles délétères observée dans l'aire envahie. Il est toutefois difficile d'établir un lien de causalité net entre la purge des allèles délétères, perte du mécanisme d'évitement de la consanguinité, et augmentation de la fécondité réalisée dans les populations envahissantes.

Pour tester l'hypothèse qu'une phase de maturation sexuelle prolongée correspond à un mécanisme d'évitement de la consanguinité chez cette espèce, il est possible de mesurer simultanément le niveau de dépression de consanguinité et le temps de maturation sexuelle dans

différentes populations de l'aire native. En effet, de tels phénomènes ne peuvent apparaître et se maintenir dans une population que si le niveau de dépression est important (Kokko et Ots 2006). Ainsi, une corrélation positive entre intensité de la dépression et temps de maturation serait un argument fort en faveur de cette hypothèse. Si tel était le cas, puisqu'un temps de maturation long réduit potentiellement la durée de l'activité sexuelle des individus, la purge des allèles délétères pourrait avoir contribué à l'augmentation de la fécondité moyenne dans les populations envahissantes. Comme nous l'avons vu, une forte fécondité peut à son tour être impliquée dans le succès de l'invasion en permettant un rebond démographique rapide, limitant ainsi les risques de fixation d'allèles délétères et d'extinction de la population.

La mise en place des expériences que je propose ici pourrait aussi être une opportunité de mesurer la variation inter-population de la préférence de reproduction entre plein-frères chez la coccinelle asiatique dans son aire native. En effet, les résultats contrastés pour ce trait entre la population japonaise et la population chinoise d'*H. axyridis* décrits dans l'article 1 suggèrent une variabilité potentiellement importante de ce trait dans l'aire native. Cependant, le nombre réduit de populations utilisées pour cette expérience ne permet pas d'écarter l'hypothèse d'un simple « *outlier* » statistique.

### 5.2.2 Systèmes de reproduction et invasions biologiques : le rôle de la polyandrie

Dans le paragraphe 5.1.2, j'ai discuté le fait que les effets du hasard peuvent induire des changements évolutifs rapides. Un cas particulier est celui des changements de régime de reproduction. Dans leur étude théorique, Kirkpatrick et Jarne (2000) montrent que dans certaines conditions, un goulot d'étranglement peut créer les conditions favorables au passage de l'allofécondation à l'autofécondation, et leurs conclusions sont confirmées par des observations dans le domaine des invasions biologiques (Brown et Eckert 2005).

Si le passage de l'allofécondation à l'autofécondation (ou l'augmentation du taux d'autofécondation) est un cas spectaculaire de changement de système de reproduction, des changements plus subtils peuvent également influencer le processus d'invasion. L'augmentation du niveau de polyandrie dans les populations envahissantes de la coccinelle asiatique, suggérée par les résultats de l'article 1, en est un exemple. Le fait de s'accoupler plusieurs fois au cours de sa vie, et à plus forte raison, avec plusieurs partenaires différents, est coûteux car il augmente notamment la vulnérabilité aux prédateurs, ainsi que le risque de contracter une maladie sexuellement transmissible (Birkhead et Pizzari 2002). Ce coût est d'autant plus important pour les femelles pour lesquelles un seul accouplement suffit théoriquement pour féconder tous les œufs qu'elle produit au cours de sa vie. Plusieurs hypothèses permettant d'expliquer le maintien de la polyandrie ont été développées. La plus récente implique la dépression de consanguinité et s'appuie sur le fait que les individus d'une fratrie sont le plus souvent demi-frères que plein-frères si la femelle est fortement polyandre. La dépression de consanguinité en cas de croisement intra-fratrie sera ainsi réduite par rapport au cas de monoandrie (Cornell et Tregenza 2007).

Notons que cette hypothèse représente une alternative à celle, discutée dans le paragraphe 5.2.1, à savoir qu'un temps de maturation long serait un mécanisme d'évitement de la consanguinité chez *H. axyridis*. Cependant, si tel était le cas, on s'attendrait à ce que le niveau de polyandrie soit plus fort dans les populations de l'aire native, où la dépression de consanguinité est importante. Or, les résultats du chapitre 4 suggèrent le contraire. Bien qu'elle ne

semble pas s'appliquer au cas de la coccinelle asiatique, l'hypothèse de Cornell et Tregenza (2007) reste néanmoins intéressante dans le contexte des premiers stades des invasions, où, à cause de la faible taille des populations introduites, le choix de partenaire de reproduction peut être limité. L'avantage est particulièrement évident chez une espèce où la reproduction entre plein-frère est impossible à cause d'un mécanisme d'évitement de la consanguinité, mais où la reproduction entre demi-frères est envisageable. En effet, alors qu'un mécanisme comportemental d'évitement de la consanguinité réduit le nombre de partenaires sexuels disponible, une diminution de l'apparentement moyen au sein d'une fratrie permet dans une certaine mesure une assurance de reproduction, ce qui peut contribuer à éviter l'extinction de la population (Berec *et al.* 2001).

Un autre effet communément cité comme associé à un haut niveau de polyandrie est une augmentation de la valeur sélective des femelles dans un environnement changeant, au travers d'une grande variabilité génétique dans sa descendance (cf. *bet-hedging*, Calsbeek *et al.* 2007, De Carvalho *et al.* 2010). Il est aussi possible que les variations du niveau de polyandrie observées chez *H. axyridis* soient essentiellement dues à des différences de densités de population, comme le suggèrent les résultats de l'article 2. Pour tester cette hypothèse, plusieurs approches complémentaires sont possibles. En premier lieu, il serait souhaitable d'étendre les résultats de l'article 2, c'est à dire d'évaluer le degré de polyandrie dans plusieurs populations de l'aire native en appliquant le même protocole que celui utilisé dans le chapitre 4. Une telle étude permettrait d'obtenir des données supplémentaires sur le comportement reproducteur des femelles dans l'aire native. Couplées avec des estimations de densités dans les populations correspondantes, ces données permettrait de tester une corrélation entre densité de population et niveau de polyandrie. En parallèle, une telle étude permettrait d'étendre aux populations naturelles la différence de promiscuité des femelles entre les populations natives et les populations envahissantes, trouvée dans des conditions expérimentales de l'article 1, aux populations naturelles. Une autre approche consisterait en une expérience en conditions contrôlées spécifiquement conçue pour tester la corrélation entre densité de population et niveau de polyandrie. Il est en effet possible de manipuler la taille des populations de laboratoire et de mesurer le nombre de pères efficaces dans une ponte.

### 5.2.3 Étude théorique de la purge dans le contexte des invasions

Comme je l'ai déjà indiqué, la modélisation analytique utilisée dans le chapitre 3, présente l'avantage de travailler directement sur les caractéristiques génétiques (*i.e.* fréquences alléliques, fardeau génétique etc.) et leur dynamique au cours d'un goulot d'étranglement. Cependant, cette approche présente un certain nombre de limites. En particulier, le modèle ne représente qu'un seul locus, et simule des changements démographiques soudains. Adapter le modèle du chapitre 3 à un cas multi-locus représente une augmentation importante du niveau de complexité du modèle, notamment lorsque les loci sont physiquement liés, ou si l'on souhaite inclure des phénomènes d'épistasie (à savoir le cas où l'expression d'un locus est modifiée par celle d'un second locus). De plus les résultats des chapitres 2 et 3 suggèrent que les goulots d'étranglement de forte intensité ne représentent pas des conditions idéales pour purger les allèles responsables du fardeau génétique, sans qu'ils ne se fixent dans la population avec une forte probabilité. Au contraire, des tailles efficaces d'une centaine d'individus pendant une dizaine de générations méritent d'être étudiées de plus près. Une approche ex-

périmentale, comme celle présentée dans le chapitre 2 n'est pas aisément réalisable pour de telles tailles de population sur de si longues périodes.

Une approche de modélisation par simulations (par opposition à la modélisation mathématique utilisée dans cette thèse) est une alternative prometteuse pour poursuivre l'étude des conditions de purge au cours d'un goulot d'étranglement, et de l'étendre à l'échelle du génome. Un grand nombre de programmes existant ont été construits pour modéliser la dynamique de caractéristiques génétiques à cette échelle (voir par exemple Carvajal-Rodríguez 2010, Yuan *et al.* 2012). En particulier, le programme BOTTLESIM (Kuo et Janzen 2003) qui est spécifiquement conçu pour simuler ces dynamiques au cours d'un goulot d'étranglement. L'utilisation d'un tel programme permettrait de mieux relier les caractéristiques d'un goulot (en termes d'amplitude et de durée), à la probabilité de purge d'un fardeau causé par un ensemble de loci, potentiellement liés par des relations d'épistasie.

Le choix d'un modèle plus complet et flexible pourrait aussi permettre d'approfondir nos connaissances sur le rôle de l'admixture dans les invasions biologiques. Bien que les effets de cet évènement démo-génétique sur le succès d'une invasion ait déjà motivé plusieurs études expérimentales (Ellstrand et Schierenbeck 2000, Facon *et al.* 2011a, Turgeon *et al.* 2011), peu d'études *in silico* ont examiné ce sujet jusqu'à présent. En particulier, les effets conjoints de goulot(s) d'étranglement(s) et d'admixture restent largement méconnus. L'emploi d'un modèle unique pour étudier ces deux évènements démo-génétiques indépendamment et simultanément peut donc être judicieux, car les résultats obtenus pourraient être comparés proprement. À ce titre, le programme `quantINEMO` (Neuenschwander *et al.* 2008) pourrait être utilisé. Ce programme a été développé pour examiner les effets de la sélection, de la mutation, de la recombinaison et de la dérive sur des traits quantitatifs d'architecture variable dans des populations isolées ou structurées, connectées par de la migration et situées dans différents habitats. Ce programme est hautement flexible à différents niveaux. On peut par exemple configurer les paramètres de sélection, le nombre et le type de gènes considérés (SNPs, QTLs), la démographie et le régime de reproduction. En contrôlant la taille des populations et la date des migrations, on pourrait simuler deux populations sources qui fournissent un nombre déterminé de migrants dans un troisième dème à une date donnée (évènement d'introduction). Le suivi des caractères génétiques au niveau génomique permettrait alors d'extraire des informations intéressantes sur la dynamique de la valeur sélective au cours d'un scénario d'introduction complexe comportant goulot(s) d'étranglement(s) et admixture. Il serait par exemple possible de tester si les effets positifs d'un goulot d'étranglement sont conservés (ou amplifiés) en cas d'introductions multiples avec hybridation entre propagules. En effet, ce type de scénario correspond notamment à celui des populations envahissantes de la coccinelle asiatique (cf. encadré 1.4). La question des conditions optimales pour la purge des mutations délétères du génome sans augmentation de la proportion d'allèles fixés dans le génome, restée ouverte à la fin du chapitre 3, pourrait également être abordée grâce à ce modèle.

Au cours de cette thèse, j'ai peu étudié les traits liés à l'adaptation locale, en particulier dans les chapitres 2 et 3 où je me suis focalisé sur des traits liés au fardeau génétique, qui, bien que potentiellement au centre du succès de nombreuses invasions (voir par exemple Siauassat *et al.* 2013), sont peu examinées dans ce contexte. Le programme `quantINEMO` permettrait d'examiner le cas de l'adaptation locale et du sauvetage évolutif dans un scénario où goulot et admixture ont lieu successivement. Ce point est particulièrement intéressant dans la mesure

où ces deux évènements semblent antagonistes. Un goulot d'étranglement favorise en effet la perte de variabilité génétique par dérive, tandis que l'admixture, au contraire peut conduire à une augmentation de la diversité des génotypes dans la population. Enfin, l'implémentation des traits liés à la reproduction dans ce type de modèle pourrait être l'étape finale d'une étude théorique complète du rôle des changements évolutifs dans le succès d'une invasion biologique.

# BIBLIOGRAPHIE

- Amundsen P.-A., Salonen E., Niva T., Gjelland K. Ø., Præbel K., Sandlund O. T., Knudsen R., et Bøhn T. Invader population speeds up life history during colonization. *Biological Invasions*, 14(7) :1501–1513, 2012. (Cité page 9.)
- Awad M., Laugier G. J. M., Loiseau A., et Nedved O. Polyandry in wild-caught ladybirds *harmonia axyridis* (coleoptera : Coccinellidae). *Ecology and Evolution*, Submitted. (Cité pages 80 et 84.)
- Bai C., Ke Z., Consuegra S., Liu X., et Li Y. The role of founder effects on the genetic structure of the invasive bullfrog (*lithobates catesbeianus*) in china. *Biological Invasions*, 14(9) :1785–1796, 2012. (Cité page 7.)
- Barrett S. C. H. et Charlesworth D. Effects of a change in the level of inbreeding on the genetic load. *Nature*, 352(6335) :522–524, 1991. (Cité pages 4 et 25.)
- Barrett S. C. H., Colautti R. I., et Eckert C. G. Plant reproductive systems and evolution during biological invasion. *Molecular Ecology*, 17(1) :373–383, 2008. (Cité pages 10 et 17.)
- Barrett S. C., Morgan M. T., et Husband B. C. The dissolution of a complex genetic polymorphism : the evolution of self-fertilization in tristylous *eichhornia paniculata* (pontederiaceae). *Evolution*, pages 1398–1416, 1989. (Cité page 10.)
- Bataillon T. et Kirkpatrick M. Inbreeding depression due to mildly deleterious mutations in finite populations : size does matter. *Genetics Research*, 75(01) :75–81, 2000. (Cité pages 4, 15, 30, 31, 34 et 39.)
- Bell G. et Gonzalez A. Evolutionary rescue can prevent extinction following environmental change. *Ecology Letters*, 12(9) :942–948, 2009. (Cité pages 4 et 7.)
- Berec L., Boukal D. S., et Berec M. Linking the allee effect, sexual reproduction, and temperature-dependent sex determination via spatial dynamics. *The American Naturalist*, 157(2) :217–230, 2001. (Cité page 84.)
- Berggren Å. Colonization success in roesel's bush-cricket *metrioptera roeseli* : the effects of propagule size. *Ecology*, 82(1) :274–280, 2001. (Cité page 1.)
- Birkhead T. et Pizzari T. Postcopulatory sexual selection. *Nature Reviews Genetics*, 3(4) :262–273, 2002. (Cité page 83.)
- Blossey B. et Nötzold R. Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants : a hypothesis. *Journal of Ecology*, 83(5) :887–889, 1995. (Cité page 2.)
- Bossdorf O., Auge H., Lafuma L., Rogers W. E., Siemann E., et Prati D. Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia*, 144(1) : 1–11, 2005. (Cité pages 4 et 9.)
- Brown J. S. et Eckert C. G. Evolutionary increase in sexual and clonal reproductive capacity during biological invasion in an aquatic plant *butomus umbellatus* (butomaceae). *American Journal of Botany*, 92(3) :495–502, 2005. (Cité pages 9 et 83.)

- Bufford J. L. et Daehler C. C. Lag times. Dans *Encyclopedia of biological invasions*, volume 3. Simberloff, Daniel and Rejmánek, Marcel ; University of California Pr, 2010. (Cité pages 4, 10 et 17.)
- Burton O. J. et Travis J. M. J. The frequency of fitness peak shifts is increased at expanding range margins due to mutation surfing. *Genetics*, 179(2) :941, 2008. (Cité page 10.)
- Burton O. J., Phillips B. L., et Travis J. M. J. Trade-offs and the evolution of life-histories during range expansion. *Ecology Letters*, 13(10) :1210–1220, 2010. (Cité page 10.)
- Byers D. L. et Waller D. M. Do plant populations purge their genetic load? effects of population size and mating history on inbreeding depression. *Annual Review of Ecology and Systematics*, pages 479–513, 1999. (Cité pages 10, 15 et 23.)
- Calsbeek R., Bonneaud C., Prabhu S., Manoukis N., et Smith T. B. Multiple paternity and sperm storage lead to increased genetic diversity in anolis lizards. *Evolutionary Ecology Research*, 9(3) :495–503, 2007. (Cité pages 52 et 84.)
- Carvajal-Rodríguez A. Simulation of genes and genomes forward in time. *Current genomics*, 11(1) :58, 2010. (Cité page 85.)
- Charlesworth B. et Charlesworth D. The genetic basis of inbreeding depression. *Genetical research*, 74(3) :329–340, 1999. (Cité pages 6 et 19.)
- Charlesworth D. et Willis J. H. The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics*, 10(11) :783–796, 2009. (Cité pages 4 et 6.)
- Charlesworth D. et Charlesworth B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual review of ecology and systematics*, 18 :237–268, 1987. (Cité page 15.)
- Cornell S. J. et Tregenza T. A new theory for the evolution of polyandry as a means of inbreeding avoidance. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 274(1627) :2873–2879, 2007. (Cité pages 83 et 84.)
- Couvet D. Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. *Conservation Biology*, 16(2) :369–376, 2002. (Cité page 33.)
- Crawley M. J. What makes a community invisable? *Colonization, succession and stability*, pages 429–453, 1987. (Cité page 2.)
- Crawley M. J. *The R book*. John Wiley & Sons, 2012. (Cité pages 19 et 20.)
- Crnokrak P. et Barrett S. C. H. Perspective : purging the genetic load : a review of the experimental evidence. *Evolution*, 56(12) :2347–2358, 2002. (Cité page 25.)
- Crooks J. A. Lag times. Dans *Encyclopedia of biological invasions*, volume 3. Simberloff, Daniel and Rejmánek, Marcel ; University of California Pr, 2010. (Cité page 2.)
- Crow J. F. et Kimura M. An introduction to population genetics theory. *An introduction to population genetics theory.*, 1970. (Cité pages 29, 30, 31, 32 et 80.)
- Culley T. M. et Hardiman N. A. The role of intraspecific hybridization in the evolution of invasiveness : a case study of the ornamental pear tree *pyrus calleryana*. *Biological Invasions*, 11(5) :1107–1119, 2009. (Cité page 7.)
- Daehler C. C. Inbreeding depression in smooth cordgrass (*spartina alterniflora*, poaceae) invading san francisco bay. *American Journal of Botany*, 86(1) :131–139, 1999. (Cité page 15.)
- Darwin C. R. *On the origins of species by means of natural selection*. London : Murray, 1859. (Cité page 2.)

- Davis H. G., Taylor C. M., Civile J. C., et Strong D. R. An allee effect at the front of a plant invasion : *Spartina* in a pacific estuary. *Journal of Ecology*, 92(2) :321–327, 2004. (Cité pages 8 et 15.)
- De Carvalho D., Ingvarsson P. K., Joseph J., Suter L., Sedivy C., MACAYA-SANZ D., Cottrell J., Heinze B., Schanzer I., et Lexer C. Admixture facilitates adaptation from standing variation in the european aspen (*populus tremula* l.), a widespread forest tree. *Molecular Ecology*, 19(8) :1638–1650, 2010. (Cité pages 52 et 84.)
- Drake J. et Lodge D. Allee effects, propagule pressure and the probability of establishment : risk analysis for biological invasions. *Biological Invasions*, 8(2) :365–375, 2006. (Cité page 1.)
- Elena S. F., Ekunwe L., Hajela N., Oden S. A., et Lenski R. E. Distribution of fitness effects caused by random insertion mutations in *escherichia coli*. Dans *Mutation and Evolution*, pages 349–358. Springer, 1998. (Cité page 47.)
- Ellstrand N. C. et Schierenbeck K. A. 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(13) :7043, 2000. (Cité page 85.)
- Elton C. S. *The ecology of invasions by animals and plants*. New York : Macmillan (reprinted 2000, University of Chicago Press), 1958. (Cité page 1.)
- Estoup A. et Guillemaud T. Reconstructing routes of invasion using genetic data : why, how and so what ? *Molecular Ecology*, 2010. (Cité page 82.)
- Excoffier L. et Ray N. Surfing during population expansions promotes genetic revolutions and structuration. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(7) :347–351, 2008. (Cité page 10.)
- Facon B., Crespin L., Loiseau A., Lombaert É., Magro A., et Estoup A. Can things get worse when an invasive species hybridizes ? the harlequin ladybird *harmonia axyridis* in france as a case study. *Evolutionary Applications*, 2011a. (Cité pages 80 et 85.)
- Facon B., Genton B. J., Shykoff J. A., Jarne Ph., Estoup A., et David P. A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(3) :130–135, 2006. (Cité pages 2, 5 et 80.)
- Facon B., Hufbauer R. A., Tayeh A., Loiseau A., Lombaert É., Vitalis R., Guillemaud T., Lundgren J. G., et Estoup A. Inbreeding depression is purged in the invasive insect *harmonia axyridis*. *Current Biology*, 2011b. (Cité pages 5, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 24, 26, 27, 30, 48 et 51.)
- Ferran A., Gambier J., Parent S., Legendre K., Tourniere R., et Giuge L. The effect of rearing the ladybird *harmonia axyridis* *onephestia kuehniella* eggs on the response of its larvae to aphid tracks. *Journal of insect behavior*, 10(1) :129–144, 1997. (Cité page 25.)
- Fisher R. A. The distribution of gene ratios for rare mutations. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh*, 50 :205–220, 1930. (Cité pages 29, 30 et 31.)
- Forsyth D. M. et Duncan R. P. Propagule size and the relative success of exotic ungulate and bird introductions to new zealand. *The American Naturalist*, 157(6) :583–595, 2001. (Cité page 1.)
- Fox C. W., Scheibly K. L., et Reed D. H. Experimental evolution of the genetic load and its implications for the genetic basis of inbreeding depression. *Evolution*, 62(9) :2236–2249, 2008. (Cité pages 18, 19 et 24.)
- Frankham R. et Ralls K. Conservation biology : inbreeding leads to extinction. *Nature*, 392(6675) :441–442, 1998. (Cité pages 5 et 15.)

- Fu Y.-B., Namkoong G., et Carlson J. E. Comparison of breeding strategies for purging inbreeding depression via simulation. *Conservation Biology*, 12(4) :856–864, 1998. (Cité page 41.)
- García-Dorado A. Understanding and predicting the fitness decline of shrunk populations : inbreeding, purging, mutation, and standard selection. *Genetics*, 190(4) :1461–1476, 2012. (Cité page 38.)
- García-Dorado A., López-Fanjul C., et Caballero A. Rates and effects of deleterious mutations and their evolutionary consequences. *Evolution : from molecules to ecosystems*, pages 20–32, 2004. (Cité page 47.)
- García-Ramos G. et Rodríguez D. Evolutionary speed of species invasions. *Evolution*, 56(4) : 661–668, 2002. (Cité page 2.)
- Gillis N. K., Walters L. J., C. F. F., et A. H. E. Higher genetic diversity in introduced than in native populations of the mussel *Mytella charruana* : evidence of population admixture at introduction sites. *Diversity and Distributions*, 15(5) :784–795, 2009. (Cité page 2.)
- Glémin S. How are deleterious mutations purged ? drift versus nonrandom mating. *Evolution*, 57(12) :2678–2687, 2003. (Cité pages 4, 8, 9, 10, 15, 16, 25, 30, 31, 34, 35, 36 et 46.)
- Golani D., Azzurro E., Corsini-Foka M., Falautano M., Andaloro F., et Bernardi G. Genetic bottlenecks and successful biological invasions : the case of a recent lessepsian migrant. *Biology Letters*, 3(5) :541–545, 2007. (Cité page 8.)
- Gomulkiewicz R. et Holt R. D. When does evolution by natural selection prevent extinction ? *Evolution*, 49(1) :201–207, 1995. (Cité page 80.)
- Gonzalez A., Ronce O., Ferriere R., et Hochberg M. E. Evolutionary rescue : an emerging focus at the intersection between ecology and evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 368(1610), 2013. (Cité page 80.)
- Grevstad F. S. Experimental invasions using biological control introductions : the influence of release size on the chance of population establishment. *Biological Invasions*, 1(4) :313–323, 1999a. (Cité page 48.)
- Grevstad F. S. Factors influencing the chance of population establishment : implications for release strategies in biocontrol. *Ecological Applications*, 9(4) :1439–1447, 1999b. (Cité page 48.)
- Guillemaud T., Ciosi M., Lombaert É., et Estoup A. Biological invasions in agricultural settings : Insights from evolutionary biology and population genetics. *Comptes rendus biologies*, 334(3) :237–246, 2011. (Cité page 82.)
- Haag-Liautard C., Dorris M., Maside X., Macaskill S., Halligan D. L., Charlesworth B., et Keightley P. D. Direct estimation of per nucleotide and genomic deleterious mutation rates in drosophila. *Nature*, 445(7123) :82–85, 2007. (Cité page 47.)
- Hairston N. G., Ellner S. P., Geber M. A., Yoshida T., et Fox J. A. Rapid evolution and the convergence of ecological and evolutionary time. *Ecology Letters*, 8(10) :1114–1127, 2005. (Cité page 2.)
- Hartl D. L. et Clark A. G. *Principles of population genetics*, volume 116. Sinauer associates Sunderland, 1997. (Cité page 7.)
- Hedrick P. W. Purging inbreeding depression and the probability of extinction : full-sib mating. *Heredity*, 73(4) :363–372, 1994. (Cité pages 15, 41 et 46.)
- Hedrick P. W. et Kalinowski S. T. Inbreeding depression in conservation biology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, pages 139–162, 2000. (Cité page 15.)

- Horvitz C. C. Demography. Dans *Encyclopedia of biological invasions*, volume 3. Simberloff, Daniel and Rejmánek, Marcel ; University of California Pr, 2010. (Cité page 9.)
- Huey R. B., Gilchrist G. W., et Hendry A. P. Using invasive species to study evolution. *Species invasions : Insights to ecology, evolution and biogeography*, pages 139–164, 2005. (Cité page 4.)
- Husband B. C. et Barrett S. C. H. Effective population size and genetic drift in tristylous *eichhornia paniculata* (pontederiaceae). *Evolution*, pages 1875–1890, 1992. (Cité page 10.)
- Iablokoff-Khnzorian S. *Les coccinelles coleoptères-Coccinellidae : Tribu Coccinellini des régions paléartique et orientale*. Société nouvelle des éditions Boubée, 1982. (Cité page 13.)
- Jirotkul M. Population density influences male–male competition in guppies. *Animal Behaviour*, 58(6) :1169–1175, 1999. (Cité page 10.)
- Kanarek C. T., A. R. & Webb. Allee effects, adaptive evolution, and invasion success. *Evolutionary Applications*, 3(2) :122–135, 2010. (Cité page 2.)
- Keller L. et Fournier D. Lack of inbreeding avoidance in the argentine ant *linepithema humile*. *Behavioral Ecology*, 13(1) :28–31, 2002. (Cité page 15.)
- Keller L. F. et Waller D. M. Inbreeding effects in wild populations. *TRENDS in Ecology & Evolution*, 17(5), 2002. (Cité page 46.)
- Keller S. R. et Taylor D. R. History, chance and adaptation during biological invasion : separating stochastic phenotypic evolution from response to selection. *Ecology Letters*, 11(8) : 852–866, 2008. (Cité page 5.)
- Kimura M. Preponderance of synonymous changes as evidence for the neutral theory of molecular evolution. 1977. (Cité page 48.)
- Kimura M. *The neutral theory of molecular evolution*. Cambridge University Press, 1984. (Cité page 80.)
- Kimura M. et Crow J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49(4) :725, 1964. (Cité page 4.)
- Kimura M., Maruyama T., et F C. J. The mutation load in small populations. *Genetics*, 48(10) : 1303, 1963. (Cité pages 4, 30 et 32.)
- Kirkpatrick M. et Jarne Ph. The effects of a bottleneck on inbreeding depression and the genetic load. *American Naturalist*, 155(2) :154–167, 2000. (Cité pages 9, 17, 25, 31, 34, 35, 38, 39, 43 et 83.)
- Kishony R. et Leibler S. Environmental stresses can alleviate the average deleterious effect of mutations. *Journal of biology*, 2(2) :14, 2003. (Cité page 25.)
- Koch R. L. The multicolored asian lady beetle, *harmonia axyridis* : a review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. *Journal of Insect Science*, 3, 2003. (Cité pages 11, 13 et 27.)
- Kokko H. et Ots I. When not to avoid inbreeding. *Evolution*, 60(3) :467–475, 2006. (Cité page 83.)
- Kokko H. et Rankin D. J. Lonely hearts or sex in the city ? density-dependent effects in mating systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 361(1466) :319–334, 2006. (Cité page 10.)
- Kolar C. S. et Lodge D. M. Progress in invasion biology : predicting invaders. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(4) :199–204, 2001. (Cité page 1.)

- Kolbe J. J., Glor R. E., Schettino L. R., Lara A. C., Larson A., et Losos J. B. Genetic variation increases during biological invasion by a cuban lizard. *Nature*, 431(7005) :177–181, 2004. (Cité pages 2, 3, 7 et 8.)
- Kristensen T. N., Knudsen M. R., et Loeschcke V. Slow inbred lines of *drosophila melanogaster* express as much inbreeding depression as fast inbred lines under semi-natural conditions. *Genetica*, 139(4) :441–451, 2011. (Cité page 49.)
- Kuo C.-H. et Janzen F. bottlesim : a bottleneck simulation program for long-lived species with overlapping generations. *Molecular Ecology Notes*, 3(4) :669–673, 2003. (Cité page 85.)
- Lacy R. C., Alaks G., et Walsh A. Hierarchical analysis of inbreeding depression in *peromyscus polionotus*. *Evolution*, pages 2187–2200, 1996. (Cité page 24.)
- Lambrinos J. G. How interactions between ecology and evolution influence contemporary invasion dynamics. *Ecology*, 85(8) :2061–2070, 2004. (Cité page 10.)
- Lande R. Genetics and demography in biological conservation. *Science(Washington)*, 241(4872) : 1455–1460, 1988. (Cité page 48.)
- Lande R. Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. *Journal of Evolutionary Biology*, 22(7) :1435–1446, 2009. (Cité page 2.)
- Lande R. et Schemske D. W. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. i. genetic models. *Evolution*, pages 24–40, 1985. (Cité page 17.)
- Laugier G. J. M., Le Moguédec G., Tayeh A., Loiseau A., Osawa N., Estoup A., et Facon B. Increase in male reproductive success and female reproductive investment in invasive populations of the harlequin ladybird *Harmonia axyridis*. *PLoS ONE*, 8(10) :e77083, 10 2013. URL <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0077083>. (Cité pages 80, 82, 83 et 84.)
- Lavergne S. et Molofsky J. Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(10) :3883, 2007. (Cité page 5.)
- Lee C. E. Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(8) : 386–391, 2002. (Cité page 2.)
- Lee C. E. et Petersen C. H. Genotype-by-environment interaction for salinity tolerance in the freshwater-invading copepod *eurytemora affinis*. *Physiological and Biochemical Zoology*, 75 (4) :335–344, 2002. (Cité pages 4 et 5.)
- Lenormand T., Roze D., et Rousset F. Stochasticity in evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(3) :157–165, 2009. (Cité pages 48 et 81.)
- Levitan D. R. Density-dependent sexual selection in external fertilizers : variances in male and female fertilization success along the continuum from sperm limitation to sexual conflict in the sea urchin *strongylocentrotus franciscanus*. *The American Naturalist*, 164(3) :298–309, 2004. (Cité page 10.)
- Li Z.-K., Luo L., Mei H., Wang D., Shu Q., Tabien R., Zhong D., Ying C., Stansel J., Khush G., et others . Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice. i. biomass and grain yield. *Genetics*, 158(4) :1737–1753, 2001. (Cité page 6.)
- Lockwood J. L., Cassey P., et Blackburn T. The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(5) :223–228, 2005. (Cité page 48.)

- Lombaert É., Guillemaud T., Cornuet J.-M., Malausa T., Facon B., et Estoup A. Bridgehead effect in the worldwide invasion of the biocontrol harlequin ladybird. *PLoS one*, 5(3) :e9743, 2010. (Cité pages 13, 17 et 82.)
- Lombaert É., Malausa T., Devred R., et Estoup A. Phenotypic variation in invasive and bio-control populations of the harlequin ladybird, *harmonia axyridis*. *BioControl*, 53(1) :89–102, 2007. (Cité page 12.)
- Lombaert É. *Biologie évolutive d'une espèce envahissante, la coccinelle asiatique Harmonia axyridis*. PhD thesis, Université Montpellier II; Systèmes intégrés en Biologie, Agronomie, Géosciences, Hydrosiences, Environnement, 2011. (Cité pages 11 et 13.)
- Lombaert É., Guillemaud T., Thomas C., Lawson Handley L., Li J., Wang S., Pang H., Goryacheva I., Zakharov I., Jousselin E., Poland R., Migeon A., van Lenteren J., de Clerq P., et Estoup A. Inferring the origin of populations introduced from a genetically structured native range by approximate bayesian computation : case study of the invasive ladybird *harmonia axyridis*. *Molecular ecology*, 20(22) :4654–4670, 2011. (Cité page 13.)
- Lövei G. L. Biodiversity : global change through invasion. *Nature*, 388(6643) :627–628, 1997. (Cité page 1.)
- Luo L., Li Z.-K., Mei H., Shu Q., Tabien R., Zhong D., Ying C., Stansel J., Khush G., et Paterson A. Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice. ii. grain yield components. *Genetics*, 158(4) :1755–1771, 2001. (Cité page 5.)
- Lynch M., Conery J., et Burger R. Mutation accumulation and the extinction of small populations. *American Naturalist*, pages 489–518, 1995a. (Cité pages 33, 47 et 48.)
- Lynch M., Conery J., et Bürger R. Mutational meltdowns in sexual populations. *Evolution*, pages 1067–1080, 1995b. (Cité page 33.)
- MacArthur R. H. et Wilson E. O. *The theory of island biogeography*, volume 1. Princeton University Press (Princeton, NJ), 1967. (Cité pages 10 et 17.)
- Madsen T., Stille B., et Shine R. Inbreeding depression in an isolated population of adders *Vipera berus*. *Biological Conservation*, 75(2) :113–118, 1996. (Cité pages 8 et 15.)
- Majerus T. M., Graf v. d. S. J., Majerus M. E., et Hurst G. Molecular identification of a male-killing agent in the ladybird *harmonia axyridis* (pallas)(coleoptera : Coccinellidae). *Insect molecular biology*, 8(4) :551, 1999. (Cité page 17.)
- Marivaux (Carlet de Chamblain de), Pierre. *Le Jeu de l'amour et du hasard*. éd Bordas (1995), 1730. (Cité page 79.)
- Mikkelsen K., Loeschke V., et Kristensen T. N. Trait specific consequences of fast and slow inbreeding : lessons from captive populations of *Drosophila melanogaster*. *Conservation Genetics*, 11(2) :479–488, 2010. (Cité page 49.)
- Moore J. et Ali R. Are dispersal and inbreeding avoidance related. *Anim. Behav*, 32(1) :94–112, 1984. (Cité page 82.)
- Müller-Schärer H., Schaffner U., et Steinger T. Evolution in invasive plants : implications for biological control. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(8) :417–422, 2004. (Cité page 4.)
- Neuenschwander S., Guillaume F., et Goudet J. quantinemo : an individual-based program to simulate quantitative traits with explicit genetic architecture in a dynamic metapopulation. *Bioinformatics*, 24(13) :1552–1553, 2008. (Cité page 85.)
- Novak S. J. The role of evolution in the invasion process. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(10) :3671–3672, 2007. (Cité page 2.)

- Orr H. et Unckless R. L. Population extinction and the genetics of adaptation. *The American Naturalist*, 172(2) :160–169, 2008. (Cité pages 4 et 7.)
- Osawa N. Population field studies of the aphidophagous ladybird beetle *harmonia axyridis* (coleoptera : Coccinellidae) : Life tables and key factor analysis. *Researches on Population Ecology*, 35(2) :335–348, 1993. (Cité page 19.)
- Panov V. E., Krylov P. I., et Riccardi N. Role of diapause in dispersal and invasion success by aquatic invertebrates. *Journal of Limnology*, 63(1s) :56–69, 2004. (Cité page 9.)
- Parker I. M., Rodriguez J., et E. L. M. An evolutionary approach to understanding the biology of invasions : local adaptation and general-purpose genotypes in the weed *verbascum thapsus*. *Conservation Biology*, 17(1) :59–72, 2003. (Cité page 2.)
- Pekkala N., Emily Knott K., Kotiaho J. S., et Puurtinen M. Inbreeding rate modifies the dynamics of genetic load in small populations. *Ecology and evolution*, 2(8) :1791–1804, 2012. (Cité page 48.)
- Perrings C., Dehnen-Schmutz K., Touza J., et Williamson M. How to manage biological invasions under globalization. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(5) :212–215, 2005. (Cité page 1.)
- Phillips B. L., Brown G. P., Webb J. K., et Shine R. Invasion and the evolution of speed in toads. *Nature*, 439(7078) :803–803, 2006. (Cité pages 4 et 10.)
- Phillips B. L., Brown G. P., et Shine R. Life-history evolution in range-shifting populations. *Ecology*, 91(6) :1617–1627, 2010. (Cité page 9.)
- Porcher E. et Lande R. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression under pollen discounting and pollen limitation. *Journal of evolutionary biology*, 18(3) :497–508, 2005. (Cité page 15.)
- Pray L. A. et Goodnight C. J. Genetic variation in inbreeding depression in the red flour beetle *tribolium castaneum*. *Evolution*, pages 176–188, 1995. (Cité page 24.)
- Pusey A. et Wolf M. Inbreeding avoidance in animals. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(5) :201–206, 1996. (Cité page 82.)
- R Core Team . *R : A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2012. URL <http://www.R-project.org/>. ISBN 3-900051-07-0. (Cité pages 19 et 34.)
- Reed D. H. et Bryant E. H. Fitness, genetic load and purging in experimental populations of the housefly. *Conservation Genetics*, 2(1) :57–61, 2001. (Cité page 26.)
- Rejmánek M. et Richardson D. M. What attributes make some plant species more invasive? *Ecology*, 77(6) :1655–1661, 1996. (Cité pages 4 et 9.)
- Rey O., Estoup A., Vonshak M., Loiseau A., Blanchet S., Calcaterra L., Chifflet L., Rossi J.-P., Kergoat G. J., Foucaud J., et others . Where do adaptive shifts occur during invasion? a multidisciplinary approach to unravelling cold adaptation in a tropical ant species invading the mediterranean area. *Ecology letters*, 15(11) :1266–1275, 2012. (Cité page 1.)
- Richardson D. M. et Pyšek P. Fifty years of invasion ecology—the legacy of charles elton. *Diversity and Distributions*, 14(2) :161–168, 2008. (Cité page 1.)
- Richardson D. M., Pyšek P., Rejmánek M., Barbour M. G., Panetta F. D., et West C. J. Naturalization and invasion of alien plants : concepts and definitions. *Diversity and distributions*, pages 93–107, 2000. (Cité page 1.)

- Roff D. Inbreeding depression : tests of the overdominance and partial dominance hypotheses. *Evolution*, 56(4) :768–775, 2002. (Cité pages 6 et 15.)
- Rollins W. C., Mead S., Regan W., et Gregory P. The effect of inbreeding upon growth in jersey cattle. *Genetics*, 34(6) :724, 1949. (Cité page 5.)
- Roman J. et Darling J. A. Paradox lost : genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(9) :454–464, 2007. (Cité pages 5, 7, 8 et 80.)
- Roy H. E., Brown P. M. J., Rothery P., Ware R. L., et Majerus M. E. N. Interactions between the fungal pathogen *beauveria bassiana* and three species of ladybird : *Harmonia axyridis*, *coccinella septempunctata* and *adalia bipunctata*. *BioControl*, 53(1) :265–276, 2008a. (Cité page 13.)
- Roy H. E., Baverstock J., Ware R. L., Clark S. J., Majerus M. E. N., Baverstock K. E., et Pell J. K. Intraguild predation of the aphid pathogenic fungus *pandora neoaphidis* by the invasive coccinellid *harmonia axyridis*. *Ecological Entomology*, 33(2) :175–182, 2008b. (Cité page 13.)
- Saccheri I., Kuussaari M., Kankare M., Vikman P., Fortelius W., et Hanski I. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature*, 392(6675) :491–494, 1998. (Cité page 15.)
- Sax D. et Brown J. The paradox of invasion. *Global Ecology and Biogeography*, 9(5) :363–371, 2000. (Cité page 8.)
- Siaussat D., Laparie M., Maria A., et Renault D. Heat shock protein responses to salinity, food deprivation, and temperature in the invasive ground beetle *merizodus soledadinus* at the kerguelen islands. *Polar Biology*, 36(2) :201–209, 2013. (Cité pages 9 et 85.)
- Simberloff D. Elton ; charles s. Dans *Encyclopedia of biological invasions*, volume 3. Simberloff, Daniel and Rejmánek, Marcel ; University of California Pr, 2010. (Cité page 1.)
- Slatkin M. et Excoffier L. Serial founder effects during range expansion : a spatial analog of genetic drift. *Genetics*, 191(1) :171–181, 2012. (Cité page 10.)
- Sniegowski P. D., et Lenski R. E. Mutation and adaptation : the directed mutation controversy in evolutionary perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics*, pages 553–578, 1995. (Cité page 7.)
- Sokal R. R. et Rohlf F. J. Biometry (3rd edn). *WH Freeman and company : New York*, 1995. (Cité page 20.)
- Stockwell C. A., Hendry A. P., et Kinnison M. T. Contemporary evolution meets conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(2) :94–101, 2003. (Cité page 2.)
- Swindell W. et Bouzat J. Reduced inbreeding depression due to historical inbreeding in *dro-sophila melanogaster* : evidence for purging. *Journal of evolutionary biology*, 19(4) :1257–1264, 2006. (Cité pages 24 et 48.)
- Tayeh A., Estoup A., Laugier G., Loiseau A., Turgeon J., Toepfer S., et Facon B. Evolution in biocontrol strains : insight from the harlequin ladybird *harmonia axyridis*. *Evolutionary Applications*, 2012. (Cité page 12.)
- Tayeh A., Estoup A., Hufbauer R. A., Ravigne V., Goryacheva I., Zakharov I. A., Lombaert E., et Facon B. Investigating the genetic load of an emblematic invasive species : the case of the invasive harlequin ladybird *harmonia axyridis*. *Ecology and evolution*, 2013. (Cité pages 11, 51 et 80.)
- Thomas F., Lefevre T., et Raymond M. *Biologie évolutive*. De Boeck, 2010. (Cité pages 4 et 31.)

- Travisano M., Mongold J. A., Bennett A. F., et Lenski R. E. Chance, and history in evolution. *Science*, 267(6), 1995. (Cité page 80.)
- Tsutsui N. D., Suarez A. V., Holway D. A., et Case T. J. Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(11) :5948–5953, 2000. (Cité page 8.)
- Turgeon J., Tayeh A., Facon. B., Lombaert E., Clercq de P., Berkvens N., Lundgren J. G., et Estoup A. Experimental evidence for the phenotypic impact of admixture between wild and biocontrol asian ladybird (*Harmonia axyridis*) involved in the european invasion. *Journal of Evolutionary Biology*, 2011. (Cité pages 80 et 85.)
- Valéry L., Fritz H., Lefeuvre J.-C., et Simberloff D. In search of a real definition of the biological invasion phenomenon itself. *Biological invasions*, 10(8) :1345–1351, 2008. (Cité page 4.)
- Verhoeven K. J., Macel M., Wolfe L. M., et Biere A. Population admixture, biological invasions and the balance between local adaptation and inbreeding depression. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 278(1702) :2–8, 2011. (Cité pages 3, 5, 8 et 15.)
- Vitalis R. et Waller D. M. Inbreeding, drift load, and heterosis in bottleneck. (Cité page 34.)
- Vitousek P. M., D'Antonio C. M., Loope L. L., Rejmanek M., et Westbrooks R. Introduced species : a significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology*, 21(1) :1–16, 1997. (Cité page 1.)
- Williamson M. et Fitter A. The varying success of invaders. *Ecology*, 77(6) :1661–1666, 1996. (Cité pages 48 et 82.)
- Williamson M. H., Brown K. C., Holdgate M. W., Kornberg H., Southwood R., et Mollison D. The analysis and modelling of british invasions [and discussion]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 314(1167) :505–522, 1986. (Cité page 48.)
- Wilson J. R. U., Dormontt E. E., Prentis P. J., Lowe A. J., et Richardson D. M. Something in the way you move : dispersal pathways affect invasion success. *Trends in Ecology & Evolution*, 24 (3) :136–144, 2009. (Cité pages 1, 2, 5 et 80.)
- Wright S. Evolution in mendelian populations. *Genetics*, 16(2) :97, 1931. (Cité pages 29, 31, 32 et 80.)
- Wright S. The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding and selection in evolution. Dans *Proceedings of the sixth international congress on genetics*, volume 1, pages 356–366, 1932. (Cité page 80.)
- Wright S. The distribution of gene frequencies in populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 23(6) :307, 1937. (Cité page 4.)
- Yuan X., Miller D. J., Zhang J., Herrington D., et Wang Y. An overview of population genetic data simulation. *Journal of Computational Biology*, 19(1) :42–54, 2012. (Cité page 85.)

# ANNEXES

# A



---

**A.1.1 Annexe A.1**

Evolution in biocontrol strains : insight from the harlequin ladybird *Harmonia axyridis* Tayeh A., Estoup A., **Laugier GJM.**, Loiseau A., Turgeon J., Toepfer S., et Facon B. *Evolutionary Applications*, 2012.

## ORIGINAL ARTICLE

## Evolution in biocontrol strains: insight from the harlequin ladybird *Harmonia axyridis*.

Ashraf Tayeh,<sup>1</sup> Arnaud Estoup,<sup>1</sup> Guillaume Laugier,<sup>1</sup> Anne Loiseau,<sup>1</sup> Julie Turgeon,<sup>2</sup> Stefan Toepfer<sup>3</sup> and Benoit Facon<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Inra, Cbpg (Inra/Ird/Cirad/Montpellier SupAgro) Montpellier, France

<sup>2</sup> Département de biologie, Université Laval Québec, QC, Canada

<sup>3</sup> CABI Europe Switzerland, Plant Protection & Soil Conservation Directorate Hodmezovasarhely, Hungary

### Keywords

biological control, biological invasion, fungal entomopathogen, genetic drift, *Harmonia axyridis*, inadvertent selection, laboratory adaptation, life-history traits.

### \*Correspondence

Benoit Facon, Inra, Cbpg (Inra/Ird/Cirad/Montpellier SupAgro), Montpellier, France.

Tel.: (33) 499 62 33 22;

fax: (33) 499 62 33 45;

e-mail: facon@supagro.inra.fr

Received: 7 November 2011

Accepted: 1 May 2012

doi:10.1111/j.1752-4571.2012.00274.x

### Abstract

After being used as a biocontrol agent against aphids for decades without harmful consequences, the Asian harlequin ladybird *Harmonia axyridis* has suddenly become an invasive pest on a worldwide scale. We investigate the impact of captive breeding on several traits of this ladybird such as genetic diversity, fecundity, survival and pathogen resistance. We conducted an experiment in the laboratory to compare the fecundity and the susceptibility to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* of wild and biocontrol adults of *H. axyridis*. We compiled these new findings with already published data. Altogether, our findings suggest that mass rearing of biological control agents may strongly impact genetic diversity and life-history traits. We discuss how such changes may subsequently affect the fitness of biological control strains in natural environments.

### Introduction

Biological control agents can be viewed as a type of domesticated species (Diamond 2002; Savolainen et al. 2002; Ross-Ibarra et al. 2007), particularly when they are reared in captivity prior to release. As such, they may experience the same types of phenotypic and genetic changes experienced by other domesticated species (Burke et al. 2007; O'Neill et al. 2010; Rubin et al. 2010).

As such, it is important to document and understand the evolutionary changes that occur in captive populations of biological control agents. Three major mechanisms may cause genetic changes under laboratory rearing conditions: random drift, inbreeding and selection (Hopper et al. 1993). The first two mechanisms can be related to small population size. Indeed, drift arises from taking a finite sample from a population: by chance, some individuals, and thus genotypes, contribute more and some less in each generation. This process can be substantial and induces a high initial loss of genetic variability when only few founders are used to start laboratory populations and/or when such populations include a low number of effective parents

at each generation (Wajnberg 1991; Fiumera et al. 2000). Inbreeding, the mating of close relatives, increases the frequency of homozygotes and can lead to changes in gene frequencies by exposing deleterious recessive alleles to selection. Deleterious effects of inbreeding could deter the successful field colonization of exotic species in classical biological control programs. For instance, Kuriwada et al. (2011) reported higher inbreeding depression in a mass-reared strain of *Cylas formicarius* than in a wild strain, suggesting that mass-reared weevils suffer serious inbreeding depression.

Because captive environments differ from wild ones, selection can favour some peculiar genetic variants. In agreement with this, genetic adaptations to captivity have been documented in various species (see for instance, Zouros et al. 1982; Allard 1988; Levin et al. 2001; Lewis and Thomas 2001; Heath et al. 2003). It is worth stressing that selection can be intentional or not. On the one hand, humans can alter deliberately the genetic composition of a set of individuals to suit their needs, a process called genetic improvement (Hopper et al. 1993). Such intentional selection has allowed improving the efficiency of

several biological control agents, especially in relation to host acceptance/suitability, temperature tolerance, diapause induction and insecticide resistance (Hoy 1985). For instance, two greenhouse populations of *Amblyseius fallacis* have shown a 64-fold increase in resistance against permethrin insecticide after 12 rounds of selection. On the other hand, continued laboratory breeding may result in relaxed selection for some life-history characteristics (Sgro and Partridge 2000; Mack et al. 2001). Such characteristics selected under captivity conditions can sometimes be disadvantageous in the natural environment (Waples 1999; McGinnity et al. 2003; Kraaijeveld-Smit et al. 2006; Araki et al. 2007; Frankham 2008). For instance, a hatchery stock of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in Canada evolved smaller eggs and supplementation of wild populations using this stock reduced egg size in introgressed wild populations, resulting in reduced fitness in nature (Heath et al. 2003). Such inadvertent selection may also occur for biological control agents during laboratory culture and maintenance of captive populations, favouring laboratory-adapted genotypes that are maladapted to the field (Hopper et al. 1993).

Given its use for biological control and invasive history (reviewed in Brown et al. 2011), the Asian harlequin ladybird *Harmonia axyridis* is a good biological model to examine the evolutionary impact of conditions in captivity and its potential consequences in the field. Native to Asia, the coccinellid *H. axyridis* has been introduced repeatedly in North America as a biocontrol agent against aphids since 1916 (Tedders and Schaefer 1994; Krafur et al. 1997) and in Europe and South America since 1980s (Ongagna et al. 1993; Poutsma et al. 2008). Despite recurrent intentional releases, the species did not establish for decades. However, it suddenly became invasive in eastern and western North America in 1988 and 1991 (Chapin and Brou 1991; LaMantia and Miller 1996), in Europe in 2001 (Belgium, Adriaens et al. 2003), South America in 2001 (Argentina, Saini 2004) and in Africa in 2004 (South Africa, Stals and Prinsloo 2007). The species has spread widely in these areas where it consumes nontarget arthropods, invades households and is a pest of fruit production (Koch 2003; Koch and Galvan 2008). Based on the analysis of neutral genetic variation, Lombaert et al. (2010, 2011) recently retraced the routes of all five worldwide *H. axyridis* invasions. Eastern and western North American invasive populations originate from two independent introductions from the native Asian range. Surprisingly, eastern North America is the source of colonists for all other successfully invaded areas. In South America and South Africa, invasive populations bear no trace of genetic admixture with other sources. In Europe, however, Lombaert et al. (2010) found evidence for genetic admixture between eastern North American founders and individuals from the laboratory European biocontrol

population used locally to manage aphid populations (with a contribution of biocontrol genes estimated around 43%).

In the present study, we took advantage of this context to investigate the impact of captive breeding on several characteristics (such as fecundity, larval survival, resistance to a pathogen or genetic diversity) by comparing different sources of *H. axyridis*, i.e. the laboratory mass-reared population used for biological control in Europe, as well as wild populations (invasive alien and native ones). To this end, we first conducted an experiment in the laboratory to compare the fecundity and the susceptibility to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* of wild and biocontrol adults of *H. axyridis*. We then compiled these new findings with already published data by our research group and close collaborators to test for several predictions regarding the impact of captive breeding practices on *H. axyridis*.

First, we expect a lower genetic diversity in European biocontrol population compared to wild ones owing to genetic drift. It is likely that only a few founders would have been used to start laboratory population and/or the number of effective parents at each generation was most likely lower than in a wild population.

Second, the laboratory environment strongly differs from the wild ones. Notably, lab-rearing conditions do not display seasonal variations of temperatures and cultures are maintained as free of pathogen as possible. Owing to the absence of these selective pressures in captivity, we could hypothesize that biocontrol individuals should exhibit a lower survival rate at low temperatures and a lower resistance to a pathogen such as *B. bassiana*, the latter being present on both the native and introduced ranges of *H. axyridis*. It has to be noted that a decrease of both traits upon relaxation of selection requires the additional assumption of a cost, either a quantitative cost or a trade-off with some other trait (Hufbauer 2002).

Third, similar selection in different environments might not be equally effective in leading to adaptation (Wilson et al. 2006). Notably, lab-rearing conditions being less multifaceted and more constant than field conditions, directional selection on particular traits maximizing fitness in captivity may be more effective in biocontrol population. For instance, we might predict that biocontrol individuals would display higher larval survival, higher male reproductive success and an earlier and higher fecundity. Obviously, these four traits may also boost invasive success. By specifically comparing biocontrol population, European invasive and American invasive ones, we could assess whether the traits with higher values in the biocontrol population have been preserved or not in the field (i.e. in the European invasive population, the latter being the result of an admixture between American population and biocontrol one).

## Materials and methods

### Description of published data

Our research group and close collaborators have previously produced data comparing biocontrol-type *H. axyridis* with field collected ones for several characteristics. Lombaert et al. (2011) estimated genetic diversity at 18 microsatellites in the European biocontrol populations and in several native and invasive populations. Three other studies have compared, using experiments in controlled conditions, the performances of European biocontrol individuals and field collected ones. First, Lombaert et al. (2008) measured the survival rate during quiescence at low temperatures for biocontrol and invasive European adults. Second, Facon et al. (2011) estimated the male reproductive success of biocontrol and invasive European adults. Third, Turgeon et al. (2011) assessed larval survival, age at first reproduction and fecundity for individuals coming from biocontrol, American and European invasive populations. We compiled these published data with those obtained in our new study (see above), to test for predictions described in Introduction regarding the impact of captive breeding practices on *H. axyridis*.

### New experiments: susceptibility to *B. bassiana* and fecundity

#### Population sampling and rearing conditions

Five *H. axyridis* populations of three different types were used in this study, i.e. a laboratory-reared type commonly used for biological control purposes as well as invasive and native types. Two populations were collected from the native range of *H. axyridis* in 2009 (Beijing in China and Fuchuk in Japan). Two invasive populations were collected in North America and Europe between 2008 and 2009 (Quebec City in Canada and Bataszek in Hungary). One population was obtained from a laboratory population of a biocontrol agent producer (winged strain of *H. axyridis*; Biotop company, Valbonne, France) in 2007. This biocontrol population has been reared in laboratory conditions since 1982; this is for a minimum of 70 generations (assuming 2.5 generations per year; Koch 2003; Koch et al. 2006). This population was commercialized and used for the biocontrol of aphids between 1995 and 1999 throughout Europe (Ferran et al. 1997; Tourniaire et al. 2000). We reared the five populations for two generations under controlled conditions (24°C; L: D 14:10; 60% relative humidity) to minimize potential biases owing to maternal effects until the third generation was used for experiments. All populations were fed ad libitum with irradiated eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) for these generations as well as for the following experiment.

## Experimental procedures

A total of 40 females and 40 males of the third laboratory-standardized generation of each of the five test populations were placed into a large box during 10 days to allow copulations. After this period, females were transferred individually into 9-cm-diameter Petri dishes and kept at 24°C; L: D 14:10; 60% relative humidity. Each female was presented to a single male for a period of 24 h. This was repeated three times with three different males per week. This procedure minimized density effects (e.g., delayed growth or reduced fecundity in paired individuals owing to competition) whilst allowing multiple copulations.

For each fertilized female, the number of eggs laid during seven consecutive days following the first clutch were counted and averaged to estimate the mean daily fecundity prior treatment. Females of each population were then infected with *B. bassiana* or remained untreated. It is known to be a natural mortality agent among overwintering adult coccinellids (Steenberg and Harding 2009). This result has led some authors to suggest that *B. bassiana* could be a potential candidate for the biological control of invasive populations of *H. axyridis* (Shah and Pell 2003; Kenis et al. 2008; Roy et al. 2011). The strain of *B. bassiana* used in this study corresponded to a commercial preparation (BotaniGardES<sup>®</sup>, strain GHA 2.2 × 10<sup>13</sup> conidia per kg; Laverlam International Corporation, Butte, USA) that was already used in an experiment with *H. axyridis* (Roy et al. 2008). The concentration of viable conidia was 6.4 × 10<sup>8</sup> per g. Infected females were singly held in a *B. bassiana* solution in plastic cups (2 cm × 3 cm) for 5 s (2.2 × 10<sup>8</sup> conidia per ml). The exposures have been made during four consecutive days with an equal representation of each population each day. It has to be noted that no significant differences were found between exposure days. The control females were held singly in sterile distilled water for the same duration. A total of 89 females were infected with the fungus and 48 females were used in controls. After exposures to fungus or sterile distilled water, all females were transferred individually into 9-cm-diameter Petri dishes and kept at 24°C; L: D 14:10; 80% relative humidity. Subsequently, eggs were counted per female and removed on a daily basis during 15 days to estimate the mean daily fecundity after treatment. Mortality was recorded daily until 15 days after treatment. Dead individuals were transferred to 1.5-mL Eppendorf tubes with moistened cotton to observe external fungal growth and hence to confirm *B. bassiana* as likely cause of death. External fungal growth has been recorded for around 60% (with no differences between populations) of treated females, as it is classically observed with this kind of bioassay.

### Statistical analyses

All data were analysed using the software JMP 8.01 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). First, we calculated the proportional reduction in daily mean egg production for each female as follows:  $Reduction_{Fecundity} = (Daily\ fecundity\ prior\ treatment - Daily\ fecundity\ after\ treatment) / Daily\ fecundity\ prior\ treatment$ . This trait was then analysed using ANOVA with *population type* (biocontrol, native or invasive), *treatment* (infected or control) and *population nested in population type*, as well as the interaction between population type and *treatment* as fixed factors. Second, we analysed the mortality using GLM (binomial distribution) with *population type* (biocontrol, native or invasive) and *population nested in population type* as fixed factors. We excluded the control females from this analysis because none of them died during the experiment. Therefore, the factor *treatment* was removed from the full model. For the dead infected females, the date of death (i.e. survival time) was analysed using ANOVA with *population type* (biocontrol, native or invasive) and *population nested in population type* as fixed factors. Finally, we used control females to analyse the fecundity apart from the effect of the fungus using ANOVA with *population type* (biocontrol, native or invasive) and *population nested in population type* as fixed factors.

For the response variables analysed using ANOVA, we performed two analyses, one with the original data and one with the traditional transformations (square root for fecundity, log for survival time and Box-Cox for  $Reduction_{Fecundity}$ ; Sokal and Rohlf 1995). As similar results were obtained, only results from untransformed data will be reported.

### Results and discussion

This study supports the predictions that laboratory conditions have significantly impacted several characteristics of *H. axyridis* (Table 1). We detailed these results in three

parts: neutral genetic diversity, traits counter-selected in the laboratory and traits under positive selection in the laboratory.

#### Neutral genetic diversity

Genetic drift is the most important of the random processes that influence the gene frequencies in a laboratory colony (Joslyn 1984). To avoid a substantial loss of genetic diversity, Wajnberg (1991) recommended that laboratory cultures should be started with the maximal effective population size, and maintaining a maximum number, within the limitations imposed, during the entire rearing process.

In the case of *H. axyridis*, the European biocontrol population exhibits evidence of substantial genetic drift, as it harbours significantly lower genetic diversity (2.4 alleles per locus) than native (5.3–6.6 alleles per locus) or invasive (4.1–6.5 alleles per locus; Lombaert et al. 2011) populations. Because the European invasive population originated from a genetic admixture between eastern North American founders and individuals from the laboratory European biocontrol population (Lombaert et al. 2010), the level of genetic diversity is also significantly lower in the European biocontrol population than in the European invasive population (6.0 alleles per locus).

#### Traits counter-selected in the laboratory

In agreement with our predictions, the European biocontrol population exhibits lower performance than natural populations (Table 1). It has a significantly lower survival rate (41%) during quiescence at low temperatures compared to invasive European population (86%). Similarly, European biocontrol individuals are significantly more susceptible to *B. bassiana* infection than individuals collected from native or invasive populations. In the biocontrol

**Table 1.** Predictions and compilations of results regarding the impact of captive breeding practices in *H. axyridis* on various traits (for details, see Introduction and Results). Symbols + and – indicate relatively high and low values of these traits, respectively, and NA indicates that the data are not available.

Trait considered	Predictions for the European biocontrol population	European biocontrol population	European invasive population	American invasive population	Native populations	Sources
Genetic diversity	–	–	–	–	+	Lombaert et al. 2011;
Survival in quiescence	–	–	+	NA	NA	Lombaert et al. 2008;
Resistance to pathogen	–	–	+	+	+	This study
Larval survival	+	+	+	–	NA	Turgeon et al. 2011;
Delay before reproduction	–	–	–	+	NA	Turgeon et al. 2011;
Fecundity	+	+	–	–	–	This study & Turgeon et al. 2011;
Male reproductive success	+	+	–	NA	NA	Facon et al. 2011

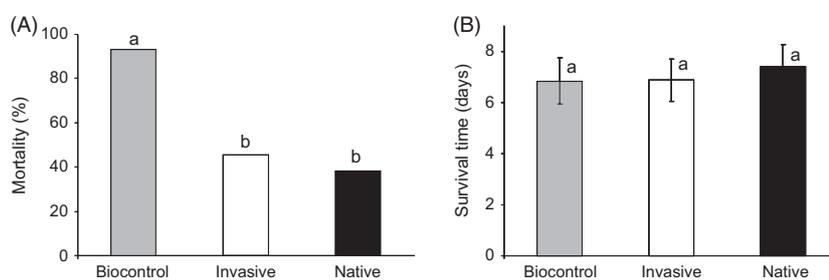
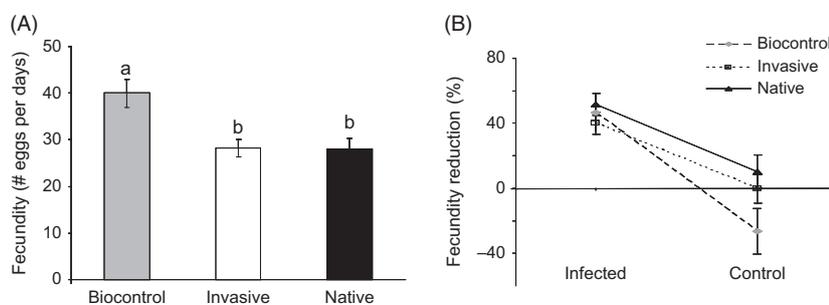
**Table 2.** Results of statistical analyses for reduction of fecundity, mortality and survival time owing to fungus infection and for fecundity without fungus infection.

Traits	Test statistic	P-value
(A) Fecundity reduction	F (df)	
Population type	2.09 (2)	0.12
Treatment	41.11 (1)	0.0001
Population (population type)	1.01 (2)	0.36
Population type × treatment	1.38 (2)	0.25
(B) Mortality	L-R chi-square (df)	
Population type	14.68 (2)	0.0007
Population (population type)	0.17 (2)	0.92
(C) Survival time	F (df)	
Population type	0.14 (2)	0.87
Population (population type)	0.19 (2)	0.82
(D) Fecundity	F (df)	
Population type	6.12 (2)	0.005
Population (population type)	2.49 (2)	0.10

population, there are twice as many deaths as in the natural native and invasive populations (93% vs 38% and 46%, respectively;  $P = 0.0007$ ) owing to *B. bassiana* infection, whereas no significant differences in mortality are found between invasive and native females (Table 2 and Fig. 1).

On the contrary, the decrease of fecundity and the survival time of the infected females owing to fungus infection are not influenced by the population type (i.e. biocontrol, native or invasive; Table 2 and Fig. 2).

We suggest that both mortality during quiescence and mortality because of fungal infection can be viewed as examples of adverse genetic changes as a result of captive rearing. An important issue raised by such adverse genetic changes is how selection for laboratory-adapted genotypes may induce maladaptation to the field when laboratory-reared individuals are introduced into the wild and reproduce among wild individuals. According to the literature, characteristics selected under captive conditions are often disadvantageous in natural environments (see for instance Frankham et al. 1986; Fleming and Gross 1993; Reisenbichler and Rubin 1999; Chilcote 2003; Heath et al. 2003; Kraaijeveld-Smit et al. 2006). The most emblematic examples come from fishes where selection in hatcheries causes highly deleterious effects. For instance, lifetime reproductive success of hatchery fish stocks, once returned to the field, was found to be only 5–15% of that for the wild fish populations (Leider et al. 1990). In the case of *H. axyridis*, the decrease of survival during quiescence and pathogen resistance upon relaxation of selection suggests that there exists a cost for both traits, either a quantitative cost or a

**Figure 1** Mean values for (A) mortality and (B) survival time owing to fungus infection, depending on the population type, i.e. biocontrol, invasive and native.**Figure 2** Mean values for (A) fecundity without fungus infection and (B) fecundity reduction owing to fungus infection, depending on the population type, i.e. biocontrol, invasive and native.

trade-off with some other trait that has been selected in laboratory conditions. The very poor survival rate at low temperatures of the biocontrol strain seems to be counter-selected in the field as the invasive European populations show a much higher survival rate. Regarding the susceptibility to *B. bassiana*, the invasive European population displays the same mortality owing to this fungus as the invasive American population, which is twofold lower than the biocontrol population. This result indicates that this higher susceptibility of biocontrol population seems also to be counter-selected in the field. Both results are, at least intuitively, not surprising as survival during quiescence and resistance to pathogens are certainly important parts of the fitness of *H. axyridis* individuals during the invasion process of natural habitats.

#### Traits under positive selection in the laboratory

The European biocontrol population displays higher values for several traits suggesting a higher efficiency of directional selection in the less multifaceted laboratory environment (Table 1). Indeed, it has a significant higher male reproductive success than the European invasive population (Facon et al. 2011). When competing with European invasive males, biocontrol males sire around 75% of offspring produced by females. Biocontrol females display also higher fecundity (average = 40.0 eggs per day) than native (average = 28.6 eggs per day) and invasive ones (28.2 eggs per day; Fig. 2 and Table 2). This trend is confirmed by Turgeon et al. (2011), who showed that biocontrol females lay significantly more eggs (38.9 eggs per day) than females from the American (25.4 eggs per day) and European (29.5 eggs per day) invasive populations. For two other traits, biocontrol individuals performed better than American invasive individuals but not compared to European invasive ones. Biocontrol individuals survive at significantly higher rates in the larval period (91%) and reproduce significantly earlier (11.1 days after emergence on average) than the American invasive population (73% and 13.3 days, respectively) but not compared to European invasive population (92% and 12.1 days).

A number of genetic adaptations to captivity have been previously suggested in a variety of taxa (Frankham 2008). Most of these cases also correspond to an increase of fecundity and a reduction of development time (Hopper et al. 1993; Frankham 2008). For instance, a threefold increase in reproductive fitness has been reported over 84 generations in the dipteran fly *Drosophila* (Gilligan and Frankham 2003). The butterfly *Pieris brassicae* laid many more eggs in cage experiments and had a higher ovary mass when laboratory reared for 100-150 generations than females from a stock recently obtained from the wild (Lewis and Thomas 2001). For this kind of traits, we could envisage that

adaptation to laboratory conditions may also inadvertently select for values favouring establishment and range expansion in the field. With respect to *H. axyridis*, it seems to be the case for larval survival and age at first clutch as European invasive population has retained the biocontrol genetic background associated to higher fitness. On the other hand, European invasive population displays lower fecundity than biocontrol individuals. It is more difficult to envision how lower fecundity may be advantageous for the invasive European beetles. This result suggests that it may exist a trade-off between fecundity and unknown trait(s) not considered in the study that could be selected in the field.

#### Conclusions

A weakness of our study lies in the absence of replicate biocontrol populations. Unfortunately, to our knowledge, there remain only two biocontrol strains of *H. axyridis* (Biotop and Biobest; Turgeon et al. 2011). Furthermore, the Biobest strain was derived from the Biotop strain used in this study and thus even was it available to us, it would be somewhat problematic as a replicate. Given this limitation, we cannot rule out with certainty that the differences of life-history trait values observed in the biocontrol-type *H. axyridis* only stem from genetic drift, more especially as we demonstrated that the European biocontrol population exhibits evidence of substantial genetic drift. However, this would imply that only individuals with these trait values were sampled in the creation of this laboratory mass-reared biocontrol population. It seems unlikely that genetic drift alone can explain all the changes of trait values along our predictions on the impact of captive breeding and the action of selection seems more parsimonious. Ruling out this alternative hypothesis more definitively would require experimental selection, which would provide a better understanding of the genetic architecture of the traits, and would give us information about the relative likelihood of drift versus selection.

This study hence supports the predictions that biological control agents can undergo drastic genetic and phenotypic changes as a consequence of laboratory conditions. However, we are still at an early stage in understanding how mass rearing of biological control agents can induce genetic changes of life-history traits important for the success of field releases or for evolutionary trajectories of wild populations. We hope that our study will stimulate new research on this topic.

#### Acknowledgements

We thank D. Bourguet and N. Ris for comments and discussions. This work was supported by grants from the

French Agropolis Foundation (RTRA – Montpellier, BIO-FIS project number 1001-001) and from the INRA department SPE.

### Data archiving statement

Raw data used to generate the main results of the paper are available as Online Supplementary Material.

### Literature cited

- Adriaens, T., E. Branquart, and D. Maes. 2003. The Multicoloured Asian Ladybird *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae), a threat for native aphid predators in Belgium? *Belgian Journal of Zoology* **133**:195–196.
- Allard, R. W. 1988. Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. *Journal of Heredity* **79**:225–238.
- Araki, H., B. Cooper, and M. S. Blouin. 2007. Genetic effects of captive breeding cause a rapid, cumulative fitness decline in the wild. *Science* **318**:100–103.
- Brown, P. M. J., C. E. Thomas, E. Lombaert, D. L. Jeffries, A. Estoup, and L.-J. Lawson Handley. 2011. The global spread of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): distribution, dispersal and routes of invasion. *BioControl* **56**:623–641.
- Burke, J. M., J. C. Burger, and M. A. Chapman. 2007. Crop evolution: from genetics to genomics. *Current Opinion in Genetics and Development* **17**:525–532.
- Chapin, J. B., and V. A. Brou. 1991. *Harmonia axyridis* Pallas, the 3rd species of the genus to be found in the United-States (Coleoptera, Coccinellidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* **93**:630–635.
- Chilcote, M. W. 2003. Relationship between natural productivity and the frequency of wild fish in mixed spawning populations of wild and hatchery steelhead (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **60**:1057–1067.
- Diamond, J. 2002. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature* **418**:700–707.
- Facon, B., L. Crespin, A. Loiseau, E. Lombaert, A. Magro, and A. Estoup. 2011. Can things get worst when an invasive species hybridizes? The harlequin ladybird *Harmonia axyridis* in France as a case study. *Evolutionary Applications* **4**:71–88.
- Ferran, A., L. Giuge, J. Brun, J. Gambier, and F. Kabiri. 1997. Coccinelle *Harmonia axyridis* pallas: mise au point sur son introduction et son utilisation en lutte biologique. *Adalia* **36**:21–24.
- Fiumera, A. C., P. G. Parker, and P. A. Fuerst. 2000. Effective population size and maintenance of genetic diversity in captive-bred populations of a Lake Victoria Cichlid. *Conservation Biology* **14**:886–892.
- Fleming, I. A., and M. R. Gross. 1993. Breeding success of hatchery and wild coho salmon *Oncorhynchus kisutch* in competition. *Ecological Applications* **3**:230–245.
- Frankham, R. 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology* **17**:325–333.
- Frankham, R., H. Hemmer, O. A. Ryder, E. G. Cothran, M. E. Soule, N. D. Murray, and M. Snyder. 1986. Selection in captive populations. *Zoo Biology* **5**:127–138.
- Gilligan, D. M., and R. Frankham. 2003. Dynamics of genetic adaptation to captivity. *Conservation Genetics* **4**:189–197.
- Heath, D. D., J. W. Heath, C. A. Bryden, R. M. Johnson, and C. W. Fox. 2003. Rapid evolution of egg size in captive salmon. *Science* **299**:1738–1740.
- Hopper, K. R., R. T. Roush, and W. Powell. 1993. Management of genetics of biological-control introductions. *Annual Review of Entomology* **38**:27–51.
- Hoy, M. A. 1985. Recent advances in genetics and genetic improvement of the Phytoseiidae. *Annual Review of Entomology* **30**:345–370.
- Hufbauer, R. A. 2002. Evidence for nonadaptive evolution in parasitoid virulence following a biological control introduction. *Ecological Applications* **12**:66–78.
- Joslyn, D. J. 1984. Maintenance of genetic variability in reared insects. In E. G. King, and N. C. Leppla, eds. *Advances and Challenges in Insect Rearing*, pp. 20–29. USA Agricultural Research Service, Southern Region, New Orleans, Louisiana.
- Kenis, M., H. E. Roy, R. Zindel, and M. E. N. Majerus. 2008. Current and potential management strategies against *Harmonia axyridis*. *BioControl* **53**:235–252.
- Koch, R. L. 2003. The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: a review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. *Journal of Insect Science* **3**:1–16.
- Koch, R. L., and T. L. Galvan. 2008. Bad side of a good beetle: the North American experience with *Harmonia axyridis*. *BioControl* **53**:23–35.
- Koch, R. L., R. C. Venette, and W. D. Hutchison. 2006. Invasions by *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) in the Western Hemisphere: Implications for South America. *Neotropical Entomology* **35**:421–434.
- Kraaijeveld-Smit, F. J. L., R. A. Griffiths, R. D. Moore, and T. J. C. Beebe. 2006. Captive breeding and the fitness of reintroduced species: a test of the responses to predators in a threatened amphibian. *Journal of Applied Ecology* **43**:360–365.
- Krafsur, E. S., T. J. Kring, J. C. Miller, P. Nariboli, J. J. Obrycki, J. R. Ruberson, and P. W. Schaefer. 1997. Gene flow in the exotic colonizing ladybeetle *Harmonia axyridis* in North America. *Biological Control* **8**:207–214.
- Kuriwada, T., N. Kumano, K. Shiromoto, and D. Haraguchi. 2011. Inbreeding avoidance or tolerance? Comparison of mating behaviour between mass-reared and wild strains of the sweet potato weevil. *Behavioural Ecology and Sociobiology* **65**:1483–1489.
- LaMana, M. L., and J. C. Miller. 1996. Field observations on *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) in Oregon. *Biological Control* **6**:232–237.
- Leider, S. A., P. L. Hulett, J. J. Loch, and M. W. Chilcote. 1990. Electrophoretic comparison of the reproductive success of naturally spawning transplanted and wild steelhead trout through the returning adult stage. *Aquaculture* **88**:239–252.
- Levin, P. S., R. W. Zabel, and J. G. Williams. 2001. The road to extinction is paved with good intentions: negative association of fish hatcheries with threatened salmon. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **268**:1153–1158.
- Lewis, O. T., and C. D. Thomas. 2001. Adaptations to captivity in the butterfly *Pieris brassicae* (L.) and the implications for ex situ conservation. *Journal of Insect Conservation* **5**:55–63.
- Lombaert, E., T. Malausa, R. Devred, and A. Estoup. 2008. Phenotypic variation in invasive and biocontrol populations of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*. *BioControl* **53**:89–102.
- Lombaert, E., T. Guillemaud, J.-M. Cornuet, T. Malausa, B. Facon, and A. Estoup. 2010. Bridgehead Effect in the Worldwide Invasion of the Biocontrol Harlequin Ladybird. *PLoS One* **5**:e9743.

- Lombaert, E., T. Guillemaud, C. Thomas, L.-J. Lawson Handley, J. Li, S. Wang, H. Pang et al. 2011. Inferring the origin of populations introduced from a genetically structured native range by approximate Bayesian computation: case study of the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *Molecular Ecology* **20**:4654–4670.
- Mack, P. D., V. K. Lester, and D. E. L. Promislow. 2001. Age-specific effects of novel mutations in *Drosophila melanogaster*: II. Fecundity and male mating ability. *Genetica* **110**:31–41.
- McGinnity, P., P. Prodohl, K. Ferguson, R. Hynes, N. O'Maoileidigh, N. Baker, D. Cotter, B. O'Hea, D. Cooke, G. Rogan, J. Taggart, and T. Cross. 2003. Fitness reduction and potential extinction of wild populations of Atlantic salmon, *Salmo salar*, as a result of interactions with escaped farm salmon. *Proceedings of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences* **270**:2443–2450.
- O'Neill, C. J., D. L. Swain, and H. N. Kadarmideen. 2010. Evolutionary process of *Bos taurus* cattle in favourable versus unfavourable environments and its implications for genetic selection. *Evolutionary Applications* **3**:422–433.
- Ongagna, P., L. Giuge, G. Iperti, and A. Ferran. 1993. Life-cycle of *Harmonia-axyridis* (Col, Coccinellidae) in its area of introduction - South-Eastern France. *Entomophaga* **38**:125–128.
- Poutsma, J., A. J. M. Loomans, B. Aukema, and T. Heijerman. 2008. Predicting the potential geographical distribution of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*, using the CLIMEX model. *BioControl* **53**:103–125.
- Reisenbichler, R. R., and S. P. Rubin. 1999. Genetic changes from artificial propagation of Pacific salmon affect the productivity and viability of supplemented populations. *Ices Journal of Marine Science* **56**:459–466.
- Ross-Ibarra, J., P. L. Morrell, and B. S. Gaut. 2007. Plant domestication, a unique opportunity to identify the genetic basis of adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**:8641–8648.
- Roy, H. E., P. M. J. Brown, P. Rothery, R. L. Ware, and M. E. N. Majerus. 2008. Interactions between the fungal pathogen *Beauveria bassiana* and three species of coccinellid: *Harmonia axyridis*, *Coccinella septempunctata* and *Adalia bipunctata*. *BioControl* **53**:265–276.
- Roy, H. E., E. Rhule, S. Harding, L.-J. Lawson Handley, R. L. Poland, E. W. Riddick, and T. Steenberg. 2011. Living with the enemy: parasites and pathogens of the ladybird *Harmonia axyridis*. *BioControl* **56**:663–679.
- Rubin, C. J., M. C. Zody, J. Eriksson, J. R. S. Meadows, E. Sherwood, M. T. Webster, L. Jiang et al. 2010. Whole-genome resequencing reveals loci under selection during chicken domestication. *Nature* **464**:587–591.
- Saini, E. D. 2004. Presence of *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) in BS.AS. Province, Argentina. Biological and morphological aspects. *RIA, Revista de Investigaciones Agropecuarias* **33**:151–160.
- Savolainen, P., Y. P. Zhang, J. Luo, J. Lundeberg, and T. Leitner. 2002. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science* **298**:1610–1613.
- Sgro, C. M., and L. Partridge. 2000. Evolutionary responses of the life history of wild-caught *Drosophila melanogaster* to two standard methods of laboratory culture. *American Naturalist* **156**:–353.
- Shah, P. A., and J. K. Pell. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied microbiology and biotechnology* **61**:413–423.
- Sokal, R. R., and F. J. Rohlf 1995. *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*, 3rd edn. W. H. Freeman and Co., New York. 887 pp.
- Stals, R., and G. Prinsloo. 2007. Discovery of an alien invasive, predatory insect in South Africa: the multicoloured Asian ladybird beetle, *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae). *South African Journal of Science* **103**:123–126.
- Steenberg, T., and S. Harding. 2009. Entomopathogenic fungi recorded from the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*. *Journal of Invertebrate Pathology* **102**:88–89.
- Tedders, W. L., and P. W. Schaefer. 1994. Release and establishment of *Harmonia axyridis* (Coleoptera, Coccinellidae) in the Southeastern United-States. *Entomological News* **105**:228–243.
- Tourniaire, R., A. Ferran, L. Giuge, C. Piotte, and J. Gambier. 2000. A natural flightless mutation in the ladybird, *Harmonia axyridis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **96**:33–38.
- Turgeon, J., A. Tayeh, B. Facon, E. Lombaert, P. De Clercq, N. Berkvens, J. G. Lundgren, and A. Estoup. 2011. Experimental evidence for the phenotypic impact of admixture between wild and biocontrol Asian ladybird *Harmonia axyridis* involved in the European invasion. *Journal of Evolutionary Biology* **24**:1044–1052.
- Wajnberg, E. 1991. Quality control of mass-reared arthropods: a genetic and statistical approach. Fifth Workshop of the IOBC Global Working Group on Quality Control of Mass Reared Arthropods : 15–25.
- Waples, R. S. 1999. Dispelling some myths about hatcheries. *Fisheries* **24**:12–21.
- Wilson, A. J., J. M. Pemberton, J. G. Pilkington, D. W. Coltman, D. V. Mifsud et al. 2006. Environmental coupling of selection and heritability limits evolution. *PLoS Biology* **4**:e216. DOI: 10.1371/journal.pbio.0040216.
- Zouros, E., M. Loukas, A. Economopoulos, and B. Mazomenos. 1982. Selection at the alcohol-dehydrogenase locus of the olive fruit-fly *dacus-oleae* under artificial rearing. *Heredity* **48**:169–185.

## Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

**Data S1.** Raw data concerning the experiment of susceptibility to *Beauveria bassiana*.

Please note: Wiley-Blackwell are not responsible for the content or functionality of any supporting materials supplied by the authors. Any queries (other than missing material) should be directed to the corresponding author for the article.

## A.2.1 Annexe A.2

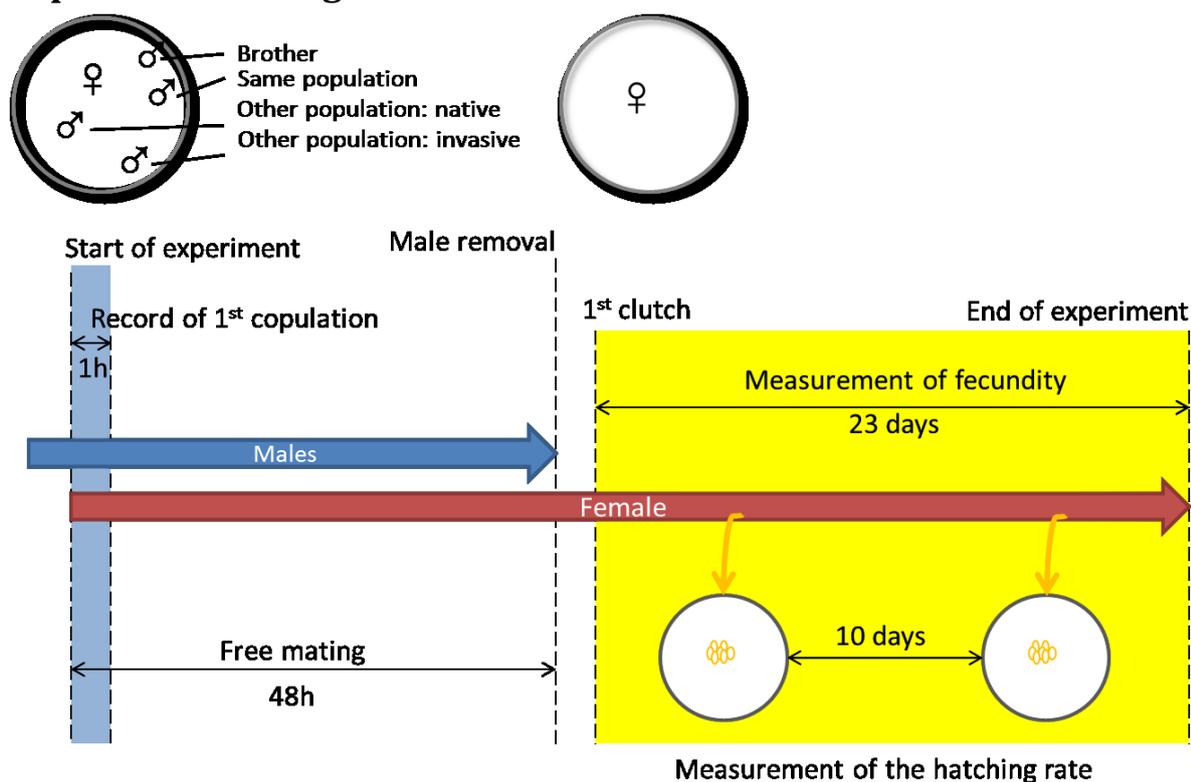
Traitement	Croisement	Taux d'éclosion	Taux de survie
<b>Bloc 1</b>			
témoin	I	0.399 (23)	0.553 (21)
	O	0.496 (24)	0.73 (20)
FS	I	0.382 (11)	0.701 (9)
	O	0.459 (13)	0.801 (12)
RP	I	0.328 (13)	0.591 (11)
	O	0.508 (13)	0.698 (11)
<b>Bloc 2</b>			
témoin	I	0.408 (20)	0.651 (19)
	O	0.481 (20)	0.772 (19)
FS	I	0.465 (11)	0.667 (11)
	O	0.408 (11)	0.788 (11)
RP	I	0.414 (12)	0.589 (10)
	O	0.586 (11)	0.715 (10)

TABLE A.1 – *Résumé des données de la purge expérimentale à la fin de l'expérience (G<sub>6</sub>). Les valeurs présentées sont les taux d'éclosion et de survie larvaire moyens et suivi de l'effectif entre parenthèses. O : Non-consanguins ; I : Consanguins. Notons que dans certains cas, les données des blocs expérimentaux ont été fusionnées lors du traitement statistique (voir texte).*

## A.3.1 Annexe A.3 : Matériel supplémentaire de l'article 1

(pages suivantes)

## 16 Experimental design



17  
18 **Figure S1. Design of the mate choice experiment.**

19 Each female was placed in a Petri dish containing four males: a full sibling, another unrelated male  
20 from the same population and two males from other populations, one native and one, randomly  
21 chosen, invasive. The identity of the first male to mount the female was recorded during the first  
22 hour and the insects were then left to copulate freely for the next 47 hours. The males were then  
23 removed and the females were left alone for 23 days after the laying of the first clutch of eggs.  
24 During this period, female fecundity was recorded and the hatching rate of the eggs was estimated  
25 from at least one early and one late clutch. The paternity of eight second-instar larvae was assessed  
26 by molecular analysis, in two clutches laid at least 10 days apart.

## 27 Statistical modelling of data for male reproductive success

28 According to our experimental design, the outcome of male sexual competition is independent  
29 between two Petri dishes but not within each Petri dish. This feature precludes data analysis with  
30 classic generalised linear models for male traits. We therefore had to construct appropriate models  
31 for correct quantification of the potential effects on male success and assessment of complex  
32 interaction effects.

### 33 Score for the male

34 We considered competition between the males to be like a race. In each round, four males 'run to  
35 the finish line' (mounting the female), so the probability  $p_{i,k}$  of a male  $k$  winning a race in 'arena'  $i$  (a  
36 given Petri dish) depends on its 'fitness score'  $y_{i,k}$  relative to the other three males.

37 This probability can be written

$$p_{i,k} = \frac{y_{i,k}}{\sum_{k'=1}^K y_{i,k'}}, \quad K = 4; \quad y_{i,k} \geq 0 \text{ for all } i, k; \text{ and } \sum_k p_{i,k} = 1, \text{ for all } i$$

38 where the score  $y_{i,k}$  can be generally written as

$$y_{i,k} = \exp\left(\sum_{t=1}^T \mu_{t_{i,k}}\right)$$

39 Where  $\mu_{t_{i,k}}$  is the effect  $t_{i,k}$  (including interaction factors) of male  $k$  in arena  $i$ . If  $K=2$ , this model  
 40 corresponds to the classical logistic model.

#### 41 **Likelihood of the model**

42 More generally, we assumed that a total of  $n$  independent races took place in each arena. Let  $z_{i,k}$  be  
 43 the number of victories for male  $(i, k)$ .  $Z_{i,k}$  follows a multinomial distribution. The likelihood  $L_i$  of  
 44 the results for arena  $i$  is the expression of the multinomial distribution:

$$L_i = \mathbb{P}\left[\bigcap_{k=1}^K (Z_{i,k} = z_{ik})\right]$$

$$= \frac{(\sum_{k=1}^K z_{ik})!}{\prod_{k=1}^K (z_{ik})!} \prod_{k=1}^K p_{ik}^{z_{ik}}$$

45 As only one race per arena was considered, we have, for all  $i$  and all  $k$ ,  $z_{ik} = 0$  or  $z_{ik} = 1$ , thus  
 46  $z_{ik}! = 1$  in all cases. The likelihood expression can thus be simplified to

$$L_i = \prod_{k=1}^K p_{ik}^{z_{ik}}$$

47 We can now obtain an expression of the likelihood  $L$  of the data over all arenas. As the events in one  
 48 arena are independent of those in any other arena, this expression is simply the product of the  
 49 likelihood of the results of each arena:

$$L = \prod_{i=1}^I \prod_{k=1}^K p_{ik}^{z_{ik}}$$

50 The log likelihood of the model is thus

$$\log L = \sum_{i=1}^I \sum_{k=1}^K z_{ik} \log(p_{ik})$$

#### 51 **Model parameter estimations and statistical tests**

52 Model fitting was achieved by maximising the previous log-likelihood. The confidence intervals of the  
 53 parameters were estimated from 2,000 bootstrap samplings. Models were compared using  
 54 likelihood ratio tests for nested models (where applicable), as described in.

55

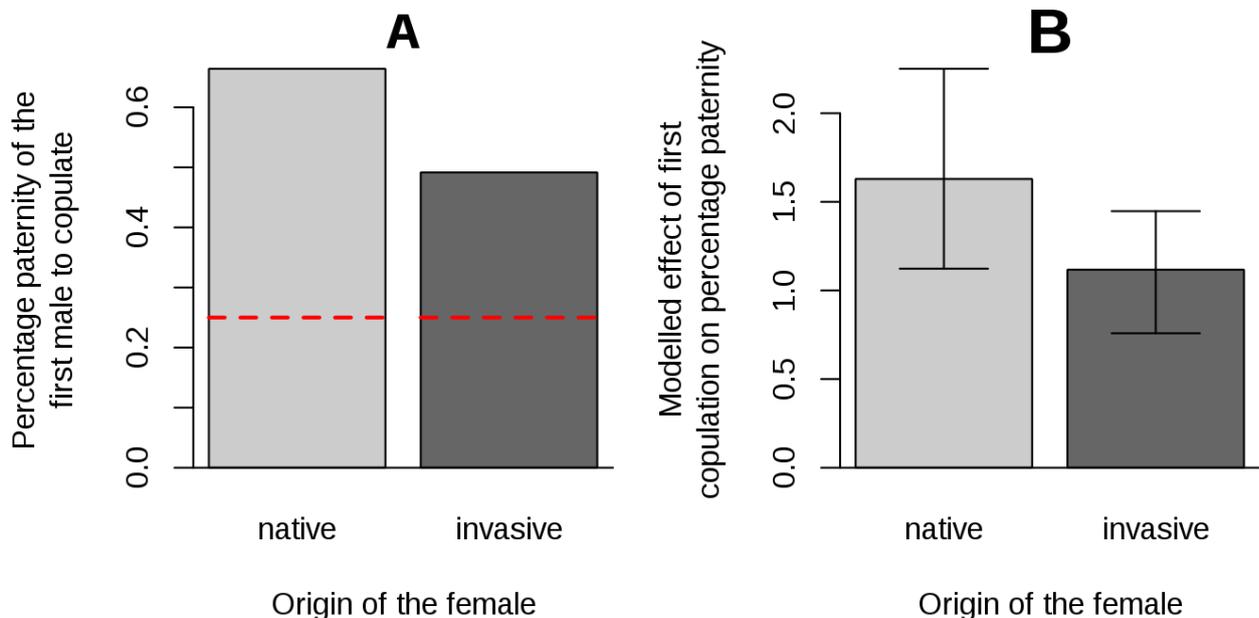
56 **Size of the data set**

57 **Table S1 Number of females analysed in the data set.**

Population* of the female	Population* of the first male to copulate					Eggs <sup>†</sup>	Hatch <sup>¶</sup>	Larva <sup>§</sup>
	Chi	Jap	Hun	Can	Saf			
Chi (26)	10 (5 <sup>‡</sup> )	3	3	3	4	18	17	17
Jap(25)	2	13 (11 <sup>‡</sup> )	3	4	2	18	18	18
Hun (26)	3	2	15 (8 <sup>‡</sup> )	4	1	22	21	21
Can (26)	2	2	4	14 (9 <sup>‡</sup> )	1	22	21	20
SAf (26)	0	2	7	2	14 (10 <sup>‡</sup> )	22	20	20

58 \* Population of origin: Chi: China, Jap: Japan, Hun: Hungary, Can: Canada, SAf: South Africa.  
 59 † Number of females that laid eggs. ‡ Number of which copulated with their brother first. ¶ Number  
 60 of females with viable eggs. § Number of females with genotyped larvae. The last three columns only  
 61 include females that copulated during the first hour, i.e. for which data were available for first mate  
 62 choice.

63 **First male precedence**



64 **Figure S2. Effect of being the first male to copulate with a given female on percentage of paternity**  
 65 **within the female's offspring. A:** Observed percentage paternity of the first male to copulate with  
 66 native and invasive females. Red dashed lines are the values expected under the null hypothesis.  
 67 **B:** Model estimates of the effect of being the first male to copulate with a female on percentage  
 68 paternity, with corresponding 95% confidence intervals. The expected effect with the null model is  
 69 zero for both native and invasive females. The effect is significant in both cases, but the difference  
 70 between native and invasive females is not significant (see models P1 and P2 in Tables 2 and 4).  
 71

72



---

Ce document a été préparé à l'aide de l'éditeur TeXmaker et du logiciel de composition  
typographique L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X 2<sub>ε</sub>.





**Résumé** Cette thèse porte un regard évolutif sur les invasions biologiques qui sont une menace écologique, économique et sanitaire grandissante. Qu'ils en soient la cause ou la conséquence, les invasions sont en effet le théâtre de changements évolutifs rapides et importants. Ces changements peuvent être liés à une différence de pression de sélection entre l'aire d'origine et l'aire envahie, mais peuvent aussi être initiés par des événements démo-génétiques comme un goulot d'étranglement démographique ou l'admixture (hybridation intra-spécifique) entre populations génétiquement différentes. Les changements évolutifs concernent aussi bien des traits liés à la reproduction que le fardeau génétique et la dépression de consanguinité. La forte dérive génétique qui peut se produire au cours d'un goulot d'étranglement peut conduire à la purge ou la fixation rapide d'allèles délétères responsables du fardeau génétique. Les traits de reproduction peuvent eux aussi influencer directement l'issue d'une invasion, au travers du taux d'accroissement démographique de la population. Ils peuvent aussi avoir un effet indirect sur le succès d'introduction en modifiant l'intensité des effets des événements démo-génétiques. Au cours de cette thèse, j'ai étudié l'évolution du fardeau génétique et de traits de reproduction au cours d'une invasion biologique grâce à (i) une série d'expériences sur l'espèce envahissante modèle *Harmonia axyridis* (la coccinelle asiatique) et à (ii) un modèle théorique de dynamique de la fréquence d'un allèle délétère dans une population subissant un goulot d'étranglement. Mes résultats montrent que les populations envahissantes ont des traits de reproduction plus performants que celles de l'aire native. En particulier, les femelles envahissantes présentent une fécondité plus élevée et fécondent leurs œufs avec le sperme d'un plus grand nombre de mâles. Il n'existe pas, chez cette espèce, de mécanisme évident d'évitement de la consanguinité, bien que les populations de l'aire native souffrent de dépression de consanguinité contrairement à celles de l'aire envahie. La dépression de consanguinité peut évoluer très vite chez cette espèce en cas de fort goulot d'étranglement. Dans les conditions expérimentales, les allèles délétères étaient parfois purgés, mais ont souvent été fixés dans la population au cours d'un goulot. Enfin, le modèle théorique a montré que les probabilités de perte ou de fixation d'un allèle délétère récessif peuvent toutes deux augmenter rapidement par dérive au cours d'un goulot d'étranglement d'intensité modérée. Ces résultats soulignent l'importance du hasard sur le succès d'une invasion biologique. Puisque la probabilité d'émergence de combinaisons génomiques favorables à l'invasion augmente avec le nombre d'introduction, limiter le nombre d'événements d'introduction peut s'avérer déterminant pour prévenir de futures invasions biologiques.

**Mots-clés** Évolution, fardeau génétique, goulot d'étranglement, invasions biologiques, purge génétique, traits d'histoire de vie

\*\*\*

**Abstract** This thesis provides some evolutionary insights on biological invasions, which represent a growing threat on ecology, economy and public health. Biological invasions are a place of rapid and important evolutionary changes that can be the cause or the consequence of invasion success. These changes can be caused by differences in selective pressures between the native and the invaded area. They can also be due to demo-genetic events such as demographic bottlenecks and admixture (*i.e.* intra-specific hybridisation) between genetically distinct populations. Evolutionary changes affect life-history traits (including reproductive traits) as well as the genetic load and inbreeding depression. Genetic drift can be strong during a bottleneck and can induce the rapid purging or fixation of deleterious alleles responsible for the genetic load. Reproductive traits can also influence the fate of an invasion by changing the demographic growth rate. Moreover, they can have an indirect impact on the success of introduction by altering the intensity of demo-genetic events. Throughout this thesis, I studied the evolution of the genetic load and of reproductive traits by the mean of (i) laboratory experiments using the invasive Harlequin ladybird *Harmonia axyridis* as a model species and (ii) through the study of a theoretical model of the dynamics of allele frequencies during a bottleneck. My results show that invasive populations have better reproductive traits than those from the native area. Particularly, invasive females display an increased fecundity and fertilize their eggs with the sperm of a higher number of males. In this species, there is no obvious mechanism of inbreeding avoidance, even though native populations suffer to inbreeding depression contrarily to invasive ones. Inbreeding depression can evolve quickly in this species if the population goes through a severe bottleneck. In my experiments, deleterious alleles were often fixed in the population during the bottleneck, but were sometimes purged. Finally, the theoretical model studied described show that the probability of complete loss or fixation of a deleterious recessive allele can both increase by drift during a bottleneck. These results highlight the importance of chance on the success of a biological invasion. Because the probability of emergence of genomic combinations that can favour an invasion increases with the number of introduction events, limiting the number of introduction events might be an efficient way to prevent or minimise upcoming biological invasions.

**Keywords** Biological invasions, bottleneck, evolution, genetic load, genetic purging, life history traits