

ÉCOLE DOCTORALE SST

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte

THÈSE

 présentée par :

Elfie PERDEREAU

soutenue le : 2 juillet 2010

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université François - Rabelais**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie

BIOLOGIE DE L'INVASION D'UN TERMITE AMERICAIN EN FRANCE
Evolution de l'organisation sociale et conséquences sur le succès
invasif

THÈSE dirigée par :

M^{me} Anne-Geneviève BAGNERES Directeur de Recherche, CNRS, Tours

Co encadré par :

M. Franck DEDEINE

Maître de Conférences, Université François-Rabelais, Tours

RAPPORTEURS :

M. Alain ROQUES

Directeur de Recherche, INRA, Orléans

M. Denis FOURNIER

Chercheur, FRS-FNRS, Bruxelles

JURY :

M. Jean-Paul MONGE

Professeur, Université François-Rabelais, Tours

M. Alain ROQUES

Directeur de Recherche, INRA, Orléans

M. Denis FOURNIER

Chercheur, FRS-FNRS, Bruxelles

M. Ed VARGO

Professeur, Université de Caroline du Nord, Raleigh

M. Franck DEDEINE

Maître de Conférences, Université François-Rabelais, Tours

M^{me} Anne-Geneviève BAGNERES Directeur de Recherche, CNRS, Tours

A mon père Bruno Perdereau,

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier Messieurs Denis Fournier, Alain Roques, Edward Vargo et Jean-Paul Monge d'avoir accepté d'être membres du jury de ma thèse.

Ce travail a été réalisé à l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI). Je tiens donc à remercier les directeurs successifs de ce laboratoire, Jérôme Casas et Jean-Paul Monge, de m'y avoir accueilli et de m'avoir donné les moyens de mener mon travail dans des conditions optimales.

Je tiens à remercier ma directrice de thèse, Anne-Geneviève Bagnères, tout d'abord de m'avoir permis d'effectuer ce travail de thèse dans son équipe puis de m'avoir fait confiance dans tout ce que j'ai entrepris au cours de ma thèse. J'ai apprécié la disponibilité, l'autonomie et le soutien scientifique et personnel qu'elle m'a accordé. Je tiens également à remercier Anne-Geneviève de m'avoir fait découvrir le « monde », à travers toutes les missions d'échantillonnage que j'ai pu effectuer et tout les congrès auxquels j'ai pu assisté.

Je tiens à remercier Franck « co-encadrant » Dedeine, de m'avoir aussi bien « co-encadré ». Je le remercie de m'avoir poussé à aller toujours plus loin, d'avoir pris la patience de m'inculquer ou essayer de m'inculquer tout qu'il sait et pour nos captivantes discussions scientifiques. J'ai apprécié son entrain, ses idées à foison, et son perfectionnisme. Ma thèse ne sera pas ce qu'elle est sans lui.

Je remercie chaleureusement l'ensemble de l'équipe ISEC qui m'ont aidé au quotidien, et plus particulièrement Jean-Philippe pour tout ses conseils et son aide pour les mises au point des protocoles de chimie analytique. Je remercie Marie pour toutes nos longues discussions, son grand soutien et son aide dans mes préparations de cours. Merci à Sylvain, pour sa bonne humeur, nos franches parties de rigolades, tout les échanges scientifiques ou non, et pour son aide sur R gui et les analyses phylogénétiques.

Je tiens à remercier Mickael Scharf, Nan-Yao Su, Claudia Husseneder, Edward Vargo et l'ensemble de leur équipe de m'avoir accueilli chaleureusement dans leur laboratoire en Floride et en Louisiane et de m'avoir aidé à récolter des termites aux USA.

Je remercie également Dominique Pierre pour la tutelle de mon monitorat et de m'avoir donné les moyens d'enseigner ce que j'aimais.

Je tiens à remercier les personnes qui ont partagé mon bureau, et tout particulièrement Laurianne, pour tous ses précieux conseils et nos discussions passionnées de thésardes fatiguées. Je tiens à remercier Marjorie, en premier lieu pour son aide dans une partie de ma thèse dans le cadre de son stage de Master 1, mais également pour son assistance en informatique et ses bon gâteaux qu'elle a fait dernièrement (continue !!!).

Je remercie l'ensemble des stagiaires avec lesquels j'ai interagi et qui ont pu travailler ou non dans le cadre de ma thèse : Charles Edouard Imbert, Yann Bourgeois, Maxime Traineau, Jérémy Dion, Xavier Landré et également Lucille Moriceau.

Je remercie Stéphanie Bankhead-Dronnet, de m'avoir conseillé et fait collaborer à un de ses articles. Je tiens à remercier aussi Céline et Apolline pour leur soutien et leur sympathie.

Merci à Marie, Sylvain et David pour leur écoute et nos moments de détente sportive.

J'en arrive à des remerciements plus personnels, en commençant par mes amis :

Un grand Merci à mes amis de toujours !!!!! Willou, Nese, Jonath et Jeremy qui ont pu me soutenir en me faisant toujours marrer. Je remercie « ma poulette » Anne Lise qui m'a toujours remonté le moral lors de nos discussions de tout et de rien pendant des heures au téléphone. Je remercie également Jean-Phi de s'être toujours intéressé à mon travail et de m'avoir soutenue.

Je remercie ma famille en débutant par ma mamie Yoyo qui m'a aidé à en arriver là et pour qui j'ai une tendresse énorme.

Merci à ma petite sœur, Juliette, d'être telle qu'elle est : joyeuse, marrante et pleine de vie. Bien sûr, je remercie ma belle-maman, Claudie, d'avoir été là dans les moments douloureux que nous avons traversé ensemble et de s'occuper perpétuellement de tout, je ne sais pas ce comment j'aurais fait sans elle.

Merci à ma grande sœur, Anaïs, de s'être toujours occupé de moi, pour sa spontanéité, son humour et son aide pour les TIFF. Merci également à Frédéric de s'occuper bien d'elle, qu'à cela ne tienne, don !

Je remercie énormément ma mère, Sylvie, pour qui j'ai une grande fierté. Merci maman de m'avoir aidé à relativiser, de m'avoir toujours soutenue, calmée, encouragée tout au long de mon cursus et de m'avoir donné les moyens d'en arriver là.

Je remercie mon père, Bruno, de m'avoir donné l'envie de faire de longues études. Tu vois papa j'ai réussi je suis pas docteur en médecine mais docteur en Sciences de la vie !

Et finalement, je remercie, mon ti collègue, mon ti copain, Simon de m'avoir aidé et supporté, mais également pour être le meilleur renifleur de termites (la palme d'or). Merci Simon de m'avoir montré toutes les techniques de biologie moléculaire et de ta grande disponibilité tout au long de ma thèse, surtout dernièrement. Mais surtout de manière plus personnel, merci de m'avoir insufflé un nouvel élan de vie et toujours soutenue.

Résumé

La constante augmentation des problèmes écologiques et économiques liés aux invasions biologiques nécessite une meilleure compréhension des mécanismes par lesquels une espèce introduite dans un nouvel environnement parvient à s'établir et à se propager. Les insectes sociaux figurent parmi les animaux les plus invasifs, causant souvent des dégâts considérables. Jusqu'à aujourd'hui, les études se sont focalisées sur les Hyménoptères sociaux. Chez ces insectes, il a été montré que l'organisation sociale des populations introduites présente souvent des caractéristiques propres (polygynie, unicolonialité) pouvant expliquer, au moins en partie, leur succès invasif. Bien que les Isoptères (termites) introduits sont nombreux, ils n'ont fait l'objet que de peu d'études.

L'objectif principal de cette thèse est de caractériser l'organisation sociale des populations introduites chez les Isoptères, à travers l'étude du termite américain *Reticulitermes flavipes* (Rhinotermitidae) introduit en France. Cette étude vise plus précisément à répondre à trois questions : (i) l'organisation sociale des populations introduites varie-t-elle de celle des populations natives ? (ii) si oui, est-ce que ces variations résultent d'une évolution suite à l'introduction ? (iii) Est-ce que les caractéristiques sociales acquises par les colonies introduites favorisent leur installation et leur propagation en France ?

L'étude de la structure génétique d'une population introduite française de *R. flavipes* révèle une organisation sociale particulière qui diffère fortement de l'organisation sociale rencontrée dans la majorité des populations américaines. Les colonies françaises sont spatialement très étendues et possèdent toutes de nombreux reproducteurs secondaires néoténiques. De plus, les analyses génétiques montrent une fréquence importante de fusion coloniale, un phénomène absent ou rare dans la majorité des populations américaines.

Nos études de comportement dévoilent que les colonies introduites de *R. flavipes* ne sont jamais agressives les unes envers les autres. Cette absence d'agression intraspécifique, associée à une homogénéité des facteurs jouant dans la reconnaissance coloniale (hydrocarbures cuticulaires), pourraient expliquer l'importante proportion de fusion coloniale. Les résultats de comportement révèlent également que *R. flavipes* est très agressif vis-à-vis de l'espèce autochtone française, *R. grassei*, avec lequel il est en compétition dans certaines régions de France.

Les analyses phylogéographiques des populations de *R. flavipes* suggèrent, à la fois sur la base d'un marqueur mitochondrial (CO II) et des microsatellites, des populations de Louisiane comme source de l'introduction des populations françaises. L'étude des composés chimiques (hydrocarbures cuticulaires et composés défensifs des soldats) conduit à la même conclusion. Par ailleurs, les analyses indiquent que le niveau de diversité génétique dans les populations introduites est plus faible que celui des populations louisianaises, suggérant la présence d'un effet de fondation durant l'introduction.

L'ensemble de ces études montrent que l'organisation sociale des populations françaises de *R. flavipes* a évolué suite à l'introduction. La présence de nombreux reproducteurs au sein des colonies et les fusions coloniales associées au manque d'agression intraspécifique sont des caractères analogues à la polygynie et l'unicolonialité des Hyménoptères sociaux introduits. Ces caractéristiques sociales des populations de *R. flavipes* semblent être propices à l'installation et à l'expansion de ce termite en France, notamment en zone perturbée. Les possibles origines évolutives des variations observées entre les populations natives et introduites de ce termite sont discutées.

Mots-clés : Invasions biologiques, Insectes sociaux, Organisation sociale, Unicolonialité, Système de reproduction, Termites, Néoténie, Fusion, Phylogéographie, Compétition, Diversité génétique, Hydrocarbures Cuticulaires, Microsatellites.

Abstract

The increasing ecological and economical problems caused by biological invasions require a better understanding of the mechanisms involved in the establishment and propagation of introduced species in their new environment. Social insects figure amongst the most invasive of all animal species, often responsible for considerable damages. Until now, most studies on invasive social insects focused on social Hymenoptera (ants, bees, wasps). In these insects, it has been revealed that the social organization of introduced populations often exhibited particular characteristics (polygynous, unicoloniality), which could explain, at least partly, their invasive success. Although Isopteran (termites) introductions are numerous, studies of Isopteran introductions remain rare.

The principal objective of this thesis is to characterize the social organization of introduced Isoptera, through the study of the American termite *Reticulitermes flavipes* (Rhinotermitidae) introduced in France. Three questions guide this studies: (i) Does the social organization differ between introduced and native populations? (ii) If so, do these variations result of an evolutionary process after introduction? (iii) Do the newly acquired characteristics of introduced populations favor their establishment and expansion in France?

The genetic structure of an introduced French population reveals a particular social organization that strongly differs from the one described in native populations. French colonies are spatially extended and all possess numerous neotenic reproductives. In addition, genetic analyses show that the prevalence of colony fusion in this introduced population is much more important in comparison with the prevalence of such event in American populations.

As observed in invasive ants, our behavioral studies show a complete lack of aggression between colonies of introduced populations. This lack of aggressive behavior associated with an important homogeneity of the recognition cues (cuticular hydrocarbons), could explain the important prevalence of colony fusion in France. Furthermore, the results also reveal that *R. flavipes* presents a superiority (based on aggressive behavior) towards the indigenous sympatric species, *R. grassei*.

The phylogeographic analyses of several native and introduced populations based on both mtDNA (COII) and microsatellite loci suggest that French populations might have been founded by individuals from southeastern American populations, and more likely from the state of Louisiana. Interestingly, the analyses of chemical compounds (cuticular hydrocarbons and defensive compounds of soldiers) suggest the same conclusion. Furthermore, analyses also indicate that the level of genetic diversity within French populations is lower than the level of genetic diversity within populations from Louisiana, suggesting a bottleneck effect during introduction.

Altogether these studies indicate that the social organization of *R. flavipes* evolved after its introduction in France. The ability of French colonies to produce numerous neotenic reproductives as well as their capacity to fuse can be viewed as analogous to polygyny and unicoloniality observed in invasive social Hymenoptera. In addition, this study also suggests that the acquisition of this social organization probably increase the ability of the introduced termites to establish and colonize their new geographical range, especially in "anthropized" area. The possible evolutionary origins of the observed variations between native and introduced populations are discussed.

Key-words : Biological invasions, Social Insects, Social organisation, Unicoloniality, Breeding system, Termites, Neoteny, Fusion, Phylogeography, Competition, Genetic diversity, Cuticular Hydrocarbons, Microsatellites.

Table des matières

Remerciements	5
Résumé	9
Abstract	11
Table des matières	13
Liste des figures (hors articles)	17
Liste des tableaux (hors articles)	19
Liste des encarts	19
Liste des annexes.....	19
PARTIE I PRESENTATION GENERALE.....	21
A- Contexte général.....	23
B- Synthèse Bibliographique : Les invasions biologiques	27
I. Les invasions biologiques.....	29
1. Contexte sociétal	29
2. Conséquences des invasions biologiques	31
3. Mécanismes écologiques et évolutifs des invasions biologiques	34
3.1 Processus écologiques de l'invasion	34
3.2 Adéquation espèce-environnement	37
3.3 Evolution rapide et adaptabilité des espèces introduites.....	41
II. Les insectes sociaux invasifs.....	45
1. Présentation générale	45
2. Conséquences des insectes sociaux invasifs.....	47
3. Mécanismes invasifs des insectes sociaux.....	49
3.1 Caractéristiques propices aux invasions	49
3.2 Variations de l'organisation sociale.....	50
3.3 Origines des variations entre populations natives et introduites et mécanismes impliqués.....	52
3.4 La place des Isoptères.....	54
C- Présentation du modèle d'étude <i>Reticulitermes flavipes/ santonensis</i>	57
I. Caractéristiques générales des termites de la famille des Rhinotermitidae	59

II.	Biologie des <i>Reticulitermes</i>	60
1.	Système de castes et cycle de développement.....	60
2.	Détermination et différenciation des castes.....	62
3	Structure coloniale et méthode de dispersion.....	63
3.1	Définition de la colonie.....	63
3.2	Les différentes structures familiales au sein des colonies	64
3.3	Reproduction sexuée et asexuée	66
3.4	Méthode de dispersion	66
3.5	Intégrité coloniale et hydrocarbures	68
III.	Les espèces de <i>Reticulitermes</i> en Europe.....	72
IV.	Le termite <i>R. flavipes/santonensis</i>	73
1.	Répartition géographique.....	73
2.	Histoire de <i>R. flavipes</i> en France.....	76
3.	Evidences de l'introduction en Europe.....	77
4.	Variations phénotypiques entre les populations natives et introduites	81
D-	Problématique et objectifs	83
I.	Problématique générale de la thèse	85
II.	Objectifs spécifiques de thèse	86
	 PARTIE II RESULTATS	 89
	 Etude 1 : Structure génétique d'une population introduite de <i>R. flavipes</i>	 91
	Synthèse de l'article 1	93
	Etude 2 : Etude des interactions de compétition entre <i>R. flavipes</i> et <i>R. grassei</i>	111
	Synthèse de l'article 2	113
	Article 2 : Competition between invasive and indigenous species: an insular case study of subterranean termites	121
	Etude 3 : Analyse et comparaison des composés chimiques entre les populations natives et introduites de <i>R. flavipes</i>	145
	Synthèse de l'article 3	147
	Article 3 : Intraspecific chemical variations within introduced and native populations of the subterranean termite <i>R. flavipes</i>	151

Etude 4 : Analyse phylogéographique des populations natives et introduites de <i>R. flavipes</i>	173
Synthèse de l'article 4	175
Article 4 : Phylogeographic analyses reveal a Louisiana origin of the <i>R. flavipes</i> French populations	179
PARTIE III DISCUSSION-CONCLUSION	209
I. Organisation sociale et succès invasif.....	211
1. Absence d'agressivité intraspécifique et fusion coloniale : une forme d'unicolonialité chez un termite ?	211
2. La néoténie : une augmentation du nombre de reproducteurs	214
3. Unicolonialité et polygynie chez les insectes sociaux introduits.....	219
II. Comment expliquer les variations observées entre les populations natives et introduites ?.....	220
1. Hybridation interspécifique.....	220
2. Plasticité phénotypique	220
3. Effet fondateur	221
III. Evolution de l'organisation sociale suite à l'introduction	223
1. Evolution du manque d'agression et de la fusion coloniale	223
2. Evolution du système de différenciation des néoténiques	226
3. Fusion coloniale et néoténie : évolution indépendante ou effet pléiotrope ?.....	232
IV. Histoire d'une invasion	233
V. Conclusions et perspectives.....	235
ANNEXES	239
BIBLIOGRAPHIE.....	259

Liste des figures (hors articles)

Figure 1. Les 3 étapes évolutives du processus invasifs (Kolar et al. 2001, Richardson et al. 2000b).....	35
Figure 2. Les trois scénarios d'invasions biologiques selon Facon et al. 2006.....	38
Figure 3. Schéma général des causes et des conséquences des invasions biologiques d'après Vellend et al. 2007.....	44
Figure 4. Arbre phylogénétique représentant les différentes familles rencontrées chez les Isoptères (en bleu) (d'après Inward et al. 2007).....	59
Figure 5. Cycle de développement et moyen de dispersion des termites du genre <i>Reticulitermes</i> (D'après Buchli 1958 et Vieau 1991).....	60
Figure 6. Photo d'une colonie de <i>R. flavipes</i> récoltée en France sur l'île d'Oléron, Forêt de St Trojan (E. Perdereau).....	64
Figure 7. Répartition géographique « en milieu naturel » (en dehors des infestations en ville) des termites du genre <i>Reticulitermes</i> en Europe (L. Leniaud).....	72
Figure 8. Carte représentant la répartition du termite <i>R. flavipes</i> aux USA. National Termite Survey (http://www.termite-survey.com).....	74
Figure 9. Carte de la répartition du termite <i>R. flavipes</i> dans le monde.....	74
Figure 10. Carte indiquant la présence des espèces de <i>Reticulitermes</i> en milieu anthropisé pour chaque département.....	75
Figure 11. Photographies au microscope électronique de têtes d'ouvriers de <i>R. santonensis</i> (a) et de <i>R. flavipes</i> (b) (Bagnères et al. 1990).....	78
Figure 12. Photo de deux soldats et de larves de <i>R. flavipes</i> . (E. Perdereau).....	79
Figure 13. Variations de la structure familiale entre les populations introduites et natives de <i>R. flavipes</i>	95
Figure 14. Carte représentant la répartition de <i>R. flavipes</i> et <i>R. grassei</i> sur l'île d'Oléron (a) et plus précisément dans la Forêt de St Trojan (b) leur zone de sympatrie (source Google Earth).....	115
Figure 15. Mécanismes possibles à l'origine de l'importante capacité à fusionner dans les populations introduites de <i>R. flavipes</i>	225
Figure 16. Mécanismes possibles impliqués dans la différenciation en néoténique.....	228

Liste des tableaux (hors articles)

Tableau 1. Tableau présentant l'aire géographique, la structure sociale et les impacts répertoriés pour les 7 insectes sociaux les plus invasifs à travers le monde.....46

Tableau 2. Interactions inter et intraspécifiques et comparaisons du système de reconnaissance, de dispersion et de reproduction entre *R. flavipes* et *R. grassei* en zone de sympatrie.....117

Tableau 3. Variations de l'organisation sociale entre espèces et entre continents observées chez les termites du genre *Reticulitermes* et chez le termite *Coptotermes formosanus*.....231

Liste des encarts

Encart 1. Définition d'une espèce invasive.....30

Encart 2. La théorie de la sélection de parentèle.....70

Encart 3. Les hydrocarbures cuticulaires.....71

Encart 4. Les marqueurs moléculaires.....80

Liste des annexes

Annexe 1. Lexique.....241

Annexe 2. Profils cuticulaires des *Reticulitermes* européens243

Annexe 3. Profils des composés défensifs des soldats chez *R. flavipes*245

Annexe 4. Curriculum vitae247

Annexe 5. Proceedings of International Conference on Urban Pests251

PARTIE I
PRESENTATION GENERALE

A- Contexte général

Les invasions biologiques sont une préoccupation ancienne et récurrente, par le fait que les causes et les conséquences de ces phénomènes sont très diverses. Comprendre les raisons du succès invasif d'une espèce est fondamental afin de mieux appréhender les phénomènes d'expansion et d'extinction sous-jacents. D'autre part, l'étude des invasions biologiques permet également d'élargir les données en écologie générale et biologie évolutive sur les traits d'histoire de vie des espèces et les processus d'adaptation qu'engendre l'introduction de populations allochtones.

En constante augmentation depuis un siècle, les invasions biologiques sont de plus en plus étudiées, aussi bien chez les organismes végétaux qu'animaux. Parmi les groupes les plus documentés, les insectes dit « sociaux » ont été définis comme d'excellents invasifs (Moller 1996). De nombreuses études ont démontré que les populations introduites d'insectes sociaux présentent souvent des modifications dans leur organisation sociale impliquées dans le succès invasif de ces espèces (Chapman and Bourke 2001). Ces modifications de l'organisation sociale ont été bien étudiées chez les Hyménoptères sociaux introduits (abeilles, bourdons, guêpes et fourmis). Néanmoins le constat n'est pas le même chez les Isoptères (termites) où très peu d'études sont recensées.

L'objectif général de ma thèse est d'accroître nos connaissances sur les processus liés aux invasions biologiques chez les insectes sociaux à travers l'étude de l'introduction du termite américain *Reticulitermes flavipes* en France. Ce termite, anciennement nommé *R. santonensis*, a montré une colonisation rapide sur une grande partie du territoire français. Une étude préliminaire sur les populations introduites de *R. flavipes* a mis en évidence un système de reproduction particulier (Dronnet 2004). Cependant encore beaucoup de questions demeurent tant sur les éventuels modifications de structure sociale que l'histoire et les capacités invasives des populations introduites.

Ce travail de thèse fait partie d'une des problématiques de l'équipe ISEC (Insectes Sociaux et Ecologie Chimique) dirigée par A.-G. Bagnères traitant des invasions biologiques chez les insectes sociaux à travers la thèse de S. Dronnet (2004) portant sur

Présentation Générale

la « structure reproductrice, distances génétiques et variations chimiques, inter-et intra-coloniales, chez le termite souterrain *R. santonensis* », la thèse de L. Leniaud (2008) intitulée « Potentialités ontogéniques, différenciation des castes et conséquences sur la structure génétique des termites du genre *Reticulitermes* » et l'étude de la signature chimique et de la structure des nids du frelon asiatique en France par E. Darrouzet. Cette présente thèse s'inscrit dans un projet de collaboration internationale scientifique avec le laboratoire de Edward Vargo à l'Université de Raleigh de Caroline du Nord (PICS).

Après cette introduction, la suite de la première partie sera consacrée à une présentation générale du contexte de la thèse à travers une synthèse bibliographique sur les invasions biologiques, la présentation du modèle d'étude, et l'énoncé de la problématique et des quatre principaux objectifs. Ensuite la deuxième partie de la thèse sera dédiée aux résultats des quatre objectifs qui ont donné lieu à quatre études. Dans une dernière partie, une discussion générale et une conclusion seront présentées, ainsi que les perspectives découlant de ce travail de thèse.

B- Synthèse Bibliographique : Les invasions biologiques

I. Les invasions biologiques

1. Contexte sociétal

La biodiversité est confrontée à de nombreuses menaces sur l'ensemble de la planète incitant les scientifiques, écologistes et experts à parler de sixième crise d'extinction. Les invasions biologiques (introduction d'espèces animales et végétales en dehors de leur aire de répartition « naturelle », Encart 1) sont considérées comme la deuxième cause d'extinction des espèces après la destruction des habitats (phénomènes d'anthropisation) et avant la surexploitation des ressources (IUCN¹) (Wilcove et al., 1998, Sax and Gaines 2008). Même si les colonisations, les extinctions et les invasions, ont toujours existé, l'homme a modifié un équilibre en accélérant et amplifiant les phénomènes d'introduction, et en dégradant les milieux les rendant propices aux invasions. A l'échelle des temps géologiques, la modification de l'aire de répartition des espèces est un phénomène naturel jouant un rôle dans la spéciation et la dynamique des populations. Cependant vers le 16^{ème} siècle, avec les grandes explorations, les colonisations et le développement du commerce maritime, l'homme a augmenté et accéléré cette dynamique naturelle. Pour cette raison, des populations ont été volontairement ou involontairement introduites en dehors de leurs frontières naturelles, brisant les barrières géographiques qui structuraient la distribution des espèces (Mayr 1963). Depuis les années 1960, l'intensification des échanges commerciaux, multipliée par 17 de 1965 à 1990, (Perrings et al. 2005) n'a fait qu'amplifier l'accélération des flux migratoires. Ainsi, le taux des invasions n'a cessé d'augmenter ces dernières années (Schmitz et al. 1997, Pimentel et al. 2001), engendrant des dégâts décrits comme « insidieux, en augmentation et irréversibles » (Sandlund et al. 2001, Hulme et al. 2009). Il est aussi important de signaler que les invasions engendrent de nombreux dégâts économiques pouvant s'élever à plusieurs milliards de dollars par an (Pimentel 2002). Pour prévenir ces dommages liés aux invasions, l'IUCN a élaboré plusieurs lignes directrices. Une de ces directives est d'encourager la recherche sur les espèces invasives en apportant des informations sur leur statut, leur distribution, leurs caractéristiques biologiques, et leurs effets, et ainsi de

¹Union Internationale pour la Conservation de la Nature

Encart 1. Définition d'une espèce invasive

Le terme « invasion » est utilisé pour la première fois par Goeze en 1882 (cité dans Rejmanek et al. 2002) en définissant la prolifération d'organismes étrangers dans de nouveaux environnements. Mais ce n'est qu'en 1958 grâce à Elton et son ouvrage pionnier « *The ecology of invasions by animals and plants* » (Elton 1958) que l'étude des invasions biologiques a pris toute son ampleur. L'augmentation des déplacements d'organismes vivants entre les continents dès la fin du XIXe siècle a engendré une rapide augmentation d'études sur les espèces non-natives, d'abord en écologie des communautés et plus récemment en biologie évolutive (Davis et al. 2001). Cependant cet élan a également donné suite à de nombreuses définitions, pas toujours claires, des termes concernant les invasions (Richardson et al. 2000, Davis et al. 2001, Rejmanek et al. 2002, Colautti and Mac Isaac 2004, Valéry et al. 2008). Aujourd'hui, l'utilisation de ces différentes terminologies fait souvent l'objet de débat (Falk-Petersen et al. 2006). Par exemple les deux termes « invasive » et « envahissante » a suscité de nombreuses controverses en France (« envahissante » étant la traduction française littérale du mot anglais « invasive ») par le fait que la langue française utilisait les deux termes mais avec une signification différente (voir définitions encart 2). Il est important également de mentionner que le statut d'une espèce (native ou invasive) dépend du contexte spatio-temporel choisit. En effet, une espèce est considérée comme invasive lorsqu'elle se trouve en dehors de son aire de répartition naturelle mais à quelle date définit-on cette répartition naturelle et quelles sont les limites spatiales définissant l'aire de répartition naturelle des espèces ? Les auteurs du livre « Invasions biologiques et extinctions, 11 000 ans d'histoire des Vertébrés en France » ont montré que le début des invasions biologiques dataient principalement des dernières années de l'Holocène (Pascal et al. 2006), en prenant comme cadre spatiale la France. Il semble donc important de redéfinir le terme d'espèce invasive qui sera employé au cours de cette thèse et de préciser qu'une espèce non-native ne deviendra pas forcément invasive.

Dans ce manuscrit une **espèce invasive** sera considérée comme **une espèce introduite en dehors de sa répartition naturelle, définie à partir de l'an 1500, présentant une expansion rapide et qui provoque de nombreux problèmes sanitaires, sociauxéconomiques, et/ou entraînent une perte de biodiversité** (Richardson et al. 2000, Sandlund et al. 2001).

créer des bases de données accessibles à tous (les « listes noires »). C'est dans ce contexte qu'a été mené le projet DAISIE² en Europe. Achievé en 2008, il a révélé la présence de 11 000 espèces introduites en Europe (Vila et al. 2010). Même si le nombre total d'espèces invasives n'est pas réellement connu, il n'en semble pas moins très élevé. Les invasions biologiques concernent tous les groupes taxonomiques, des virus aux mammifères, en passant par les algues, les invertébrés et les plantes supérieures. Aujourd'hui, même si des progrès ont été accomplis, la capacité à prédire les conséquences de l'introduction d'espèces non indigènes demeure encore insatisfaisante. Ainsi, l'apport de nouveaux travaux de recherche de toutes disciplines est essentiel pour constituer une base de connaissance solide sur les invasions biologiques.

2. Conséquences des invasions biologiques

Le nombre d'études augmentant ces dernières années ne cesse de prouver l'importance des dégâts occasionnés par les invasions biologiques (Mooney and Cleland 2000, Pejchar and Mooney 2009). Les invasions biologiques ont un impact économique important avec par exemple un dommage estimé à 120 milliards de dollars par an aux Etats-Unis (Pimentel. et al 2005). Cependant, la plupart des estimations ne prennent pas en compte toutes les conséquences écologiques des invasions comme la perte d'espèces autochtones qui reste difficile à évaluer économiquement (Pimentel et al. 2005). Les espèces invasives perturbent les communautés envahies par des interactions directes avec les espèces indigènes par prédation, compétition, hybridation ou encore le parasitisme, mais altèrent également indirectement le fonctionnement des communautés et des écosystèmes par des cascades de réactions dans les réseaux trophiques.

L'introduction d'un prédateur dans un nouvel écosystème peut avoir des conséquences désastreuses sur les espèces locales devenues proies. Une forte pression de prédation peut amener à une réduction importante de l'effectif des populations locales d'une espèce, à un déplacement de ces populations, ou encore, si cette pression est trop forte, à la disparition de l'espèce. Un exemple bien connu est l'introduction du serpent brun arboricole, *Boiga irregularis*, originaire d'Australie, de Nouvelle-Guinée et

²Delivering Alien Invasive Species Inventories in Europe ; <http://www.europe-aliens.org/>

des île Salomon sur l'île de Guam (Williamson and Fitter 1996). Ce prédateur a perturbé les communautés locales (Savidge 1987) en diminuant les effectifs des populations de 12 espèces d'oiseaux et de 11 espèces de lézards, et en engendrant la disparition de 25 espèces d'oiseaux (Wiles et al. 2003). Ces pertes semblent être expliquées par l'absence de comportement de fuite des proies non adaptées à ce prédateur (Fritts et Rodda 1998). Un autre exemple montrant l'impact de l'introduction d'un prédateur en association avec la pollution est celui de le perche du Nil, *Lates niloticus*, dans le lac Victoria (Afrique de l'Est). Ce poisson a entraîné la disparition de plus de 50% des 600 espèces endémiques du lac (Kaufman 1992, Schofield and Chapman 1999).

L'introduction d'un nouveau compétiteur a également un impact important sur les espèces locales. Les conséquences sont identiques à celles de l'introduction d'un prédateur : réduction des effectifs des populations locales en compétition, déplacement de ces populations ou par une compétition à long terme disparition des populations indigènes. L'invasion de l'algue, *Caulerpa taxifolia*, en Méditerranée a entraîné un appauvrissement sévère de la communauté par compétition pour la lumière (Verlaque 1994). L'introduction de la moule zébrée, *Dreissena polymorpha*, en Europe de l'Ouest et en Amérique, menacent 40 à 75% des espèces indigènes d'Unionides et de poissons par compétition pour le substrat et pour la nourriture (Ricciardi et al. 1998). Les hybridations entre espèces introduites et indigènes peuvent être également à l'origine de nouveaux compétiteurs hybrides. Ce phénomène est nommé « effet d'hétérosis » ou « vigueur hybride » et se traduit par la supériorité pour de nombreux caractères de l'individu hybride (rendement reproductif et résistance aux maladies). Le cas est bien connu chez une herbacée, *Spartina anglica*, taxon dérivé d'une espèce américaine introduite *Sp. alterniflora* et d'une espèce native européenne *Sp. maritima* (Ellstrand and Schierenbeck 2000). En prenant la place d'un de ses parents, cet hybride a envahi de nombreuses cotes françaises et anglaises.

L'introduction d'essences forestières est souvent accompagnée de tout le cortège parasitaire de celles-ci. Ces nouveaux parasites induisent des dégâts importants par le fait que les espèces indigènes n'ont pas coévolué et n'ont pas développé de résistance vis-à-vis des pathogènes. Le champignon provenant d'Asie, *Ophiostoma novo-ulmi*, est responsable de la maladie nommée la graphiose de l'Orme. Son introduction en Europe a

engendré la mort de millions d'arbres (Desprez-Loustau et al. 2010). Un autre exemple est celui du nématode *Bursaphelenchus xylophilus* introduit en Europe et en Asie à partir d'Amérique du Nord, il infeste principalement les pins qui dépérissent en 60 jours. En Amérique du Nord, son aire d'origine, ce ver ne provoque que des dégâts restreints car les populations de pins indigènes ont développé des mécanismes de défense (Robinet et al. 2009, Xie et al. 2009).

D'une manière générale, les espèces invasives engendrent des perturbations irréversibles dans le fonctionnement des écosystèmes en modifiant les interactions trophiques entre organismes. Un exemple intéressant est celui de l'introduction du lapin européen, *Oryctolagus cuniculus*, en Australie. Depuis son introduction estimée en 1859, le lapin européen a rapidement envahi toute l'Australie (Williamson and Fitter 1996). Pourtant originaire d'un nombre très faible d'individus lors de l'introduction, les populations invasives présentent une diversité génétique égale à celle des populations françaises ou anglaises. Il semblerait que son expansion rapide, et l'adaptation à des conditions climatiques locales variées, auraient facilité le maintien d'un certain polymorphisme génétique (Zenger et al. 2003). Les premiers dégâts visibles furent la diminution de la densité des espèces végétales dont il se nourrit (Fenner and Fantini 1999). Ensuite, par compétition avec cet herbivore invasif, des populations de marsupiaux et de rongeurs sont aujourd'hui des espèces menacées (Moritz et al 2003). Mais en plus de ces effets directs, la pression d'herbivorie exercée par le lapin a augmenté l'érosion et l'aridification de nombreux milieux, induisant indirectement la disparition d'autres populations indigènes (Fenner and Fantini 1999).

Bien que l'ultime étape de cet impact semble être l'**extinction** de certaines populations lorsque la pression exercée par l'espèce invasive est trop forte, il a été énoncé que l'invasion d'espèces exogènes pouvait créer des conditions idéales pour promouvoir la **diversification** (Vellend et al. 2007). Cette diversification est définie comme une augmentation de la diversité génétique dans des populations d'espèces indigènes ou exotiques. Une grande diversité génétique dans les populations introduites provient souvent d'introductions répétées d'individus en provenance de divers lieux d'origine. C'est par exemple le cas du lézard cubain, *Anolis sagrei*, huit introductions en Floride ont généré plus de variations génétiques que celles présentes dans les

populations natives (Kolbe et al. 2004). De plus, grâce aux phénomènes d'hybridation, l'existence d'hybrides viables engendrent l'apparition de nouvelles espèces et donc une diversification (Vellend et al. 2007). Un autre exemple tout aussi intéressant est celui de l'escargot d'eau douce, *Melanoides tuberculata*, introduit en Amérique à partir de l'Asie et de l'Afrique. En Martinique, des études ont mis en évidence une forte diversité génétique que les scientifiques ont attribuée à de multiples introductions (Facon et al. 2008). Mais ce phénomène a été accentué par des croisements de souches différentes qui ont conduit à l'apparition d'espèces nouvelles. Cependant, aujourd'hui les études sur les invasions montrent bien plus d'exemples d'effets négatifs que de diversification.

Par les différentes interactions qu'induit l'introduction d'une espèce dans un nouvel écosystème, les invasions biologiques constituent des modèles d'études tout à fait appropriés en écologie des communautés. En effet, l'étude des invasions biologiques peut aider à comprendre les relations interspécifiques et celles des espèces avec l'écosystème.

3. Mécanismes écologiques et évolutifs des invasions biologiques

3.1 Processus écologiques de l'invasion

L'étude des invasions biologiques a permis de définir trois phases caractéristiques de leur dynamique : **l'introduction**, **l'établissement** de populations viables, et **l'invasion** proprement dite caractérisée par **l'accroissement démographique** suivie de **l'expansion spatiale** (Figure 1) (Kolar and Lodge 2001). A chacune de ces phases le processus d'invasion peut être interrompu par la présence de différentes barrières dans la nouvelle aire d'introduction (Richardson et al. 2000).

Phase 1 : Introduction dans le nouvel environnement

Cette première étape du processus d'invasion correspond au franchissement de la **barrière géographique** de l'environnement d'origine à celui de l'introduction. A l'intérieur de cette phase il est possible de différencier 3 étapes qui auront des conséquences décisives sur la diversité et la structure génétique des populations dans la nouvelle aire (Richardson et al. 2000, Colautti and MacIsaac 2004).

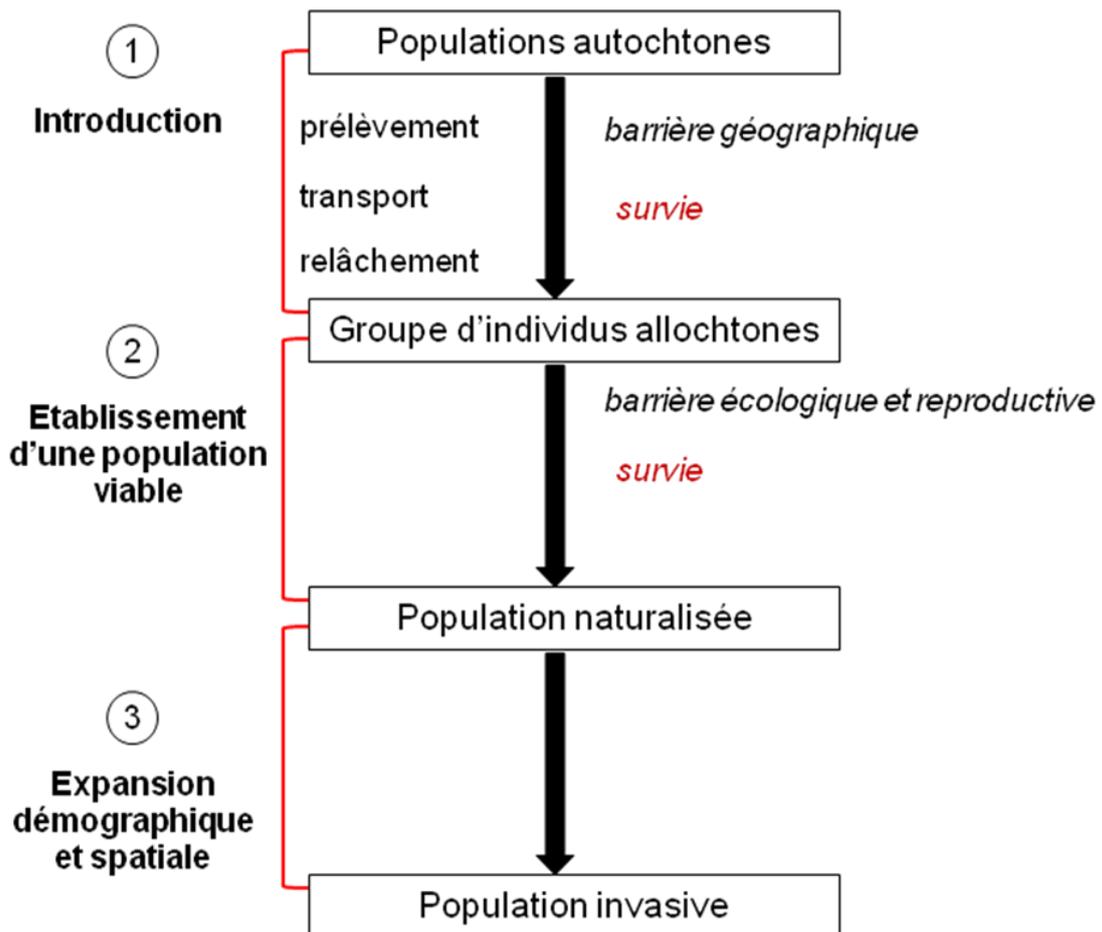


Figure 1. Les 3 étapes évolutives du processus invasifs (Kolar et al. 2001, Richardson et al. 2000)

En effet, durant ces étapes, les individus prélevés vont subir une succession de pressions qui déterminera la taille et le nombre de propagules³ (Lockwood et al. 2005) :

- **Le prélèvement d'individus dans l'aire d'origine.**

« L'échantillonnage » des individus peut induire des différences marquées de composition génétique entre les populations introduites et les populations de l'aire d'origine. Le nombre d'individus et de populations prélevés et leurs caractéristiques (localisation géographique, adaptation locale et diversité génétique) vont déterminer la variabilité génétique au sein des migrants et leur future capacité d'adaptation dans le nouvel environnement (Lockwood et al. 2005).

- **Le transport par l'homme de l'espèce dans la nouvelle aire.**

Cette étape est critique car elle constitue le franchissement d'une barrière géographique (Lockwood 1999). En effet, les propagules transportées sont sous influence du taux de migration. Elles pourront être fragilisées par leurs petites tailles, mais aussi par la durée du transport et les pressions exercées durant le voyage, ainsi seuls les individus capables de survivre arriveront dans la nouvelle aire (Lodge 1993, Kolar and Lodge 2001).

- **Le relâchement des individus dans leur nouvel environnement.**

Le nombre et la localisation des introductions dans le nouvel environnement va déterminer la distribution des populations ; aléatoire, agglomérée ou dispersée, qui a des conséquences directes sur la diversité et la structure génétique des populations introduites et leur capacité à s'adapter (Allendorf and Lundquist 2003, Frankham 2005, Lockwood et al. 2005, Facon et al. 2006).

Phase 2 : Etablissement d'une population viable

Cette seconde phase du processus invasif est l'établissement des individus dans la nouvelle aire géographique. Elle correspond en premier au franchissement d'une **barrière écologique**, car les individus nouvellement introduits doivent survivre à de nouvelles conditions dans l'environnement d'introduction (Richardson et al. 2000). Cependant, la survie des individus n'est pas suffisante, car pour s'établir de façon

³Nombre d'individus relâchés dans le nouvel environnement

permanente, les reproducteurs doivent être suffisamment nombreux pour qu'une population viable se maintienne sur le long terme (Williamson and Fitter 1996). Ainsi, les individus doivent également franchir une **barrière reproductive** permettant l'établissement d'une population viable. Lorsque cette barrière est passée, la population devient alors naturalisée (Annexe 1. Lexique p.241).

Phase 3 : L'accroissement démographique et l'expansion spatiale

Il peut s'écouler une période plus ou moins longue, où l'invasif est peu ou pas détectable, entre la phase d'établissement et la phase d'expansion. Cette dernière phase dite de « latence » du processus d'invasion est caractérisée par un **accroissement démographique** mais aussi par une **expansion spatiale** souvent très rapide. Cette prolifération nécessite que les populations introduites possèdent une grande capacité à disperser et à se reproduire (Kolar and Lodge 2001). A la fin de cette phase, la population introduite devient une population invasive au sens strict du terme.

Il est important de mentionner qu'une faible proportion des populations introduites deviennent invasives, car il faut qu'elles aient survécu aux différentes barrières géographiques, écologiques et reproductives (Kolbe et al. 2004, Sakai et al. 2001). Il existe donc un taux d'échec pour le passage de chaque étape du processus invasif. Dans ce sens, il a été énoncé la règle des 10% « Ten's rule » (Williamson and Fitter 1996) qui propose grâce à une approche statistique que parmi les individus transportés, 1 individu sur 10 est introduit, puis dans les individus introduits 1 sur 10 s'établit, et pour finir 1 sur 10 devient un individu invasif. Pour simplifier il semblerait que 1 individu sur 1000 devienne réellement invasif. Toutefois, la règle des 10 n'est pas toujours avérée, car le succès invasif semble dépendant de l'ensemble des caractéristiques de l'espèce invasive, génétiques et biologiques, des caractéristiques du milieu, et surtout de l'adéquation entre celles-ci (Shea and Chesson 2002).

3.2 Adéquation espèce-environnement

Dans un nouvel environnement, une espèce introduite doit faire face à de nouvelles conditions abiotiques et biotiques auxquelles elle n'est pas forcément adaptée. Ce n'est que lorsque les caractéristiques de l'environnement sont propices à l'espèce

invasive que celle-ci peut se développer dans l'aire d'introduction. Selon Facon et al. (2006), trois scénarios existent pour atteindre l'adéquation entre l'espèce et l'environnement (Figure 2). Selon le **premier scénario**, les caractéristiques de l'environnement et de celles de l'espèce invasive étant en adéquation, il suffit d'une mise en contact pour que l'invasion débute. Il s'agit souvent d'une introduction de l'espèce par l'homme, dans un environnement où les conditions et les ressources sont semblables à celui d'origine, leur préadaptation ou le relâchement des pressions biotiques permettent le succès invasif. Le **second scénario** correspond à des invasions nécessitant antérieurement une modification de l'environnement envahi, par exemple un changement dû à l'anthropisation de l'habitat, afin qu'il devienne propice à l'espèce introduite qui deviendra invasive. Dans le **troisième scénario**, un changement génétique ou évolutif de l'espèce invasive est nécessaire pour qu'elle puisse s'installer définitivement dans l'environnement envahi, l'adéquation sera fonction de leur adaptabilité⁴.

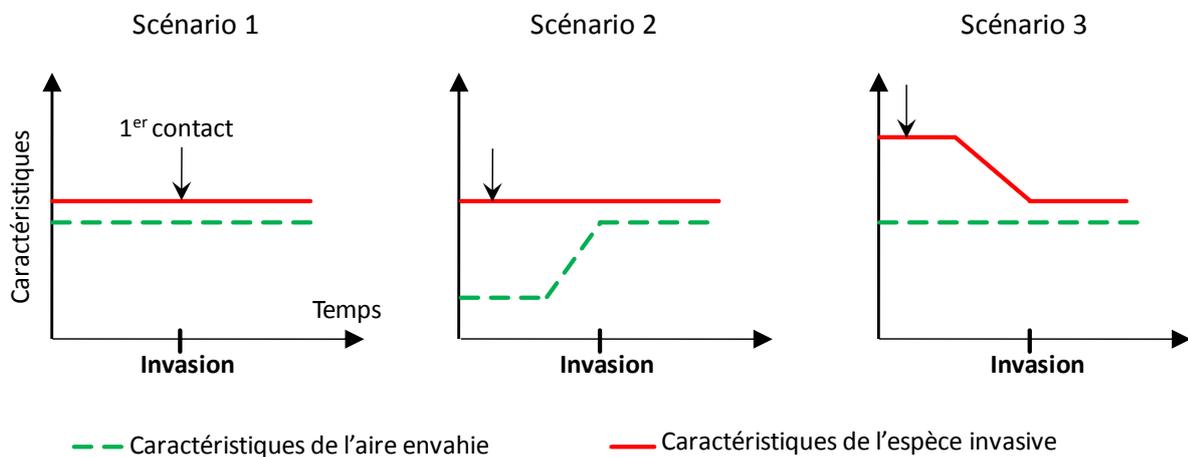


Figure 2. Les trois scénarios d'invasions biologiques selon Facon et al. 2006. Le premier contact entre l'espèce et l'environnement est représenté par une flèche.

⁴ Potentiel adaptatif

- **La préadaptation et relâchement des pressions biotiques (scénario 1)**

La nature écologique des aires d'origine et d'introduction contribue à l'établissement ou non de l'espèce introduite. Une espèce s'installera plus facilement dans un environnement situé dans la même région biogéographique que celle d'origine (Cassey 2003). Ainsi, si l'habitat est similaire à celui d'origine, l'établissement sera facilité par une préadaptation des populations introduites. De même, grâce à l'absence de compétiteurs, les populations introduites profiteront de cette niche écologique vacante et proliféreront (Shea and Chesson 2002, Facon et al 2006). Enfin, l'absence de prédateurs ou de parasites qui régulaient ces populations dans l'aire native peut également entraîner la propagation dans le nouvel environnement (Keane and Crawley 2002). Un exemple intéressant où le relâchement des pressions biotiques permet la prolifération d'une espèce invasive est celui précédemment cité du nématode du pin originaire d'Amérique du Nord, *Bursaphelenchus xylophilus*. Ce ver semble proliférer par l'absence de mécanismes de défenses des pins dans les aires d'introduction (Xie et al. 2009).

- **La modification de l'environnement d'introduction (scénario 2)**

La perturbation et la dégradation des écosystèmes, souvent dues à l'homme, peuvent faciliter l'installation des espèces introduites (Lodge 1993). En effet, si l'environnement est perturbé, les espèces autochtones ne seront pas nécessairement mieux adaptées que les espèces introduites. La présence d'espèces invasives perturbant l'écosystème d'introduction peut également favoriser l'établissement d'autres populations invasives (O'Dowd et al. 2003). Le changement de l'environnement par le réchauffement climatique peut également jouer un rôle important en modifiant des zones qui n'étaient pas favorables à une espèce en zone propice à leur établissement (Walther et al. 2009). C'est par exemple le cas du poisson des récifs tropicaux, *Scartella cristata*, qui se retrouve depuis le 20^{ème} siècle en Méditerranée (Parmesan 2006).

- **L'adaptation rapide à l'environnement d'introduction ou l'évolution contemporaine (scénario 3)**

L'adaptation est le résultat de la sélection naturelle, et peut se rapporter à un processus qui se déroule sur de nombreuses générations, donnant naissance à des organismes mieux adaptés à leur environnement. Lorsque des populations sont introduites, elles sont soumises à de fortes pressions de sélection induisant des changements évolutifs rapides, leur permettant de s'adapter à leur nouvel environnement (Sakai et al. 2001, Lee 2002, Sax and Brown 2000, Facon et al. 2006). Ainsi, les espèces invasives deviennent capables de se répandre dans leur nouvel environnement. Ces dernières années de nombreux exemples d'évolutions contemporaines ont été suggérés, aussi bien chez les plantes que chez les animaux (Phillips et al. 2006a, Dlugosch et Parker 2008a, Facon et al. 2008, Xu et al. 2010). Un exemple remarquable cité précédemment est celui du lapin européen en Australie (Williamson and Fitter 1996). Chez le papillon *Hyphantria cunea*, trente ans après son introduction au Japon, son cycle de vie est passé de 2 générations à 3 générations par an, suggérant une adaptation aux nouvelles conditions climatiques (Gomi et al. 2007). Chez la mouche *Drosophila subobscura*, en 20 ans passés dans l'aire d'introduction en Amérique du Nord, la morphologie des ailes a progressivement été modifiée (Huey et al. 2000).

Ainsi, en dehors des préoccupations écologiques et économiques que les invasions biologiques engendrent, elles représentent un tout autre intérêt en biologie évolutive. L'évolution est généralement présentée comme étant un processus lent, mais les phénomènes d'invasions offrent des opportunités d'étudier des mécanismes d'évolution 'en action' et peuvent ainsi permettre de mieux comprendre les procédés d'adaptation qui ont joué un rôle clef dans la répartition actuelle des espèces (Reznick and Ghalambor 2001, Stockwell et al. 2003). Cependant, ce troisième scénario présuppose une forte adaptabilité des populations introduites, souvent associée à une forte diversité génétique, ce qui ne semble pas toujours caractériser les populations introduites.

3.3 Evolution rapide et adaptabilité des espèces introduites

Comme nous l'avons vu précédemment, le processus de l'introduction (Phase 1 p.34) influence la composition génétique des populations dans la nouvelle aire et ainsi le potentiel adaptatif (i.e. adaptabilité). Suite à l'événement d'introduction, plusieurs conséquences génétiques sont connues : soit il existe des réductions marquées de diversité génétique entre populations introduites et natives, soit aucune différence n'est observée, ou bien, plus rarement, les populations introduites montrent une diversité génétique plus élevée que les populations natives.

De multiples introductions de groupes d'individus originaires de plusieurs populations sources peuvent apporter une grande diversité génétique au sein de la population introduite (Genton et al. 2005). Une étude récente a suggéré que les phénomènes d'introductions multiples seraient plus fréquents que ceux d'une introduction unique (Novak, 2007). Il existe également des cas où les introductions multiples ont transformé une variation inter-populationnelle en variation intra-populationnelle, la diversité génétique des populations introduites apparaît ainsi plus importante que celle observée dans les populations natives, comme par exemple chez le lézard Cubain, *A. sagrei* introduit en Floride cité précédemment (Kolbe et al. 2004) et encore l'escargot d'eau douce, *M. tuberculata* introduit en Amérique (Facon et al. 2008). Il est considéré que la diversité génétique des populations invasives leur procure une forte adaptabilité.

Cependant, il est souvent prédit que les populations introduites possèdent une baisse de la diversité génétique suite à **un effet de fondation** ou à **un goulot d'étranglement** dans le nouvel environnement (Annexe 1. Lexique p.241). L'échantillonnage des individus dans l'aire native et le franchissement des barrières géographiques et écologiques engendrent souvent des différences marquées de composition génétique entre populations introduites et natives. Lors de la succession des générations de la population introduite dans la nouvelle aire, la **dérive génétique** (Annexe 1. Lexique p.241) peut aussi accentuer la perte de variabilité génétique causée par l'effet de fondation. La dérive génétique sera d'autant plus importante que l'effectif de la population sera petit. Ainsi, une question se pose : comment une population introduite peut s'adapter à un nouvel environnement, alors qu'a priori elle possède une faible diversité génétique et donc un faible potentiel adaptatif (Frankham 2005) ? Plusieurs explications ont été énoncées pour répondre à cette question.

- **La plasticité phénotypique**

La plasticité phénotypique (Annexe 1. Lexique p.241) induit des changements de caractéristiques biologiques d'un individu au cours de son développement, en réponse à des modifications du milieu. Il existe des cas où les populations introduites se sont adaptées localement grâce à leur plasticité phénotypique (Mergeay et al. 2006). Les espèces dont l'aire de répartition d'origine est vaste semblent plus aptes à s'adapter du fait de leur grande plasticité phénotypique qui leur permet de répondre à différentes conditions environnementales au cours de leur développement (Gray 1986). Plusieurs exemples de cette explication sont rencontrés chez les Végétaux (Meimberg et al. 2006). Par exemple, une étude montre que le séneçon *Senecio inaequidens*, colonise des zones latitudinales contrastées grâce à une grande plasticité phénotypique des traits de croissance (Parker et al. 2003). Cependant, distinguer les changements évolutifs de ceux liés à la plasticité phénotypique semble difficile. Dans ce sens, il a été proposé par Sexton et al. (2002) que la plasticité phénotypique favoriserait l'établissement dans le nouvel environnement de l'espèce mais que c'est la sélection de génotypes plastiques qui permettrait l'invasion. Ainsi, il semblerait que ce soit l'action combinée de la plasticité et de la sélection qui engendreraient l'invasion (Lande 2009).

- **L'hybridation et l'introgession**

Par une forte parenté avec les taxons résidents dans le nouvel environnement, les populations introduites peuvent bénéficier d'un apport génétique des espèces locales (autochtone ou allochtone) par hybridation. Les hybridations entre espèces introduites et indigènes peuvent être à l'origine d'introgession et modifier le devenir évolutif des espèces (Mooney and Cleland 2000). En plus de l'apport de diversité génétique apporté par l'hybridation (Annexe 1. Lexique p.241), l'introgession (Annexe 1. Lexique p.241) peut permettre l'acquisition de caractères adaptés à l'environnement d'introduction. Ce phénomène d'hybridation introgressive est bien illustré chez de nombreuses plantes (Ayres et al. 1999, Baumel et al. 2001), comme chez le séneçon *Senecio vulgaris hibernicus* (Abbott et al. 2003).

- **Une évolution rapide malgré un faible potentiel adaptatif ?**

De nombreuses espèces invasives appauvries génétiquement et démographiquement florissantes ne montrent aucun signe d'hybridation ou d'une forte plasticité phénotypique (Reznick and Ghalambor 2001, Blair and Wolfe 2004, Dlugosch and Parker 2008b). Ainsi, une question reste en suspens ; si un effet de fondation est admis, comment ces populations peuvent s'adapter sans diversité génétique ? Récemment, des auteurs ont suggéré qu'étant donné la prévalence de populations introduites établies avec succès ayant subi un goulot d'étranglement génétique, le désavantage associé aux événements de fondation aurait été précédemment surestimé (Dlugosch and Parker 2008a et 2008b). Les événements de fondations n'éliminant pas toute la variation génétique (Nei et al. 1975), l'adaptation des populations introduites ne semblerait pas être si paradoxale. Un fort effet fondateur pourrait contraindre à une réponse adaptative rapide des populations introduites (Dlugosch and Parker 2008a). Dans ce sens, une étude a révélé que les populations invasives d'une Poaceae, *Aegilops triuncialis* L., se sont adaptées rapidement à des conditions édaphiques extrêmes en dépit d'une perte de diversité génétique suite à un goulot d'étranglement (Rice 2006).

Les mécanismes énoncés pour tenter de comprendre comment les espèces deviennent invasives diffèrent selon les cas étudiés (Figure 3). Il ne semble pas exister de schéma évolutif général aux invasions biologiques. Cependant, le succès invasif semble essentiellement dépendant d'une adéquation favorable entre le nouvel écosystème et l'espèce introduite (Facon et al. 2006) et des capacités d'adaptation de l'espèce introduite. Par le fait qu'elles contraignent les espèces invasives comme les natives à de nouvelles pressions de sélection (Phillips et al. 2006a, Phillips and Shine 2006b), les invasions biologiques représentent des cas uniques d'études en biologie évolutive pour comprendre le déterminisme de caractères biologiques et les facteurs sélectifs qui les influencent. Dans ce contexte, les insectes sociaux ont fait l'objet d'études intéressantes. La comparaison des populations natives et des populations introduites, a révélé des variations importantes de l'organisation sociale chez certaines espèces (Keller and Ross 1999, Tsutsui et al. 2000, Kasper et al. 2008, Fournier et al. 2009). Dans ce contexte, l'étude de ces variations permettrait de comprendre les principes gouvernant l'évolution de l'organisation sociale chez ces insectes.

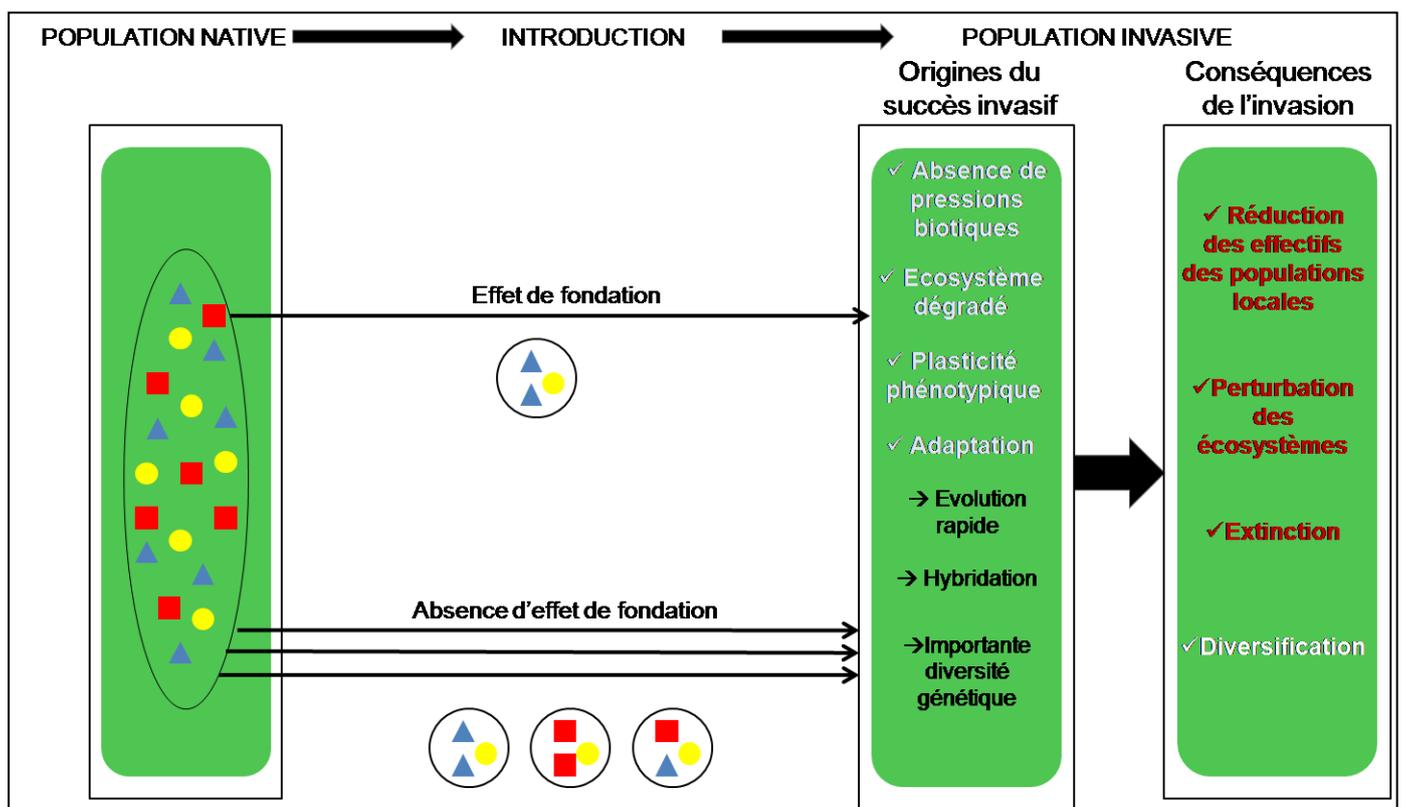


Figure 3. Schéma général des causes et des conséquences des invasions biologiques d'après Vellend et al. 2007.

II. Les insectes sociaux invasifs

1. Présentation générale

Parmi l'ensemble des groupes taxonomiques, celui des insectes est le deuxième groupe le plus étudié dans la recherche sur les invasions biologiques durant ces dernières années. En Europe, le projet DAISIE a révélé que les plantes vasculaires et les insectes représentaient les deux principaux groupes d'organismes introduit dans un nouvel environnement (collaboration DAISIE⁵, Kenis et al. 2007). D'après l'ISSG, Invasive Species Specialist Group (IUCN) et Lowe et al. (2001), dans la liste des 100 espèces invasives les plus importantes à travers le monde, se trouve 10 espèces d'insectes dont 7 espèces d'insectes sociaux. Ces insectes sociaux comptent essentiellement 2 groupes taxonomiques ; les Hyménoptères et les Isoptères. Ils sont caractérisés par le niveau le plus élevé de la socialité (l'eusocialité) défini par 3 caractéristiques (Michener 1969, Wilson 1971). :

- i) chevauchement des générations
- ii) coopération dans le soin aux jeunes
- iii) spécialisation d'individus dans la reproduction avec apparition de castes reproductrices et stériles (altruisme reproductif)

Parmi ces 7 espèces d'insectes sociaux invasifs 5 sont des fourmis (Tableau 1) :

-*Anoplolepis gracilipes* (la fourmi folle jaune)

-*Linepithema humile* (la fourmi d'Argentine)

-*Pheidole megacephala* (la fourmi à grosse tête)

-*Solenopsis invicta* (la fourmi de feu)

-*Wasmannia auropunctata* (la petite fourmi de feu)

Les deux dernières espèces sont respectivement une espèce de guêpe et de termite:

-*Vespula vulgaris* (la guêpe commune)

-*Coptotermes formosanus* (le termite de Formose)

⁵ <http://www.europe-aliens.org/speciesTheWorst.do>

Présentation Générale

	Aire géographique		Structure coloniale		Impact sur la faune dans l'aire d'introduction
	native	introduite	native	introduite	
Fourmis					
<i>Anoplolepis gracilipes</i>		Afrique ? et/ou Asie ?	Afrique, Asie, Australie, Caraïbes, Océan Indien et Océan Pacifique	?	Mammifères, Oiseaux, Reptiles et Amphibiens et Invertébrés
<i>Linepithema humile</i>		Amérique du Sud	Amérique du Sud, Afrique, Asie, Australie, Méditerranée et Océan Pacifique et Atlantique	Multicoloniale et Unicoloniale	Mammifères, Reptiles et Amphibiens et Invertébrés
<i>Pheidole Megacephala</i>		Afrique	Afrique, Australie, Caraïbes, Océan Indien et Pacifique, Méditerranée, Amérique du Nord et du Sud	?	Invertébrés
<i>Solenopsis invicta</i>		Amérique du Sud	Caraïbes, Amérique du Nord, Australie et Nouvelle Zélande	Multicoloniale et Unicoloniale	Mammifères, Oiseaux, Reptiles et Amphibiens, Poissons et Invertébrés
<i>Wasmannia auropunctata</i>		Caraïbes et Amérique du Sud	Afrique, Caraïbes, Océan Pacifique, Amérique du Nord et du Sud	Multicoloniale et Unicoloniale	Invertébrés
Guêpe					
<i>Vespa vulgaris</i>		Europe et Amérique du Nord	Nouvelle Zélande et Australie	?	Oiseaux et Invertébrés
Termite					
<i>Coptotermes formosanus</i>		Asie (Chine)	Amérique du Nord, Océan Pacifique et Japon	Colonies = couple de reproducteurs fondateurs + des reproducteurs secondaires	Possible déplacement d'une espèce autochtone

Tableau 1. Tableau présentant l'aire géographique, la structure sociale et les impacts répertoriés pour les 7 insectes sociaux les plus invasifs à travers le monde (Thompson 1989, Morel et al. 1990, Barr et al. 1996, Holway et al. 2002, Le Breton et al. 2004, Pedersen et al. 2006, Drescher et al. 2007, Foucaud 2007, Suarez et al. 2008, Fournier et al. 2009, Foucaud et al. 2009, Orivel et al. 2009, Vargo and Husseneder 2009, Vogel et al. 2009, Thomas et al. 2010).

En plus de ces 7 espèces hautement invasives, bien d'autres insectes sociaux ont été introduits en dehors de leur zone naturelle. C'est par exemple le cas du bourdon *Bombus terrestris* introduit au Japon, au Chili, en Tasmanie, en Israël et en Nouvelle Zélande (Buttermore et al. 1997 ; Nagamitsu and Yamagishi 2009), de la guêpe à papier *Polistes dominulus* introduite en Amérique du Nord (Liebert et al. 2006) et de bien d'autres espèces de fourmis répandues à travers le monde.

2. Conséquences des insectes sociaux invasifs

De manière générale, les estimations des dégâts associés aux espèces invasives restent difficiles à évaluer. Les fourmis invasives sont connues pour déjouer les tentatives de contrôles biologiques utilisés contre elles. Aux Etats-Unis, les dégâts de *S. invicta* sont estimés à 1 milliard de dollars par an, et pour le seul état du Texas, à 300 millions de dollars, en plus des problèmes sanitaires qu'elle engendre. Dans les îles des Caraïbes, *P. megacephala* est à l'origine de la destruction de nombreuses cultures (Hoffman and Parr 2008). Les guêpes introduites ont impact négatif majeur sur l'apiculture (Clapperton et al. 1989a). Les termites dégradent de nombreuses constructions dans leurs aires d'introductions, comme par exemple le termite *C. formosanus* qui occasionne environ 1 milliard de dollars par an de dommages dans la région de la Nouvelle Orléans (Corn et al. 1999).

En plus des dégâts économiques, une fois introduits, les insectes sociaux invasifs menacent les communautés indigènes à travers diverses interactions énoncées dans la première partie, comme la prédation, l'herbivorie, le parasitisme, la transmission de pathogènes et les phénomènes de compétitions (Mooney et Cleland 2000, Holway et al. 2002, Kenis et al. 2009). Leurs effets peuvent affecter le groupe des Mammifères, des Oiseaux, des Poissons, des Reptiles et Amphibiens, de façon plus importante les Invertébrés, et peuvent altérer l'entière composition des écosystèmes (Passera 1994, Moller 1996, Holway et al. 2002)(Tableau 1). Par exemple, la fourmi de feu, *S. invicta*, a décimé une partie de la faune du sud-est des Etats-Unis (Porter and Savignano 1990) et ce même phénomène est observé en Australie pour *P. megacephala* (Hoffman et al 1999). Les populations introduites de *W. auropunctata* ont un impact majeur sur l'écosystème en déplaçant les espèces natives de fourmis et en s'alimentant de nombreux autres invertébrés (Le Breton et al. 2003). Le déclin des populations du

lézard *Phrynosoma coronatum* en Californie (Suarez and Case 2002) est attribué à la fourmi d'Argentine, en ayant déplacé les espèces de fourmis nécessaires à l'alimentation de celui-ci. Ces quelques exemples font partie d'une longue liste définissant les fourmis invasives comme étant écologiquement destructives (Holway et al. 2002). Ainsi, par leur régime alimentaire omnivore, la forte pression de prédation et de compétition qu'elles engendrent, les fourmis occasionnent des dommages importants dans leur environnement d'introduction.

Les études recensant des réductions de densité et d'abondance des espèces indigènes concernent essentiellement les fourmis invasives. Néanmoins des effets négatifs ont également été enregistrés chez d'autres insectes sociaux invasifs. L'abeille *Apis mellifera capensis* introduite en Afrique du Sud menace les redoutables "tueuses" africaines, *Apis mellifera scutellata*, en pénétrant et pondant des œufs dans les colonies de cette dernière qui par la suite s'effondrent (Hartel et al. 2006). Par contre en Amérique du Sud et quelques états des Etats-Unis, c'est l'abeille Africaine (*A. mellifera scutellata*), qui affaiblit les abeilles européennes également introduites (*Apis mellifera ligustica* et *Apis mellifera iberiensis*). Cette espèce menace l'intégrité génétique des abeilles européennes par l'existence d'un flux génétique asymétrique en faveur de l'abeille tueuse lors de leur hybridation (Schneider et al. 2004). Similairement à l'abeille tueuse, en plus d'être en compétition pour les sites de reproduction, les populations introduites du bourdon *B. terrestris* semblent s'accoupler avec les autres espèces de bourdons présentes au Japon (Kondo et al. 2009). Même si les œufs engendrés n'aboutissent pas à une descendance hybride viable, cette reproduction menace les populations de bourdons indigènes en diminuant les rencontres entre partenaires reproductifs. La guêpe à papier, *P. dominulus*, introduite en Amérique du Nord a un impact important, grâce une productivité supérieure, sur l'espèce native *P. fuscatus* (Liebert et al. 2006). Le frelon asiatique, *Vespa velutina*, récemment introduit en Europe, semble diminuer les populations d'abeilles européennes *Apis mellifera* en nourrissant ses larves de leurs reines (Perrard et al. 2009). Enfin, le termite de Formose, *C. formosanus*, installé essentiellement dans les zones urbaines dans son aire d'introduction, semble prendre la place du termite *R. flavipes* (Cornelius 2009 com. pers.).

3. Mécanismes invasifs des insectes sociaux

3.1 Caractéristiques propices aux invasions

Comme nous l'avons vu précédemment, le succès invasif est basé sur l'adéquation entre l'espèce et l'environnement. Chez les insectes sociaux, leur succès est basé sur des caractéristiques générales aux espèces invasives, qui sont une importante capacité à se disperser, à se reproduire, et un régime alimentaire et des habitats variés (Moller 1996). Mais, il est également lié à un caractère que ces insectes partagent : la socialité. Dans une colonie, les individus bénéficient de l'action positive du groupe sur leur survie, ainsi la perte d'un individu est moins néfaste que dans le cas d'individus solitaires (Moller 1996). Cette organisation en société procure également une flexibilité au niveau de leur mode de reproduction et de dispersion (Moller 1996, Chapman and Bourke 2001). Ainsi, la socialité apparaît être une caractéristique profitable pour passer plus facilement les barrières écologique et reproductive de l'invasion cité précédemment (Figure 1 p.35).

L'organisation sociale est **définie comme étant le nombre de reproducteurs et leurs degrés d'apparentements au sein des colonies** (Wilson 1971). Différentes formes d'organisation ont été décrites comme propices au succès invasif. Les plus connues sont **la polygynie** et **l'unicolonialité** et sont très bien illustrées chez les fourmis (Passera 1994, Helanterä et al. 2009)

- **La polygynie**

La polygynie est définie comme étant la présence de multiples reines reproductives au sein d'une colonie mature, à l'inverse une colonie monogyne n'en possède qu'une seule (Hölldobler and Wilson 1990, Passera 1994). La polygynie est souvent associée à la reproduction par bouturage ou « budding », où un groupe d'ouvriers et de reproducteurs se divise de la colonie mère pour s'installer un peu plus loin. Cette dispersion « de proche en proche » peut permettre l'établissement d'une nouvelle colonie, lorsque celle par les ailés ne peut s'effectuer ou peut être une dispersion additionnelle afin de se répandre plus rapidement. La polygynie peut être vue comme un mécanisme favorisant la dispersion dans l'environnement, par le fait que la présence de plusieurs reproducteurs accélère la croissance coloniale (Vargo and Fletcher 1989) et augmente la chance que le groupe d'individus introduits dans la nouvelle aire contienne des femelles reproductives capables d'initier de nouvelles colonies (Hee et al. 2000).

- **L'unicolonialité**

Une organisation unicoloniale est aujourd'hui observée exclusivement chez les fourmis. Elle est définie par une absence de frontière coloniale entre nids interconnectés qui contiennent plusieurs reines et échangent de la nourriture, des ouvriers, et des reines fertiles (Bourke and Francks 1995, Suarez et al. 2008, Helanterä et al. 2009). A l'inverse, une organisation multicoloniale est décrite dans les populations qui présentent une agression intraspécifique entre colonies voisines sans aucun échange entre elles. L'unicolonialité est un phénomène à l'échelle des populations, et doit présenter une seule colonie tellement large que les interactions directes entre ouvriers provenant de nids séparés est impossible (Suarez et al. 2008, Helanterä et al. 2009). Cependant, il existe différentes utilisations de ces termes, quelques fois l'unicolonialité est utilisée à un niveau colonial et se réfère à une population qui a la capacité de former des supercolonies, même si plusieurs supercolonies coexistent et qu'elles sont agressives entre elles (Perdersen et al. 2006, Vogel et al. 2009). Dans ce manuscrit, nous considérerons l'unicolonialité comme un phénomène à l'échelle des populations. En augmentant le nombre de reproducteurs au sein de la colonie, en diminuant le coût associé à la territorialité intraspécifique, les populations de fourmis unicoloniales acquièrent une grande densité d'individus favorisant l'exploitation des ressources de leur environnement (Holway et al. 1998, Holway and Suarez 2004).

3.2 Variations de l'organisation sociale

De nos jours, de nombreuses études se sont intéressées à comparer l'organisation sociale entre les populations introduites et natives, et ont souvent révélé que des variations existaient.

Chez 147 espèces de fourmis, il a été observé des modifications au niveau de la forme polygyne et monogyne des colonies. Les populations localisées en dehors de leur aire native, présentent toutes des colonies polygynes (McGlynn 1999). Chez la fourmi *S. invicta*, les colonies des populations introduites présentent un nombre important de reines non apparentées, alors que dans les populations natives les colonies en possèdent peu et sont apparentées (Ross et al. 1996). Chez la guêpe *Vespula germanica*, introduite en Australie, les populations natives présentent des colonies monogynes, alors que celles des populations introduites sont exclusivement polygynes (Donovan et al. 1992, Kasper et al. 2008). Chez la guêpe à papier, *P. dominulus*, les populations introduites

montrent une forme extrême de polygynie comparées à celle des populations natives (Liebert et al. 2008).

Les variations de structure sociale est très bien illustré chez les 5 espèces de fourmis les plus invasives ; *A. gracilipes*, *L. humile*, *P. megacephala*, *S. invicta* et *W. auropunctata*. Elles montrent majoritairement une organisation sociale unicoloniale dans l'aire d'introduction, contrairement aux populations natives qui montrent (quand elles sont connues), en plus de l'unicolonialité, une organisation multicoloniale (Morel et al. 1990, Le Breton et al. 2004, Drescher et al. 2007, Suarez et al. 2008, Fournier et al. 2009, Orivel et al. 2009, Helanterä 2009, Thomas et al. 2010) (Tableau 2). L'unicolonialité peut également être observée dans des populations de fourmis non invasives, mais chez les invasives ce phénomène est remarquablement et disproportionnellement commun (Wilson 1971, Passera 1994).

Même si la structure sociale des autres insectes sociaux invasifs est moins évoquée, des modifications existent également. Le bourdon *B. terrestris* présente dans son aire native de petites colonies avec une génération de reproduction par an. A l'inverse, dans l'aire d'introduction, il montre de grandes colonies avec deux générations de reproduction par an (Buttermore 1997, Nagamitsu and Yamagishi 2009). Chez l'abeille tueuse, *Apis mellifera scutellata*, les colonies présentent une densité d'individus beaucoup plus importante que celle observée dans les populations natives (Schneider et al. 2004). Chez le termite *C. formosanus*, encore trop peu d'études de l'organisation sociale des populations natives sont recensées pour pouvoir réellement la comparer avec les population introduites. Néanmoins, dans l'aire d'introduction les populations présentent deux types de colonies : le premier avec seulement le couple de reproducteur fondateur et le second avec de nombreux reproducteurs (Husseneder et al. 2008, Vargo and Husseneder 2009)(Tableau 1).

Ainsi, l'introduction des insectes sociaux dans un nouvel environnement a souvent été associée à un **changement dans le système de reproduction et la structure sociale** (Chapman and Bourke 2001). Cependant, l'origine exacte et les mécanismes influençant ces modifications n'ont pas été élucidés.

3.3 Origines des variations entre populations natives et introduites et mécanismes impliqués

Différents travaux se sont penchés sur l'origine des variations du système de reproduction et de la structure sociale des espèces entre l'aire native et introduite. Ces travaux concernent majoritairement le cas des fourmis invasives.

Lorsqu'on s'intéresse à la fourmi de feu, *S. invicta*, il a été démontré que les différentes formes de reproduction (polygynes et monogynes) chez cette fourmi sont sous influence du gène Gp-9 nommé également « barbe verte/green beard » (Keller and Ross 1999). Ces auteurs ont mis en évidence que la structure sociale est déterminée par le gène Gp-9 qui amène les ouvrières à accepter ou refuser d'autres reines. Dans les colonies monogynes, la reine et les ouvrières possèdent toutes le génotype Gp-9BB, tandis que les colonies polygynes comportent toujours des ouvrières Gp-9BB et Gp-9Bb et des reines hétérozygotes, Gp-9B (le génotype Gp-9bb étant létal). L'absence de reines Gp-9BB dans les colonies polygynes est due à l'allèle Gp-9b, qui pousse les ouvrières porteuses de cet allèle à tuer toutes les reines ne le portant pas. Chez cette espèce, il a également été observé que les colonies polygynes étaient généralement ouvertes donnant naissance à une organisation unicoloniale (Morel et al. 1990).

Grâce à plusieurs travaux sur une des fourmis invasives les plus étudiées, la fourmi d'Argentine, *L. humile*, deux grandes hypothèses ont été proposées pour expliquer les variations de l'organisation sociale mettant en cause l'événement d'introduction.

La première hypothèse nommée « *genetic bottleneck* » suggère que l'unicolonialité est lié à un goulot d'étranglement (Annexe 1. Lexique p.241) lors de l'introduction. Ce goulot aurait engendré une réduction de la diversité allélique aux loci codant pour la reconnaissance coloniale ce qui aurait induit la perte d'agression entre colonies (Tsutsui et al. 2000) et la formation de populations unicoloniales.

La seconde hypothèse nommée « *genetic cleansing* » prône que la perte d'agression résulte d'une réduction des allèles de reconnaissance suite à la sélection contre les allèles rares après un relâchement des contraintes écologiques dans l'aire d'introduction (Giraud et al. 2002). Cette hypothèse ne remet pas en cause la présence d'un goulot

d'étranglement, mais celui n'interviendrait pas dans le changement de la structure sociale.

Néanmoins, aujourd'hui, la première hypothèse est très controversée, depuis que des populations présentant une organisation unicoloniale ont été décrites dans l'aire native chez la fourmi d'Argentine (Pedersen 2006, Vogel et al. 2009). Pedersen et al. (2006) trouvant des populations unicoloniales au sein des populations natives de la fourmi d'Argentine s'unissent à la deuxième hypothèse en suggérant que l'unicolonialité n'est pas une forme dérivée d'organisation sociale qui a évolué suite à un goulot d'étranglement mais plutôt une forme associée à des **relâchements de pressions biotiques** ou à une **préadaptation à des habitats perturbés** (Vogel et al. 2009 et 2010). Cependant, il est important de mentionner que les auteurs qui sont en désaccord avec l'hypothèse du « *genetic bottleneck* », ne semblent pas utiliser la même définition de l'unicolonialité ce qui entraîne différentes interprétations. Pedersen et al. (2006) considère l'unicolonialité à l'échelle coloniale tandis que les scientifiques de l'équipe Suarez et Tsutsui (Suarez et al. 2008) l'utilise à l'échelle de la population. Ainsi, une population caractérisée comme unicoloniale dans les populations natives pour l'équipe Keller, Pedersen, Vogel et Giraud, ne l'est pas pour l'équipe de Tsutsui et Suarez. La définition d'une population comme unicoloniale n'étant uniforme, distinguer si cette forme sociale est associée à un évènement d'introduction apparaît encore difficile aujourd'hui.

L'affrontement de ces deux grandes écoles sur l'origine de l'organisation sociale unicoloniale chez la fourmi d'Argentine a suscité l'intérêt des scientifiques étudiant les insectes sociaux invasifs, et particulièrement les fourmis. Chez la fourmi à grosse tête, *P. megacephala*, et la fourmi folle jaune, *A. gracilipes*, seules des populations invasives unicoloniales ont été définies dans l'aire d'introduction (Drescher et al. 2007, Fournier et al. 2009, Thomas et al. 2010). Cependant aucune hypothèse sur l'origine de la forme unicoloniale n'a été privilégiée plus qu'une autre.

Chez la petite fourmi de feu, *W. auropunctata*, des populations unicoloniales sont observées aussi bien dans l'aire d'introduction que l'aire native (Orivel et al. 2009). Les auteurs de cette étude ont mis en évidence que l'émergence de la forme unicoloniale était étroitement corrélée à la présence des activités humaines, en trouvant des

populations unicoloniales seulement dans des habitats anthropisés (Foucaud et al. 2009, Orivel et al. 2009). Ces auteurs ont également montré une association entre le mode de reproduction et le statut invasif ; les populations des forêts se reproduisant en grande partie par la reproduction sexuée et les populations des milieux anthropisés par une reproduction clonale où seules les ouvrières sont issues de la reproduction sexuée (Fournier et al. 2005, Foucaud et al. 2006, Foucaud et al. 2009). Ces résultats ont amené les auteurs à émettre l'hypothèse que **l'unicolonialité et la reproduction clonale auraient évolué suite à des changements de pressions de sélection exercée par la présence des activités humaines.**

Encore beaucoup d'interrogations subsistent sur l'existence des modifications de l'organisation sociale dans les populations introduites des fourmis invasives et leurs possibles origines. Les invasions biologiques représentent un cadre approprié pour comprendre l'apparition de la forme unicoloniale chez des espèces phylogénétiquement éloignées (Helanterä et al. 2009).

L'ensemble de ces travaux montre que des variations de l'organisation sociale semblent être responsables du succès invasif chez les fourmis invasives comme chez le bourdon, *B. terrestris*, la guêpe, *V. germanica*, et l'abeille tueuse, *A. mellifera scutellata*.

3.4 La place des Isoptères

Parmi les espèces d'insectes sociaux invasives, les Hyménoptères et particulièrement les fourmis sont les mieux documentées avec un nombre très important d'articles concernant leurs histoires, leurs caractères invasifs et leurs effets dans les écosystèmes envahis. Seulement, aujourd'hui, chez les Isoptères très peu de choses sont connues à ce sujet. C'est notamment le cas pour le termite de Formose, *C. formosanus*, qui fait pourtant parti des 100 espèces les « plus » invasives. Le groupe des Isoptères représente cependant un bon modèle comparatif sur plusieurs critères. De nombreux termites ont été introduits en dehors de leur répartition naturelle (Gay 1966), mais peu d'études y ont été consacrées. Chez les Isoptères, l'eusocialité est apparue une seule fois et indépendamment de celle des Hyménoptères (Crozier and Pamilo 1996, Thorne 1997).

De plus, les termites constituent un groupe social bien distinct sur la base de plusieurs caractères :

- i) leur système diploïde (et non pas haplo-diploïde)
- ii) leurs ouvriers sont à la fois des mâles et des femelles
- iii) les mâles reproducteurs restent auprès des femelles
- iv) Leur développement hémimétabole (À part les reproducteurs primaires, toutes les autres castes sont des immatures mobiles gardant la possibilité à se différencier en reproducteurs)

Par l'ensemble de ces propriétés, les termites apparaissent être un modèle adéquat pour améliorer notre compréhension des mécanismes écologiques et évolutifs des invasions biologiques chez les insectes sociaux.

C- Présentation du modèle d'étude

Reticulitermes flavipes/ santonensis

I. Caractéristiques générales des termites de la famille des Rhinotermitidae

L'ordre des Isoptères comptent 7 familles parmi lesquelles se différencient les termites dit basaux ou « inférieurs » (ce taxon a pour caractère la présence d'endosymbiontes protozoaires pour digérer la cellulose) des termites dit dérivés ou « supérieurs » (ce groupe a pour caractère l'absence de flagellés protozoaires symbiotiques dans les intestins et est représenté seulement par la famille des Termitidae) (Figure 4). La famille des Rhinotermitidae regroupe 15 genres de termites dits souterrains par le fait qu'ils construisent des nids sous forme de réseaux dans le sol. Lors de leur prospection à la recherche d'une source de nourriture, le bois mort, ils mettent en place un véritable réseau de galeries et de chambres dans le sol et à l'air libre par la construction de cordonnets. En recyclant le bois mort dont ils s'alimentent, ils participent à l'aération des sols et jouent un rôle fondamental dans l'équilibre des écosystèmes forestiers. Néanmoins ils deviennent un réel fléau lorsqu'ils s'attaquent aux constructions et habitations humaines. Les termites du genre *Reticulitermes* et *Coptotermes*, largement répandus à travers le monde occupant les régions subtropicales et tempérées (Kambhampati and Eggleton 2000), sont connus pour être les plus destructifs et nuisibles. Par exemple, les dégâts engendrés par an pour ces 2 genres aux États-Unis uniquement sont estimés à 11 milliards de dollars (Su 2002). En France, l'impact économique des espèces du genre *Reticulitermes* est en constante augmentation avec plus de 50 millions d'euros par an dépensés pour lutter contre ces insectes sans tenir compte des dégâts occasionnées (CTBA, 2002).

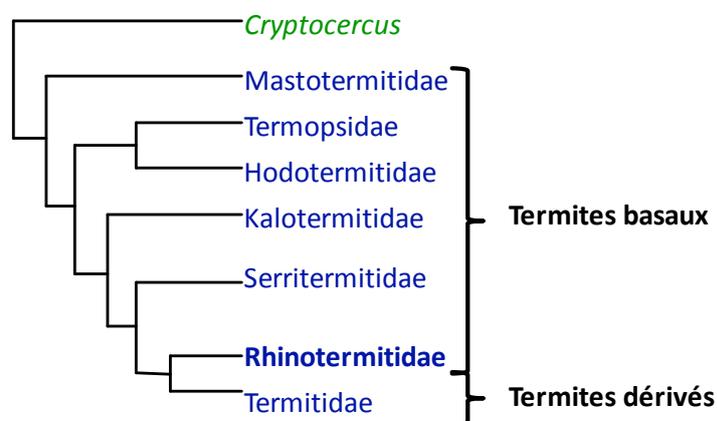


Figure 4. Arbre phylogénétique représentant les différentes familles rencontrées chez les Isoptères (en bleu) (d'après Inward et al. 2007).

II. Biologie des *Reticulitermes*

1. Système de castes et cycle de développement

Les termites, comme les autres insectes sociaux, ont développé un système de castes où l'efficacité de la colonie est basée sur la division du travail. Cela se manifeste par une distribution des tâches (nommé polyéthisme) et par des spécialisations morphologiques et physiologiques au sein de la colonie (nommé polyphénisme). Les termites ont un développement hémimétabole se définissant par une succession de mues larvaires, ainsi tous les individus présents dans la colonie, mise à part les reproducteurs primaires (ailés) et les soldats, sont des immatures. Ce type de développement contraste avec celui des Hyménoptères, étant holométabole, les différentes castes apparaissent après la métamorphose et sont fixes.

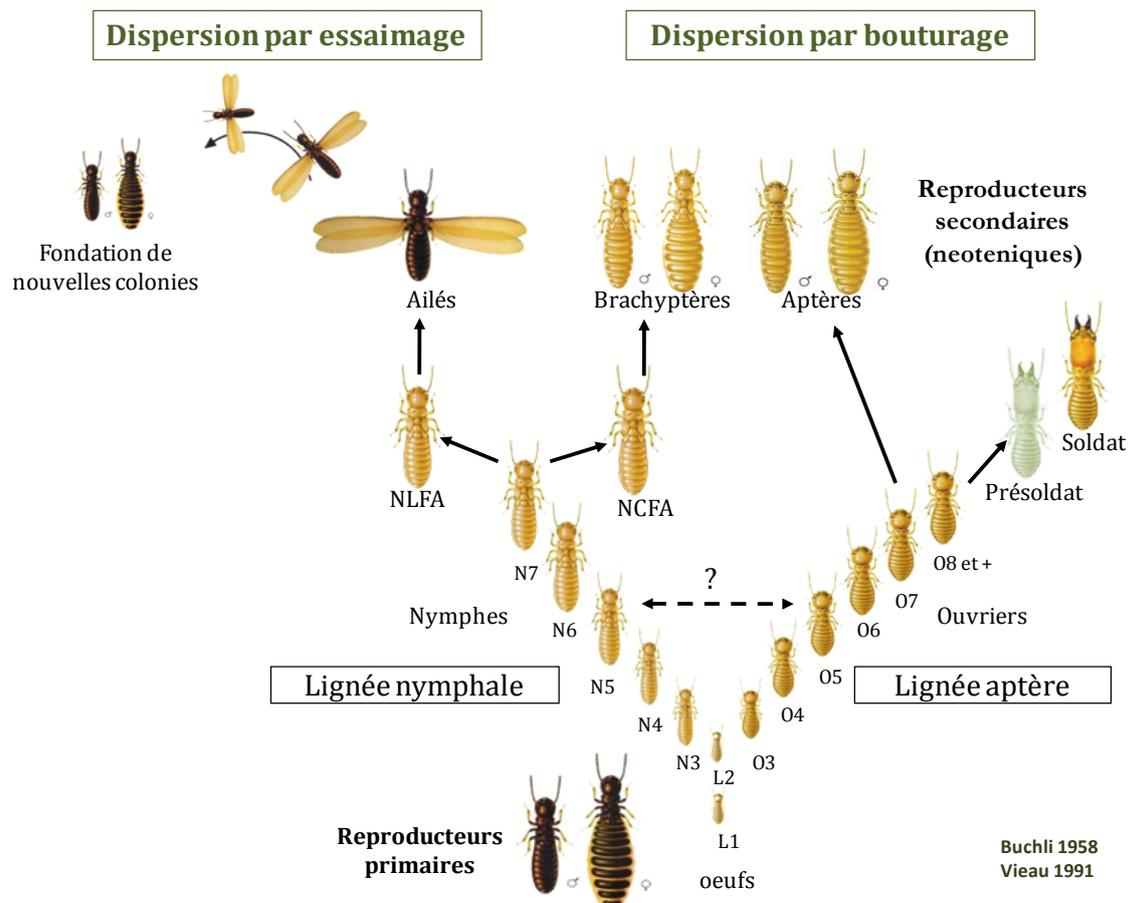


Figure 5. Cycle de développement et moyen de dispersion des termites du genre *Reticulitermes* (D'après Buchli 1958 et Leniaud 2008).

NLFA : nymphes à longs fourreaux alaires ; NCFA : nymphes à courts fourreaux alaires.



Lors des deux premiers stades larvaires, les larves ne sont différenciées que du point de vue du sexe et peuvent se diriger au troisième stade soit vers la **lignée nymphale** (N3), identifiée par la présence de fourreaux alaires, ou soit vers la **lignée aptère**(O3) conduisant généralement à des individus remplissant la fonction de soldats ou d'ouvriers (Figure 5).

La lignée nymphale :



Les nymphes comprennent 6 stades successifs à partir du stade N3. A l'avant dernier stade (N7) la nymphe peut devenir soit une nymphe à courts fourreaux alaires (NCFA), soit une nymphe à longs fourreaux alaires (NLFA) aux organes génitaux plus volumineux (Figure 5). Ces nymphes assurent la production de reproducteurs au sein de la colonie.



Les reproducteurs primaires apparaissent à partir des nymphes à long fourreaux alaires. Ils présentent un corps mélanisé, une tête sclérifiée, des organes sexuels bien développés, des yeux fonctionnels et une glande frontale dont la fonction n'est pas réellement connue (Clément and Bagnères 1998). Ces individus nommés **imagos** ou **ailés** sont les seuls à pouvoir voler et assurent la reproduction par essaimage qui a lieu une fois par an. Les



imagos protégés par les soldats s'élancent vers la lumière dès que le soleil atteint leur galerie d'envol. Après rencontre entre ailés, les imagos coupent leurs ailes et deviennent le couple de reproducteur primaire (roi et reine) de nouvelles colonies (Thorne 1996) (Figure 5).

Lignée aptère :



Les ouvriers peuvent être des deux sexes (comme toutes les autres castes) et possèdent différents stades successifs à partir du stade O3 (Buchli 1958). Ils ne possèdent ni d'ailes ni d'yeux et ne sont pas pigmentés (Noirot 1982). Le contenu intestinal des ouvriers est souvent visible par transparence, et leur corps fonce légèrement au cours des mues. Ils constituent la caste la plus importante, en nombre d'individus, au sein de la colonie, assurant le soin au couvain, la défense de la colonie, la recherche de nourriture puis sa digestion et sa transmission aux autres castes par trophallaxie (Noirot 1982).



Les soldats se différencient à partir des ouvriers de stade O4 via un stade intermédiaire appelé **présoldat** ou **soldat blanc** (Figure 5). Ils possèdent une capsule céphalique bien développée et entièrement sclérifiée, de puissantes mandibules et une glande frontale produisant des substances défensives de nature terpénique (poison de contact ou répulsif). Leur fonction au sein de la colonie est floue ; certains auteurs leur attribuent un rôle essentiel pour la défense de la colonie, en particulier vis-à-vis des prédateurs extérieurs tels que les fourmis (Kaib et al. 2002). D'autres auteurs, observant une protection inexistante, attribuent au soldat une fonction d'accompagnateurs lors de la recherche de nourriture (Thorne 1998). Plus récemment, il leur a été alloué un rôle dans la régulation de la différenciation des ouvriers en soldats via leur composé défensifs (Tarver et al. 2009).



Les reproducteurs secondaires ou **néoténiques** peuvent provenir soit de la lignée nymphale à partir des nymphes à court fourreaux alaires (néoténiques brachyptères) ou soit de la lignée aptère à partir d'ouvriers (néoténiques aptères)(Buchli 1958) (Figure 5). Ces individus gardent leurs caractéristiques juvéniles mais leurs organes reproducteurs sont fonctionnels leur permettant de s'accoupler. Ils se différencient des autres individus immatures par leur abdomen long, une légère pigmentation, et par la présence d'yeux et d'ocelles (Plateaux and Clément 1984). Ils sont également nommés reproducteurs de remplacement car ils peuvent remplacer un des reproducteurs primaires après leur mort assurant la pérennité de la colonie. Dans certaines conditions, ils peuvent se différencier alors que le couple de reproducteurs primaires est toujours en vie, ils deviennent alors des reproducteurs supplémentaires (Thorne 1996).

Les termites se développant par des mues larvaires successives entraîne que la majorité des individus au sein de la société sont des immatures (les ouvriers, les soldats et les nymphes) et gardent de fortes potentialités ontogéniques.

2. Détermination et différenciation des castes

Les facteurs contrôlant la différenciation des castes sont encore discutés chez l'ensemble des insectes sociaux (Schwander et al. 2010). Tandis que certaines études

suggèrent une détermination environnementale des castes, une accumulation d'exemples mettent en évidence les effets de facteurs génétiques chez divers taxa (Schwander et al. 2010). Comme chez les autres insectes sociaux, le système de détermination des castes chez les termites est peu connu, et particulièrement la différenciation en reproducteurs. Chez les *Reticulitermes*, quelques études ont néanmoins suggéré que l'hormone juvénile jouait un rôle important dans la différenciation des ouvriers en soldats (Miura 2001, Scharf et al. 2003, Park and Raina 2004) et en néoténiques (Elliot and Stay 2007, 2008) ; une haute concentration en hormone juvénile donnant des néoténiques et une concentration encore plus élevée induirait des soldats. Récemment, les possibles gènes impliqués dans la différenciation des castes reproductives ont été étudiés. Scharf et al. (2005) a identifié le gène codant pour l'hexamerine en montrant une expression de cette protéine plus importante chez les nymphes et les reproducteurs. Ainsi, l'hexamerine est assumé être un facteur jouant un rôle dans la différenciation des reproducteurs, probablement en modulant la disponibilité d'hormone juvénile dans l'hémolymphe. Une autre étude apporte des informations sur la détermination des reproducteurs secondaires chez le termite asiatique *R. speratus*. Il a récemment été démontré que les néoténiques femelles étaient issue de parthénogénèse, mettant ainsi en avant une détermination génétique à la différenciation en reproducteurs secondaires (Matsuura et al. 2004, Hayashi et al. 2007, Matsuura et al. 2009).

3 Structure coloniale et méthode de dispersion

3.1 Définition de la colonie

Une colonie est définie comme un groupe d'individus coopérant ensemble au sein d'une structure spatialement délimitée, organisée et hiérarchisée. Une colonie de *Reticulitermes* peut comporter un nombre variable de nids interconnectés définis comme des sites composés de reproducteurs et de couvain (Thorne et al. 1999). Les individus au sein d'une colonie sont, dans la majeure partie des cas, apparentés mais il arrive parfois que des individus non apparentés coexistent (cf paragraphe 3.2). Les colonies se trouvent dans le sol et remontent à la surface pour se nourrir de bois mort. Après l'installation du couple primaire, la colonie croît lentement avec environ une cinquantaine d'individu au bout d'un an chez les espèces de *Reticulitermes* (Thorne

1998). A partir de ce nid initial, les ouvriers creusent des réseaux de galeries, des cavités, et construisent des cordonnets afin de trouver de la nourriture. Les colonies peuvent ainsi s'étendre sur une grande surface mais par leur mode de vie cryptique cela est parfois difficile à évaluer. Dans la nature, la longévité d'une colonie n'est pas connue, mais il a été observé qu'en laboratoire, le couple fondateur de colonies de *R. flavipes* pouvait durer 6 à 11 ans (Long et al. 2006). Une fois la mort d'un des fondateurs de la colonie, la durée de vie d'une colonie peut être rallongée par la différenciation de reproducteurs secondaires. Ainsi, une colonie de termites peut en théorie vivre plusieurs dizaines d'années. Après ces généralités sur les colonies de *Reticulitermes*, il est également important de mentionner que ce soit entre, ou au sein des espèces, les colonies peuvent varier sur de nombreux points : leur âge, leur étendue spatiale, leur nombre d'individus total, le nombre d'individus de différentes castes et notamment le nombre de reproducteurs et leur apparenté génétique (Vargo and Husseneder 2009).



Figure 6. Photo d'une colonie de *R. flavipes* récoltée en France sur l'île d'Oléron, Forêt de St Trojan (E. Perdureau).

3.2 Les différentes structures familiales au sein des colonies

Le système de reproduction chez les *Reticulitermes* est complexe. En fonction du nombre de reproducteurs présents au sein de la colonie et de leur lien d'apparenté plusieurs structures familiales sont définies (Thorne et al. 1999, Bulmer et al. 2001, Vargo 2003a).

Les familles simples : Une colonie est dite de type famille simple lorsqu'elle présente un couple de reproducteurs et leur descendance. Cette structure familiale, la plus simple, est celle qui est observée lors de l'initiation d'une nouvelle colonie par les reproducteurs primaires, dénommés le roi et la reine



(généralement non apparentés), après l'essaimage. Cependant, on ne peut pas exclure qu'un couple de reproducteurs secondaires soit à l'origine de cette famille, par une différenciation d'ouvriers en néoténiques après un bouturage (cf paragraphe 3.4 Méthodes de dispersion) de quelques individus. La famille simple, par les reproducteurs primaires, est de loin la structure la plus commune dans les colonies du genre *Reticulitermes* (Vargo and Husseneder 2009).

Les familles étendues : Une colonie est dite de type famille étendue lorsqu'il y a, en plus du couple fondateur, plusieurs reproducteurs apparentés qui se reproduisent. La présence de reproducteurs apparentés est due à la différenciation de certains individus, descendants du couple de reproducteurs primaires de la colonie, en reproducteurs secondaires (néoténiques). Par le fait que ces néoténiques sont les filles ou fils des reproducteurs primaires, leur reproduction entraîne une augmentation du coefficient d'apparentement « *relatedness* » au sein de la colonie ainsi qu'une élévation de la consanguinité, qui augmentera avec le nombre de reproducteurs secondaires. Ce nombre est variable, mais il est possible de distinguer des colonies avec peu de néoténiques de celles en comportant des dizaines grâce aux *F*-statistiques hiérarchiques (Wright 1965, Thorne et al. 1999).



Les familles complexes : Une colonie est complexe lorsqu'elle présente plus de deux reproducteurs non apparentés et leur descendance. Il n'a été montré que deux modes de formation de ces familles mixtes chez les Isoptères :



- La pléométrie :

Ce cas est observé quand plus de deux futurs rois et reines s'associent pour fonder une nouvelle colonie. Cependant ce système de fondation coloniale a uniquement été observé chez des espèces appartenant à la famille des Termitidae, comme chez les termites *Nasutitermes corniger* et *Macrotermes michaelseni* (Atkinson and Adams 1997, Hacker et al. 2005).

- La fusion coloniale :

Ce cas est observé quand au moins deux colonies non apparentées fusionnent pour devenir une colonie unique. Il y a alors présence, au sein de l'unité fusionnée, du couple de reproducteurs primaires fondateur de chaque colonie, de leurs descendances, et de possibles reproducteurs secondaires de chacune. Les colonies fusionnées peuvent, ou non, se reproduire entre elles (DeHeer and Vargo 2004, 2008). Ce type de structure familiale a été longtemps suspecté chez les *Reticulitermes* (Clément 1986, Matsurra Nishida 2001) et a été récemment démontré chez *Reticulitermes flavipes* (DeHeer and Vargo 2004).

3.3 Reproduction sexuée et asexuée

Il est admis que les termites du genre *Reticulitermes* se reproduisent par reproduction sexuée entre la reine et le roi de la colonie ou encore par les néoténiques. Cependant, la reproduction par parthénogénèse thélytoque (reproduction à partir d'une gamète femelle non fécondée aboutissant uniquement à des individus femelles) a été mise en évidence en laboratoire chez un terme asiatique *Reticulitermes speratus* (Matsuura et al. 2004). Une deuxième étude sur des colonies prélevées en milieu naturel a ensuite montré que la reproduction asexuée donnait uniquement des néoténiques femelles, les autres castes de la société étant issues de la reproduction sexuée (Matsuura et al. 2009). Ce mélange de reproductions permet à la reine de transmettre la totalité de son génome, même après son remplacement, tout en gardant un certain degré de diversité génétique chez les ouvriers et les nymphes (Matsuura et al. 2009).

3.4 Méthode de dispersion

- **Dispersion par essaimage :**

Après l'essaimage des colonies d'une population de manière synchronisée, l'envol des ailés (seuls adultes de la colonie) et l'émission d'une phéromone sexuelle par les femelles permet la rencontre entre reproducteurs (Grassé 1982). Ce mode de reproduction permet une dispersion à longue distance (distance maximale observée est de 458 mètres pour *R. flavipes* (Shelton et al. 2006)) et favorise le brassage génétique en réduisant la probabilité de s'accoupler avec des nids apparentés (Shellman-Reeve 1997). Chez les termites du genre *Coptotermes* et *Reticulitermes*, la formation des tandems de reproducteurs ailés apparait se faire, au niveau de leur relation de parenté,

aléatoirement (DeHeer and Vargo 2006, Husseneder and Simms 2008). Néanmoins, il a été montré, chez *R. flavipes*, que peu de tandems issus de couples de fondateurs apparentés, établissaient avec succès de nouvelles colonies, mettant en cause l'action de la dépression de consanguinité (DeHeer and Vargo 2006). Lorsque les conditions environnementales ne sont pas favorables, une faible disponibilité des ressources par exemple, la dispersion des sexués ailés permet de fonder une nouvelle colonie dans un environnement plus propice.

- **Dispersion par bouturage :**

La reproduction par les reproducteurs secondaires (non ailés) se fait au sein de la colonie, soit avec un reproducteur primaire ou entre eux. La présence au sein de la colonie des reproducteurs secondaires a ainsi pour premier avantage de maintenir la colonie après la mort d'un reproducteur primaire. Pour les colonies proches de ressources de nourriture abondantes, la reproduction par néoténie apparaît être un moyen rapide de se développer et de se répandre (Myles 1999). De plus, les colonies peuvent être très étendues, des regroupements entre individus et néoténiques peut se faire donnant ainsi naissance à des nids « satellites ». Il peut également arriver que ces nids se séparent de la colonie mère conduisant à des colonies indépendantes spatialement (Howard and Haverty 1980, Thorne et al 1999). Cette méthode de reproduction alternative, mais pas obligatoire, également appelé bouturage ou « *budding* », permet une dispersion de proche en proche des colonies. Il est important de noter que ce mode de reproduction, comme la présence de reproducteurs secondaires, n'est pas observé dans toutes les colonies et constituent ainsi un important caractère de variation intercoloniale. Néanmoins, ce mode de reproduction présente un sérieux désavantage, qui est celui d'accroître le niveau de consanguinité au sein de la colonie connu pour avoir des effets délétères (DeHeer et Vargo 2006, Husseneder et al. 2008). En effet, à la différence de l'essaimage, la dispersion par bouturage limite les échanges génétiques entre colonies.

- **Dispersion par l'homme :**

Un autre mode de dispersion à prendre en compte est la dissémination par l'homme. Les termites, étant à l'intérieur du bois ou du sol, et passant inaperçus, sont facilement transportables (Moller 1996). Même si seulement quelques dizaine d'individus sont

prélevés, une nouvelle colonie pourra s'initier par le fait qu'à partir d'immatrices (ouvriers, larves ou nymphes) des reproducteurs secondaires peuvent se différencier et assurer la pérennité de la colonie (Kutnik 2004, Pichon et al. 2007). Ce mode de dispersion semble jouer un rôle important dans la répartition des populations des milieux anthropisés (Vieau 1993, 2001, Kutnik 2004, Dronnet 2004) et est bien sûr la cause des introductions dans un nouveau territoire, pays ou continent. Le rôle de la dispersion par l'homme a été récemment bien illustré avec l'exemple de l'introduction du termite *Reticulitermes urbis* en France près de Grenoble. Sur la base d'analyses génétiques et comportementales, Leniaud et al. (2009) ont trouvé qu'une seule entité génétique existait sur une surface de 7 hectares sur la ville de Domène (38). Les nids au sein de cette énorme colonie ne sont pas interconnectés, ce qui implique que l'intervention de l'homme a joué un rôle majeur dans la dispersion de ce termite sur la zone étudiée. La carte de la répartition des espèces de *Reticulitermes* au sein des villes françaises illustre parfaitement le rôle majeur des activités humaines dans la dispersion des populations (Figure 10 p.75).

3.5 Intégrité coloniale et hydrocarbures

La sélection de parentèle (Encart 2 p.70) prédit que les individus doivent se reconnaître pour préserver un comportement coopératif (Wilson and Hölldobler 2005). Les individus sont ainsi capables de distinguer des individus membres de la colonie des non-membres. Chez les insectes sociaux, il est accepté que ce système de reconnaissance du nid est sous influence d'une signature chimique cuticulaire, composé en grande majorité de composants lipidiques, les hydrocarbures (Encart 3 p.71) (Hölldobler and Wilson 1990, Howard 1993, Clément and Bagnères 1998, Vander Meer and Morel 1998). Selon le modèle « Gestalt » (Crozier and Dix 1979), il existe une signature ou odeur coloniale qui est un mélange de toutes les odeurs individuelles transférées entre individus par trophallaxie (échange alimentaire) ou toilettage. Cette signature coloniale est dynamique et peut évoluer en fonction de la saison et de la composition coloniale (Blomquist and Bagnères 2010). Ces signaux chimiques varient avec les conditions environnementales tout en étant basés génétiquement (Carlin and Hölldobler 1986, Dronnet et al. 2006, Brandt et al. 2009). En comparant leur signature chimique, les membres d'une colonie sont capables de distinguer les individus provenant de la même colonie de ceux provenant d'une colonie voisine, grâce à des variations quantitatives, et

des individus de la même ou d'une autre espèce, grâce à des variations qualitatives (Howard et al. 1982, Bagnères et al. 1991, Bagnères and Wicker-Thomas 2010). Ces différences de signature chimique sont généralement suivies d'un comportement agressif (King 1973, Howard et al. 1982) afin de garder l'intégrité de la colonie. Cependant, certaines colonies de *Reticulitermes* qualifiées d'« ouvertes » (à l'inverse de « fermée ») tolèrent la présence d'individus étrangers homospécifiques par l'absence d'agression (Clément et al. 1986). Cette différence d'ouverture coloniale semble être sous influence de la saison, des castes présentes, et varie entre et au sein des espèces (Clément 1986, Clément et al. 1988).

Encart 2. La théorie de la sélection de parentèle

L'altruisme reproductif (vue dans l'introduction p.18) est la base des sociétés d'insectes (Wilson, 1971). En renonçant à leur propre reproduction pour favoriser celle d'autres membres de la société, les individus altruistes ont été perçus au sein des sociétés d'insectes comme un paradoxe à la théorie de l'évolution (Darwin 1859). Selon la théorie darwinienne, la sélection naturelle favorise les individus qui possèdent le meilleur succès reproductif, nommé également valeur sélective ou fitness. Pour expliquer l'évolution et le maintien de l'altruisme reproductif, le biologiste D. W. Hamilton en 1964 a développé la théorie de la sélection de parentèle. Cette théorie reconnue par les sociobiologistes stipule que des individus peuvent transmettre des copies de leur propres gènes, non seulement en se reproduisant eux-mêmes, mais également en favorisant la reproduction d'individus apparentés. Ainsi, la présence d'un acte altruiste est fonction du degré d'apparentement entre individus (de la proportion de gènes qu'ils ont en commun) mais également du bénéfice perçu par l'individu receveur et le coût engendré par l'auteur de l'acte altruiste.

La formulation mathématique de cette théorie est donnée par la « règle d'Hamilton » :

$$r \cdot B > C$$

r est le coefficient d'apparentement ou relatedness

B est le bénéfice du comportement altruiste

C est le coût du comportement altruiste

Le comportement altruiste est ainsi favorisé quand le coefficient d'apparentement par le bénéfice est supérieure au coût induit.

Ainsi, il apparaît nécessaire que les membres d'un groupe social doivent être capables de reconnaître les individus apparentés des non apparentés pour pouvoir favoriser le comportement altruiste.

Chez les insectes sociaux, généralement, les sociétés sont fermées induisant que les individus qui coopèrent sont proches génétiquement. Toutefois, il existe des cas, comme lorsqu'une reine s'accouple avec plusieurs mâles, quand plusieurs reines et rois cohabitent au sein d'un même nid, ou encore lorsque plusieurs colonies échangent des individus, où le coefficient d'apparentement diminue. Si le bénéfice de tels phénomènes est suffisamment important, la sélection de parentèle peut néanmoins opérer. Ainsi, le degré de parenté ne doit pas être particulièrement élevé pour que la sélection de parentèle puisse opérer, il suffit qu'il soit plus grand de zéro.

Encart 3. Les Hydrocarbures Cuticulaires

Médiateur chimique : Un hydrocarbure est défini comme un composé organique contenant exclusivement des atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H). Ils peuvent se présenter sous forme linéaire, cyclique ou ramifiée, et porter plusieurs insaturations (alcènes) ou non (alcanes). Les hydrocarbures cuticulaires, toujours à longues chaînes (20 à 40 carbones) contenant des groupes méthylés (CH₃) en quantité significative, sont caractéristiques des insectes sociaux (Nelson 1993) mais également d'insectes solitaires comme les Diptères et certains Coléoptères (Blomquist and Bagnères 2010).

Fonctions : Chez les insectes, ces composants lipidiques se trouvent sur la couche superficielle de la cuticule, d'où leur nom d'hydrocarbures cuticulaires (HCs). Ils jouent un rôle important dans la protection contre la dessiccation, la lutte contre les toxines et micro-organismes mais également dans la communication chimique tant au niveau interspécifique qu'intraspécifique en particulier chez les insectes sociaux. D'un seul toucher d'antenne, les individus appartenant à une même espèce, une même colonie, ou une même caste se reconnaissent grâce à la présence des HCs en composition ou quantité variables (Bagnères et al. 1998, Clément and Bagnères 1998)

Biosynthèse : Les HCs sont synthétisés par des voies enzymatiques complexes localisées dans les oenocytes situés sous l'épiderme (Nelson and Blomquist 1995). Ils sont ensuite diffusés à travers l'hémolymphe vers la couche superficielle de la cuticule par les lipoprotéines (Fan et al. 2004).

Les composés défensifs des soldats

Composition : Chez les familles de termites Rhinotermitidae, Serritermitidae et certains Termitidae, les soldats possèdent sur l'avant de leur tête une glande frontale dite glande défensive (Grassé 1982). Cette glande contient des composés émis par un pore frontal nommé fontanelle ou une capsule.

Fonctions : Ces substances ont un rôle dans la défense de la colonie par la toxicité des composés émis (poison de contact ou répulsif de distance). Cependant de nombreux auteurs assignent à ces sécrétions un rôle de primer phéromone, inhibant le développement d'autres soldats dans la société (Lefeuvre et Bordereau 1984, Roisin et al. 1990, Scharf et al. 2003, Tarver et al. 2009)

Biosynthèse : La synthèse des substances de la glande céphalique chez les soldats est à notre connaissance inconnue, comme les précurseurs de ces composés.

Analyses de ces composés

L'analyse de ces composés chimiques se fait par chromatographie en phase gazeuse qui permet de les séparer et de les détecter. Cette méthode est souvent couplée à la spectrométrie de masse qui permet de les identifier.

→ La nature des composés défensifs des soldats et des HCs semblent être spécifiques d'une espèce donnée (Quintana et al. 2002). Ainsi, ils ont longtemps été utilisés en chemotaxonomie pour étudier de nombreux genres de termites (Bagnères et al. 1988, Haverty et al. 1996, Nelson et al. 2001, Clément et al. 2001).

III. Les espèces de *Reticulitermes* en Europe

On trouve en Europe, 6 espèces et 2 sous espèces de *Reticulitermes* dont la répartition en milieu « naturel » (en dehors des infestations en ville) s'étend à l'ouest, du sud de l'embouchure de la Loire à la péninsule ibérique, et du côté est, du pourtour méditerranéen jusqu'aux Balkans (Figure 7):

- *R. grassei* (Clément).
- *R. banyulensis* (Clément).
- *R. balkanensis* (Clément).
- *R. lucifugus lucifugus* (Rossi) et ses 2 sous espèces *R. lucifugus corsicus* (Clément) et *R. lucifugus subsp. nov.* (Luchetti et al. 2004).
- *R. urbis* (Bagnères et al. 2003).
- *R. flavipes/santonensis* (Kollar/Feytaud).

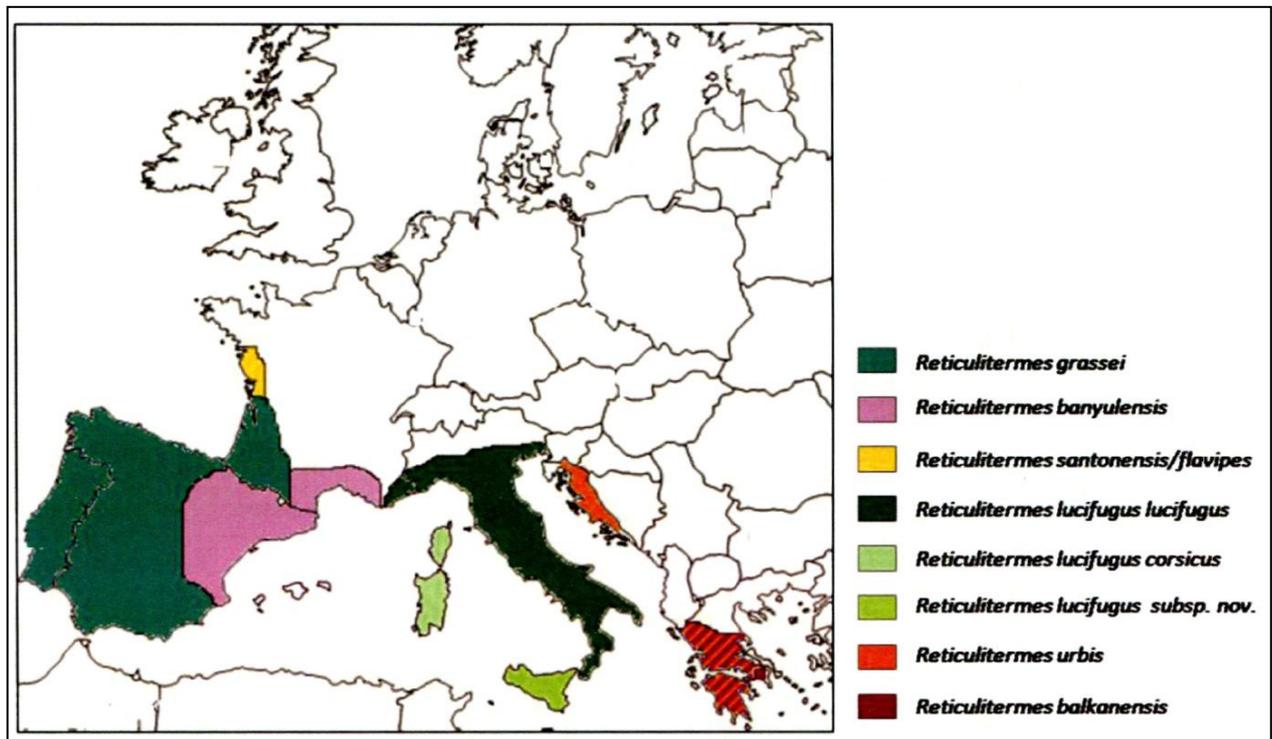


Figure 7. Répartition géographique « en milieu naturel » (en dehors des infestations en ville) des termites du genre *Reticulitermes* en Europe.

De L. Leniaud, d'après Clément et al. 2001, Luchetti et al. 2004.

De nos jours, deux espèces en Europe sont considérées comme introduites car elles se situent en dehors de leur aire de répartition naturelle à partir des années 1500 (dernières années de l'Holocène). Le premier est le termite *R. urbis* qui est présent naturellement en Grèce jusqu'en Croatie et a été introduit récemment dans quelques villes du sud-est de la France et du nord de l'Italie (Uva 2002, Uva et al. 2004, Leniaud et al. 2009, 2010). Le second est le termite américain *Reticulitermes flavipes* (Kollar 1837) connu sous le nom de *R. santonensis* en France (Feytaud 1924). Ce termite aurait été introduit en Europe il y a deux à trois cent ans et a été recensé par le projet DAISIE⁶.

IV. Le termite *R. flavipes/santonensis*

1. Répartition géographique

Le termite Nord américain *R. flavipes* (Kollar) est présent dans l'Est des Etats-Unis et plus précisément du Sud de la Floride au Nord de l'Ontario au Canada en s'étendant au-delà du fleuve du Mississippi (Figure 8). Cette espèce de termite est considérée comme une espèce originaire du Sud des Etats-Unis. Cependant, elle a été introduite dans d'autres états ; au Bahamas et en Californie (Su et al. 2006), mais également dans beaucoup d'autres pays ; au Chili (Ripa and Castro 2000), en Uruguay (Su et al. 2006), au Canada (Grace et al. 1989), en Allemagne (Weidner 1937, Harris 1962), en France (Feytaud 1924, 1959) et en Autriche, où il a été décrit pour la première fois (Kollar 1837, Hagen 1858) (Figures 9). Cette première description de l'espèce *R. flavipes* en Autriche (Kollar, 1837) est un cas rare, car peu d'espèces ont été décrites pour la première fois en dehors de leur aire de répartition (Kenis et al. 2007). Ce termite semble être celui qui cause le plus de dégâts parmi ceux du genre *Reticulitermes*, en engendrant des millions de dommages de manière directe et indirecte (traitements) par an aux Etat Unis (Su and Scheffrahn 2000) et en Europe (UNEP⁷ 2002, CTBA⁸ 2002). Aucune autre espèce de termite, répartie dans autant de pays n'est connue à ce jour.

⁶ <http://www.europe-aliens.org/speciesFactsheet.do?speciesId=50670>

⁷ United Nations Environment Program : www.unep.org

⁸ Centre Technique du Bois et de l'Ameublement

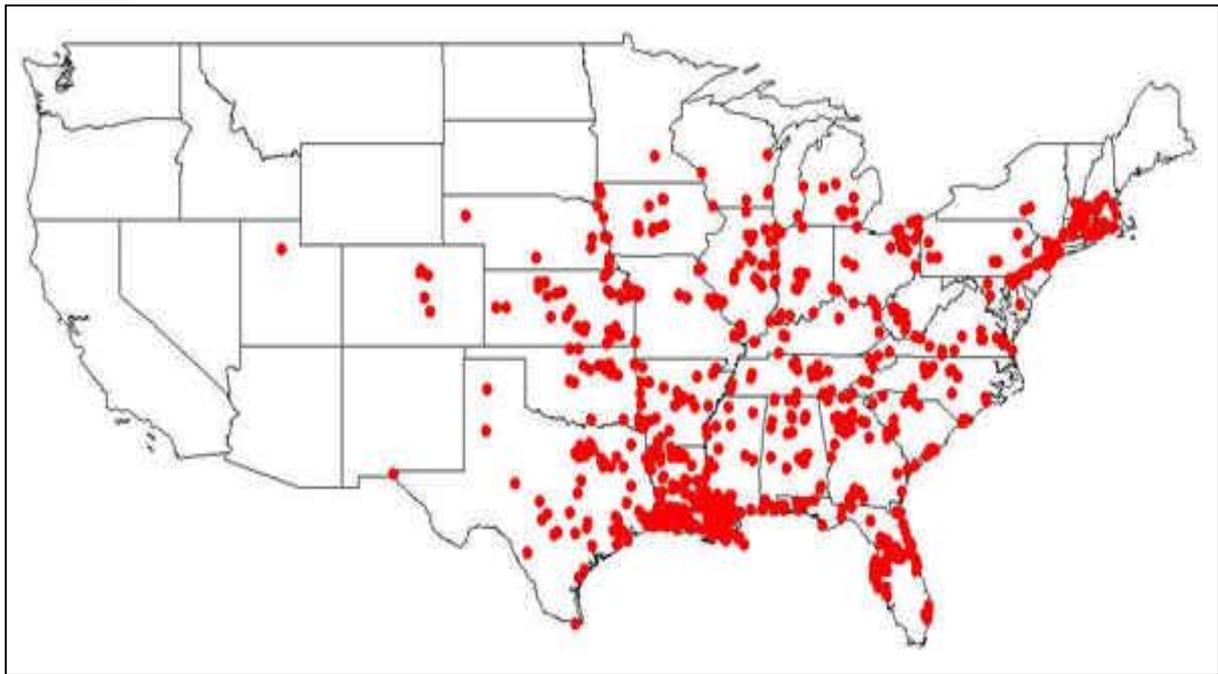


Figure 8. Carte représentant la répartition du termite *R. flavipes* aux USA. National Termite Survey (<http://www.termitesurvey.com>).

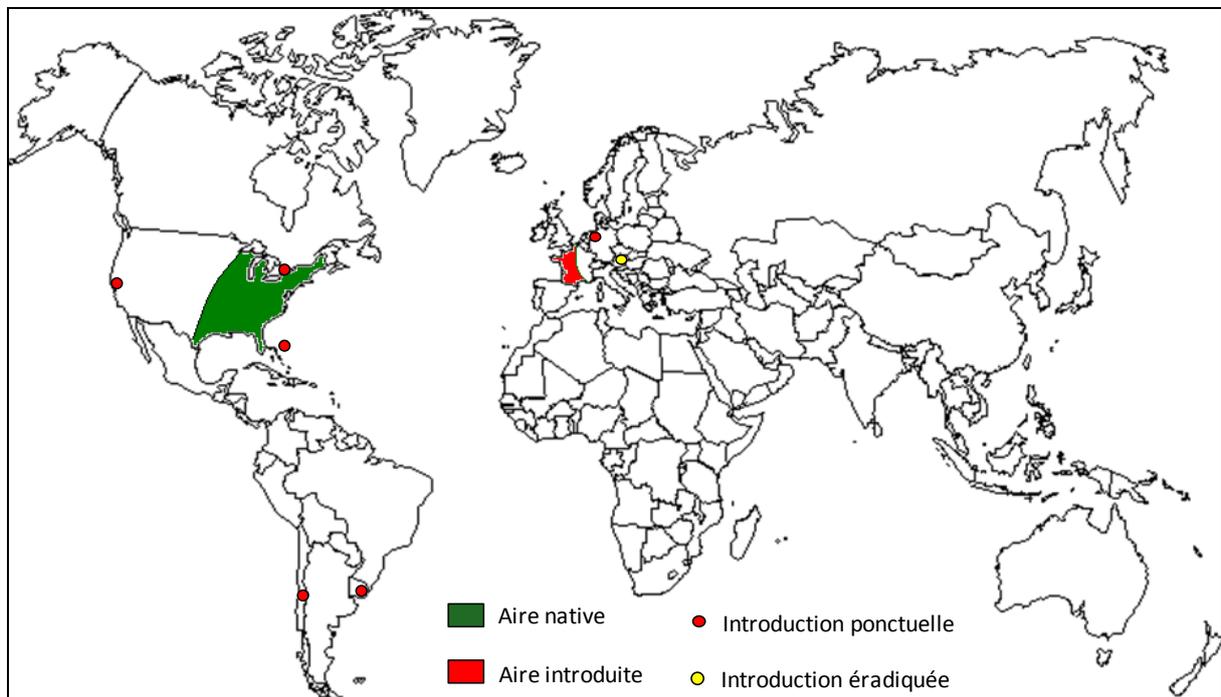


Figure 9. Carte de la répartition du termite *R. flavipes* dans le monde.

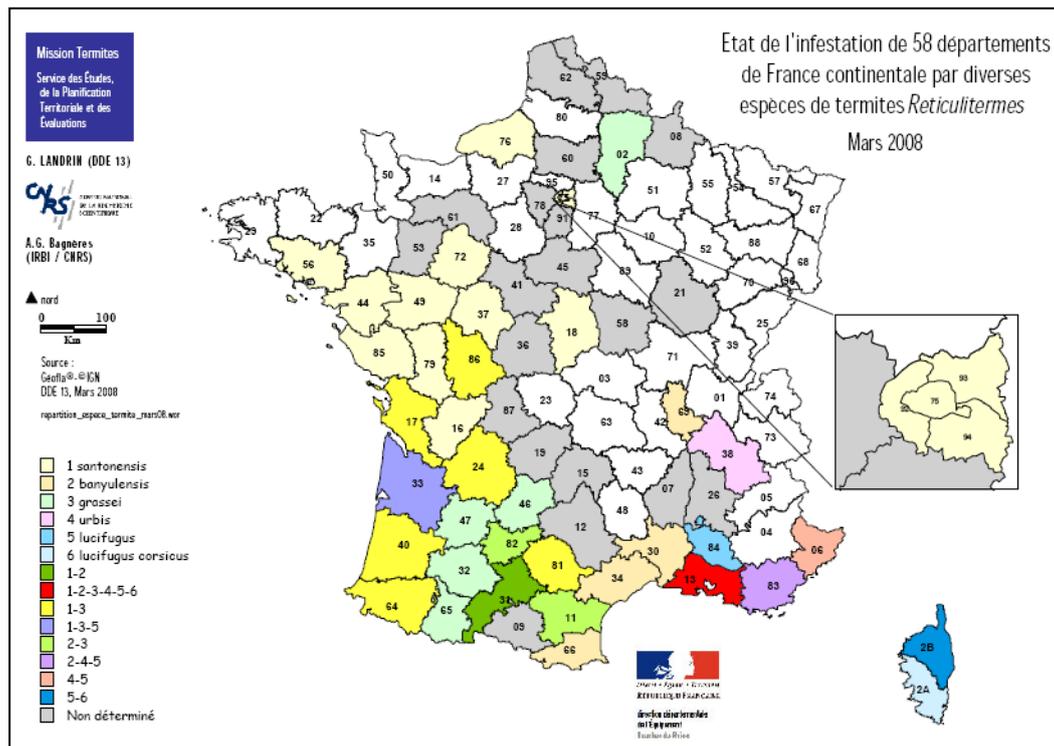


Figure 10. Carte indiquant la présence des espèces de *Reticulitermes* en milieu anthropisé pour chaque département.

En Europe, *R. flavipes* est particulièrement bien établi en France où il présente une répartition vaste mais essentiellement urbaine (Figure 10). Sa répartition en milieu en forêt (« milieu naturel ») se restreint à une portion de la côte ouest en comprenant la Forêt de la Baule en Loire Atlantique, la Forêt d'Olonnes en Vendée, et les Forêts de l'île d'Oléron (Les Saumonards et de Saint Trojan) et de la Coubre en Charente-Maritime (Figure 7). En comparaison avec les autres espèces de *Reticulitermes* présentes en Europe, la distribution naturelle de *R. flavipes* apparaît très réduite. Cependant, en France, c'est celle qui présente la plus vaste aire de répartition en milieu urbain en étant implantée dans 22 départements et en causant des dégâts importants (Figure 10). La distribution de *R. flavipes* en France semble, bien plus clairement qu'aux Etats-Unis, fortement liée à l'activité humaine. Même dans les zones forestières, cette espèce est souvent retrouvée très proche des habitations (Vieau, 1993), et sa présence sous forme de patches en pleine forêt paraît résulter de l'exploitation forestière et humaine (voies de chemin de fer, maisons forestières) (Vieau, 1999).

2. Histoire de *R. flavipes* en France

L'identification du termite *R. flavipes* en Europe a été extrêmement longue et controversée, alors que depuis le début l'hypothèse de l'introduction depuis les Etats-Unis était énoncée. Ces paragraphes résument les faits historiques et travaux qui ont permis de reconnaître l'introduction de *R. flavipes* en France. **Après 82 années passées sous le nom *R. santonensis* (Feytaud), nous l'appellerons dans la suite du manuscrit *R. flavipes*.**

- **Rappels historiques :**

Depuis 1925, ce termite a connu de continuel changements au niveau de son statut taxonomique, alternant entre une espèce distincte, une forme de *R. flavipes* introduite ou encore une sous espèce de *R. lucifugus*. Son identification et sa dénomination a suscité dès les premières observations un certain désaccord entre les scientifiques. En 1792, tous les *Reticulitermes* européens étaient assimilés à une seule espèce sous le nom *R. lucifugus* (Rossi 1792). Cependant, en 1924, Jean de Feytaud différencie le termite, décrit en Saintonge, comme une sous espèce de *lucifugus* : *R. lucifugus santonensis* du fait de dissemblances morphologiques (tibias plus claires des imagos) et physiologiques (période d'essaimage distincte). Peu après, N. Banks proposa à Feytaud de faire du termite de Saintonge une variété d'un termite Nord américain, *R. flavipes*, par leur similitude morphologique. Cette hypothèse était tout a fait probable. En effet, la première description de cette espèce a été réalisée sur des individus provenant de Vienne (Autriche) par Kollar en 1837 (Kollar 1837), impliquant une introduction en Europe. Cependant, les entomologistes Emerson et Lash (1952), Grassé (1954) et Buchli (1958) ne considéraient pas de similitude entre ses 2 espèces et conservèrent *R. santonensis* comme dénomination de ce termite.

A ce propos, en 1958, Buchli écrivit :

« Pour savoir si notre Terme de la Charente est vraiment identique à l'une ou l'autre des espèces américaines, nous nous sommes adressés à l'éminent systématien des Isoptères, M. le professeur A. E. Emerson, qui a bien voulu déterminer le Terme de Saintonge et le Lucifuge des Landes. M. le professeur Emerson ainsi que son élève, W. Lash, m'ont confirmé qu'aucune des espèces américaines n'était identique à notre espèce ou sous-espèce

française. *Le Termite de la Charente n'a donc pas été un cadeau de nos amis d'outre-mer et ne peut non plus être le Reticulitermes flavipes de Feytaud. Ceci semble confirmer notre opinion qu'il s'agit d'une nouvelle espèce ou variété évoluée localement du Reticulitermes lucifugus R. »*

Ainsi la dénomination « *R. lucifugus santonensis* » a perduré pendant près de 30 ans. Dans les années 1970, Becker a même émis l'hypothèse que *R. santonensis* était un « bâtard luxuriant » entre *R. flavipes* et *R. grassei* (Becker 1970). En 1978, le termite de Saintonge est élevé au rang d'espèce par Clément (1978b) sur la base de nombreuses différences (*R. santonensis* présente une suture clypéofrontale rectiligne et des imagos avec des tibias jaunes, alors que les autres espèces de *Reticulitermes* en France ont une suture incurvée et des imagos avec des tibias noirs ; des différences apparaissent également au niveau des périodes d'essaimage) avec les autres espèces de *Reticulitermes* présents en Europe, mais cet auteur n'a jamais fait le lien entre *R. santonensis* et *R. flavipes*. Ce n'est qu'au début des années 90, soit presque 70 ans après la description par Feytaud, qu'est revenue l'hypothèse d'une introduction du termite Nord américain, *R. flavipes* (Bagnères et al. 1990).

3. Evidences de l'introduction en Europe

Toutes les études faites ces dernières années au niveau morphologique, chimique et moléculaire n'émettent aucun doute : *R. santonensis* est bien le termite américain *R. flavipes*.

- **Répartition géographique** : La distribution de *R. flavipes* en France, qui se trouve limitée en milieu naturel est un élément qui caractérise les espèces introduites souvent retrouvées dans des milieux anthropisés.

- **Evidence morphologique** : Les critères anatomiques qui ont servi à isoler dans le passé *R. santonensis* des autres espèces de *lucifugus* n'ont pas fonctionné pour différencier *R. santonensis* de *R. flavipes* : Le postclypéus est droit et rectiligne pour les ouvriers et les tibias sont jaunes chez les reproducteurs ailés (Feytaud, 1924, Bagnères et al. 1990, Clément et al. 2001) (Figure 11).

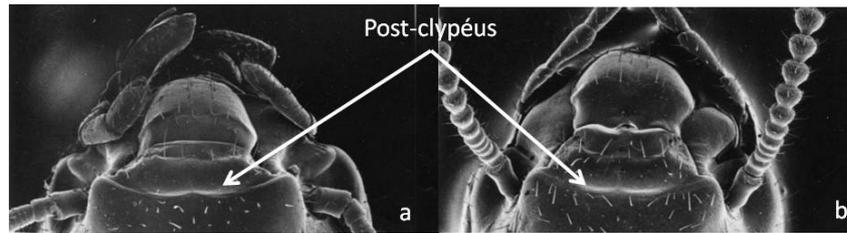


Figure 11. Photographies au microscope électronique de têtes d'ouvriers de *R. santonensis* (a) et de *R. flavipes* (b) (Bagnères et al. 1990).

Le nombre et la répartition des plaques perforées des glandes épidermiques, présentes au niveau des tergites abdominaux ainsi que des pattes, ont été trouvés identiques chez *R. flavipes* et *R. santonensis* et différentes chez *R. lucifugus*. (Faucheux 2006)

-Evidence chimique : L'étude comparative entre *R. santonensis* et *R. flavipes* de Bagnères et al. en 1990 à l'aide des hydrocarbures cuticulaires et des composés défensifs des soldats (Encart 3 p.71) a eu un impact important en remettant au goût du jour l'hypothèse de l'introduction de *R. flavipes* en Europe. Parmi un fort polymorphisme chimique observé dans une population de *R. flavipes* en Georgie, cette étude a mis en évidence un profil cuticulaire qualitativement identique, avec cependant des variations quantitatives (Annexe 2. p.243). Seules des différences au niveau des composés défensifs ont été observées : l'unique phénotype de *R. santonensis* observé en France diffèrait d'autres phénotypes de *R. flavipes* par l'absence de γ -cadinène et de l'aldéhyde cadinène. Néanmoins avec 6 phénotypes différents observés seulement dans la population de Géorgie (noté A, B, C, D E et F) (Annexe 3. p.245), l'étude montre également que la composition de ces substances défensives semble très variable au sein des populations américaines. Ainsi, le phénotype des substances défensives de *R. santonensis* pourrait se retrouver dans une population de *R. flavipes* encore non échantillonnée. Cette hypothèse fût confortée par la découverte quelques années plus tard en Allemagne d'un profil de composés défensifs identiques à celui de *R. santonensis* (Clément et al. 2001).

-Evidence moléculaire (Encart 4 p.80): Toutes les analyses des variations des régions mitochondriales ND1 (Clément et al. 2001), 16S (Uva et al. 2004, Austin et al. 2005) et COII (Jenkins et al. 2001, Marini and Mantovani 2002, Luchetti et al. 2004, Ye et

al. 2004, Su et al. 2006) effectuées ces dernières années, montrent que les quelques échantillons⁹ de *R. santonensis* et *R. flavipes* forment un même clade, bien distinct des autres espèces de *Reticulitermes*. Une étude récente, se basant sur le marqueur mitochondrial 16S ARNr, révèle trois haplotypes présents simultanément en France et aux Etats-Unis (Austin et al 2005). L'ensemble de ces auteurs concluent que *R. santonensis* et le termite américain *R. flavipes* forment un même groupe monophylétique et apparaissent fortement proches génétiquement, corroborant les études morphologiques et chimiques, et ainsi l'hypothèse de l'introduction.

Aujourd'hui, après l'ensemble des études effectuées, tous les marqueurs utilisés corroborent et attestent (excepté pour les composés défensifs des soldats) que les populations de *R. santonensis* sont des populations introduites de *R. flavipes*.



Figure 12. Photo de deux soldats et de larves de *R. flavipes*. (E. Perdereau).

⁹ Majoritairement des échantillons de notre laboratoire provenant de la Charente-Maritime et d'île de France

Encart 4. Les marqueurs moléculaires

Les marqueurs moléculaires, du fait de leur répartition sur tout le génome et de leur polymorphisme, se révèlent comme des outils de choix pour analyser la variabilité des caractères quantitatifs. Les variations d'ADN sont des mutations provenant de l'insertion, la substitution, ou l'élimination, d'un ou plusieurs nucléotides, ou de la duplication ou l'inversion de fragments d'ADN. Ces mutations sont dites « neutres » si elles n'engendrent aucun changement métabolique ou phénotypique, et ne sont pas par conséquent soumises à une sélection positive ou négative, contrairement aux mutations dites « fonctionnelles ». Il existe de nombreux marqueurs moléculaires. Nous allons ici nous intéresser plus précisément aux marqueurs microsatellites (marqueur nucléaire) et au marqueur cytochrome oxydase II (marqueur mitochondrial) qui ont été utilisés au cours de cette thèse.



Les microsatellites (marqueur nucléaire)

Un microsatellite est la répétition en tandem, et toujours dans le même sens, d'un certain nombre de fois d'un motif nucléotidique court (de 1 à 4 nucléotides le plus souvent). Le nombre de répétitions de ce motif est variable d'une espèce à l'autre, d'un individu à l'autre et d'un allèle à l'autre chez un même individu, ce qui peut conférer plusieurs formes alléliques pour une séquence microsatellite. Ces marqueurs nucléaires sont des marqueurs neutres, car ils sont localisés dans une région non-codante. Leur niveau de variabilité est généralement plus élevé que certains marqueurs et favorise l'estimation de la diversité génétique intraspécifique. Ils ont ainsi été utilisés de nombreuses fois pour analyser l'organisation des colonies d'insectes sociaux (Queller et al. 1993, Ashley and Dow 1994, Dronnet et al. 2005, Vargo and Husseneder 2009).



Le cytochrome oxydase II (marqueurs mitochondriaux)

L'ADNmt haploïde est, comme son nom l'indique localisé dans les mitochondries. Il est hérité maternellement et possède un taux de mutation souvent plus élevé que l'ADN nucléaire et ne se recombine pas. Par ces caractéristiques, les marqueurs mitochondriaux ont été souvent utilisés pour étudier l'histoire évolutive des espèces et des populations. Chez les termites, de nombreux gènes mitochondriaux ont été utilisés (COI, COII, NDI) pour clarifier la position taxonomique des différentes espèces ; mais c'est le gène codant pour la cytochrome oxydase II qui a été le plus souvent employé et qui a montré le plus de résultats chez les *Reticulitermes* (Miura et al. 2000, Austin et al. 2002, Ohkuma et al. 2003, Ye et al. 2004, Kutnik et al. 2004, Luchetti et al. 2004).

4. Variations phénotypiques entre les populations natives et introduites

Pendant de longues années, *R. flavipes* ayant été considéré en France comme une espèce à part entière, plusieurs études sur ses caractéristiques biologiques ont été effectuées (Clément 1977, 1978a et 1986, Bagnères 1989, Bagnères et al. 1990). Plus récemment, la thèse de Stéphanie Dronnet a permis une meilleure compréhension de la structure sociale des populations françaises, grâce à la mise en place et à l'analyse de loci microsatellites (Dronnet et al. 2004, Dronnet et al. 2005). Ainsi, les populations françaises apparaissent être les populations introduites de *R. flavipes* les plus étudiées. De toutes ces études, deux caractéristiques particulières aux populations françaises de *R. flavipes* semblent ressortir.

-Manque d'agressivité intraspécifique ?

Les études portant sur l'agression intercoloniale ont montré que les populations des *Reticulitermes* européens présentent une agressivité entre colonies variables selon la saison (Clément 1986 et 2001). Néanmoins, les études réalisées sur les populations françaises de *R. flavipes* ont toujours montré une absence d'agression intraspécifique (Clément 1978a et 1986, Clément and Bagnères 1998), ce qui a été également observé dans les populations introduites au Canada (Grace et al. 1996).

- Présence de nombreux reproducteurs secondaire au sein des colonies ?

Comme nous l'avons vu précédemment, la structure familiale des colonies est variable en fonction du nombre de reproducteurs au sein de celle-ci et de leur lien de parenté. Chez les *Reticulitermes*, le type de structure familiale assumé être le plus commun est la famille simple (seulement le couple de reproducteurs primaires) (Vargo and Husseneder 2009). Un premier travail sur deux populations françaises a montré que toutes les colonies étudiées de *R. flavipes* possèdent une famille de type étendue avec un grand nombre de reproducteurs secondaires apparentés (Dronnet et al. 2005). La seule présence de famille de type étendu dans les populations françaises de *R. flavipes* n'a jamais été observée chez d'autres populations de *Reticulitermes* européennes et américaines, excepté pour le termite introduit en France *R. urbis*.

Alors que l'ensemble des études portant sur l'étendue spatiale des colonies montrent que les colonies du genre *Reticulitermes* aux USA ou en Europe sont petites (revu dans

Présentation Générale

Vargo and Husseneder 2009), l'étude des colonies des populations françaises de *R. flavipes* a montré que les colonies étaient souvent très **vastes** (Dronnet et al. 2005).

D- Problématique et objectifs

I. Problématique générale de la thèse

La constante augmentation des invasions biologiques met en avant la nécessité de mieux comprendre les mécanismes par lesquels une espèce introduite arrive à s'établir avec succès dans un nouvel environnement. D'autre part, il a été noté que les invasions biologiques fournissent des situations uniques pour élargir nos connaissances en écologie générale et en biologie évolutive, et notamment pour étudier certains traits d'histoire de vie complexe.

Chez les insectes sociaux, définis comme d'excellents invasifs (Moller 1996), d'importantes variations de l'organisation sociale (polygynie et unicolonialité) ont été mises en évidence chez certaines espèces et ont souvent été associées à leur succès invasif. Parmi ces espèces, les Hyménoptères et plus particulièrement les fourmis sont clairement celles les mieux documentées avec un nombre très important d'articles concernant leurs histoires, leurs biologies et leurs effets sur les populations indigènes et les écosystèmes envahis. Le constat n'est pas le même chez les autres espèces sociales qui pourraient pourtant compléter, voir élargir, la compréhension des caractéristiques invasives et de leur origine.

Bien que de nombreux espèces de termites soient introduites, peu ont fait l'objet d'études et encore moins concernant leur organisation sociale. En France, une première étude sur les populations introduites du termite *R. flavipes* montre une structure sociale particulière (Dronnet et al. 2005). Même si encore beaucoup de questions demeurent tant sur son histoire que ces capacités invasives et leurs origines, **ce termite représente une opportunité unique pour comprendre comment les populations introduites d'insectes sociaux s'établissent avec succès dans leur nouvel environnement. A travers l'étude du termite *R. flavipes* introduit en France, nous nous sommes intéressés à savoir si (i) l'organisation sociale des populations introduites varient de celles des populations natives, (ii) ces variations résultent d'une évolution suite à l'introduction et si (iii) les caractéristiques sociales acquises par les colonies introduites favorisent leur installation et leur propagation en France.**

II. Objectifs spécifiques de thèse

Pour répondre au mieux à notre problématique, quatre objectifs majeurs ont été définis:

1^{er} objectif: Existe-t-il des variations de l'organisation sociale entre les populations natives et les populations introduites en France ?

Une première étude (Dronnet et al. 2005) a montré que les colonies de deux populations introduites de *R. flavipes* contenaient toutes de nombreux reproducteurs secondaires, contrairement à ce qui peut être observé dans les populations natives.

Ainsi, nous avons étudié la structure génétique d'une troisième population introduite à l'aide de marqueurs microsatellites et d'un marqueur mitochondriale. Les résultats de ce travail sont présentés dans **l'étude 1 : Structure génétique d'une population introduite de *R. flavipes***, et ont fait l'objet d'une publication dans le journal *Insectes Sociaux*.

2^{ème} objectif: Est-ce que les variations de l'organisation sociale sont impliquées dans le succès invasif ?

Les populations françaises de *R. flavipes* présentant une vaste aire de répartition, nous nous sommes intéressés à déterminer si (i) les caractères impliqués dans son succès invasif, et si (ii) il peut affecter les populations autochtones des termites européens. Ainsi, nous avons étudié les traits biologiques et les interactions entre ce termite invasif et une espèce autochtone, le termite *R. grassei*. Les résultats de ce travail sont présentés dans **l'étude 2 : Etude des interactions de compétition entre *R. flavipes* et *R. grassei***, et ont fait l'objet d'un article soumis au journal *Biological Invasions*.

3^{ème} objectif: Il y a-t-il des variations au niveau des composés chimiques entre les populations natives et les populations introduites en France ?

Chez les insectes sociaux, la reconnaissance intra et interspécifique est basée sur la variation des hydrocarbures cuticulaires (Blomquist and Bagnères 2010). Les populations introduites de *R. flavipes* ne semblant pas présenter d'agressivité intraspécifique (Clément 1978a et 1986), nous avons étudié les variations intraspécifiques des hydrocarbures cuticulaires au sein et entre les populations introduites et natives de ce termite. Nous nous sommes également intéressés aux

composés défensifs des soldats qui semblent avoir un rôle dans la différenciation des castes (Henderson 1998, Tarver et al. 2009). Les résultats de ce travail sont présentés dans **l'étude 3 : Analyses et comparaisons des composés chimiques entre les populations natives et introduites de *R. flavipes***, et ont fait l'objet d'un article soumis à *Journal of Chemical Ecology*.

4^{ème} objectif : Où sont localisées les populations sources et est-ce que l'introduction a eu des conséquences sur le niveau de diversité génétique ?

L'événement d'introduction, depuis le prélèvement des individus jusqu'à leur arrivée, a des conséquences décisives sur la génétique des populations introduites et leurs potentiels adaptatifs (Facon et al. 2006). En retraçant l'invasion, il est alors possible de déterminer les facteurs qui ont permis le succès invasif. C'est dans ce contexte que le 4^{ème} objectif de ma thèse a pour but de localiser les populations sources des populations de *R. flavipes* en France et de savoir si les populations introduites ont souffert d'une baisse de diversité génétique au cours de l'introduction, ceci à l'aide d'un marqueur génétique mitochondrial et de marqueurs microsatellites. Les résultats de ce travail sont présentés dans **l'étude 4 : Analyses phylogéographiques des populations natives et introduites de *R. flavipes***, et font l'objet d'un article en préparation.

L'ensemble de nos études s'est construit autour de l'utilisation alliant deux approches, celles de la génétique et de la biologie des populations. Pour se faire, au cours de ma thèse, nous avons accumulé un grand nombre de données empiriques. Ceci grâce à cinq missions de récoltes de termites en France, quatre sur l'île d'Oléron (Charente-Maritime) et une à Olonnes (Vendée), mais également grâce à deux campagnes dans le sud-est des USA (Floride et Louisiane). Nous avons également obtenu des données expérimentales (comportement) sur des colonies « fraîchement » collectées (île d'Oléron).

La partie suivante est dédiée aux résultats des quatre études qui ont donné lieu à quatre articles (Articles 1, 2, 3 et 4). L'ensemble des résultats obtenus est synthétisé et discuté dans le cadre des invasions biologiques dans la dernière partie de ce manuscrit intitulée « discussion générale ».

PARTIE II
RESULTATS

**Etude 1 : Structure génétique d'une
population introduite de *R. flavipes***



Synthèse de l'article 1

Introduction

Chez les Hyménoptères sociaux, plusieurs exemples montrent des variations de l'organisation sociale entre les populations introduites et les populations natives (cf. la synthèse bibliographique p. 50). C'est par exemple le cas de la guêpe *Vespa germanica* (Donovan et al. 1992, Kasper et al. 2008), du bourdon *Bombus terrestris* (buttermore 1997, Nagamitsu and Yamagishi 2009), et de nombreuses espèces de fourmis (Morel et al. 1990, Le Breton et al. 2004, Drescher et al. 2007, Suarez et al. 2008, Fournier et al. 2009, Orivel et al. 2009, Helanterä 2009, Thomas et al. 2010). Ainsi, **le premier objectif de cette thèse est de déterminer si les populations introduites de *R. flavipes* présentent des variations de l'organisation sociale.**

De nombreuses études ont déjà été faites sur le système de reproduction et la structure familiale des populations nord-américaines du termite *R. flavipes* (revu dans Vargo and Husseneder 2009). Sur les 11 populations étudiées, les 366 colonies, chacune s'étendant au maximum sur une centaine de mètres, sont à 75% des familles simples (i.e. famille contenant un seul couple de reproducteurs généralement le roi et la reine), à 23,20% des familles étendues (i.e. famille contenant le couple fondateur et des reproducteurs secondaires apparentés, avec généralement moins de 10 néoténiques fonctionnels) et à 3.30 % des familles mixtes (famille contenant plus de deux reproducteurs non apparentés). La première étude sur deux populations introduites de *R. flavipes* en France (Paris et la forêt des Saumonard sur l'île d'Oléron) a montré des différences importantes de l'organisation avec les populations américaines (Dronnet et al. 2005) :

- Toutes les colonies étaient des familles de type étendu (100%).
- Le nombre de reproducteurs secondaires au sein de chaque colonie étaient supérieur à 100.
- La grande majorité des colonies étaient spatialement vastes (avec pour la plus grande colonie une longueur de 320 mètres).

Alors que l'on connaît la structure familiale de 366 colonies des populations aux USA, seulement deux populations ont été étudiées en France (Vargo and Husseneder 2009). Ainsi, il apparaît primordial de déterminer si cette variation de l'organisation sociale est propre aux deux populations précédemment étudiées ou aux populations introduites de *R. flavipes*. Pour répondre à cette question nous avons étudié la structure génétique d'une troisième population introduite de *R. flavipes* situé dans la forêt de St Trojan sur l'île d'Oléron. A l'aide de 8 marqueurs microsatellites et d'un marqueur mitochondrial (COII), nous avons délimité les colonies, déterminé leur structure familiale et estimé le nombre de reproducteurs présents au sein de chacune.

Synthèse des résultats de l'article 1 et discussion.

- En génotypant 580 ouvriers (20 ouvriers pour chacun des 29 points de récolte), les analyses du nombre et de la fréquence des allèles et des génotypes nous ont permis de délimiter 13 colonies dans la forêt de St Trojan. Parmi ces 13 colonies, **aucune colonie ne présente une structure familiale de type simple** (colonie constituée uniquement d'un couple de reproducteurs) ; **9 sont des familles de types étendues** indiquant la présence de plusieurs **reproducteurs secondaires apparentés au sein de ces colonies** ; et **4 sont de type famille mixte** indiquant le présence de **plus de deux reproducteurs non apparentés** (plus de 4 allèles à au moins un locus)

- Les analyses des *F*-statistics et de la relatedness indiquent que toutes les colonies contiennent un **nombre de reproducteurs secondaires fonctionnels estimé de 10 à 300 par colonie.**

- La délimitation des colonies met en évidence **la plus grande colonie jamais délimitée chez une espèce de *Reticulitermes*, son étendue étant de 600 mètres** (excepté la population introduite de *R. urbis* en Isère qui s'étend sur 7 hectares, mais où les nids ne sont pas connectés (Leniaud et al. 2009)).

- L'ensemble des résultats indiquent que toutes les colonies possèdent de nombreux reproducteurs secondaires apparentés fonctionnels et confirme ainsi la première étude faite sur les deux autres populations de *R. flavipes* en France (Dronnet et al. 2005). En comparaison, les colonies des populations américaines, lorsqu'elles sont étendues (23.20%), ne montrent généralement pas plus de 10 néoténiques fonctionnels

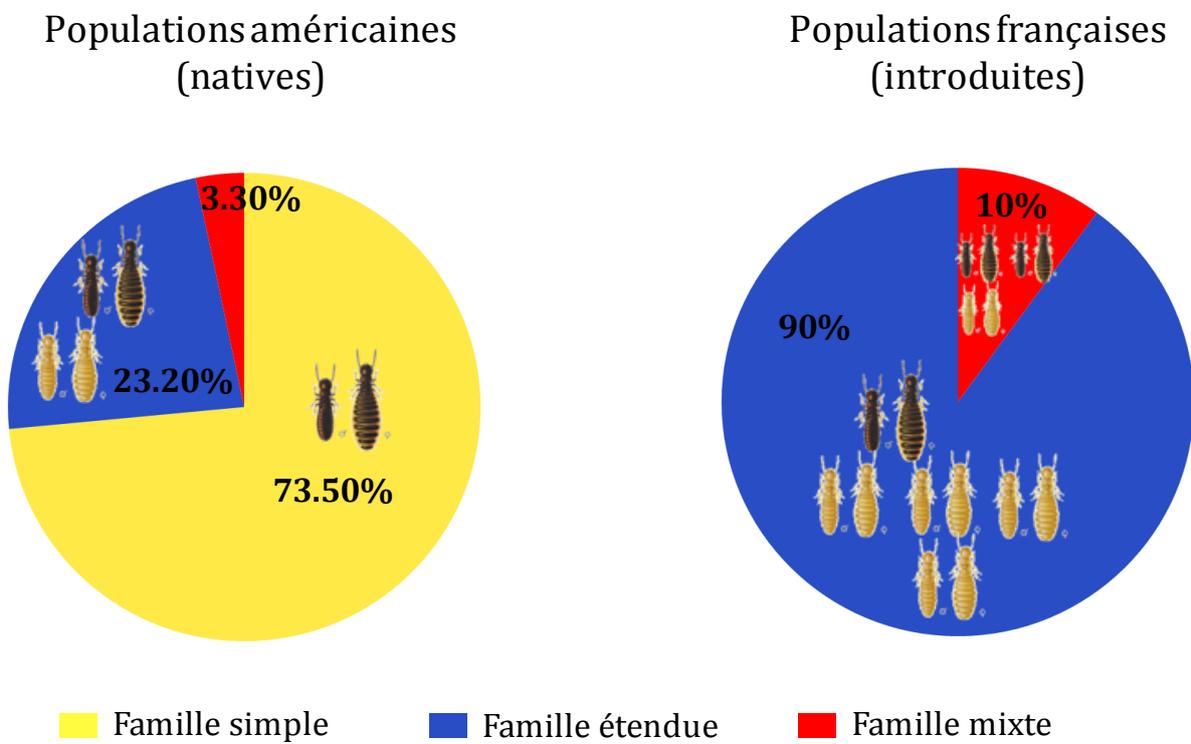


Figure 13. Variations de la structure familiale entre les populations introduites et natives de *R. flavipes*.

au sein des colonies (Vargo and Husseneder 2009). Il est également important de noter que sur l'ensemble des 3 populations étudiées en France, aucune colonie constituée uniquement d'un couple de reproducteurs n'est identifiée, alors que c'est le type de famille majoritaire dans les populations américaines (Vargo and Husseneder 2009) (Figure 13).

- Les colonies de type famille mixte, sont reconnues comme étant le résultat d'une fusion entre deux ou plusieurs colonies chez les termites du genre *Reticulitermes* (DeHeer and Vargo 2004, 2008). Au sein des 4 colonies mixtes identifiées les individus partagent le même haplotype mitochondrial, et aucune lignée n'ont été mise en évidence. Pour la première fois en France, un phénomène de fusion coloniale est décrit, révélant une différence majeure avec la précédente étude faite sur les populations introduites en France (Dronnet et al. 2005). Néanmoins, la proportion de colonies fusionnées semble réellement sous-estimée à cause d'un biais méthodologique dans la population de St Trojan comme les deux autres populations françaises étudiées.

Premièrement, les marqueurs microsatellites au sein des populations françaises marqueurs ne sont pas assez polymorphes. En effet, le nombre d'allèles par locus est le seul paramètre qui nous permet de distinguer les familles mixtes des familles étendues (5 allèles à au moins un locus), or le nombre moyen d'allèles est seulement de 4.9 allèles par locus dans la population de St Trojan (4.7 au Saumonards et 3.1 à Paris). En comparaison, les populations américaines présentent un nombre moyen d'allèles par locus de 11.7 (Vargo 2003b, Vargo 2003a, Dronnet et al 2004, Vargo and Carlson 2006, Vargo et al 2006). La population de Paris illustre bien une sous estimation des colonies fusionnées : les colonies présentent des valeurs de *F*-statistics et de la relatedness très proches de colonies de type famille mixte.

Deuxièmement, le risque de sous-estimation en France apparait plus important qu'aux USA car au sein des populations américaines le nombre de familles simples, qui ne peut pas être confondu avec celui des familles mixtes, est plus élevé. Ainsi, les résultats mettent en évidence une différence majeure sur la capacité à fusionner entre les colonies des populations américaines et françaises (Figure 13). En effet, 31 % des colonies de la population de St Trojan sont fusionnées. **Cette proportion de fusion coloniale est la plus importante rencontrée dans une population de *Reticulitermes*.**

Cette 1^{ère} étude confirme que des variations de l'organisation sociale existent entre les populations introduites en France et les populations américaines, par la fréquence importante de colonies contenant des reproducteurs secondaires fonctionnels, le nombre de ces reproducteurs, la capacité à fusionner et l'étendue spatiale des colonies (Figure 13). Ainsi, la question qui se pose sur ces résultats est de savoir si ces variations sont impliquées dans le succès invasif de l'espèce. L'origine de ces variations sera discutée dans la dernière partie (Discussion-Conclusion p.211).

Article 1 : High occurrence of colony fusion in a European population of the American termite *Reticulitermes flavipes*

Publié dans *Insectes sociaux*

Perdereau E., Bagnères A.-G., Dupont S. and Dedeine F.

IRBI CNRS UMR 6035 Université François Rabelais, Faculté des Sciences et Techniques,
Parc de Grandmont, 37200 Tours, France

High occurrence of colony fusion in a European population of the American termite *Reticulitermes flavipes*

E. Perdereau · A.-G. Bagnères · S. Dupont · F. Dedeine

Received: 16 February 2010/Revised: 26 March 2010/Accepted: 30 March 2010
© International Union for the Study of Social Insects (IUSSI) 2010

Abstract The coexistence of multiple unrelated reproductives within social insect colonies decreases the relatedness among colony members and therefore challenges kin selection theory. This study investigated the colony genetic structure of a French introduced population of the American subterranean termite *Reticulitermes flavipes* by analyzing genotypes at eight microsatellite loci and at one mtDNA region. Results revealed that all colonies contained numerous related secondary reproductives, and that 31% of colonies possessed more than two unrelated reproductives. The presence of several unrelated reproductives within colonies of this species is commonly assumed to result from colony fusion. Although such a high occurrence of colony fusion is the highest ever observed in a termite population, it is probable that the available methodology underestimated the detection of colony fusion in French populations. Overall, these results suggest that French colonies might differ strongly from the great majority of American colonies in their capacity to produce secondary reproductives as well as in their ability to merge. The nature and evolutionary origin of these population differences are discussed.

Keywords Termites · Colony fusion · Social organization · Breeding system · Biological invasion · *Reticulitermes*

Introduction

Social organization—the number and relatedness of reproductives within social groups—of animal societies has well been characterized, especially in social insects. However, little is known about the ecological and genetic factors causing its evolution (Bourke and Franks, 1995; Wilson and Hölldobler, 2005; Johns et al., 2009). The presence of multiple queens and/or kings within social insect colonies is problematic when invoking kin selection as an explanation for the maintenance of eusociality, because the potential for inclusive fitness benefits appears to be lower in these colonies in comparison with those headed by a single pair of reproductives (Bourke and Franks, 1995). The coexistence of multiple unrelated reproductives within colonies has long been viewed as an evolutionary paradox (Keller, 1993). This paradox is particularly evident in unicolonial ants, which are characterized by the absence of colony boundaries between interconnected nests that contain many queens and exchange workers, brood and fertile queens (Helanterä et al., 2009). Until now, colony genetic structure in social insects has mostly been studied in ants where almost half of all species may have colonies with several reproducing queens (Heinze and Foitzik, 2009). However, a detailed knowledge of the colony genetic structure of other social insect groups might bring decisive information for understanding the mechanisms by which colonies with multiple unrelated reproductives evolve and are maintained within populations.

Termites (Isoptera) may provide an appropriate critical comparative system for studying social evolution within complex insect societies, because their eusociality has evolved independently from the Hymenoptera, without haplodiploid sex determination and with a hemimetabolous development (Korb, 2008). However, there is still little information on the ecology and evolution of termites. Typical

E. Perdereau · A.-G. Bagnères · S. Dupont · F. Dedeine (✉)
Institut de Recherche sur la Biologie de l’Insecte, UMR-CNRS
6035, Faculté des Sciences, Université de Tours, Parc de
Grandmont, 37 200 Tours, France
e-mail: franck.dedeine@univ-tours.fr

termite colonies are founded by a single pair of primary reproductives (one queen and one king) forming simple-family colonies. However, several studies have revealed that more than two functional reproductives sometimes coexist within colonies. Multiple reproductives can develop within colonies by secondary reproduction, resulting in extended-family colonies (Lenz and Barrett, 1982; Myles, 1999). Replacement or supplementary reproductives may differentiate within the colony from sterile individuals as nymphs or workers (Thorne et al., 1999). These secondary reproductives (neotronics) do not have wings and develop either following the death of the primary reproductives or during the formation of nest buds. In both cases, neotronics are sons and daughters of the original queen and king or of the later generations of replacements. The presence of neotronics has been described in numerous termite species (Myles, 1999). Their production may increase both the level of inbreeding within colonies and the degree of relatedness among nestmates. Interestingly, the capacity of colonies to produce neotronics seems to be highly variable both among and within termite species (Vargo and Husseneder, 2009). However, the factors underlying these variations as well as the evolutionary processes that maintain them in nature remain unknown.

Termite colonies sometimes also contain multiple reproductives that are unrelated or only distantly related. Such mixed-family colonies have been described in a few termite species including *Nasutitermes corniger* (Atkinson and Adams, 1997; Adams et al., 2007), *Mastotermes darwiniensis* (Goodisman and Crozier, 2002), *Macrotermes michaelseni* (Hacker et al., 2005) and two *Reticulitermes* species (DeHeer and Vargo, 2004; Nobre et al., 2008). The existence of mixed-family colonies in termites is as unexpected on the basis of kin selection theory as it is for unicolonial ants (Helanterä et al., 2009). Multiple unrelated reproductives can arise in termite colonies through two types of described mechanisms: pleometrosis and colony fusion. Pleometrosis occurs when multiple future queens and kings (alates) join together following the mating flight and cooperate to found a new colony. This occurs in several higher termites (Termitidae) such as *Nasutitermes corniger* and *Macrotermes michaelseni*, but recent data suggests that this mechanism is not common in lower termites such as Rhinotermitidae (Vargo and Husseneder, 2009). Colony fusion occurs when two or more colonies merge to form a single colony. It has long been suspected that this phenomenon occurs in several lower termites (Clément, 1986; Matsuura, 2001; Bulmer and Traniello, 2002a; Goodisman and Crozier, 2002; Korb, 2008) and it has recently been demonstrated in *Reticulitermes flavipes* (DeHeer and Vargo, 2004, 2008).

Like most subterranean termites, *Reticulitermes* species have cryptic nesting habits and form complex colonies with diffuse nests and multiple feeding sites connected by

underground tunnels. For this reason, it is very difficult to study the spatial and social organization of colonies of *Reticulitermes* species. Furthermore, because both the primary and secondary reproductives are usually difficult to collect, the genetic structure of colonies is usually inferred by genotyping groups of workers (reviewed in Vargo and Husseneder, 2009). By monitoring foraging patterns and the genetic structure of neighboring colonies during three successive field seasons, DeHeer and Vargo (2004) showed that two independent mature colonies fused in a single colonial entity, which thereafter presented a typical mixed-family structure. This study provides the first direct evidence that naturally occurring mixed-family colonies can result from the fusion of mature colonies in a termite species. However, it should be mentioned that the occurrence of mixed-family colonies within populations of *R. flavipes* is usually low, from 0 to 13.9%, with an average of 2.8% (reviewed in Vargo and Husseneder, 2009).

The subterranean termite *R. flavipes* (Rhinotermitidae) is widespread in North America. This species has been introduced in Western Europe (in France, where it has been named *R. santonensis* and in Germany) and in South America (Chile) (Clément et al., 2001; Ye et al., 2004; Austin et al., 2005; Su et al., 2006). Although colony genetic structure has been extensively studied in the native North American range of *R. flavipes* (Bulmer et al., 2001; Bulmer and Traniello, 2002a; Vargo, 2003a; b; DeHeer and Vargo, 2004, 2006, 2008; Vargo and Carlson, 2006; Vargo et al., 2006; DeHeer and Kamble, 2008; Parman and Vargo, 2008), only one study has focused on such an attribute in introduced populations of this species (Dronnet et al., 2005). Our study investigates the genetic structure of colonies collected in a French population of *R. flavipes* by analyzing genotypes at eight microsatellite loci and in one region of mitochondrial DNA (cytochrome oxidase II). The results revealed an unusually high occurrence of mixed-family colonies, which are assumed to arise by colony fusion in these termites. So far as we are aware, the frequency of colony fusion, although probably underestimated in this study, is the highest ever observed in a termite population.

Materials and methods

Sampling

Twenty-nine samples were collected from wood fragments or tree stumps in the St Trojan Forest (1,900 ha with 80% of *Pinus maritima*). This forest is located in the south of the Ile d'Oléron on the Atlantic coast of France. Samples were collected in October and April 2006, October and April 2007 and in April 2008. At least 20 workers were collected at each collection point. For each collection point, special care

was taken to collect workers from the same tunnel system, in order to avoid collecting non-nestmate individuals that might be feeding on the same foraging site. The species was determined by morphological and chemical identification as described previously (Clément et al., 2001).

Genotyping

In total, 580 workers (20 workers from each of the 29 collection points) were genotyped at eight microsatellite loci. The genomic DNA was extracted using standard phenol-chloroform purification (Sambrook et al., 1989). The eight microsatellite loci developed for *R. flavipes* (Dronnet et al., 2004) were *Rf11-1*, *Rf6-1*, *Rf15-2*, *Rf1-3*, *RS76*, *RS15*, *RS10* and *RS85*. Polymerase chain reaction (PCR) amplification was performed with Multiplex PCR Kit (QIAGEN®), following the manufacturer's instructions. Multiplex reactions were carried out with the following pairs and final primer concentrations: *RS85* and *Rf6-1* at 50 and 100 nM, *RS76* and *Rf11-1* at 150 nM, *RS10* and *Rf15-2* at 50 nM, and *RS15* and *Rf1-3* at 50 nM. PCR products were separated and analyzed as previously described in Dronnet et al. (2004).

A portion of the cytochrome oxidase II (COII) gene (680 bp) of the mitochondrial DNA was sequenced from one to five individuals from each collection point using the primers B-tLys (5'-GTT TAA GAG ACC ATT ACT TA-3') (Simon et al., 1994) and modified A-tLeu (5'-CAG ATA AGT GCA TTG GAT TT-3') (Miura et al., 2000). PCR amplification was performed with Multiplex PCR Kit (QIAGEN®) following the manufacturer's instructions. The PCR templates were purified and then sequenced using an automated ABI 3100-Avant sequencer. Both strands of the PCR products were sequenced. Sequences were aligned using the ClustalW algorithm (Thompson et al., 1994b) within the Bioedit Sequence Alignment Editor 6.0.7 (Hall, 1999) and corrected manually.

The mtDNA haplotype of ten additional individuals from each collection point was also determined using PCR-RFLP. COII PCR products were digested using restriction enzymes (Fermentas®), i.e., *SmaI* (recognition sequence: CCC↓GGG) and *MunI* (*MfeI*) (recognition sequence: C↓AATTG), separately and together. This technique was designed to discriminate the two mitochondrial haplotypes identified in the Ile d'Oléron [GenBank accession numbers: AY027475 (Jenkins et al., 2001) and EU253889 (Legendre et al., 2008)]. Samples without restriction enzyme were used as controls. Restriction products were resolved in 1.5% (w/v) agarose-TBE 0.5X (Euromedex®) gels at 150 V, stained with ethidium bromide and photographed over UV light. The size was compared to 500 ng of a molecular size standard (100 bp DNA Ladder, Euromedex®).

Data analyses

Microsatellite analyses were carried out to determine whether different collection points belonged to the same colony. Genotypic frequencies were compared between all pairs of collection points using a log-likelihood (G)-based differentiation test from the GENEPOP software package from the Web (Raymond and Rousset, 1995). The overall significance was determined using Fisher's combined probability test. A Bonferroni correction was applied to account for multiple comparisons. Samples from two collection points were considered to belong to different colonies if genotypic differentiation was statistically significant (Vargo, 2003b; DeHeer and Vargo, 2004; Dronnet et al., 2005). G-tests have proven useful and are widely used to delineate colonies of social insects (Goodisman and Crozier, 2002; DeHeer and Vargo, 2004; Dronnet et al., 2005; Nobre et al., 2008; Parman and Vargo, 2008).

After defining the colony boundaries, the genotypic disequilibrium was estimated using *Fstat* 2.9.3.2 (Goudet, 1995) in order to avoid problems that might occur from non-independent genotypes within colonies. The breeding system of each colony was then investigated using the GENEPOP software package from the Web (Raymond and Rousset, 1995). Colonies could be classified as simple-family, extended-family or mixed-family colonies by comparing the number and frequency of alleles and genotypes observed in the colonies with expected genotypes according to standard criteria for the respective termite families (Vargo, 2000; Bulmer et al., 2001; DeHeer and Vargo, 2004). Colonies could be classified as simple families when worker genotypes were consistent with direct offspring of a single pair of reproductives, and when the observed frequencies did not differ significantly from those expected under Mendelian segregation of alleles from two parents. Significance was determined by a G-test ($P < 0.05$) combined across all loci. Because there is only one female in simple-family colonies, the expected number of mtDNA haplotypes for such colony is one. Colonies could be considered to be extended families when there were no more than four alleles at any one locus and when worker genotypes were not consistent with a single pair of reproductives (e.g. more than four genotypes at a locus or three or more homozygote genotypes), or when genotype frequencies deviated significantly from those expected in simple-family colonies. These extended-family colonies suggested that there was reproduction of the direct offspring of primary reproductives via neotenic. As in simple-family colonies, only one mtDNA haplotype is expected to occur in extended-family colonies because in such colonies all reproductives are descended from a single primary female. Colonies could be considered as mixed families when more than four alleles were found for at least

one locus, a pattern that is consistent with offspring produced by more than two unrelated reproductives. Colonies with more than one mtDNA haplotype could be also classified as mixed families (Atkinson and Adams, 1997).

The colony level F -statistics (Weir and Cockerham, 1984) and coefficient of relatedness (r) (Queller and Goodnight, 1989) were estimated using F stat 2.9.3.2 (Goudet, 1995). Results were compared to the termite-breeding structure models proposed by Thorne et al. (1999) and Bulmer et al. (2001) in which the different components of variation are classified as individual (I), colony (C) and total (T). In this model, F_{IT} is the coefficient of inbreeding for individuals relative to the total population; F_{CT} estimates the amount of genetic differentiation among colonies; F_{IC} is the coefficient of inbreeding for individuals within colonies and provides information on the number of reproductives and relatedness among them. As the number of reproductives increases, F_{IC} approaches zero and can become positive if there are several matings among multiple reproductives within colonies or if workers come from genetically differentiated colonies that have either fused together or share foraging tunnels (Thorne et al., 1999). The significance of the F -statistics was assessed from 95% confidence intervals by bootstrapping over loci, with 1,000 replications, with a probability $\alpha = 0.05$ that their confidence limits did not overlap zero. The same software was used to determine the estimated gene diversity (Nei, 1987) within each type of family.

Results

Colony boundaries

The eight microsatellite loci had an average of 4.9 alleles per locus (range 3–8) in the St Trojan Forest, with an expected average heterozygosity of 0.38 (range 0.17–0.52) (Table 1). None of the loci showed consistent patterns of genotypic disequilibrium. Tests of genotypic differentiation grouped the 29 collection points into 13 colonies (G-test differentiation between pairs of collection points, all $P < 0.0002$) (Fig. 1; Table 2). Colony identification revealed spatially extensive colonies. The distance between the collection points within colonies ‘c’, ‘f’ and ‘m’ was up to 200 m and the distance between the collection points of colony ‘d’ was nearly 500 m (Fig. 1).

Genetic structure of colonies

Based on the number of genotypes per colony at the 8 microsatellite loci, none of the 13 colonies identified were classified as simple-family. Ten colonies (‘c’, ‘d’, ‘f’, ‘g’, ‘h’, ‘i’, ‘j’, ‘k’, ‘l’ and ‘m’) had more than four genotypes

Table 1 Variability at eight microsatellite markers in the *R. flavipes* population in the St Trojan Forest

Locus	Na	H_S
<i>RS15</i>	5	0.416
<i>Rf11-1</i>	3	0.323
<i>RS10</i>	6	0.389
<i>RS85</i>	4	0.168
<i>Rf1-3</i>	5	0.514
<i>Rf15-2</i>	4	0.524
<i>RS76</i>	4	0.321
<i>Rf6-1</i>	8	0.397
Mean \pm SD	4.9 \pm 1.5	
Overall		0.381

The number of alleles (Na) and gene diversity (H_S) were calculated from the whole set of samples

for at least one locus (Table 2). In the remaining three colonies (‘a’, ‘b’ and ‘e’) the number of genotypes was consistent with simple-family colonies but the distribution of genotypes within the colonies differed significantly from what would be expected if the workers were the offspring of a single pair of reproductives (G-test across all loci, $P < 0.05$) (Table 2). These results indicate that workers were the offspring of more than two breeders within the 13 colonies. Four colonies had more than four alleles for at least one locus. This result shows that these colonies were headed by more than two unrelated reproductives and consequently were classified as mixed-family colonies. Genotyped workers of colony ‘j’ had a total of five alleles at two loci (i.e., *RS10* and *Rf6-1*), whereas those collected in colonies ‘k’, ‘l’ and ‘m’ had five alleles at the locus *Rf6-1*. Furthermore, five alleles were found from workers collected at multiple collection points within each of the four mixed-family colonies (see details in Fig. 1).

Mitochondrial sequence data revealed the presence of two haplotypes within St Trojan population: haplotype A (accession number: EU253889) and haplotype B (accession number: AY027475). However, the two haplotypes were never found simultaneously within a given colony and consequently provided no information for assigning the breeding system of colonies (Table 2).

F -statistics and relatedness estimations

As shown in Table 3, the F -statistics and relatedness estimates for the extended-family colonies were consistent with those expected for colonies with a large number of neotenic reproductives which had interbred for three generations (cases B (2) or B (3) in Table 3). The F -statistics and relatedness estimates for mixed-family colonies were intermediate between two breeding structures (case C and case D (3) in Table 3). Case C suggests inbreeding followed by

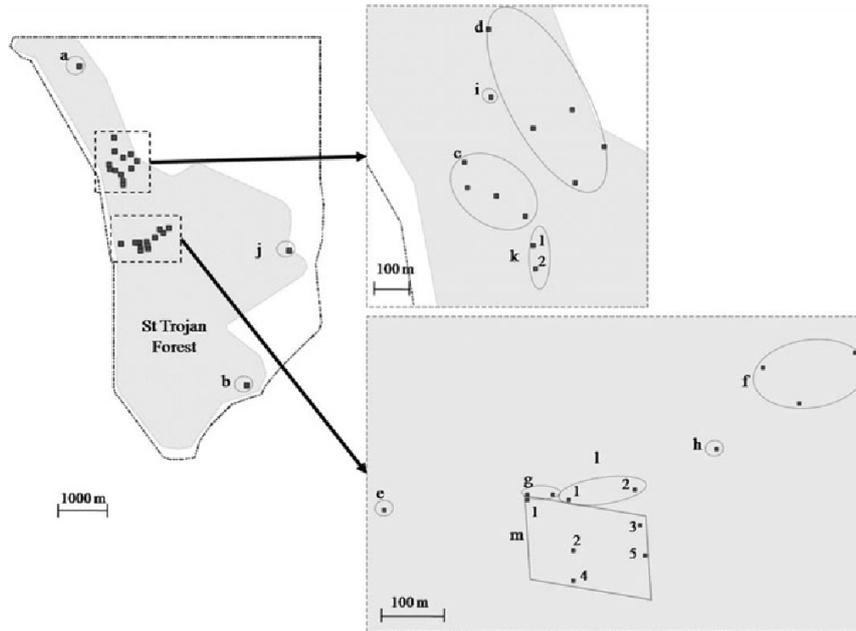


Fig. 1 Spatial distribution of *R. flavipes* samples collected in the St Trojan Forest (the forest is indicated by the grey area). Grey lines surround collection points that belong to a given colony. Each of the 13 colonies is identified by a letter (a–m) and each collection point within mixed-family colonies is numbered. Workers of the single

collection point of the colony 'j' had five alleles at the loci *RS10* and *Rf6-1*. Workers of the collection points 1 and 2 of the colony 'k', those of the collection points 1 and 2 of the colony 'l' and those of the collection points 3, 4 and 5 of the colony 'm' had five alleles at the locus *Rf6-1*.

mixing of unrelated workers at the collection sites. Case D (3) suggests pleometrosis headed by five queens and five kings with the presence of ten neotenics that had interbred for three generations. Relatedness (r) within mixed-family colonies was significantly lower than 0.5, suggesting the presence of unrelated or distantly related individuals. The F -statistics for mixed-family colonies were in agreement with those of fused colonies in *R. flavipes* (Parman and Vargo, 2008). In comparison with extended-family colonies, mixed-family colonies seem to have a lower coefficient of relatedness ($r = 0.177$ vs. $r = 0.527$, Table 3) and a higher number of alleles over all loci ($N_a = 3.281$ vs. $N_a = 2.339$; Mann–Whitney Test, $U = 3$, $P < 0.05$, Table 1). Similarly, the level of gene diversity (H_S) seems to be higher within mixed-family colonies than within extended-family colonies ($H_S = 0.51$ vs. $H_S = 0.32$). The estimates of F -statistics and relatedness support the presence of numerous neotenics interbreeding in all colonies and also support the presence of four mixed-family colonies.

Discussion

The subterranean termite *R. flavipes* has been extensively studied in its native North American range (Bulmer et al.,

2001; Bulmer and Traniello, 2002a; Vargo, 2003a; b; DeHeer and Vargo, 2004, 2006, 2008; Vargo and Carlson, 2006; Vargo et al., 2006; DeHeer and Kamble, 2008; Parman and Vargo, 2008; Vargo and Husseneder, 2009), but to date, only one study has examined social organization and breeding system in introduced populations of this economically important termite species (Dronnet et al., 2005). The present study investigated the colony genetic structure of a French population.

The most important result of this study was that 4 of the 13 colonies (31%) of the St Trojan Forest were mixed families. An initial explanation for this would be inadvertent collection of non-nestmate workers at the same foraging sites. In this case, however, the same 'collection error' would have occurred at eight collection points, which seems to be very improbable, especially as particular care was taken at each collection point to collect workers from the same tunnel system. Mixed-family colonies could also be explained by either pleometrosis or colony fusion. Pleometrosis has never been documented in subterranean termites and seems very unlikely in *Reticulitermes* species (Vargo and Husseneder, 2009). Colony fusion is commonly assumed to account for mixed-family colonies in subterranean termites and has recently been demonstrated to occur in *R. flavipes* (DeHeer and Vargo, 2004, 2008). Thus,

Table 2 Genetic data of colonies of *R. flavipes* identified in the St Trojan Forest

Colony	Family structure	Microsatellite analyses						Mitochondrial DNA analyses		
		N_{CP}	N_C	Max Ng	Max Na	Na	N loci 4+	N sequenced	N RFLP	Haplotype
a	Extended	1	20	4	3	1.875	0	1	10	A
b	Extended	1	20	4	4	2.250	0	1	10	A
c	Extended	4	80	10	4	2.125	0	4	40	A
d	Extended	5	100	10	4	2.430	0	5	50	A
e	Extended	1	20	3	2	1.625	0	1	10	A
f	Extended	3	60	6	3	2.000	0	3	30	A
g	Extended	2	40	5	3	2.250	0	2	20	A
h	Extended	1	20	8	4	3.250	0	1	10	B
i	Extended	1	20	8	4	3.250	0	1	10	B
j	Mixed	1	20	9	5	3.250	2	1	10	B
k	Mixed	2	40	9	5	3.000	1	2	20	B
l	Mixed	2	40	14	5	3.375	1	2	20	B
m	Mixed	5	100	14	5	3.500	1	5	50	B

N_{CP} is the number of collection points constituting each colony; N_C is the number of workers genotyped at the eight microsatellite loci, $Max Ng$ is the maximum number of genotypes found at any one locus, $Max Na$ is the maximum number of alleles found at any one locus, Na is the average number of alleles over all loci, N loci 4+ is the number of loci with more than 4 alleles, N sequenced is the number of sequenced workers for COII mtDNA region, N RFLP is the number of genotyped workers by RFLP, *Haplotype A* corresponds to GenBank accession number: EU253889 (Legendre et al., 2008), *B* corresponds to GenBank accession number: AY027475 (Jenkins et al., 2001)

Table 3 F -statistics and relatedness coefficients (r) for worker nestmates of *R. flavipes* from the St Trojan Forest and values expected for some possible breeding systems of termites as derived from computer simulations by Thorne et al. (1999) and Bulmer et al. (2001)

	F_{IT}	F_{CT}	F_{IC}	r
<i>Experimental results</i>				
(1) All colonies ($n = 13$)	0.454 (0.345–0.572)	0.403 (0.315–0.514)	0.085 (–0.011–0.207)	0.555 (0.460–0.666)
(2) Extended families of <i>R. flavipes</i> ($n = 9$)	0.402 (0.218–0.647)	0.370 (0.199–0.583)	0.052 (–0.025–0.172)	0.527 (0.325–0.710)
(3) Mixed-family colonies of <i>R. flavipes</i> ($n = 4$)	0.194 (0.103–0.296)	0.106 (0.059–0.159)	0.098 (–0.019–0.220)	0.177 (0.099–0.269)
<i>Simulated breeding system</i>				
(A) Colonies headed by monogamous reproductive pairs				
	0	0.25	–0.33	0.50
(B) Colonies with breeding among neotronics				
(1) $N_f = 2, N_m = 1, X = 1$	0.26	0.35	–0.14	0.55
(2) $N_f = N_m = 10, X = 3$	0.37	0.38	–0.02	0.56
(3) $N_f = 200, N_m = 100, X = 3$	0.33	0.34	0.00	0.50
(C) Inbreeding, then mixing of unrelated workers at collection sites				
$N_f = N_m = 10, X = 3, p = 0.8$	0.37	0.25	0.15	0.36
(D) Pleometrosis				
(2) Headed by 2 queens and one king				
$N_f = N_m = 10, X = 3$	0.27	0.29	–0.03	0.45
(3) headed by 5 queens and 5 kings				
$N_f = N_m = 10, X = 3$	0.10	0.12	–0.02	0.22

Confidence intervals of 95% are shown in parentheses

X the number of generations of production of replacement reproductives within a colony, N_f number of replacement females produced per generation, N_m number of replacement males produced per generation, p the proportion of workers coming from one of the two nests

the four mixed-family colonies identified in the St Trojan Forest are most likely to have resulted from fusion between two or more mature colonies. So far as we are aware, the

rate of colony fusion (31%) in St Trojan is the highest ever observed in a termite population. Even though a large number of colonies of *R. flavipes* collected in many

different locations in North America have been studied by using a genetic approach very similar to that used in this study, none of the populations had a similar occurrence of colony fusion (Vargo and Husseneder, 2009). This result suggests that colony fusion is a phenomenon that occurs relatively more frequently in introduced populations of France compared to native populations of North America.

Moreover, it is likely that the proportion of fused colonies was underestimated for two reasons. First, the number of alleles per locus, which is the only parameter that can reliably discriminate mixed from extended-family colonies, seems to be smaller in French populations than in North American populations (Vargo, 2003a,b; Dronnet et al., 2004; Vargo and Carlson, 2006; Vargo et al., 2006). A limited number of alleles per locus could explain why Dronnet et al. (2005) failed to detect mixed-family colonies in Paris. The F -statistics and relatedness estimates for the colonies of Paris appear more consistent with those calculated for our mixed-family colonies than with theoretical model values predicted for extended-family colonies. Secondly, simple-family colonies cannot be mistaken for mixed-family colonies. Thus the risk of overlooking mixed-family colonies should be higher in populations with fewer simple-family colonies than in populations with many simple-family colonies. Since French populations have no simple-family colonies at all, the risk of underestimation is high. For these reasons, the real proportion of mixed-family colonies in the St Trojan population may be much higher than 31%.

This study also suggests that French colonies have a better capacity for producing secondary neotenic reproductives than American colonies. Confirming the study of Dronnet et al. (2005), these results reveal that all colonies studied in the St Trojan Forest contained numerous related secondary reproductives (tens or even hundreds) that had interbred for several generations. These results are corroborated by recent laboratory experiments, which show that neotenics can differentiate rapidly within orphan groups of workers collected in the St Trojan Forest (Pichon et al., 2007; Leniaud, 2008). The presence of numerous neotenics may also explain the impressive size that French colonies can reach. In contrast, the majority of North American colonies (75% on average) are headed by the founding pair of primary reproductives and do not possess functional neotenics (Vargo and Husseneder, 2009). Furthermore, the extended-family colonies in North America (22.2% on average) usually contain relatively few neotenics, and those are likely to be the direct offspring of the primary reproductives (Vargo and Husseneder, 2009).

Why French and American colonies strongly differ in their capacity to produce functional neotenics remains an open question. One hypothesis is that a factor that plays a decisive role in the caste differentiation system of neotenics

in *R. flavipes* has changed as a consequence of introduction. This hypothesis is supported by several studies on colonies that were collected outside or at the limit of the geographical range of *R. flavipes*. Grace et al. (1989) reported that an introduced population of *R. flavipes* in Toronto (Canada) was composed of large colonies suspected of having numerous neotenics. Populations in Massachusetts and Nebraska, located at the northern and western edges of the range of *R. flavipes* respectively, both had a majority of colonies containing many neotenics (Bulmer et al., 2001; DeHeer and Kamble, 2008). This hypothesis is also supported by results obtained for other subterranean termites, including *Reticulitermes urbis* (Leniaud et al., 2009, 2010) and three *Coptotermes* species (Lenz and Barrett, 1982). So far as we are aware, the only exception is *Coptotermes formosanus* whose introduced colonies do not possess a higher number of neotenics compared to native colonies (Vargo and Husseneder, 2009).

The presence of numerous reproductives in French colonies may explain the high occurrence of colony fusion observed. Numerous reproductives within colonies allow spatial expansion of colonies, which in turn can increase the probability of two colonies meeting and merging. The role of neotenics in colony fusion is supported by the fact that, among American populations, those with the highest proportion of extended-family colonies are also the populations where there is the highest rate of colony fusion (Bulmer et al., 2001; DeHeer and Kamble, 2008). Another characteristic required for colony fusion is the absence of intraspecific aggression between individuals of the two parental colonies. Interestingly, aggression between non-nestmates has never been observed in French populations, whereas aggression has sometimes been reported between colonies in North American populations (Clément, 1986; Shelton and Grace, 1996; Bulmer and Traniello, 2002b).

The high occurrence of mixed-family colonies in St Trojan poses several questions. The results suggest that relatedness among colony members is lower in mixed-family colonies compared to extended-family colonies ($r = 0.177$ vs. $r = 0.527$). Colony fusion, therefore, should be counter-selected and the frequency of mixed-family colonies should decrease until extinction within the population. Two speculative hypotheses could explain why mixed-family colonies reach 31% of the St Trojan population. Firstly, since the population of St Trojan has been founded during the seventeenth century at the earliest, this population has not yet reached its equilibrium. Secondly, the mixture of unrelated workers confers a selective advantage to mixed-family colonies allowing them to prosper within this population. For instance, these results show that all St Trojan colonies produce numerous neotenics, which increases the level of inbreeding within the

colonies. DeHeer and Vargo (2006) showed that inbreeding depression may exist in *R. flavipes*. Colony fusion may, therefore, actively reduce inbreeding depression by 'refreshing' the allele pool within colonies.

While being an evolutionary paradox for kin selection theory, the presence of colony fusion can also be perceived as a key to the invasive success. The invasive success of social insects is thought to be, at least partially, attributable to changes in social organization (Chapman and Bourke, 2001; Holway et al., 2002). In Hymenoptera, shifts in the social organization have already been observed, as in the case of the wasp *Vespula germanica* (Donovan et al., 1992; Kasper et al., 2008) and the bumblebee *Bombus terrestris* (Buttermore, 1997; Nagamitsu and Yamagishi, 2009). In ants, change in social organization remains highly controversial since the unicolonial in addition to multicolonial organization were described in the native range of several species of ants (Holzer et al., 2006; Pedersen et al., 2006; Fournier et al., 2009; Orivel et al., 2009; Vogel et al., 2009). Nevertheless, the only social form observed in all introduced populations of these ant species seems to be unicoloniality (Morel et al., 1990; Vanloon et al., 1990; Holway et al., 2002; Tsutsui and Suarez, 2003; Le Breton et al., 2004; Fournier et al., 2009). The French colonies of *R. flavipes* also show major quantitative changes in social structure and can be compared to supercolonies of ants in that they allow individuals to mix freely between colonies (Hölldobler and Wilson, 1990; Helanterä et al., 2009). The phenomenon of colony fusion could be a comparable mechanism for attaining high worker densities and interspecific dominance in the invaded habitat. As proposed in invasive ants, social organization of colonies could have evolved after the introduction into new environments, due to a reduced diversity at recognition alleles through a genetic bottleneck (Tsutsui et al., 2000) or from a selection process against less common alleles (Giraud et al., 2002).

Acknowledgments We wish to thank Ed Vargo and Stéphanie Dronnet-Bankhead for their helpful comments on the manuscript, as well as Charles Edouard Imbert for its technical assistance. We also wish to thank Tony Tebby for his help to improve the English of the manuscript.

References

- Adams E.S., Atkinson L. and Bulmer M.S. 2007. Relatedness, recognition errors, and colony fusion in the termite *Nasutitermes corniger*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **61**: 1195-1201
- Atkinson L. and Adams E.S. 1997. The origins and relatedness of multiple reproductives in colonies of the termite *Nasutitermes corniger*. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **264**: 1131-1136
- Austin J.W., Szalanski A.L., Scheffrahn R.H., Messenger M.T., Dronnet S. and Bagnères A.G. 2005. Genetic evidence for the synonymy of two *Reticulitermes* species: *Reticulitermes flavipes* and *Reticulitermes santonensis*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **98**: 395-401
- Bourke A.F.G. and Franks N.R. (Eds) (1995) *Social Evolution in Ants*, Princeton Univ. Press, Princeton. 550 pp
- Bulmer M.S., Adams E.S. and Traniello J.F.A. 2001. Variation in colony structure in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **49**: 236-243
- Bulmer M.S. and Traniello J.F.A. 2002a. Foraging range expansion and colony genetic organization in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Environ. Entomol.* **31**: 293-298
- Bulmer M.S. and Traniello J.F.A. 2002b. Lack of aggression and spatial association of colony members in *Reticulitermes flavipes*. *J. Insect Behav.* **15**: 121-126
- Buttermore R.E. 1997. Observations of successful *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae) colonies in southern Tasmania. *Aust. J. Entomol.* **36**: 251-254
- Chapman R.E. and Bourke A.F.G. 2001. The influence of sociality on the conservation biology of social insects. *Ecol. Lett.* **4**: 650-662
- Clément J.-L. 1986. Open and closed societies in *Reticulitermes* termites (Isoptera, Rhinotermitidae): geographic and seasonal variations. *Sociobiology* **11**: 311-323
- Clément J.-L., Bagnères A.-G., Uva P., Wilfert L., Quintana A., Reinhard J. and Dronnet S. 2001. Biosystematics of *Reticulitermes* termites in Europe: morphological, chemical and molecular data. *Insect. Soc.* **48**: 202-215
- DeHeer C.J. and Kamble S.T. 2008. Colony genetic organization, fusion and inbreeding in *Reticulitermes flavipes* from the Mid-western U.S. *Sociobiology* **51**: 307-325
- DeHeer C.J. and Vargo E.L. 2004. Colony genetic organization and colony fusion in the termite *Reticulitermes flavipes* as revealed by foraging patterns over time and space. *Mol. Ecol.* **13**: 431-441
- DeHeer C.J. and Vargo E.L. 2006. An indirect test of inbreeding depression in the termites *Reticulitermes flavipes* and *Reticulitermes virginicus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **59**: 753-761
- DeHeer C.J. and Vargo E.L. 2008. Strong mitochondrial DNA similarity but low relatedness at microsatellite loci among families within fused colonies of the termite *Reticulitermes flavipes*. *Insect. Soc.* **55**: 190-199
- Donovan B.J., Howie A.M.E., Schroeder N.C., Wallace A.R. and Read P.E.C. 1992. Comparative characteristics of nests of *Vespula germanica* (F) and *Vespula vulgaris* (L) (Hymenoptera, Vespinae) from Christchurch-city, New-Zealand. *N.Z. J. Zool.* **19**: 61-71
- Dronnet S., Bagnères A.-G., Juba T.R. and Vargo E.L. 2004. Polymorphic microsatellite loci in the European subterranean termite, *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *Mol. Ecol. Notes* **4**: 127-129
- Dronnet S., Chapuisat M., Vargo E.L., Lohou C. and Bagnères A.G. 2005. Genetic analysis of the breeding system of an invasive subterranean termite, *Reticulitermes santonensis*, in urban and natural habitats. *Mol. Ecol.* **14**: 1311-1320
- Fournier D., de Biseau J.C. and Aron S. 2009. Genetics, behaviour and chemical recognition of the invading ant *Pheidole megacephala*. *Mol. Ecol.* **18**: 186-199
- Giraud T., Pedersen J.S. and Keller L. 2002. Evolution of supercolonies: The Argentine ants of southern Europe. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **99**: 6075-6079
- Goodisman M.A.D. and Crozier R.H. 2002. Population and colony genetic structure of the primitive termite *Mastotermes darwiniensis*. *Evolution* **56**: 70-83
- Goudet J. 1995. FSTAT (vers 1.2): A computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* **86**: 485-486
- Grace J.K., Abdallay A. and Farr K.R. 1989. Eastern subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae) foraging territories and populations in Toronto. *Can. Entomol.* **121**: 551-556

- Hacker M., Kaib M., Bagine R.K.N., Epplen J.T. and Brandl R. 2005. Unrelated queens coexist in colonies of the termite *Macrotermes michaelseni*. *Mol. Ecol.* **14**: 1527-1532
- Hall T.A. 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nuclear Acids Symposium Series* **41**: 95-98
- Heinze J. and Foitzik S. (2009) The Evolution of queen numbers in ants: from one to many and back. In: *Organization of Insect Societies, from Genome to Sociocomplexity* (Gadau J. and Fewell J., Eds). University of Harvard Press, pp 26-50.
- Helanterä H., Strassmann J.E., Carrillo J. and Queller D.C. 2009. Unicolonial ants: where do they come from, what are they and where are they going? *Trends Ecol. Evol.* **24**: 341-349.
- Hölldobler B. and Wilson E.O. 1990. *The Ants*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 732 pp
- Holway D.A., Lach L., Suarez A.V., Tsutsui N.D. and Case T.J. 2002. The causes and consequences of ant invasions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **33**: 181-233
- Holzer B., Chapuisat M., Kremer N., Finet C. and Keller L. 2006. Unicoloniality, recognition and genetic differentiation in a native *Formica* ant. *J. Evol. Biol.* **19**: 2031-2039
- Jenkins T.M., Dean R.E., Verkerk R. and Forschler B.T. 2001. Phylogenetic analyses of two mitochondrial genes and one nuclear intron region illuminate European subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae) gene flow, taxonomy, and introduction dynamics. *Mol. Phylogenet. Evol.* **20**: 286-293
- Johns P.M., Howard K.J., Breisch N.L., Rivera A. and Thorne B.L. 2009. Nonrelatives inherit colony resources in a primitive termite. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106**: 17452-17456
- Kasper M.L., Reeson A.F. and Austin A.D. 2008. Colony characteristics of *Vespula germanica* (F.) (Hymenoptera, Vespidae) in a Mediterranean climate (southern Australia). *Aust. J. Entomol.* **47**: 265-274
- Keller L. 1993. The assessment of reproductive success of queens in ants and other social insects. *Oikos* **67**: 177-180
- Korb J. 2008. Termites, hemimetabolous diploid white ants? *Front. Zool.* **5**: 15
- Le Breton J., Delabie J.H.C., Chazeau J., Dejean A. and Jourdan H. 2004. Experimental evidence of large-scale unicoloniality in the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Roger). *J. Insect Behav.* **17**: 263-271
- Legendre F., Whiting M.F., Bordereau C., Cancellato E.M., Evans T.A. and Grandcolas P. 2008. The phylogeny of termites (Dictyoptera: Isoptera) based on mitochondrial and nuclear markers: Implications for the evolution of the worker and pseudergate castes, and foraging behaviors. *Mol. Phylogenet. Evol.* **48**: 615-627
- Leniaud L. 2008. Potentialités ontogéniques, différenciation des castes et conséquences sur la structure génétique des termites du genre *Reticulitermes*. University of Tours (François Rabelais), Tours, pp 193
- Leniaud L., Pichon A., Uva P. and Bagnères A.G. 2009. Unicoloniality in *Reticulitermes urbis*: a novel feature in a potentially invasive termite species *Bull. Entomol. Res.* **99**: pp 1-10
- Leniaud L., Dedeine F., Pichon A., Dupont S. and Bagnères A.-G. 2010. Geographical distribution, genetic diversity and social organization of a new European termite, *Reticulitermes urbis* (Isoptera: Rhinotermitidae) *Biol. Invasions* **12**: 1389-1402
- Lenz M. and Barrett R.A. 1982. Neotenic formation in field colonies of *Coptotermes lacteus* (Froggatt) in Australia, with comments on the roles of neotenes in the genus *Coptotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* **7**: 47-59
- Matsuura K. 2001. Nestmate recognition mediated by intestinal bacteria in a termite, *Reticulitermes speratus*. *Oikos* **92**: 20-26
- Miura T., Roisin Y. and Matsumoto T. 2000. Molecular phylogeny and biogeography of the nasute termite genus *Nasutitermes* (Isoptera : Termitidae) in the Pacific tropics. *Mol. Phylogenet. Evol.* **17**: 1-10
- Morel L., Vander Meer R.K. and Lofgren C.S. 1990. Comparison of nestmate recognition between monogyne and polygyne populations of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera, Formicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **83**: 642-647
- Myles T.G. 1999. Review of secondary reproduction in termites (Insecta: Isoptera) with comments on its role in termite ecology and social evolution. *Sociobiology* **33**: 1-43
- Nagamitsu T. and Yamagishi H. 2009. Nest density, genetic structure, and triploid workers in exotic *Bombus terrestris* populations colonized Japan. *Apidologie* **40**: 429-440
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New-York. 512 pp
- Nobre T., Nunes L. and Bignell D.E. 2008. Colony interactions in *Reticulitermes grassei* population assessed by molecular genetic methods. *Insect. Soc.* **55**: 66-73
- Orivel J., Grangier J., Foucaud J., Le Breton J., André F.X., Jourdan H., Delabie J.H.C., Fournier D., Cerdan P., Facon B., Estoup A. and Dejean A. 2009. Ecologically heterogeneous populations of the invasive ant *Wasmannia auropunctata* within its native and introduced ranges. *Ecol. Entomol.* **34**: 504-512
- Parman V. and Vargo E.L. 2008. Population density, species abundance, and breeding structure of subterranean termite colonies in and around infested houses in central North Carolina. *J. Econ. Entomol.* **101**: 1349-1359
- Pedersen J.S., Krieger M.J.B., Vogel V., Giraud T. and Keller L. 2006. Native supercolonies of unrelated individuals in the invasive Argentine ant. *Evolution* **60**: 782-791
- Pichon A., Kutnik M., Leniaud L., Darrouzet E., Chaline N., Dupont S. and Bagnères A.G. 2007. Development of experimentally orphaned termite worker colonies of two *Reticulitermes* species (Isoptera : Rhinotermitidae). *Sociobiology* **50**: 1015-1034
- Queller D.C. and Goodnight K.F. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution* **43**: 258-275
- Raymond M. and Rousset F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* **49**: 1280-1283
- Sambrook J., Fritsch E.F. and Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Lab Press, Cold Spring Harbor, NY. 253 pp
- Shelton T.G. and Grace J.K. 1996. Review of agonistic behaviors in the Isoptera. *Sociobiology* **28**: 155-176
- Simon C., Frati F., Beckenbach A., Crespi B., Liu H. and Flook P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene-sequences and a compilation of conserved polymerase chain-reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **87**: 651-701
- Su N.Y., Ye W.M., Ripa R., Scheffrahn R.H. and Giblin-Davis R.M. 2006. Identification of Chilean *Reticulitermes* (Isoptera:Rhinotermitidae) inferred from three mitochondrial gene DNA sequences and soldier morphology. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **99**: 352-363
- Thompson J.D., Higgins D.G. and Gibson T.J. 1994b. Clustal-w - Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific, gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* **22**: 4673-4680
- Thorne B.L., Traniello J.F.A., Adams E.S. and Bulmer M. 1999. Reproductive dynamics and colony structure of subterranean termites of the genus *Reticulitermes* (Isoptera Rhinotermitidae): a review of the evidence from behavioral, ecological and genetic studies. *Ethol. Ecol. Evol.* **11**: 149-169
- Tsutsui N.D. and Suarez A.V. 2003. The colony structure and population biology of invasive ants. *Conserv. Biol.* **17**: 48-58
- Tsutsui N.D., Suarez A.V., Holway D.A. and Case T.J. 2000. Reduced genetic variation in the success of an invasive species. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **97**: 5948-5953.

- Vanloon A.J., Boomsma J.J. and Andrasfalvy A. 1990. A new polygynous *Lasius* species (Hymenoptera, Formicidae) from Central-Europe. 1. Description and general biology. *Insect. Soc.* **37**: 348-362
- Vargo E.L. 2000. Polymorphism at trinucleotide microsatellite loci in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Mol. Ecol.* **9**: 817-829
- Vargo E.L. 2003a. Genetic structure of *Reticulitermes flavipes* and *R. virginicus* (Isoptera : Rhinotermitidae) colonies in an urban habitat and tracking of colonies following treatment with hexaflumuron bait. *Environ. Entomol.* **32**: 1271-1282
- Vargo E.L. 2003b. Hierarchical analysis of colony and population genetic structure of the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes*, using two classes of molecular markers. *Evolution* **57**: 2805-2818
- Vargo E.L. and Carlson J.R. 2006. Comparative study of breeding systems of sympatric subterranean termites (*Reticulitermes flavipes* and *R. hageni*) in Central North Carolina using two classes of molecular genetic markers. *Environ. Entomol.* **35**: 173-187
- Vargo E.L. and Husseneder C. 2009. Biology of subterranean termites: insights from molecular studies of *Reticulitermes* and *Coptotermes*. *Annu. Rev. Entomol.* **54**: 379-403
- Vargo E.L., Juba T.R. and DeHeer C.J. 2006. Relative abundance and comparative breeding structure of subterranean termite colonies (*Reticulitermes flavipes*, *Reticulitermes hageni*, *Reticulitermes virginicus*, and *Coptotermes formosanus*) in a South Carolina lowcountry site as revealed by molecular markers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **99**: 1101-1109
- Vogel V., Pedersen J.S., d'Ettorre P., Lehmann L. and Keller L. 2009. Dynamics and genetic structure of Argentine ant supercolonies in their native range. *Evolution* **63**: 1627-1639
- Weir B.S. and Cockerham C.C. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**: 1358-1370
- Wilson E.O. and Hölldobler B. 2005. Eusociality: Origin and consequences. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **102**: 16119-16119
- Ye W., Lee C.-Y., Scheffrahn R.H., Aleong J.M., Su N.-Y., Bennett G.W. and Scharf M.E. 2004. Phylogenetic relationships of nearctic *Reticulitermes* species (Isoptera: Rhinotermitidae) with particular reference to *Reticulitermes arenincola* Goellner. *Mol. Phylogenet. Evol.* **30**: 815-822

**Etude 2 : Etude des interactions de
compétition entre *R. flavipes* et *R. grassei***



Synthèse de l'article 2

Introduction

Des populations introduites deviennent invasives si elles franchissent les trois barrières dans leur nouvel environnement correspondant à une barrière géographique, écologique et reproductive (cf synthèse bibliographique p.34). La capacité d'une espèce introduite à passer ces étapes avec succès dépend des caractéristiques biologiques intrinsèques des populations introduites, mais également de certaines caractéristiques de l'environnement envahi et des communautés indigènes, comme les interactions complexes existant entre eux (Shea and Chesson 2002). Tout comme la prédation, la compétition est connue pour être un mécanisme déterminant dans la persistance et l'abondance des espèces (Gause 1934, Begon et al. 1990). Par conséquent, la nature des interactions de compétition entre populations indigènes et invasives est un caractère essentiel à prendre en considération, d'une part pour comprendre si une espèce invasive est bien établie dans son nouvel environnement, et d'autre part pour déterminer quelles sont les caractéristiques qui lui ont permis cet établissement. **C'est dans ce contexte que le deuxième objectif de thèse a été d'étudier les interactions entre le termite introduit *R. flavipes* et une espèce de termite autochtone *R. grassei*.**

En France, les populations de *R. flavipes* sont largement localisées dans les villes et les zones urbaines et périurbaines. Néanmoins des populations situées en forêt sont également retrouvées de la Vendée à la Charente Maritime. Le long de la côte atlantique du sud-ouest une autre espèce indigène de termite est également présente, *R. grassei*. Cette espèce indigène est native d'Europe et occupe toute la péninsule ibérique et le Sud ouest de la France (Kutnik et al. 2004). Les deux espèces de termites souterrains semblent partager la même niche écologique.

1) Le premier objectif de cette étude a été de **localiser une zone de sympatrie, puis de déterminer la répartition et l'abondance des nids de chaque espèce**, afin d'évaluer les pressions de compétition qui existaient entre elles.

2) Nous avons ensuite **évalué les différentes caractéristiques biologiques** de chacune, pouvant intervenir dans les mécanismes de compétition : **l'agression inter-et intraspécifique, le système de reconnaissance, la dynamique des colonies et leur**

mode de dispersion, ceci à l'aide de tests d'agression, d'un marqueur chimique (les hydrocarbures cuticulaires, HCs) et des marqueurs microsatellites.

Synthèse des résultats de l'article 2 et discussion

1) Zone de sympatrie et répartition des espèces

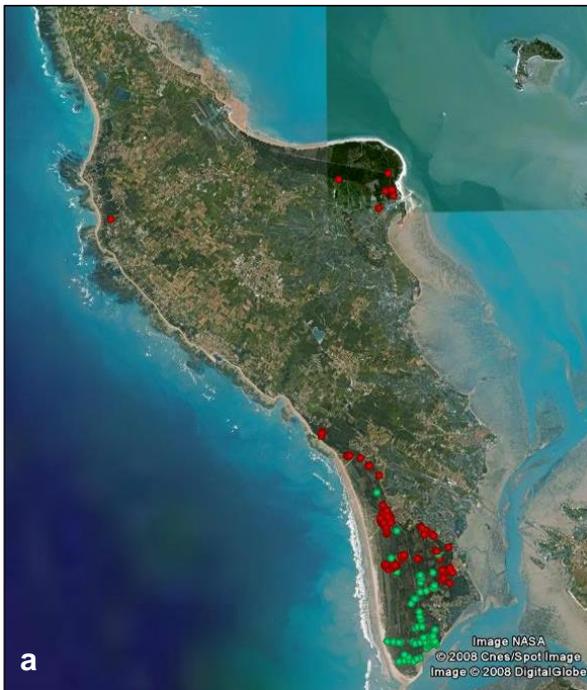
Après avoir récolté 220 points principalement dans la Forêt de St Trojan (1900 Ha) (missions : octobre 2006, 2007, avril 2007 et juin 2008), la cartographie de l'île d'Oléron révèle que **les deux espèces, *R. flavipes* et *R. grassei*, vivent en sympatrie uniquement dans le sud de l'île dans la forêt de St Trojan**. Le nord de l'île semble envahi uniquement par *R. flavipes* (Figure 14). La récolte dans la forêt de St Trojan a mis en évidence que les deux espèces partageaient en grande majorité la même essence d'arbre, le pin *Pinus pinaster*. Aucune association de la répartition de chaque espèce avec un facteur écologique particulier n'a été observée. Les deux espèces possédant la même niche écologique et la même ressource, nous pensons raisonnable d'assumer que des interactions de compétition existent entre elles, ce qui avait été suggéré par Vieau en 2001.

2) Evaluation des caractéristiques biologiques de chaque espèce

Les résultats révèlent de nombreuses différences sur les caractères biologiques étudiés entre espèce indigène et invasive (Tableau 2).

- Agression interspécifique

Les 40 tests d'agression entre les deux espèces (4 colonies de chacune) ont montré que le nombre de morts était significativement plus important chez *R. grassei*. La dominance de *R. flavipes* par le nombre de survivants en situation de compétition avec *R. grassei* suggère qu'à chaque rencontre entre des colonies des deux espèces, *R. flavipes* pourrait gagner du territoire et acquérir plus de ressources



● *R. flavipes*

● *R. grassei*



Figure 14. Carte représentant la répartition de *R. flavipes* et *R. grassei* sur l'île d'Oléron (a) et plus précisément dans la Forêt de St Trojan (b) leur zone de sympatrie (source Google Earth).

- **Agression intraspécifique :**

Précédemment, il a été suggéré que la période d'essaimage pouvait jouer un rôle dans le niveau d'agression intercoloniale chez certains termites du genre *Reticulitermes* ; l'agression étant plus forte avant (Clément 1978a, Clément al. 2001). Les tests d'agression intraspécifique ont été effectués avant et après l'essaimage pour chacune des espèces. Les 20 tests d'agression intercoloniale après et avant les périodes d'essaimage ont montré que *R. flavipes* ne présentait jamais d'agression intercoloniale. A l'inverse, les 20 tests d'agression chez *R. grassei*, révèlent une agressivité significative entre colonies avant et après l'essaimage. Dans la forêt de St Trojan, ce manque total d'agression intraspécifique, observé uniquement chez *R. flavipes*, signifierait que seul *R. grassei* serait soumis à une régulation intraspécifique. Par l'absence des coûts liés à la territorialité, les colonies du termite introduit peuvent consacrer plus d'énergie à d'autres activités comme la croissance coloniale, la recherche et la collection de nourriture.

Chez les populations américaines de *R. flavipes*, les colonies montrent souvent une importante ouverture coloniale (Polizzi and Forschler 1998, Bulmer and Traniello 2002), néanmoins des phénomènes d'agression ont déjà été observés (Fisher and Gold 2003). **Ainsi, ces résultats mettent en évidence que l'absence d'agression entre colonies de *R. flavipes* est un caractère spécifique des populations introduites.**

- **Analyses des composés cuticulaires :**

L'analyse des proportions relatives des HCs de 199 points de récolte (117 pour *R. flavipes* et 82 pour *R. grassei*) de la forêt de St Trojan montre que les profils chimiques entre points de récoltes de *R. grassei* divergent alors que ceux de *R. flavipes* sont très homogènes. Cette **homogénéité de la signature chimique** observée chez *R. flavipes* par rapport à celle de *R. grassei* dans la forêt de St Trojan pourrait être une des causes expliquant le manque d'agression intraspécifique de *R. flavipes*. Une variation chimique coloniale très faible au sein de la population de *R. flavipes* pourrait induire une non agression des individus issus de colonies différentes.

		<i>R. flavipes</i>	<i>R. grassei</i>
Interactions inter et intraspécifique	compétition interspécifique (<i>R. flavipes</i> vs <i>R. grassei</i>)	Dominant	Subordonné
	compétition intraspécifique	Inexistante	Variable en fonction des saisons
Système de reconnaissance	Signature chimique	Homogène	Hétérogène
Système de dispersion et de reproduction	Taille des colonies (distance de fourragement)	Grandes colonies (au + 600 mètres)	Petites colonies (au + 180 mètres)
	Système de reproduction	69% de familles étendues 31% de familles mixtes	89% de familles étendues 11% de familles simples
	Nombre de reproducteurs dans la colonie	10 à 300 reproducteurs secondaires/ colonies	10 à 300 reproducteurs secondaires/ colonies

Tableau 2. Interactions inter et intraspécifiques et comparaisons du système de reconnaissance, de dispersion et de reproduction entre *R. flavipes* et *R. grassei* en zone de sympatrie

- Taille des colonies et distance de fourragement :

Nous avons montré précédemment (Perdereau et al. Article 1) que *R. flavipes* présentaient généralement de vastes colonies dans la forêt de St Trojan. L'estimation de la distance de fourragement montre que les colonies de *R. grassei* sont significativement plus petites que celles de *R. flavipes* à St Trojan. La formation de colonies géographiquement étendues a déjà été observée dans les populations introduites de *R. flavipes* (Dronnet et al. 2005), tout comme les colonies plus restreintes de *R. grassei* en Europe (DeHeer et al. 2005, Nobre et al. 2008). **La formation de larges colonies** présente un avantage, en occupant une surface étendue, les colonies de *R. flavipes* limitent l'accessibilité du territoire et des ressources aux colonies de *R. grassei*.

- Système de reproductions et dispersion :

En génotypant, 600 ouvriers de *R. grassei* (20 ouvriers pour chacun des 30 points de récoltes) avec 8 marqueurs microsatellites, les analyses du nombre et de la fréquence des allèles et des génotypes nous ont permis de délimiter 18 colonies dans la forêt de St Trojan. Parmi ces 18 colonies, 2 sont de type famille simple (i.e. famille contenant un seul couple de reproducteurs), et 16 sont de type famille étendue (i.e. famille contenant plus de deux reproducteurs secondaires apparentés). Dans l'étude précédente, nous avons déterminé pour les 13 colonies de *R. flavipes* de la forêt de St Trojan : 9 colonies de type famille étendue et 4 colonies de type famille mixte (i.e. famille contenant plus de deux reproducteurs non apparentés) (Perdereau et al. Article 1). Les analyses des *F*-statistics et de la relatedness indiquent que les colonies de *R. grassei* de type famille étendue contiennent de 10 à 300 reproducteurs secondaires chacune, similairement à ce qui a pu être estimé pour les colonies de type famille étendue pour *R. flavipes* dans l'Article 1. **Ainsi, il apparaît que les deux espèces se dispersent, en plus de l'essaimage, par bourgeonnement au moyen de nombreux néoténiques** (reproducteurs secondaires).

Il est souvent suggéré que les vastes surfaces de fourragement atteintes dans les colonies de certaines espèces du genre *Reticulitermes* seraient dues à la présence de nombreux reproducteurs néoténiques (Grube and Forschler 2004). Les colonies de *R.*

flavipes étant réellement plus vastes, il est possible que les colonies de *R. flavipes* contiennent plus de reproducteurs secondaires que les colonies de *R. grassei*, sans que nous l'ayons détecté. En effet, même si le nombre de néoténiques estimé pour les colonies de *R. flavipes* et de *R. grassei* est similaire, il apparaît néanmoins peu précis et très variable (de 10 à 300 néoténiques par colonie).

Nous n'avons pas détecté de colonies de type famille mixte (colonies issues de fusion entre colonies) chez *R. grassei*. Nous ne pouvons pas conclure sur l'éventuelle présence de ces familles, car la population de *R. grassei* présente un nombre trop faible d'allèles par loci (pour déterminer une famille mixte il faut au moins 5 allèles pour un marqueur). Cependant, la présence de colonie de type famille mixte n'a été détecté qu'une seule fois au Portugal chez cette espèce (Nobre et al. 2008) et les autres études des populations françaises ont déterminé seulement des familles simples et étendues (DeHeer et al. 2005). La capacité à fusionner observées seulement chez *R. flavipes* (Article 1) pourrait être avantageuse face à *R. grassei* afin de générer des colonies denses et spatialement larges.

Cette 2^{ème} étude révèlent que *R. flavipes* possèdent de nombreux avantages sur l'espèce autochtone *R. grassei* :

- **Une supériorité interspécifique**
- **Une absence de compétition intraspécifique, associée à une homogénéité chimique**
- **Des colonies spatialement larges**
- **Une capacité à fusionner (d'après l'étude 1)**

L'homogénéité de la signature chimique observée chez *R. flavipes* mérite d'être plus amplement étudiée car elle pourrait expliquer le manque d'agression intraspécifique. Le rôle de tous ces caractères dans le succès invasif de *R. flavipes* sera rediscuté dans la dernière partie (Discussion-Conclusion p.211).

Article 2 : Competition between invasive and indigenous species: an insular case study of subterranean termites

Soumis à *Biological Invasions*

Perdereau E., Dedeine F., Christidès J-P., Dupont S. and Bagnères A.-G.

IRBI CNRS UMR 6035 Université François Rabelais, Faculté des Sciences et Techniques,
Parc de Grandmont, 37200 Tours, France

Abstract

An important requirement for the management of invasive species is to identify the biological and ecological factors that influence the ability of such species to become established and spread within a new environment. Although competition being one of the key to interactions determining the coexistence of species and exclusion, few studies directly examine the mechanism of competitive interactions within invasive communities. This study focused on putative competition in an unusual social insect invader, *R. flavipes*, an American termite introduced into France, and an indigenous European termite, *R. grassei*. We have first characterized and mapped a zone of sympatry between these two species. Then, we have evaluated the degree of direct and indirect competition by comparing several life-history traits: behavioural aggression, chemical recognition and dispersion modes. Interspecific competition revealed that *R. flavipes* was dominant over *R. grassei*. Intraspecific competition was never found in *R. flavipes* while it appeared present to varying degrees in *R. grassei*. These findings seemed to be correlated with the remarkable chemical homogeneity found in *R. flavipes* in comparison with *R. grassei*. Genetic analyses revealed that *R. flavipes* foraged over a greater distance than *R. grassei* colonies and might suggest a difference in the capacity to produce secondary reproductives. These findings suggest that *R. flavipes* has a significant advantage owing to competitive asymmetry that may enable the species to become dominant. The interspecific superiority, lack of intraspecific aggression and large extensive colonies, seem to be ones of the causes of its invasion success.

Keywords: Termite, invasive species, competition, aggression, cuticular hydrocarbon, dispersion

Introduction

Much research has been carried out into species that have been introduced outside their natural range, mainly because such species can become invasive in their new habitat, causing major economic losses (Pimentel et al. 2005) and often affecting indigenous ecological communities (Sala et al. 2000). An important requirement for the management of invasive species is to identify the biological and ecological factors that influence the ability of such species to become established and spread within their new environment. To become invasive, a species must pass through three essential stages: (i) move to a new locality, (ii) establish a viable, reproductively functional population and (iii) increase demographically and spatially within the invaded area (Kolar and Lodge 2001). The ability of an introduced species to pass through these stages successfully depends largely on the intrinsic biological characteristics of the species and on certain attributes of the invaded environment and indigenous communities, as well as on the complex interactions between the two (Shea and Chesson 2002). For instance, the presence of parasites, predators or competitors in the new environment may decrease the probability of newly introduced species becoming established and spreading. Inversely, competition and predation by invasive species can dramatically alter the native communities.

As the predation, the competition is known to be a dominant biotic interaction determining the persistence and abundance of species within ecological communities (Begon et al. 1990; Gause 1934). According to the “competitive exclusion theory” (Gause 1934; Hardin 1960), two species cannot coexist in a given area if they share a similar, limited ecological niche. Although competition is often difficult to study, it has been clearly demonstrated that invasive species may affect indigenous species by competitive exclusion and niche substitution (Byers 2000; Cheng et al. 2009; Gherardi and Daniels 2004; Holway 1999; McNatty et al. 2009; Petren and Case 1996; Shinen and Morgan 2009). However, it has been shown that indigenous species can sometimes be more competitive than introduced species (Paini et al. 2008), suggesting that the presence of an indigenous competitor may slow and perhaps even prevent the spatial and demographical expansion of invaders. Therefore, the ability of an introduced species to invade a community may depend on the nature of competitive interactions with

indigenous species. Although several studies have demonstrated a strong effect of competition between native and invasive species, few studies directly examine the mechanism of interaction.

Social insects, i.e. ants, bees, wasps (Hymenoptera) and termites (Isoptera), are among the world's most successful species at invading new environments (Lowe et al. 2001). In Hymenoptera, especially ants, invasive success has been attributed to some of their life-history traits, such as a significant capacity to disperse, polygyny (several queens per nest), a lack of intraspecific territoriality and a high interspecific competitive ability (Holway et al. 2002; Moller 1996). In comparison with social Hymenoptera, termites have received relatively little attention and little is known about the ecology and population biology of these insects, especially concerning biological invasions (but see Leniaud et al. 2010). However, these insects could be of interest for testing the potential role of competition in the biological invasion processes. The most important competitors of termites are other termites of the same or different species (Korb and Heinze 2008; Wood and Lee 1971). Competition has been suggested as being an important regulatory factor in termite populations (Noirot 1959; Thorne and Haverty 1991). Competitive pressures are expected to be especially high in certain groups of termites such as subterranean termites (Rhinotermitidae), whose colonies constantly move in response to disturbance, exhaustion of resources or predation.

Competition in termites can occur by direct interactions between colonies, especially through aggressive or agonistic behavior that individuals may develop towards intra or interspecific strangers. Aggressive behavior may occur when individuals of a given colony attempt to acquire foraging sites or food resources from another colony or when individuals compete for mates. During nesting or foraging site conflicts, direct competition by fighting may result with dismemberment, death and consumption of the competitors (Thorne and Haverty 1991). Termites may also compete indirectly within the environment through their capacity to disperse, which in turn allows termites to reach and exploit new nesting and foraging sites (Jones and Trosset 1991). The capacity to disperse and found new colonies within the environment depends to a great extent on the nature and number of reproductives produced by colonies (Vargo and Husseneder 2009). Two types of reproductives can coexist within colonies. Primary reproductives

(alates) are winged individuals that swarm in monogamous pairs from their native colonies to found new colonies. This results in simple-family colonies, that include one queen, one king and their sterile progeny. Because alates can fly, this method for founding new colonies can result in dispersion within the environment (Thorne et al. 1999). Secondary reproductives (neotenics) are non-winged individuals that replace or supplement the primary reproductives within colonies. Colonies with multiple neotenics can grow and expand rapidly, forming populous nests that become spatially diffuse networks of interconnected reproductive centers (Grube and Forschler 2004).

This study analyzed competition between two French subterranean termite species of the genus *Reticulitermes*, one indigenous and one invasive. The indigenous species, *R. grassei*, is native to Europe and is found throughout the Iberian peninsula and in the south west of France (Kutnik et al. 2004). The second species, originally described as *R. santonensis* in France, has been proved to be the North American species *R. flavipes*, which has been introduced into several countries including Chile, Germany and France (Clément et al. 2001). In France, *R. flavipes* is currently one of the most abundant and destructive species in urban areas (Dronnet et al. 2005; Vieau 2001) but its distribution in forests appears limited to certain areas of the west coast (Vieau 2001). It has been recently demonstrated that *R. flavipes* colonies in the Ile d'Oléron of the west coast of France have a particular type of social organization with numerous secondary reproductives and sometimes fused colonies (Dronnet et al. 2005; Perdereau et al. in press). Previous studies revealed that the indigenous termite *R. grassei* was found in certain forests of the Atlantic coast, suggesting that the two species could coexist (Clément 1977; Vieau 2001). Although little is known about the ecology of subterranean termites, it is believed that *R. flavipes* and *R. grassei* may have similar ecological niches. As for all subterranean termites, both species have cryptic nesting habits and form extensive, complex colonies with diffuse nests and multiple feeding sites connected by underground tunnels. Therefore, these termite species might constitute an appropriate biological model system for studying competition.

The first aim of this study was to identify whether *R. grassei* coexist with *R. flavipes* in the island and whether there may be competition between them. The spatial distribution and abundance of both species were mapped precisely. The second aim was to

determine the behavioral and reproductive attributes of the two interacting species in order to evaluate the competitive pressure that each species might potentially apply to the other. Firstly, the aggression level within and between the two species was measured. Previous experiments had been carried out confronting *Reticulitermes* colonies directly in Petri dishes (Clément 1986) but this experimental method could not reflect the aggression that could occur in the wild (Cornelius and Osbrink 2009; Messenger and Su 2005). A new experimental setup was, therefore, developed that was probably closer to natural conditions. Secondly, the recognition system of both species was studied by determining the chemical signature (cuticular hydrocarbons, CHs) of each termite sample, CHs being well known to play a major role in the recognition system of social insects (Bagnères et al. 1991; Blomquist and Bagnères 2010; Howard and Blomquist 2005). Finally, as a previous studies had investigated the breeding structure of the *R. flavipes* colonies in the Ile d'Oléron (Dronnet et al. 2005; Perdereau et al. in press), the breeding structure of the indigenous termite *R. grassei* was determined by genotyping termite individuals with several polymorphic microsatellite loci. Overall, the results obtained in this study constitute the first attempt to determine the importance of competition in the invasive success of an introduced species of termite.

Materials and methods

Collection of termite samples

Termite samples were collected from the two largest forests on the Ile d'Oléron (Charente-Maritime, France): St Trojan (1900 Ha) in the south and Les Saumonards (670 Ha) in the north. These forests are mainly pine trees (*Pinus pinaster*), which cover more than 80% of the area. The samples were collected in October 2006, October 2007, April 2007 and June 2008. Termite samples were collected from wood fragments or tree stumps. At least thirty workers were taken from each collection point and placed alive in plastic vials. All potential termite foraging sites around each collection point (radius of 10 meters) were carefully inspected for the presence of other collection points. The location of 220 collection points was recorded by using a GPS unit (ArpentGIS). The GPS coordinates were then transcribed into a GIS software to generate a map (ArpentGIS and Quantum GIS v.1.0.0 'Kore'). All samples were examined on the day of collection to

determine the species of termite (*R. flavipes* or *R. grassei*). Species determination was based on the morphology of the clypeus of workers as described by Clément et al. (2001). Twenty living workers were then taken for cuticular hydrocarbon analyses and then stored in 96% ethanol at 4°C until DNA extraction.

Inter-colonial aggression tests

Experiments were performed on 4 colonies of each species (Rf1', Rf2', Rf3', Rf4', Rg1, Rg2, Rg3 and Rg4) to determine the impact of aggression during intraspecific and interspecific interactions and food competition). As the swarming period plays a role in the level of aggression (Clément 1978), two sets of tests were carried out, one using 4 colonies collected before (Rf1', Rf2', Rg1 and Rg2) and one using 4 colonies collected after the swarming period (Rf3', Rf4', Rg3 and Rg4). These 8 colonies from the St Trojan Forest (Ile d'Oléron) were collected one month before the behavioral tests. The experiment comprised a central arena (plastic box of 60x45x50 mm) containing Fontainebleau sand and a piece of pinus wood, connected at each end by a Tygon® tube to a micro-nest (plastic box of 90x60x50 mm). The termites were allowed 24 hours to become used to the micro-nest. The termites from one micro-nest were dyed using filter paper impregnated with Nile blue (200 ppm) to differentiate them and then, each nest was connected to the central arena to start the aggression tests. Each micro-nest contained 50 termites and the proportion of castes was the same as in the original colony, always with a majority of workers (80%). After 24 hours, the total number of dead individuals was recorded. Five replicates were carried out for each encounter and encounters between two micro-nests from the same colony were used as control tests. The overall experiment included 60 encounters between colonies and 40 control encounters. The differences in the numbers of dead termites at the end of the experiments were evaluated using Mann-Whitney U tests or *t* test using RGui v.2.2.0 (Ihaka and Gentleman 1996).

Extraction and Chemical Analysis of Cuticular Hydrocarbons

For each collection point, the cuticular hydrocarbons were extracted from a pool of twenty workers using 200 µl of pentane and 10 µl of 10⁻⁷ g/ml of *n*-eicosane (*n*-C20) as

internal standard. 2 µl of this solution was analyzed by GC using a Delsi Nermag DN 200 GLC with a flame ionization detector (FID) and a fused silica capillary column CP Sil 5 (WCOT) Chrompack (ID 0.25 mm × 25 m × 0.12 µm). The injection mode was splitless (15 sec) and the carrier gas was helium (2 bars). The temperature program was from 70°C to 150°C at 30°C/min and 150°C (isothermal 5 min) to 320°C at 5°C/min. Compound identification was based on previous analyses of cuticular hydrocarbons by coupled GC-MS (Bagnères et al. 1990; Bagnères et al. 1991; Vauchot et al. 1996). For the analysis of the hydrocarbon profiles, the areas of 18 peaks for *R. flavipes* and 32 peaks for *R. grassei* were integrated using the Varian Galaxie system, and the relative proportion of each peak was then calculated. To visualize the chemical relationships between collection points, relative proportions were submitted to principal component analysis (PCA) using STATGRAPHICS v.4.0 (StatPoint, Inc., Herndon, VA, USA) and UNIWIN PLUS v.3.0 (SIGMA PLUS, Levallois-Perret, France). These analyses identified the two species unambiguously.

Genotype Analyses of *R. grassei* samples

Twenty *R. grassei* workers from each of the 30 collection points were genotyped at six microsatellite loci. We used five microsatellite loci developed from *R. flavipes* (*Rf21-1*, *Rf15-2*, *Rf24-2*, *RS76*, *RS1*) (Dronnet et al. 2004; Vargo 2000) and one locus (*Rs02*) from the Japanese species *R. speratus* (Hayashi et al. 2002). Genomic DNA was extracted by standard phenol-chloroform purification (Sambrook et al. 1989). Polymerase chain reaction (PCR) amplifications were performed using Multiplex PCR Kit (QIAGEN®) according to the manufacturer's instructions. Multiplex reactions were performed with the following couples and final primer concentrations: *RS1* and *Rf 21-1* at 50 nM, *RS76* and *Rf 15-2* at 50 nM and *Rs02* and *Rf 24-2* at 40 nM and 50 nM respectively. PCR products were separated and analyzed as described by Dronnet et al. (2004) and DeHeer et al. (2005).

Colony identification and boundary.

Genetic data analyses were first carried out to determine whether collection points belonged to the same colony. Genotypic frequencies were compared between all pairs of

collection points using a log-likelihood (G)-based differentiation test from the GENEPOP software package on the Web (Raymond and Rousset 1995). The overall significance was determined using Fisher's combined probability test. A Bonferroni correction was applied to account for multiple comparisons. Samples from two collection points were considered to belong to different colonies if genotypic differentiation was statistically significant (DeHeer and Vargo 2004; Dronnet et al. 2005; Vargo 2003). After defining colony boundaries, the linkage disequilibrium was estimated using *Fstat* v.2.9.3.2 (Goudet 1995) to avoid any problems that might occur from non independent genotypes within colonies.

Reproductives and breeding structure.

The breeding structure of each colony was investigated using the GENEPOP software package (Raymond and Rousset 1995). Colonies were classified as "simple-family", "extended-family" or "mixed-family" colonies by comparing the worker genotypes observed in the colonies with the expected genotypes according to the standard criteria for the respective termite family structures (Bulmer et al. 2001; DeHeer and Vargo 2004; Vargo 2003). Colonies were classified (i) as simple-family colonies when worker genotypes were consistent with direct offspring of a single pair of reproductives, (ii) as extended-family colonies when worker genotype distribution was not consistent with a single pair of reproductives (e.g. more than four genotypes at a locus or three or more homozygote genotypes), or genotype frequencies deviating significantly from those expected in simple-family colonies, or (iii) as mixed-family colonies when more than four alleles were found at a locus consistent with colonies having more than two unrelated reproductives. In order to determine the genetic structure of *R. grassei* colonies, the colony-level *F*-statistics (Weir and Cockerham 1984) and the coefficient of relatedness (*r*) were estimated (Queller and Goodnight 1989) using *Fstat* v.2.9.3.2 (Goudet 1995). The results were compared to the termite-breeding structure models proposed by Thorne et al. (1999) and Bulmer et al. (2001) in which the different variation components are classified as individual (I), colony (C) and total (T). F_{IT} is the coefficient of inbreeding for individuals relative to the total population, F_{CT} is the genetic differentiation between colonies and F_{IC} is the coefficient of inbreeding for individuals within colonies and provides information on the number of reproductives and

relatedness between them. As the number of reproductives increases, F_{IC} approaches zero and can become positive if there is mating among multiple reproductives within colonies or if workers come from genetically differentiated colonies that have either fused together or share foraging tunnels. The significance of the F -statistics was assessed from the 95% confidence intervals by bootstrapping over loci, with 1000 replications, with probability $\alpha = 0.05$ that their confidence limits did not overlap zero. F_{stat} was also used to estimate the gene diversity (Nei 1987).

Results

Spatial distribution and abundance of *R. flavipes* and *R. grassei*

199 termite samples were collected in the St Trojan forest in the south of the island. Based on the morphology of the clypeus and the profile of cuticular hydrocarbons, 117 samples were unambiguously identified as *R. flavipes* and the other 82 samples were *R. grassei*. The results clearly showed that the two species have a different spatial distribution in this forest (Fig. 1). *R. flavipes* is prevalent in the northern part of the forest whereas *R. grassei* is more abundant in the south. Although the distribution of the two species is different, these results showed several contact zones where colonies of the two species were close to each other, sometimes separated by only a few meters (Fig. 1). These observations also suggest that both species apparently have the same wood preferences because most of the termite samples of both species were collected on pine trees, *Pinus pinaster* (99% of collection points for *R. flavipes* and 95% of collection points for *R. grassei*). The rest of the samples were collected on oak (*Quercus ilex*) or poplar (*Populus sp.*). Relatively fewer termite samples were found in the Les Saumonards forest in the north of the island. Only 21 termite nests were found in this part of the island and all of them were identified as *R. flavipes*. This result confirms previous study (Dronnet et al. 2005) and our recent observations, which all suggest that *R. flavipes* is the only termite species living outside the St Trojan forest.

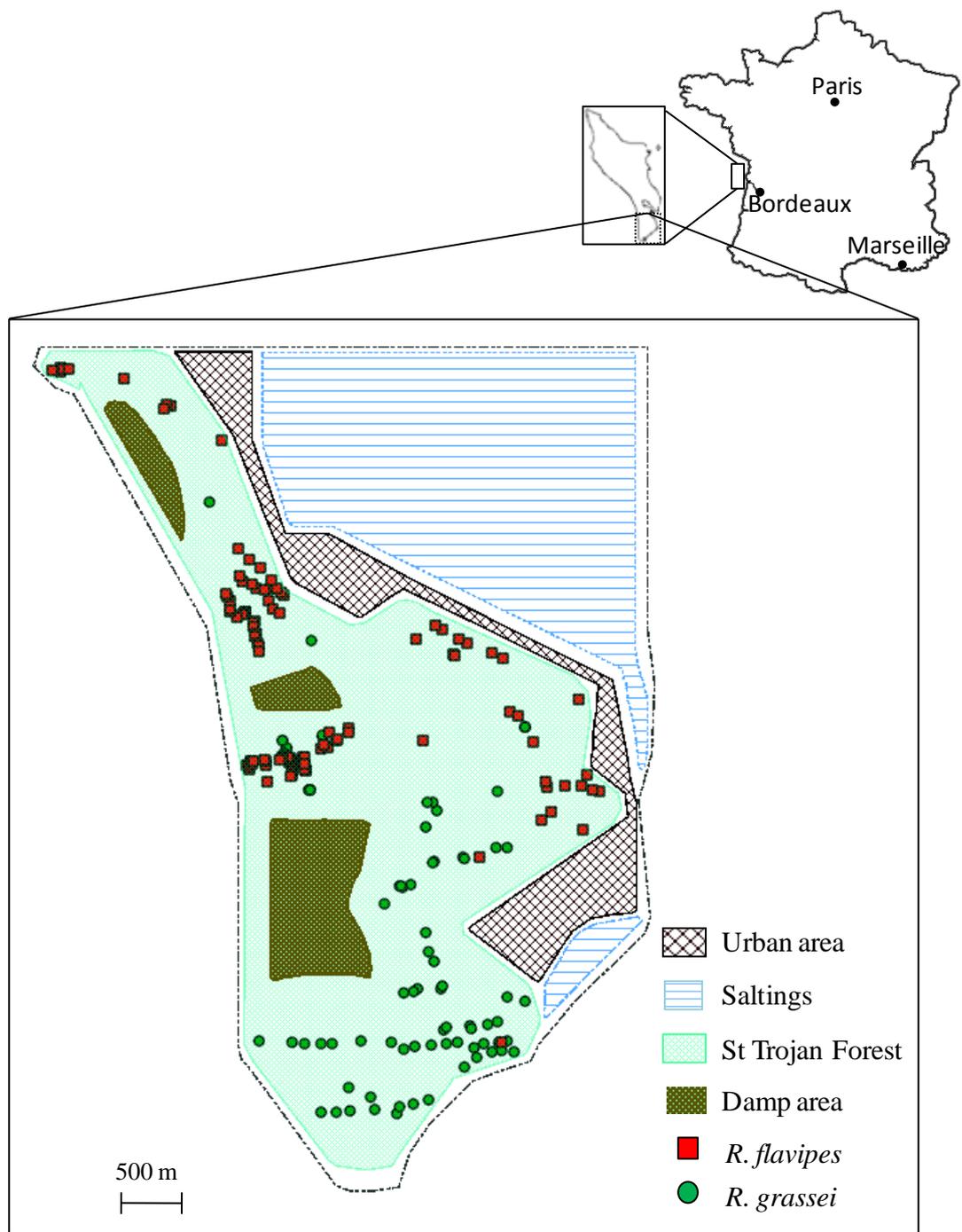


Fig. 1. Exhaustive spatial distribution of *R. grassiei* and *R. flavipes* in St Trojan Forest (Ile d'Oléron, France).

Inter-colonial aggression tests

The intra-specific tests of *R. grassei* showed a high level of aggression before swarming: the average number of dead individuals was significantly higher than the control tests for the 2 colonies before swarming, while after swarming, no significant aggression was observed (see Fig. 2a for details). The intraspecific tests of *R. flavipes* showed no aggression either before or after the swarming period (Fig. 2b). Interspecific interaction tests revealed that encounters were not consistently followed by agonistic behavior. However, when agonistic behavior occurred, *R. flavipes* was always the clear vanquisher, as measured by the number of survivors, both before and after the swarming period. The average of number of deaths was 13 ± 7.9 for *R. flavipes* against 24 ± 16 for *R. grassei* (*t* test with Welch correction, $t = 3.985$, $P = 0.0002$) (see Fig. 3a and b for details).

Chemical analysis of *R. grassei* and *R. flavipes* Cuticular Hydrocarbons

These results discriminated samples of the two species unambiguously and confirmed morphological determination in all cases. The chemical signatures of the 117 worker pools for *R. flavipes* and the 82 for *R. grassei* were quantified. Principal component analysis of the chemical differences revealed that the first two principal components, PC-I and PC-II, accounted for 92% of the total chemical variation (Fig. 4). The first axis accounted for most of the variations (90.6%) and clearly separated *R. grassei* and *R. flavipes* collection points. The second axis accounted for 1.40% of the variation and explained the chemical variation within each species. In the multivariate space, there was little chemical variation between the collection points of *R. flavipes*, with no clear distinction between them. However, the chemical variation between the collection points of *R. grassei* was high and extended throughout the whole of the second axis.

Fig. 2a

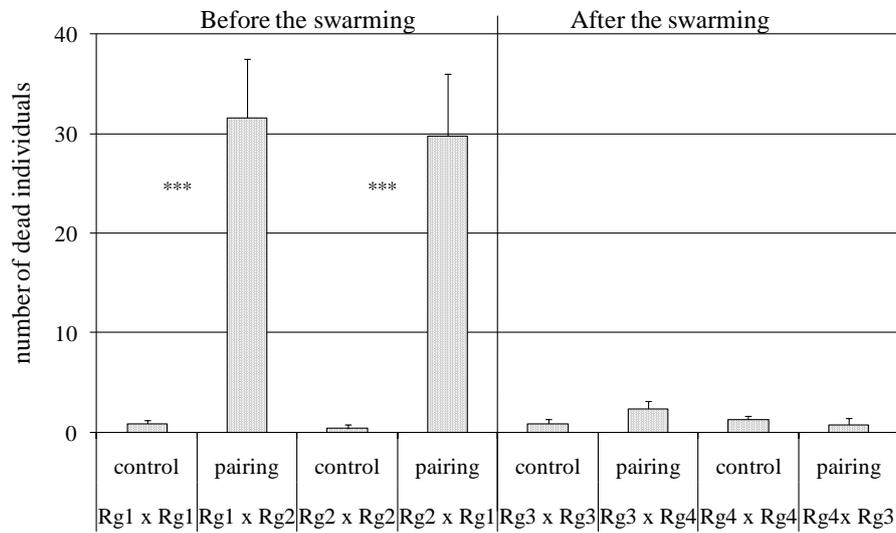


Fig. 2b

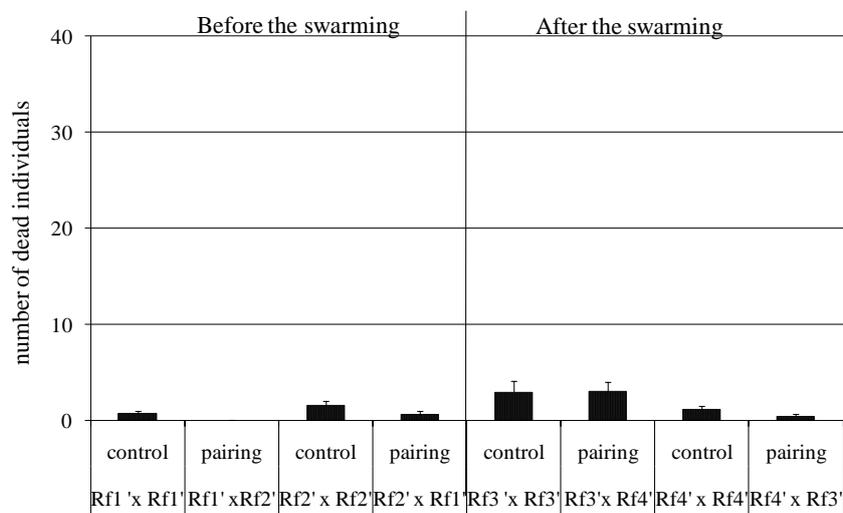


Fig. 2. Results of intraspecific pairings for *R. grassei* (a) and *R. flavipes* (b) during and after the swarming period. Histogram bars show the average number of deaths for each test after 24 hours. Significant results of Mann & Whitney tests for *R. grassei* ; Rg1xRg2, $U = 0, P = 0.0007$ and Rg2xRg1; $U = 0, P = 0.0007$. None of the Mann & Whitney test results were significant for *R. flavipes*

Fig. 3a

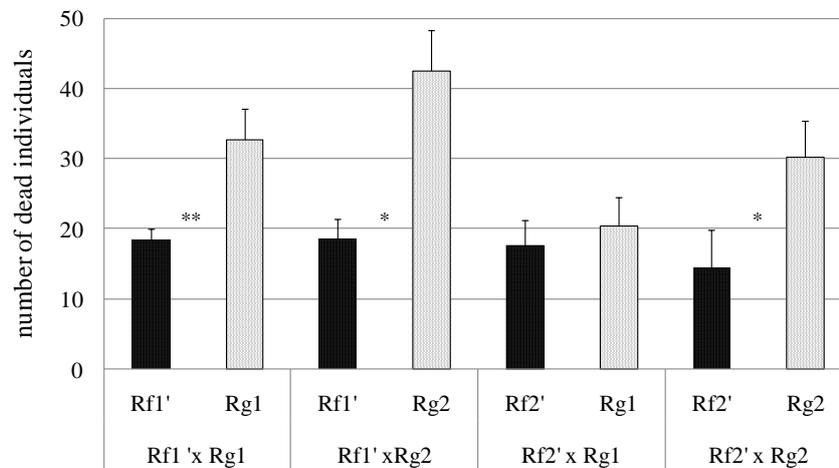


Fig. 3b

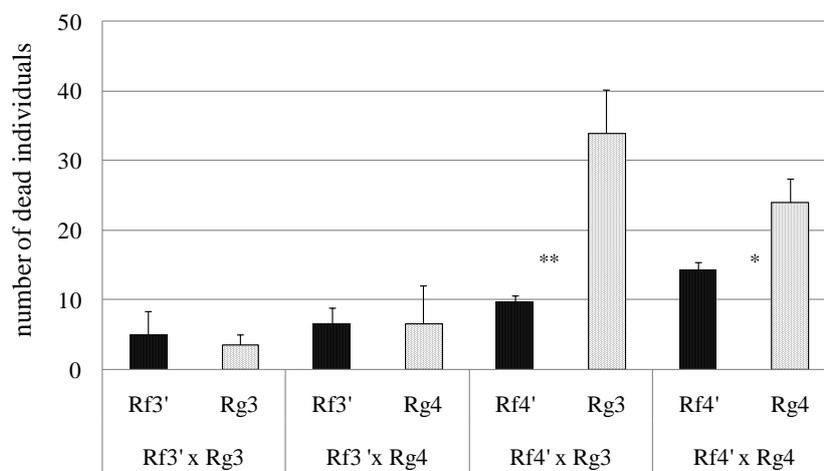


Fig. 3. Results of interspecific pairings between *R. grassei* and *R. flavipes* during the swarming period (a) and after (b). Histogram bars show the average number of deaths for each test after 24 hours. Significant results of Mann & Whitney tests (average number of dead individuals \pm SD); Rf1'-Rg1, $U = 0.5$, $P = 0.0081$ (18.4 ± 3.4 vs. 32.8 ± 9.6 deaths); Rf1'-Rg2, $U = 1$, $P = 0.0159$ (18.6 ± 6.4 vs. 42.6 ± 12.7 deaths); Rf2'-Rg2, $U = 2.5$, $P = 0.0469$ (14.4 ± 12.3 vs. 30.2 ± 11.4 deaths); Rf4'-Rg3, $U = 0$, $P = 0.0079$ (9.6 ± 2.1 vs. 34 ± 13.7 deaths); Rf4'-Rg4, $U = 1$, $P = 0.0211$ (14.2 ± 2.7 vs. 24 ± 7.6 deaths)

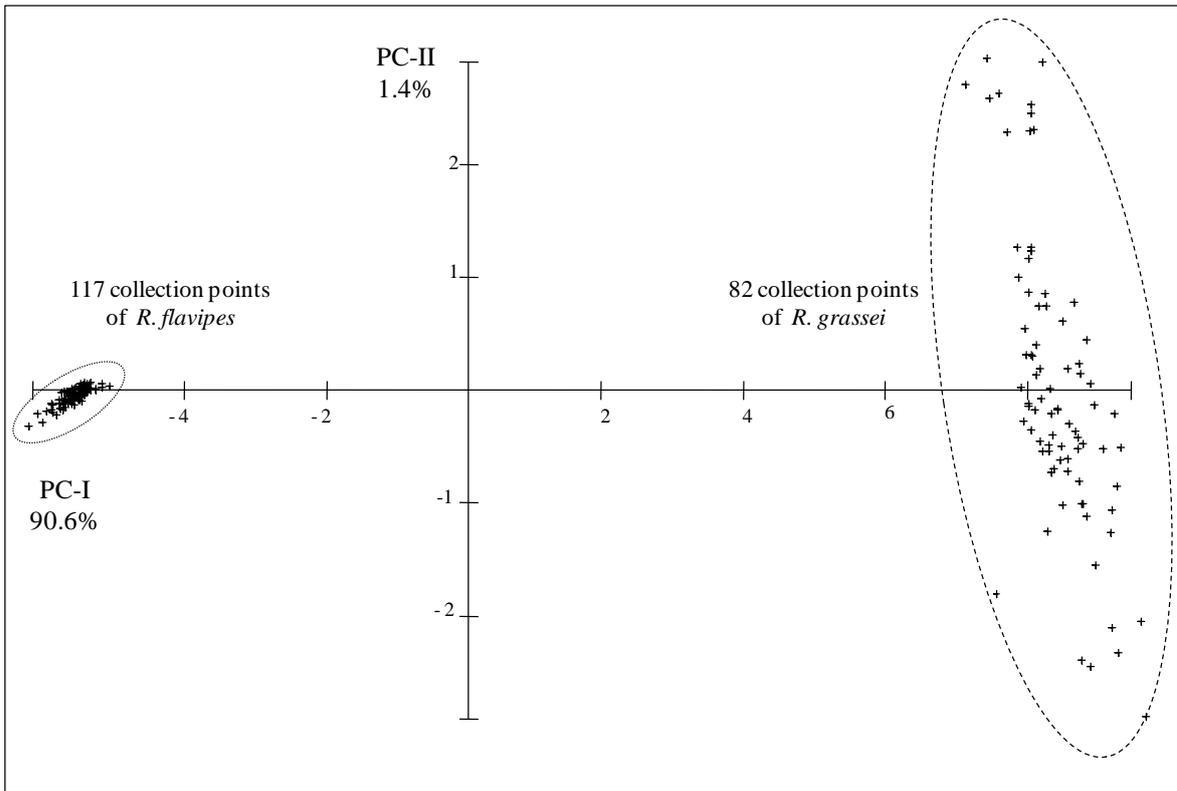


Fig. 4. Plot of the two first axes of the principal component analysis (PCA) for collection points of *R. grassei* (82 collection points) and *R. flavipes* (117 collection points) in St Trojan Forest using the proportion of cuticular hydrocarbons. Ellipses represent collection points that belong to the same species.

Breeding structure of *R. grassei* colonies

Identification of R. grassei colonies and determination of the breeding system.

The six microsatellite loci had an average of 2.3 alleles per locus (range 2-3) with an expected average heterozygosity of 0.26 (range 0.09-0.33). The values of these parameters were significantly lower than those calculated for the populations of *R. grassei* in the south west of France (0.48) (DeHeer et al. 2005). None of the loci showed consistent patterns of linkage disequilibrium. Exact tests of genotypic differentiation grouped the 30 collection points into 18 colonies (Fig. 5). 13 of these colonies were constituted to only one collection point and the five remaining colonies were found at 2, 3 or 5 collection points. Among these 18 colonies, two were classified as simple-family colonies based on the number of genotypes per colony (indicated by the symbol “*”, Fig. 5). The 16 remaining colonies were classified as extended because three colonies had more than 4 genotypes for at least one locus and 13 colonies had genotypes consistent with simple-family colonies but their distribution was significantly different from what would be expected for workers that were the offspring of a pair of reproductives (G-test across all loci, $P < 0.05$). This finding indicated that these 16 colonies contained secondary reproductives in addition to the couple of primary reproductives. 89% of *R. grassei* colonies, therefore, had an extended-family structure and 11% had a simple-family structure. The colony structure of *R. grassei* is compared with that of *R. flavipes* (Perdereau et al. in press) in Table 1.

Relatedness and F-statistics estimations of R. grassei.

The extended-family structure of the 16 *R. grassei* colonies was confirmed by the values of relatedness and *F*-statistics. The *F*-statistics and the relatedness were consistent with those expected for colonies with 10 to 300 neotenics over 3 generations ($F_{IT} = 0.451$, 95% CI = 0.307-0.595; $F_{CT} = 0.373$, 95% CI = 0.301-0.420; $F_{IC} = 0.124$, 95% CI = -0.031-0.311; $r = 0.515$). These values for the 2 colonies classified as simple-family were not consistent with those expected for simple-family colonies ($F_{IT} = 0.678$, 95% CI = 0.274-0.918; $F_{CT} = 0.706$, 95% CI = 0.326-0.926; $F_{IC} = -0.095$, 95% CI = -0.229-0.065; $r = 0.842$). This could be due to the small number of this type of colony in the population studied. In

comparison with the values previously estimated for *R. flavipes* in the St Trojan forest, F -statistics and relatedness of extended-family colonies appeared similar ($F_{IT} = 0.402$, 95% CI = 0.218-0.647; $F_{CT} = 0.370$, 95% CI = 0.199-0.583; $F_{IC} = 0.052$, 95% CI = -0.025-0.172; $r = 0.527$) (Perdereau et al. in press).

Estimation of foraging colony distance of R. grassei and R. flavipes.

Once boundaries of colonies determined, the distance between the most distant points composing each colony has been measured using the GPS software (ArpentGIS) in order to estimate the foraging colony distance for each colony. Colonies from a single collection point were assumed to forage at a distance of 1 meter (Vargo and Husseneder 2009). The average estimated of foraging distance for the 18 *R. grassei* colonies is to 14.44 ± 11 meters. Colonies of *R. flavipes* collected in St Trojan appeared to be more widely spread, the average of foraging distance for *R. flavipes* colonies (114.62 ± 47 meters) was significantly greater than the one of *R. grassei* colonies (Mann & Whitney Test, $U = 67$, $P = 0.023$).

Table 1. Family composition of colonies, mean number of alleles (N_a) and gene diversity (H_s) of *R. grassei* and *R. flavipes* in St Trojan Forest in comparison with *R. flavipes* (Perdereau et al. 2010)

Species	Type of colony structure						
	N_a	H_s	Nb samples	Nb colonies	Nb simple-family	Nb extended-family	Nb mixed-family
<i>R. grassei</i> (this study)	2.3 (± 0.5)	0.261	30	18	2 (11%)	16 (89%)	0
<i>R. flavipes</i> (Perdereau et al. in press)	4.9 (± 1.5)	0.381	29	13	0	9 (69%)	4 (31%)

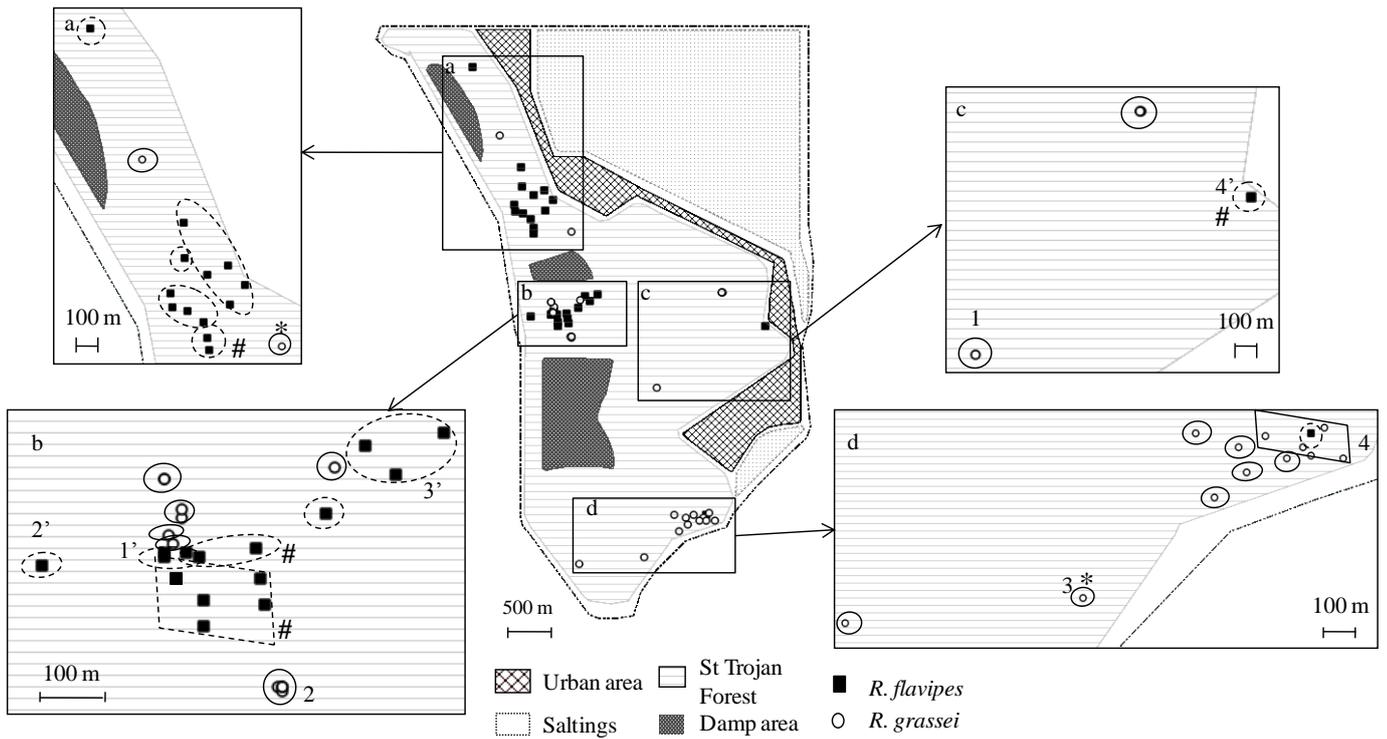


Fig. 5. Spatial distribution of *R. grassei* collection points subjected to genetic analyses and the distribution of *R. flavipes* collection points previously analyzed by Perdereau et al. (in press). Continuous lines surround collection points that belong to the same colony for *R. grassei* and discontinuous lines surround collection points that belong to the same colony for *R. flavipes*. Colonies used for behavioral tests have a reference number: 1, 2, 3 and 4 for *R. grassei* and 1', 2', 3' and 4' for *R. flavipes*. The type of family structure is indicated by symbols: "*" indicates simple-family colonies, "#" indicates mixed-family colonies and no symbol indicates extended-family colonies.

Discussion

The first result of this study was that the two species, *R. grassei* (indigenous) and *R. flavipes* (invasive), live sympatrically in the St Trojan forest in the south of the Ile d'Oléron and that the rest of the island seems to be infested only by *R. flavipes*. So far as we are aware, it is not known which was the first species to become established on the island. However, on the continent it has been assumed that *R. flavipes* was introduced at the end of the 17th or during the 18th century on the Atlantic coast, and *R. grassei* colonization progressed gradually from the Iberian Peninsula towards the north of the Atlantic coast after the last ice age (Kutnik et al. 2004). Several hypotheses may explain the current spatial distribution of two species. The first hypothesis is that there was no competition between the two species and that their distributions are independent one from the other. However, if there were competition between species, it could be postulated that *R. grassei* was the first to become established on the island and that *R. flavipes* gradually invaded the island from north to south after it was introduced, pushing back the indigenous population. Another hypothesis is that *R. grassei* became established in the south of the island after *R. flavipes*, pushing the introduced termites northward. The last hypothesis is that both species arrived at approximately the same time and spread through the island until they met, creating front lines of conflict. Detailed phylogeographical studies at different geographical scales will be necessary to find out what actually happened.

In focusing particularly on the conflict area in St Trojan forest, the two species are very likely to meet and appear to have a similar ecological role in consuming in mostly pine wood. Consequently, it is reasonable to presume that interspecific competition occurred between these two species as has been already suggested in a previous study (Vieau 1993). The various features studied - competition, chemical variations, colony dynamic and dispersion mode - reveal clear competitive asymmetry between the two species of termite, the invasive species prevailing.

Studies of direct competition between the two species have shown that, in case of aggression, *R. flavipes* was always the vanquisher. Greater competitive ability is one of the characteristics often cited in the literature as being essential to the success of

invasive species (Holway and Suarez 1999). The fighting capacity of *R. flavipes*, may enable the species to increase its territory and reduce the number of *R. grassei* colonies. According to previous studies (Clément 1978; Clément 1986; Grace 1996), intraspecific aggression between *R. grassei* colonies occurred before the swarming period and that *R. flavipes* always tolerated individuals from other colonies. This suggests that only *R. grassei* colonies are subject to intraspecific regulation. By reducing the costs associated with territoriality, *R. flavipes* colonies may increase the number of workers and extend other activities such as wood resource exploitation and foraging.

The lack of intraspecific aggression observed in this study may be strongly related to the colonial fusion capacity previously demonstrated in *R. flavipes* populations (Perdereau et al. in press). The absence of aggression is well documented in invasive ant species and is associated with their invasive success, favoring the formation of supercolonies characterized by a free individual mix between nests (Bourke and Francks 1995; Fournier et al. 2009; Holway et al. 1998; Le Breton et al. 2004). Several authors have also argued that lack of intraspecific aggression is a derived trait that develops after introduction into new environments as a result of a reduced variability of cuticular hydrocarbon profiles (Brandt et al. 2009; Giraud et al. 2002; Suarez et al. 2002). As for invasive ants, the small variation observed in the chemical profiles of invasive populations of *R. flavipes* in comparison to those of *R. grassei* in similar geographical areas, as well as native populations of *R. flavipes* (unpublished works), could be one of the causes of the lack of intra-specific aggression observed in all invasive populations of *R. flavipes*. On the other hand, the diversity in the colonial chemical signatures of *R. grassei* could explain its behavioral diversity as shown in other social insects (Lalzar et al. 2010; Lorenzi et al. 1997). However, more information is required to correlate the agonistic behavior with the cuticular chemistry.

Comparison of the breeding structure between *R. grassei* and *R. flavipes* revealed similarities and disparities in the dispersion mode and foraging range. In both cases, dispersion seems to be by nondispersive reproductives in addition to the single pair of primaries. The colonies of *R. flavipes* forage on a more long distance than the *R. grassei* colonies. Interestingly, one of *R. flavipes* colonies of St Trojan was the most large never described (nearly 600 meters) (Perdereau et al. in press). It has been suggested that the extensive foraging distances of some subterranean termites species can be achieved by

the presence of multiple neotenic reproductives (Grube and Forschler 2004; Leniaud et al. 2009). However, results have shown that both species usually appear to have colonies headed by a similar large number of related secondary reproductives (extended-family). As the number of neotenic estimated for the two species is not very accurate, varying from 10 to 300 neotenic over three generations, it is possible that *R. flavipes* colonies contain more functional neotenic than *R. grassei* colonies. On the other hand, other mechanisms may explain why *R. flavipes* colonies are spatially more widely spread. The effect of interspecific and/or intraspecific territoriality might also explain the more limited foraging distances observed in *R. grassei*. Another non-exclusive explanation could be that mixed-family colonies, found only in *R. flavipes*, result from the fusion of two or more colonies into a single colony (Perdereau et al. in press) and may lead to the formation of more extensive colonies.

The origin of the different social forms in termite populations is still unclear. Some authors have suggested that the different modes of organization represent different stages of colony growth and development and that the simple-family structure (only the couple of primary reproductives) is the first stage (Bulmer et al. 2001). In this study, as well as in previous works (DeHeer et al. 2005; Nobre et al. 2008), simple-family colonies were found within *R. grassei* colonies, while simple-family colonies of *R. flavipes* have never been found in France (Dronnet et al. 2005; Perdereau et al. in press). This could suggest that functional neotenic differentiation in introduced colonies of *R. flavipes* may be more rapid than in *R. grassei* colonies. Interestingly, this strong capacity for producing secondary reproductives have already been supposed in comparison with the native American colonies of *R. flavipes* (Perdereau et al. in press). A recent study on orphan groups of workers from the Ile d'Oléron (Leniaud 2008) has demonstrated that, more neotenic were differentiated in *R. flavipes* than in *R. grassei* over the same period. The great potential in *R. flavipes* colonies of attaining a large number of functional neotenic, would be a significant factor in favoring colony growth and development. The spatial and reproductive differences observed between the two species studied might illustrate different strategies for exploiting resources and colonization, *R. flavipes* encouraging population growth and dispersal and *R. grassei* concentrating on population persistence.

These findings showed that the invasive species, *R. flavipes*, has attributes that should enable it to become ecologically and numerically dominant, such as the formation of expansive colonies, the lack of intraspecific aggression and interspecific superiority. Because these social attributes seem to be similar to those explaining the invasive success of other social insects (Moller 1996), it appears that the *R. flavipes* population is well established on the Ile d'Oléron. Even though the presence of *R. grassei* has probably prevented *R. flavipes* spreading as fast as it would have done had the ecological niche been vacant, *R. flavipes* seems to have the advantage of spreading by competitive asymmetry. It is, therefore, probable that *R. flavipes* populations will displace the indigenous termite populations in long-term where their geographic ranges overlap in forests or in towns.

This study provides additional experimental information on the competitive interactions between invasive and indigenous species. It defined the invasive attributes of the introduced termite *R. flavipes* and showed that it presents a serious threat to native termites by competitive asymmetry. Progress in this area of research is important to predict future invasions and manage current invasions. The populations will need to be monitored for several years to test this last hypothesis.

Acknowledgements

We would like to thank Marjorie Labedan for her help as genetic assistant. We are grateful to Yann Bourgeois, Maxime Traineau and Jérémy Dion for their help in behavioral tests. We also wish to thank Tony Tebby for helping to improve the English of the manuscript. This work was part funded by a CNRS-PICS grant.

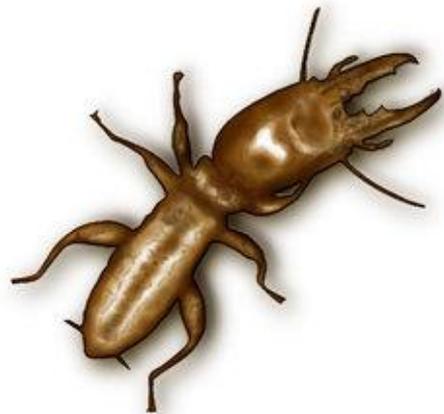
References

- Bagnères A-G, Clément J-C, Blum MS, Severson RF, Joulie C, Lange C (1990) Cuticular hydrocarbons and defensive compounds of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *R. santonensis* (Feytaud): polymorphism and chemotaxonomy. *J Chem Ecol* 16:3213-3244
- Bagnères A-G, Killian A, Clément J-L, Lange C (1991) Interspecific recognition among termites of the genus *Reticulitermes*: evidence for a role for the cuticular hydrocarbons. *J Chem Ecol* 17:2397-2420
- Begon M, Harper JL, Townsend CR (1990) *Ecology: individuals, populations and communities*. Blackwell Scientific, Boston
- Blomquist GJ, Bagnères A-G (2010) *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry, and Chemical Ecology*. Cambridge University Press, Cambridge
- Bourke AFG, Francks NR (1995) *Social Evolution in Ants*. Princeton Univ. Press, Princeton
- Brandt M, Van Wilgenburg E, Tsutsui ND (2009) Global-scale analyses of chemical ecology and population genetics in the invasive Argentine ant. *Mol Ecol* 18:997-1005
- Bulmer MS, Adams ES, Traniello JFA (2001) Variation in colony structure in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Behav Ecol Sociobiol* 49:236-243
- Byers JE (2000) Competition between two estuarine snails: implications for invasions of exotic species. *Ecology* 81:1225-1239
- Cheng XY, Xie PZ, Cheng FX, Xu RM, Xie BY (2009) Competitive displacement of the native species *Bursaphelenchus mucronatus* by an alien species *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchida: Aphelenchoididae): a case of successful invasion. *Biol Invasions* 11:205-213
- Clément J-L (1977) Ecologie des *Reticulitermes* (Holmgren) français (Isoptères). Position systématique des populations. *Bull Soc Zool Fr* 102:169-185
- Clément J-L (1978) L'agression interspécifique et intraspécifique des espèces françaises du genre *Reticulitermes* (Isoptère). *C R Acad Sci Paris* 286:351-354
- Clément J-L (1986) Open and closed societies in *Reticulitermes* termites (Isoptera, Rhinotermitidae): geographic and seasonal variations. *Sociobiol* 11:311-323
- Clément J-L, Bagnères A-G, Uva P, Wilfert L, Quintana A, Reinhard J, Dronnet S (2001) Biosystematics of *Reticulitermes* termites in Europe: morphological, chemical and molecular data. *Insectes Soc* 48:202-215
- Cornelius ML, Osbrink WLA (2009) Bioassay design and length of time in the laboratory affect intercolonial interactions of the Formosan subterranean termite (Isoptera, Rhinotermitidae). *Insectes Soc* 56:203-211
- DeHeer CJ, Kutnik M, Vargo EL, Bagnères A-G (2005) The breeding system and population structure of the termite *Reticulitermes grassei* in Southwestern France. *Heredity* 95:408-415
- DeHeer CJ, Vargo EL (2004) Colony genetic organization and colony fusion in the termite *Reticulitermes flavipes* as revealed by foraging patterns over time and space. *Mol Ecol* 13:431-441.
- Dronnet S, Bagnères A-G, Juba TR, Vargo EL (2004) Polymorphic microsatellite loci in the European subterranean termite, *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *Mol Ecol Notes* 4:127-129
- Dronnet S, Chapuisat M, Vargo EL, Lohou C, Bagnères A-G (2005) Genetic analysis of the breeding system of an invasive subterranean termite, *Reticulitermes santonensis*, in urban and natural habitats. *Mol Ecol* 14:1311-1320
- Fournier D, Biseau JC, Aron S (2009) Genetics, behaviour and chemical recognition of the invading ant *Pheidole megacephala*. *Mol Ecol* 18:186-199
- Gause GF (1934) *The struggle for existence*. Williams and Wilkins, Baltimore
- Gherardi F, Daniels WH (2004) Agonism and shelter competition between invasive and indigenous crayfish species. *Can J Zool* 82:1923-1932
- Giraud T, Pedersen JS, Keller L (2002) Evolution of supercolonies: The Argentine ants of southern Europe. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:6075-6079
- Goudet J (1995) FSTAT (vers 1.2): A computer program to calculate *F*-statistics. *J Hered* 86:485-486
- Grace JK (1996) Absence of overt agonistic behavior in a northern population of *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiol* 28:103-110
- Grube S, Forschler BT (2004) Census of monogyne and polygyne laboratory colonies illuminates dynamics of population growth in *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Ann Entomol Soc Am* 97:466-475
- Hardin G (1960) Competitive Exclusion Principle. *Science* 131:1292-1297
- Hayashi Y, Kitade O, Kojima JI (2002) Microsatellite loci in the Japanese subterranean termite, *Reticulitermes speratus*. *Mol Ecol Notes* 2:518-520

- Holway DA (1999) Competitive mechanisms underlying the displacement of native ants by the invasive Argentine ant. *Ecology* 80:238-251
- Holway DA, Lach L, Suarez AV, Case TJ (1998) Loss of intraspecific aggression in the success of a widespread invasive social insect. *Science* 282:949-952
- Holway DA, Lach L, Suarez AV, Tsutsui ND, Case TJ (2002) The causes and consequences of ant invasions. *Annu Rev Ecol Syst* 33:181-233
- Holway DA, Suarez AV (1999) Animal behavior: an essential component of invasion biology. *Trends Ecol Evol* 14:328-330
- Howard RW, Blomquist GJ (2005) Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu Rev Entomol* 50:371-393
- Ihaka R, Gentleman R (1996) R: a language for data analysis and graphics. *J Comput Graph Stat* 5:299-314
- Jones SC, Trosset MW (1991) Interference competition in desert subterranean termites. *Entomol Exp Appl* 61:83-90
- Kolar CS, Lodge DM (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends Ecol Evol* 16:199-204
- Korb J, Heinze J (2008) *Ecology of Social Evolution*. Springer, Berlin
- Kutnik M, Uva P, Brinkworth L, Bagnères A-G (2004) Phylogeography of two European *Reticulitermes* (Isoptera) species: the Iberian refugium. *Mol Ecol* 13:3099-3113
- Lalzar I, Simon T, Meer R KV, Hefetz A (2010) Alteration of cuticular hydrocarbon composition affects heterospecific nestmate recognition in the carpenter ant *Camponotus fellah*. *Chemoecol* 20:19-24
- Le Breton J, Delabie JHC, Chazeau J, Dejean A, Jourdan H (2004) Experimental evidence of large-scale unicoloniality in the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Roger). *J Insect Behav* 17:263-271
- Leniaud L (2008) Potentialités ontogéniques, différenciation des castes et conséquences sur la structure génétique des termites du genre *Reticulitermes*. Dissertation, University of Tours
- Leniaud L, Dedeine F, Pichon A, Dupont S, Bagnères A-G (2010) Geographical distribution, genetic diversity and social organization of a new European termite, *Reticulitermes urbis* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Biol Invasions* 12: 1389-1402.
- Leniaud L, Pichon A, Uva P, Bagnères A-G (2009) Unicoloniality in *Reticulitermes urbis*: a novel feature in a potentially invasive termite species. *Bull Entomol Res* 99:1-10
- Lorenzi MC, Bagnères A-G, Clément J-L, Turillazzi S (1997) *Polistes biglumis bimaculatus* epicuticular hydrocarbons and nestmate recognition (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Soc* 44:123-138
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S, De Poorter M (2001) 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. Species Survival Commission, World Conservation Union, Auckland, New Zealand
- McNatty A, Abbott KL, Lester PJ (2009) Invasive ants compete with and modify the trophic ecology of hermit crabs on tropical islands. *Oecologia* 160:187-194
- Messenger MT, Su NY (2005) Agonistic behavior between colonies of the Formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae) from Louis Armstrong Park, New Orleans, Louisiana. *Sociobiol* 45:331-345
- Moller H (1996) Lessons for invasion theory from social insects. *Biol Conserv* 78:125-142
- Nei M (1987) *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New-York
- Nobre T, Nunes L, Bignell DE (2008) Colony interactions in *Reticulitermes grassei* population assessed by molecular genetic methods. *Insectes Soc* 55:66-73
- Noirot C (1959) Reparques sur l'écologie des termites. *Soc. R. Zool. Belg.* 89:151-169
- Paini DR, Funderburk JE, Reitz SR (2008) Competitive exclusion of a worldwide invasive pest by a native. Quantifying competition between two phytophagous insects on two host plant species. *J Anim Ecol* 77:184-190
- Perdereau E, Bagnères A-G, Dupont S, Dedeine F (in press) High occurrence of colony fusion in a European population of the American termite *Reticulitermes flavipes*. *Insectes Soc* doi:10.1007/s00040-010-0096-z
- Petren K, Case TJ (1996) An experimental demonstration of exploitation competition in an ongoing invasion. *Ecology* 77:118-132
- Pimentel D, Zuniga R, Morrison D (2005) Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecol Econ* 52:273-288
- Queller DC, Goodnight KF (1989) Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution* 43:258-275
- Raymond M, Rousset F (1995) An exact test for population differentiation. *Evolution* 49:1280-1283
- Sala OE, Chapin FS, Armesto JJ, Berlow E, Bloomfield J, Dirzo R, Huber-Sanwald E, Huenneke LF, Jackson RB, Kinzig A, Leemans R, Lodge DM, Mooney HA, Oesterheld M, Poff NL, Sykes MT, Walker BH,

- Walker M, Wall DH (2000) Biodiversity - Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287:1770-1774
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular Cloning*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Lab Press, Cold Spring Harbor, NY
- Shea K, Chesson P (2002) Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends Ecol Evol* 17:170-176
- Shinen JS, Morgan SG (2009) Mechanisms of invasion resistance: competition among intertidal mussels promotes establishment of invasive species and displacement of native species. *Mar Ecol Prog Ser* 383:187-197
- Suarez AV, Holway DA, Liang D, Tsutsui ND, Case TJ (2002) Spatiotemporal patterns of intraspecific aggression in the invasive Argentine ant. *Anim Behav* 64:697-708
- Thorne BL, Haverty MI (1991) A review of intracolony, intraspecific, and interspecific agonism in termites. *Sociobiol* 19:115-145
- Thorne BL, Traniello JFA, Adams ES, Bulmer M (1999) Reproductive dynamics and colony structure of subterranean termites of the genus *Reticulitermes* (Isoptera Rhinotermitidae): a review of the evidence from behavioral, ecological and genetic studies. *Ethol Ecol Evol* 11:149-169
- Vargo EL (2000) Polymorphism at trinucleotide microsatellite loci in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Mol Ecol* 9:817-829
- Vargo EL (2003) Hierarchical analysis of colony and population genetic structure of the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes*, using two classes of molecular markers. *Evolution* 57:2805-2818
- Vargo EL, Husseneder C (2009) Biology of subterranean termites: insights from molecular studies of *Reticulitermes* and *Coptotermes*. *Annu Rev Entomol* 54:379-403
- Vauchot B, Provost E, Bagnères AG, Clément JL (1996) Regulation of the chemical signatures of two termite species, *Reticulitermes santonensis* and *Reticulitermes lucifugus grassei*, living in mixed experimental colonies. *J Insect Physiol* 42:309-321
- Vieau F (1993) Le termite de Saintonge *Reticulitermes santonensis* Feytaud: termite urbain. *Bull Soc Zool Fr* 118:125-133
- Vieau F (2001) Comparison of the spatial distribution and reproductive cycle of *Reticulitermes santonensis* Feytaud and *Reticulitermes lucifugus grassei* Clément (Isoptera, Rhinotermitidae) suggests that they represent introduced and native species, respectively. *Insectes Soc* 48:57-62
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358-1370
- Wood TG, Lee KE (1971) Abundance of mounts and competition among colonies of some Australian termite species. *Pedobiologia* 11:341-366

**Etude 3 : Analyse et comparaison des
composés chimiques entre les populations
natives et introduites de *R. flavipes***



Synthèse de l'article 3

Introduction

Chez les insectes et tous particulièrement chez les sociaux, il est admis que les hydrocarbures cuticulaires (HCs) ont un rôle prédominant dans la reconnaissance entre espèces, entre colonies et entre les différentes castes au sein de la colonie (Blomquist and Bagnères 2010). En comparant leurs profils d'HCs, les membres d'une colonie sont capables de distinguer des individus provenant de colonies différentes, sur la base de variations quantitatives, et d'espèces différentes, par des variations qualitatives (Bagnères et al. 1991, Howard and Blomquist 2005). Ces différences de profils chimiques peuvent être suivies d'un comportement agressif (King 1973, Howard and Blomquist 1982). Les résultats de l'Article 2 ont montré que les colonies des populations introduites de *R. flavipes* ne présentaient aucune agression, que ce soit avant ou après l'essaimage, mais également une très faible variation des profils HCs face à celle des populations de *R. grassei*. De ce fait, **étudier les variations des HCs entre les populations introduites et natives apparaît essentiel pour savoir si cette homogénéité chimique résulte de l'introduction.**

Par ailleurs, les HCs ont été de nombreuses fois utilisées comme outil de chemosystématique (Bagnères and Wicker-Thomas 2010). La chemotaxonomie a été largement employée et prouvée congruente avec des marqueurs moléculaires dans de nombreux genre de termites et particulièrement chez les Rhinotermitidae (Clément et al. 1985, Bagnères et al. 1988 et 1990, Kaib et al. 1991, Haverty et al. 1999). Les composés défensifs contenus dans la tête des soldats ont également été utilisés comme outil taxonomique, souvent en association avec les HCs (Bagnères et al. 1990, Haverty et al. 1996, Haverty and Nelson 1997, Clément et al. 2001, Nelson et al. 2001, Quintana et al. 2003, Nelson et al. 2008). De plus, ils sont d'un grand intérêt depuis que leur rôle dans la différenciation des castes a été démontré (Tarver et al. 2009). Même si de nombreuses études ont analysées les HCs et les composés défensifs pour identifier et différencier les espèces dans la famille des Rhinotermitidae, très peu se sont intéressées aux variations intraspécifiques des HCs et encore moins dans un contexte d'invasion biologique. Ainsi, **nous nous sommes intéressés à identifier les variations chimiques des populations de *R. flavipes* entre l'aire native et l'aire d'introduction.**

Cette étude a ainsi fait l'objet de 2 missions aux USA, une en Floride en avril 2008 et une en Louisiane en mars 2009. Nous avons analysé les HCs et les composés défensifs des soldats de trois populations introduites en France, 3 populations provenant de Floride et 3 populations de Louisiane. Concernant les substances défensives des soldats, il semble important de rappeler ici que deux précédentes études (Bagnères et al. 1990, Nelson et al. 2001) sur ces substances dans les populations françaises et américaines (Annexe 3), ont mis en évidence l'existence d'un seul phénotype en France mais de très nombreux phénotypes dans les populations américaines (Bagnères et al. 1990, Nelson et al. 2001). Le phénotype des populations françaises différait des autres phénotypes américains de *R. flavipes* par l'absence du γ -cadinène et de son aldéhyde.

Trois questions ont été posées :

- 1) Est-ce que la diversité chimique entre et au sein des populations introduites en France est plus faible que celles observées entre et au sein des populations de Floride et de Louisiane ?
- 2) Est-ce que les variations des HCs peuvent discriminer les différentes populations et les localités étudiées ?
- 3) Est-ce que des degrés de similarités chimiques (HCs et composés défensifs des soldats) sont observables entre les populations françaises et américaines ?

Synthèse des résultats de l'article 3 et discussion

1) L'analyse des hydrocarbures cuticulaires de 71 points de récoltes (12 en Floride, 16 en Louisiane et 43 en France), montre que les populations françaises et américaines partagent les mêmes 18 composés chimiques précédemment définis dans Bagnères et al. 1990. Le calcul des distances chimiques (distance Euclidienne et distance de Nei) montre que **les populations françaises ont une diversité chimique significativement plus faible que les populations de Floride et de Louisiane**, malgré un effort d'échantillonnage supérieur en France.

Au niveau des variations chimiques intra-populationnelles, l'analyse en composante principale montre que **les variations des HCs au sein de chaque population introduite sont très réduites**. Plus précisément, les profils cuticulaires entre points de récolte au sein des populations introduites de *R. flavipes* présentent une importante uniformité tandis que les profils au sein des populations natives divergent. Même si ce résultat n'est pas significatif, deux populations françaises (Olonnes et Oléron) se situent sur une zone géographique plus vaste avec une quantité de points de récolte analysée plus importante que les populations américaines. Cette non significativité est probablement due à un échantillonnage insuffisant dans les populations américaines par la difficulté à trouver de nombreux points de récolte dans les forêts américaines. Ceci en grande partie, car *R. flavipes* vit en sympatrie avec trois autres espèces non distinguables morphologiquement (*R. hageni*, *R. malletei* et *R. virginicus*). Néanmoins, ce résultat soulève de nombreuses hypothèses quant aux causes et conséquences de cette **homogénéité chimique**.

2) L'analyse discriminante révèle que les HCs reflètent bien les variations géographiques des populations. En effet, les populations se discriminent significativement les unes des autres ainsi qu'entre les différentes localités géographiques (France, Louisiane et Floride).

3) Les analyses des profils et de la variabilité chimique des HCs, au sein des populations de *R. flavipes* introduites en France et des populations du Sud des USA, montrent que **les populations françaises possèdent des profils plus proches des populations louisianaises** que des populations de Floride.

Parmi les **6 phénotypes des substances défensives des soldats** identifiés, **un phénotype** encore inconnu, contenant seulement des monoterpènes, **est retrouvé à la fois au sein des populations françaises et des populations louisianaises**.

Cette 3^{ème} étude montre que **les populations introduites en France possèdent une diversité chimique plus faible que celle observées dans les populations américaines**. Deux événements peuvent être associées à cette baisse de diversité chimique, soit qu'elle est apparue à la suite de l'introduction dans le nouvel

Résultats

environnement, ou soit que les populations françaises seraient originaires d'une même source géographique, spatialement restreinte. Cette étude confirme également qu'une **homogénéité chimique** règne au sein de chaque population introduite. Nous avons également trouvé que les populations introduites étaient chimiquement plus proches des populations louisianaises que celles de Floride, suggérant **l'état de Louisiane comme possible origine des populations introduites**. Cependant la détermination de la signature chimique n'étant pas encore bien connue, il semble nécessaire de vérifier ces résultats à l'aide de marqueurs génétiques. Les résultats de cette étude seront rediscutés dans la partie III « Discussion-Conclusion » (p.211).

**Article 3 : Intraspecific chemical variations within introduced
and native populations of the subterranean termite *R.
flavipes***

Soumis à *Journal of Chemical Ecology*

Perdereau E., Dedeine F., Christidès J.-P. and Bagnères A.-G.

I.R.B.I. CNRS UMR 6035 Université François Rabelais, Faculté des Sciences et
Techniques, Parc de Grandmont, 37200 Tours, France

Abstract

In social insects, cuticular hydrocarbons (CHCs) play a central role for nestmate recognition. These lipid components have also proved to be useful to identify species and differentiate populations. Here, we compared the levels of chemical variations within and between introduced (French) and native populations (North American) of the urban pest termite, *Reticulitermes flavipes*. We analyzed the CHC profiles of workers as well as the soldier defensive secretions (SDSs) from colonies collected in nine populations of Louisiana, Florida and France. Discriminant analyses revealed that both localities and populations can be distinguished on the basis of CHC variations. Principal component analyses of CHC profiles as well as the calculation of two distance parameters (Nei and Euclidean) globally revealed a remarkable chemical homogeneity within and between French populations. Our analyses also showed that the CHC profiles of French populations were more similar to termite populations from Louisiana than Florida. In addition, out of the six distinct SDS chemotypes, one was common to French and Louisiana populations. The possible Louisiana origin of French populations rather than Florida, and the potential causes and consequences of chemical homogeneity within introduced populations are discussed.

Key Words : Invasive species, Cuticular hydrocarbons, Defensive secretions, *R. flavipes*.

Introduction

Many arthropods possess hydrocarbons on the surface of their cuticle (i.e., cuticular hydrocarbons or CHCs). Although the primary function of these lipid components is protection against desiccation (Gibbs et al. 1998), numerous studies have demonstrated that CHCs are also essential in recognition and communication systems of insects (Howard and Blomquist 2005; Blomquist and Bagnères 2010). Furthermore, CHCs have been proved to play a central role in the evolution and cohesion of insect societies (Wilson 1971; Howard 1993). In social insects, colony members typically share a common chemical signature given by the overall proportion of hydrocarbons on the cuticle created by the admixture of individual profiles (Clément and Bagnères 1998; Howard and Blomquist 2005). Consequently, variations in cuticular hydrocarbons have been used to identify species (Howard and Blomquist 1982; Bagnères and Wicker-Thomas 2010) and also differentiate populations (Haverty et al. 1990; Nowbahari et al. 1990).

In termites (Isoptera), CHCs have been studied extensively, in particular with respect to taxonomy (Howard et al. 1982; Bagnères et al. 1990; Kaib et al. 1991; Haverty et al. 1997, 2000; Clément et al. 2001; Page et al. 2002; Uva et al. 2004). Although several studies have suggested a genetic basis for CHC variations (Carlin and Hölldobler 1986; Dronnet et al. 2006; Brandt et al. 2009), other works have shown that environmental factors such as food, temperature and social environment can affected the composition of CHC profiles (Liang and Silverman 2000; Florane et al. 2004; Dronnet et al. 2006; Torres et al. 2007; Vonshak et al. 2009). Despite the fact that the processes underlying the production of chemical signature are poorly understood, their analyses have proved to be effective for termite classification. Qualitative differences in hydrocarbons can reveal variations among termite species, whereas quantitative differences are considered as variations among populations and colonies (Haverty et al. 1997; Page et al. 2002; Bagnères and Wicker-Thomas 2010). CHCs have been used for studying urban pest termites such as the members of the Rhinotermitidae family. For instances, studies of CHCs have helped to clarify the taxonomy of the Asian *Reticulitermes* (Takematsu and Yamaoka 1999), the Australian *Heterotermes* and *Coptotermes* (Watson et al. 1989; Brown et al. 1990), the American *Coptotermes* and *Reticulitermes* (Bagnères et al. 1990;

Haverty et al. 1991, 1996, 1997, 2000) and the European *Reticulitermes* (Clément et al. 2001).

In the Rhinotermitidae and Termitidae families, soldiers have a frontal gland, which secretes defensive compounds (Grassé 1982). The soldier caste is generally known to play a role in colony defense against predators and competitors using the frontal gland secretions (Zalkow et al. 1981; Grassé 1982). Other authors suggested that these gland secretions might also play a role of primer pheromone in *Reticulitermes* termites (Henderson 1998; Tarver et al. 2009). The Soldier Defensive Secretions (SDSs) can be composed of alkanes, aldehydes, ketones, and terpenes and also more complex mixtures (Quintana et al. 2003; Piskorski et al. 2007). They have often been studied in combination with CHC profiles given that the composition differs geographically and among taxa (Bagnères et al. 1990), and have proved to be informative for species identification (Bagnères et al. 1990; Haverty et al. 1996, 1999; Nelson et al. 2001; Clément et al. 2001; Chuah 2005; Nelson et al. 2008; Piskorski et al. 2009).

Using chemical compounds for taxonomy (i.e., chemotaxonomy) constitute an approach that has been widely used and proved valuable in numerous termite species, particularly in the *Reticulitermes* genus. However, less attention has been paid to chemical variations within species, in particular with respect to invasive species (Haverty et al. 1990). The present study aims to analyze both CHCs and SDSs within native and introduced populations of the invasive termite *Reticulitermes flavipes*. This North American species has been introduced and established in other countries such as Canada, Chili, Uruguay as well as France and Germany (Clément et al. 2001; Austin et al. 2002, 2005; Su et al. 2006). For a long time, the introduced populations of France were considered as a European species (named *Reticulitermes santonensis* (Feytaud 1924)), but they are now considered as introduced populations of *R. flavipes* on the basis of a global homology of several mitochondrial and nuclear regions of the genome (Clément et al. 2001; Jenkins et al. 2001; Austin et al. 2002, 2005; Ye et al. 2004; Su et al. 2006). The first correspondence between French and American populations was revealed by chemical similarities using the CHCs and SDSs (Bagnères et al. 1990). This study has showed that one French population possessed CHCs similar to those collected in the state of Georgia (USA), but with some quantitative differences. Although the SDSs of French populations

were clearly different from those of other European species, none of the SDS chemotypes in Georgia population matched those of the French population. Today, preliminary molecular studies showed that southeastern populations of USA are the closest to the French populations (Bagnères 2006; Perdereau et al. 2008).

In this study, we determine and analyze both cuticular hydrocarbons and defensive secretions of soldiers from three introduced populations of France and six native populations of the south of USA. The main objective of this study was (i) to determine whether analyses of chemical variations are able to discriminate various geographical populations and localities, and (ii) to evaluate the degree of chemical similarity and variability between native and introduced populations.

Methods and Materials

Field Collection and Sampling

In USA, we collected samples in Florida and Louisiana since French populations have been hypothesized to originate from these states (unpublished data; Bagnères 2006; Perdereau et al. 2008). In Florida, 3 populations of termites were collected from 12 collection points, 3 in the Blackwater River State Forest, 3 in Wakulla State Forest and 6 in Osceola National Forest. In Louisiana, 3 populations were collected from 16 collections points, 6 in New Orleans, 6 in Jean Lafitte National Historical Park and Preserve and 4 in Baton Rouge. In France, 3 introduced populations were taken from 43 collection points: 20 in the Forêt de Saint Trojan in the south of the Ile d'Oléron (Charente Maritime), 20 in the Forêt d'Olonnes in Vendée and three in Tours (Indre et Loire) (Fig. 1). Termites from the 9 populations were collected from 2006 to 2009. To draw comparisons on a similar scale, the distance separating each population did not exceed 200 km and transects within each population were less than 2 km, except for the Oleron and Olonnes populations which were on a larger scale (4 km). Samples of the nine populations studied were collected from wood fragments or tree stumps in the three localities. At least twenty workers were taken from each collection point. For these 71 samples, the species was determined by morphological and chemical identification

for the French populations and DNA analysis for the American populations as described previously (Clément et al. 2001; Austin et al. 2002).

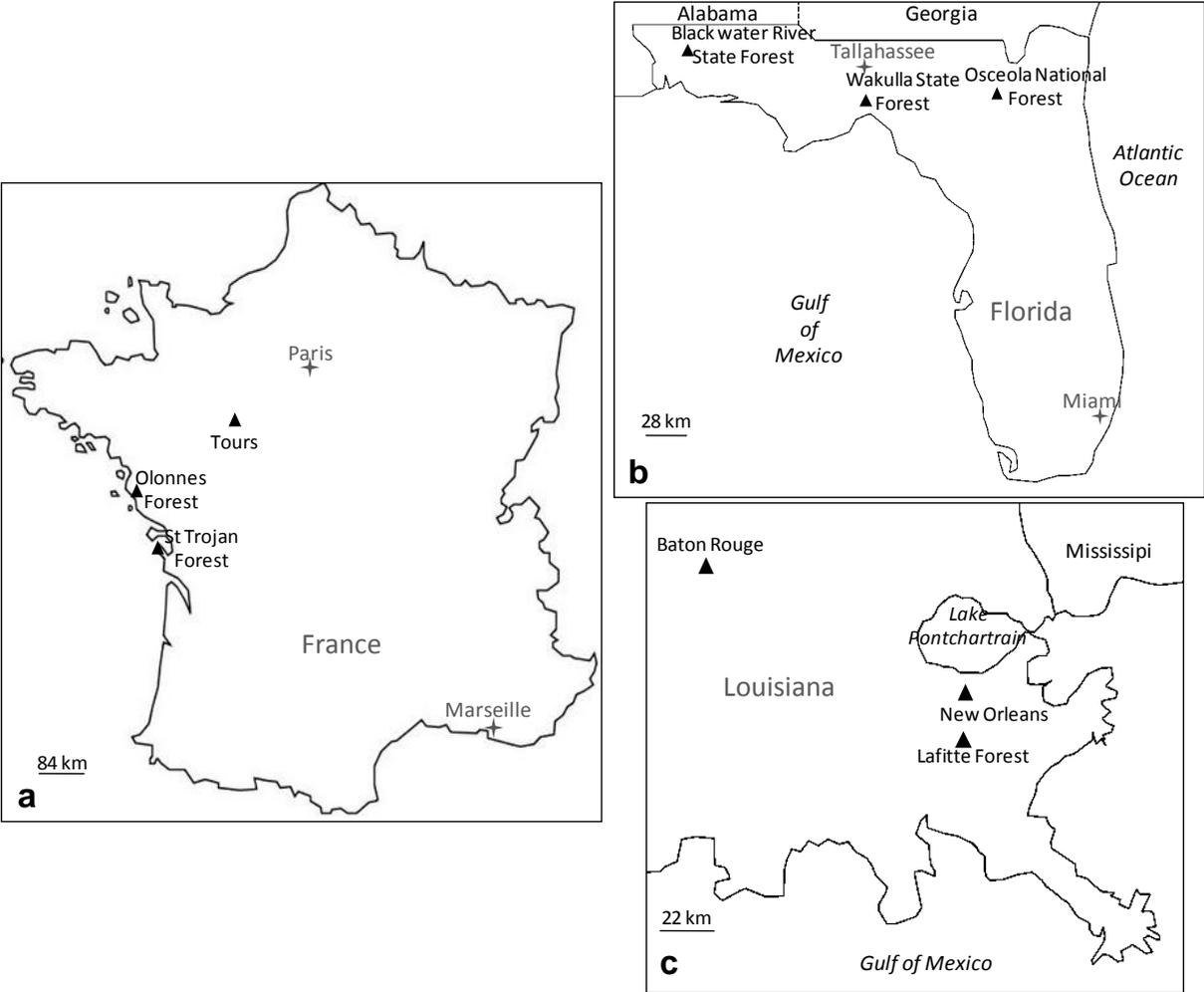


Fig. 1 Site locations of *R. flavipes* populations in France (a), Florida (b) and Louisiana (c).

Analyses of Cuticular Hydrocarbons

Twenty workers per collection point (71 among 12 in Florida, 16 in Louisiana and 43 in France) were pooled for chemical extraction. The CHCs in each pool were extracted using an apolar solvent (hexane or pentane) which is evaporated for the transport and redissolved in laboratory in 200 µl of pentane with 10 µl of 10^{-7} g/ml of *n*-eicosane (*n*-C₂₀) as an internal standard. Samples (2 µl) were analyzed by GC using a Delsi Nermag DN 200 with a flame ionization detector (FID) and a fused silica capillary column CP Sil 5 (WCOT) Chrompack (ID 0.25 mm × 25 m × 0.12 µm). The injection mode was splitless (15 sec) and the carrier gas was helium. The temperature was programmed from 70°C to 150°C at 30°C/min and held at 150°C for 5 min then raised to 320°C at 5°C/min. Compound identification was based on previously reported analyses of CHCs using GC-MS (Howard et al. 1978; Bagnères et al. 1990). The 18 main CHCs present in all individuals were selected: 9-tricosene (*e1*), *x*-tricosene (*e2*), *n*-tricosane (*a3*), 11-methyltricosane (*m4*), 4/2-methyltricosane (*m7*), 9-tetracosene (*e8*), 3-methyltricosane (*m9*), *n*-tetracosane (*a11*), 11-methyltetracosane (*m12*), 5-methyltetracosane (*m14*), 4/2-methyltetracosane (*m16*), 9-pentacosene (*e17*), pentacosadiene (*e18*), *n*-pentacosane (*a19*), 11+13-methyl pentacosane (*m21*), 7,9-pentacosadiene (*n25*), 4/2-methylpentacosane (*m26*), 3-methylpentacosane (*m29*). To analyze the hydrocarbon profiles, the areas of these 18 peaks were integrated using the Galaxie v.1.8.508.1 software (Varian) and the relative proportions of each peak were calculated as described by Bagnères et al. (1990). Discriminant analyses were performed using the Rgui v.2.10.1. software to determine whether predefined groups (i.e. the 3 localities and the 9 populations) could be discriminated on the basis of their chemical profiles. The correct classification of collection points to the respective groups was verified. The same software was used to carry out principal component analysis (PCA) to determine the chemical relationship between the collection points.

The dissimilarity of hydrocarbon profiles between workers from different collection points was quantified by modifying Nei's standard genetic distance (Nei 1987) as previously described (Queller 1993; Dronnet et al. 2006) and by using Euclidean distances. The Nei and Euclidean distances were based on the relative amounts of chemical compounds. For each distance, dissimilarity matrices were constructed for all

possible pairs of collection points from the mean relative areas of the CHC peaks at different levels: within each population, between populations within each locality (France, Florida and Louisiana) and between each pair of localities (France/Florida, France/Louisiana and Florida/Louisiana). Nei and Euclidean distances vary between 0 and 1. 0 indicates that the chemical profiles are identical, whereas 1 indicates that there are no shared compounds. Non-parametric *Kruskal-Wallis tests* were used for multiple independent comparisons of populations, localities and groups of localities. Dunn's multiple comparison tests were carried out to define the specific difference between cuticular compound variations at each level of comparison using XLSTAT v.2009.3.1.

Analyses of Soldier Defensive Secretions

Defensive compounds were extracted from 50 soldiers (13 from France, 17 from Florida and 20 from Louisiana). Because SDSs are volatile compounds, we have used a particular method for their extractions and transports. First, each extraction was performed by plunging one soldier into 20 µl of solvent (pentane or hexane) in a conical glass insert for 2 minutes. Second, each extract was transferred in a Transferpettor cap Sigma Aldrich Inc (4 cm x 0.2 cm) beforehand sealed at one extremity. Third, the glass cap was rapidly flame-sealed on the other extremity to avoid the evaporation of SDSs during the transport to the laboratory. In addition, to check the extraction, two internal standards were used: one added to the empty cap before the extraction (*n*-octodecane) and the second just before injection (humulene). Therefore, two µl of each extract were injected to GC-MS for compound identification. GC-MS analyses were performed using a Hewlett Packard 5890 GC coupled to a Hewlett Packard quadrupole 5889A MS operated in electron impact mode (70 eV). The temperature program ran from 40°C to 200°C at 5°C/min, then increased at a rate of 8°C/min to 320°C. Compounds were identified by comparing the retention time and mass spectra with previous studies on American and French *R. flavipes* soldiers (Zalkow et al. 1981; Bagnères et al. 1990; Nelson et al. 2001). The chemotype of each sample was then determined by the presence or absence of compounds.

Results

Proportions of Cuticular Hydrocarbons in French and American Populations

The relative proportion of each cuticular hydrocarbon was determined for the 71 collection points. No qualitative difference was apparent in the CHC components of workers. All profiles had the same 18 hydrocarbons that had previously been found in *R. flavipes* / *R. santonensis* (Bagnères et al. 1990). However, there were quantitative variations between the collection points.

Discriminant analyses revealed that the relative proportions of a large number of cuticular hydrocarbons discriminated both populations and localities. No single component could be used to separate the nine populations and the three localities as nearly the whole of the chemical signature (72% to 83% of the peaks) was needed. Precisely, the first discriminant analysis performed on relative amounts of the 18 peaks of each collection point discriminated the nine populations significantly. Of these, the relative proportion of 15 compounds (i.e. *e2*, *a3*, *m4*, *m7*, *e8*, *m9*, *a11*, *m12*, *m14*, *e18*, *a19*, *m21*, *n25*, *m26* and *m29*) varied significantly between populations (*Wilks' λ* < 0.05, *F* = 12.254, *df* = 120, 354, *P* < 0.001). The two first principal axes accounted for 76.89% of the overall variance between groups (the first axis accounted for 46.14% and the second for 30.74%). 97.18% of the collection points were correctly classified in the original groups, with only two collection points of the Oléron population assigned to the Olonnes population. The second discriminant analysis performed on the 3 localities distinguished France, Louisiana and Florida significantly (Fig. 2). The discriminant analysis selected 13 peaks (i.e. *e1*, *e2*, *a3*, *e8*, *m9*, *a11*, *m12*, *m14*, *e17*, *e18*, *a19*, *n25* and *m29*), grouping all collection points within the assigned localities (*Wilks' λ* < 0.05, *F* = 37.769, *df* = 24, 114, *P* < 0.001). The two first axes accounted for 100% of the chemical variation between groups, with 70.27% of the variation explained by the first axis and 29.73% by the second axis. 98.59% of the collection points were correctly assigned to the original locality group, with only one collection point in Louisiana being grouped with the French colonies.

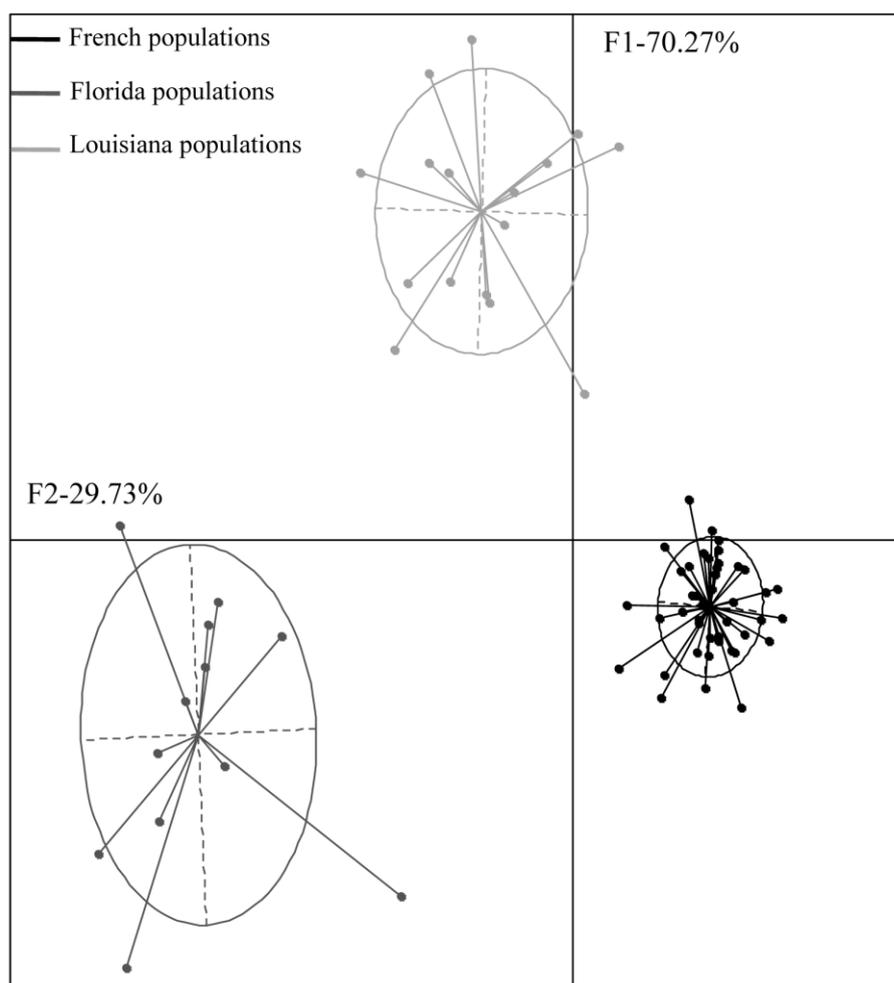
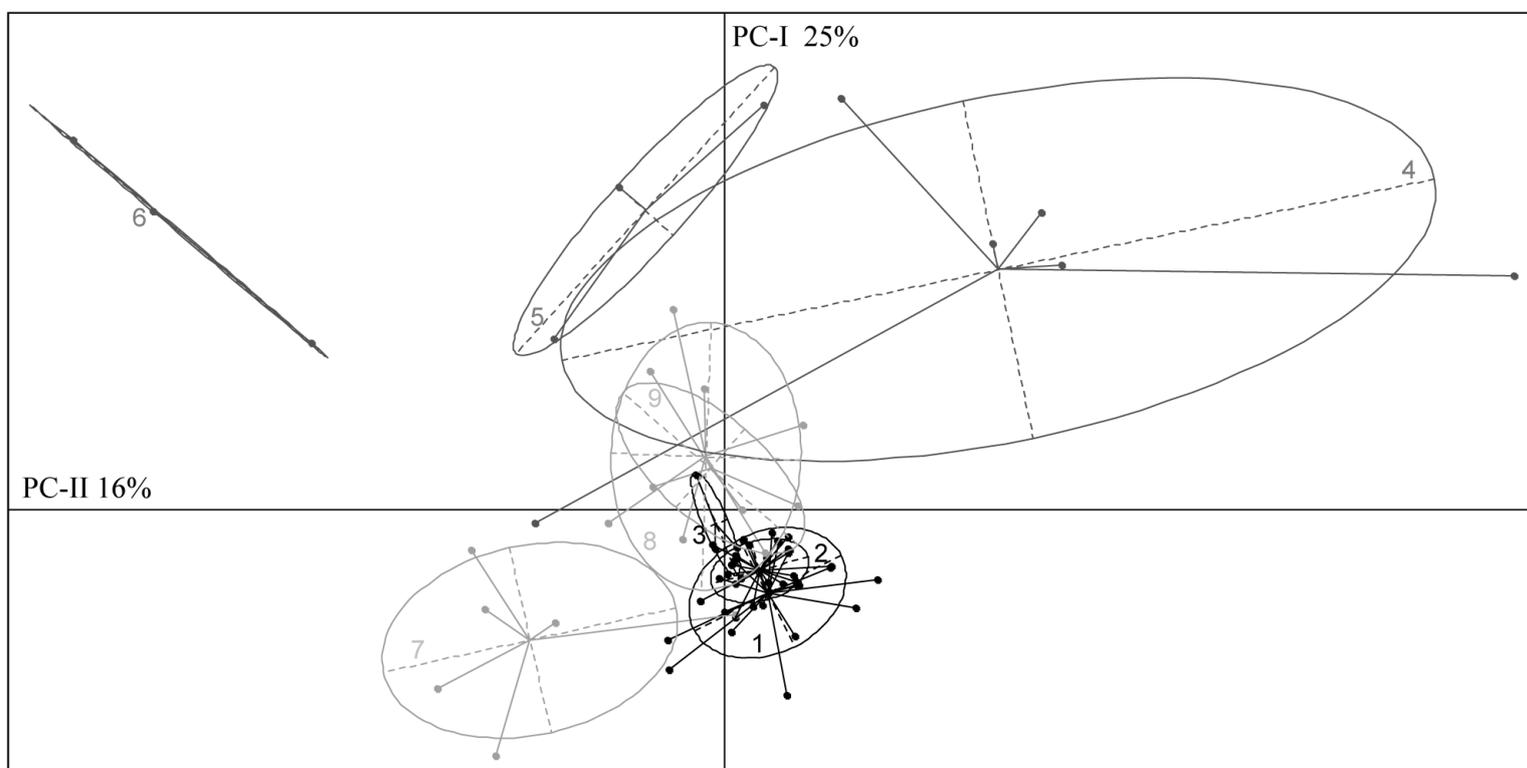


Fig. 2 Chemical differentiation between the three localities (France, Florida and Louisiana) on the two first axes of the discriminant analysis on relative proportions of cuticular hydrocarbons. Axes I and II account for 100% (70.27% and 29.73, respectively) of the total variation between localities.

Principal component analysis of these variations revealed that the first two principal components, PC-I and PC-II, accounted for 41% of the total chemical variation (Fig. 3). The first axis accounted for most of the variation (25%) among Florida and Louisiana populations. The second axis accounted for 16% of the variation, distinguishing the Florida populations from the others. The proportions of CHCs in French populations appeared closer to the three Louisiana populations than the three Florida populations. Chemical variations within and between populations in France appeared lower than in Florida and Louisiana. Although the French populations in St Trojan and in Olonnes covered a greater geographical area than the American populations, their chemical profiles were less variable.



— French populations	— Florida populations	— Louisiana populations
1 Oleron population	4 Osceola population	7 New Orleans population
2 Olonnes population	5 Wakulla population	8 Lafitte population
3 Tours population	6 Black River population	9 Baton Rouge population

Fig. 3 Plot of the two first axes of the principal component analysis of introduced French populations and native American populations using the proportion of cuticular hydrocarbons. Ellipses represent each population from France, Florida and Louisiana.

Chemical Dissimilarity Distances

The chemical dissimilarity distances (Euclidean and Nei) within populations, between populations within localities and between pairs of localities were calculated and are shown in Table 1. Non-parametric tests used to compare the chemical dissimilarity distances showed similar results for the Euclidean and Nei distances. The chemical distance within each population (Table 1a) was similar for all the populations except for the Olonnes population which had a low variability in the CHC composition (Kruskal-Wallis test, $P < 0.0001$; Dunn's procedures for Olonnes-Oleron, $P < 0.001$; Olonnes-Osceola, $P < 0.001$; Olonnes-Black River, $P < 0.05$; Olonnes-Wakulla, $P < 0.05$; Olonnes-New Orleans, $P < 0.001$; Olonnes-Lafitte, $P < 0.001$), although it was similar to the chemical distances within the Tours and Baton Rouge populations. The chemical dissimilarity distances, both Euclidean and Nei distances, between populations within localities were extremely significant (Table 1b). The chemical distances between French populations were significantly less than those observed between populations in Florida and Louisiana (Kruskal-Wallis test, $P < 0.0001$; Dunn's procedures for France-Florida, $P < 0.001$, France-Louisiana, $P < 0.001$). Similarly, the chemical distances between the Louisiana populations were significantly smaller than those observed between the Florida populations (Kruskal-Wallis test, $P < 0.0001$; Dunn's procedure, $P < 0.001$). The chemical distance between localities (Table 1c) showed that the distance between French and Louisiana was not significantly different from that between the French and Florida localities (Kruskal-Wallis test, $P < 0.0001$, Dunn's procedure, $P > 0.05$). The chemical distance between the Florida and Louisiana localities was significantly greater than those between the French and Florida localities and the French and Louisiana localities (Kruskal-Wallis test, $P < 0.0001$, Dunn's procedures for Florida/Louisiana vs France/Florida, $P < 0.001$; Florida/Louisiana vs France/Louisiana, $P < 0.001$).

Table 1 Statistics (mean \pm SE) of chemical distances and comparisons within populations (table a), between populations (table b) and between localities (table c)

(a)

Populations	Chemical distances within populations ^a	
	Euclidean	Nei
Oleron	0.074 \pm 0.038 (b)	0.025 \pm 0.025 (b)
Olonnes	0.039 \pm 0.017 (a)	0.007 \pm 0.006 (a)
Tours	0.036 \pm 0.015 (a,b)	0.005 \pm 0.004 (a,b)
Osceola	0.193 \pm 0.136 (b)	0.125 \pm 0.013 (b)
Black river	0.131 \pm 0.031 (b)	0.051 \pm 0.016 (b)
Wakulla	0.120 \pm 0.016 (b)	0.05 \pm 0.015 (b)
New Orleans	0.098 \pm 0.033 (b)	0.041 \pm 0.027 (b)
Lafitte	0.104 \pm 0.065 (b)	0.060 \pm 0.066 (b)
Baton Rouge	0.062 \pm 0.011 (a,b)	0.015 \pm 0.005 (a,b)

(b)

Locality	Chemical distances between populations ^a	
	Euclidean	Nei
France	0.065 \pm 0.033 (a)	0.018 \pm 0.019 (a)
Florida	0.200 \pm 0.116 (b)	0.141 \pm 0.132 (b)
Louisiana	0.105 \pm 0.052 (c)	0.054 \pm 0.055 (c)

(c)

Pair of localities	Chemical distances between localities ^a	
	Euclidean	Nei
France/Florida	0.093 \pm 0.067 (a)	0.049 \pm 0.071 (a)
France/Louisiana	0.087 \pm 0.047 (a)	0.039 \pm 0.047 (a)
Florida/Louisiana	0.158 \pm 0.093 (b)	0.102 \pm 0.100 (b)

^aComparisons performed using nonparametric Kruskal-Wallis tests followed by Dunn procedures (different letters inside the parentheses indicate significant differences)

Soldier Defensive Secretions

Six compounds were identified for overall of SDSs analyzed: α -pinene, β -pinene, limonene, γ -cadinene, aldehyde cadinene and geranyl linalool. These compounds were the same of the ones found in previous studies (Zalkow et al. 1981; Bagnères et al. 1990; Nelson et al. 2001). Qualitative analyses of the SDSs on the basis of the presence/absence of peaks revealed 6 chemotypes, three of which were different from those found by Bagnères et al. (1990) (Table 2, chemotype a, e and f). γ -cadinene, aldehyde cadinene and geranyl linalool were present or absent in the various chemotypes but the monoterpene compounds (α -pinene, β -pinene and limonene) were always present. Two chemotypes were found in the French populations, one of which had already been reported (Bagnères et al. 1990; Quintana et al. 2003) with the monoterpenes and the geranyl linalool (Table 2 chemotype b) and the second, the most common in our samples, not previously reported, was composed only of monoterpenes (Table 2 chemotype a). Two chemotypes were observed in Florida and 4 in Louisiana. One chemotype (chemotype a) was common in France and in Louisiana, but none between France and Florida.

Table 2 Defensive compound phenotypes of *R. flavipes* within each locality

		Defensive secretion compounds of soldiers					
Localities	Number of soldiers	α -pinene	β -pinene	limonene	γ -cadinene	aldehyde cadinene	geranyl linalool
France							
chemotype a	10	X	X	X	-	-	-
chemotype b	3	X	X	X	-	-	X
Florida							
chemotype c	15	X	X	X	X	X	-
chemotype d	2	X	X	X	X	X	X
Louisiana							
chemotype a	11	X	X	X	-	-	-
chemotype c	6	X	X	X	X	X	-
chemotype e	2	X	X	X	X	-	-
chemotype f	1	X	X	X	-	X	-

Discussion

Our study showed that CHCs provide a useful marker for discriminating termite populations, since our results allowed us to discriminate localities and populations within *R. flavipes* species. CHC proportions appear to be useful markers for distinguishing the various populations by determining the similarity within each geographical scale.

One of major results of this study was the unexpected chemical homogeneity observed within introduced populations relatively to the chemical variations within native populations. Even though chemical distances within populations were not significantly lower in France than in North America, principal component analysis showed a less divergence between collection point profiles for each of the introduced populations, compared to the populations within Florida and Louisiana. This result is made more significant by the fact that the comparison was drawn using a similar geographical scale within populations, except for two French populations which had a wider area. The remarkable hydrocarbon homogeneity observed within the introduced populations of *R. flavipes* compared to native populations has already been detected in other introduced social insects. Recent researches have revealed a similar change in CHC profiles within introduced ants, *L. humile* (Brandt et al. 2009) and *W. auropunctata* (Errard et al. 2005). These two studies showed that the CHC profiles of ants from native populations were diverse while the profiles of ants from various localities in introduced populations were uniform. This suggests that the introduction event into a new environment may be the cause of the reduced chemical variability of introduced populations. It is possible that, similarly to the introduced ant hypotheses, the reduced variability of recognition cues observed in introduced populations of *R. flavipes* is due to a reduction of genetic diversity through a genetic bottleneck (Tsutsui et al. 2000) or a selective process for the less common alleles of recognition (Giraud et al. 2002).

In all cases, the chemical homogeneity occurring in introduced populations of *R. flavipes* could explain two particular characteristics of the social organization in its French range. The first characteristic is the absence of aggression between colonies, which is constantly observed in French populations of *R. flavipes* (Clément 1978, 1986; Clément

and Bagnères 1998). It is generally considered that cuticular hydrocarbons have an important role in conspecific and colony member recognition (Clément and Bagnères 1998; Blomquist and Bagnères 2010). Thus, a low variability of chemical signature within introduced populations of *R. flavipes* could induce the recognition of non-nestmates as nestmates, and therefore generating a lack of intraspecific aggression. The second characteristic is the important capacity to merge between separate colonies detected within one of the introduced French populations of *R. flavipes* studied (the Oleron population) (Perdereau et al. 2008). One of characteristics seeming essential to colony fusion was the absence of intraspecific aggression between individuals of the two parental colonies. These results on CHC homogeneity in *R. flavipes* could be at the origin of the particular characteristics of introduced populations: the lack of intraspecific aggression and, indirectly, the high rate of colony fusion within introduced populations. This study also revealed that CHC profiles significantly differ among American populations, whereas the three French populations exhibit similar CHC profiles. One possible explanation for this general pattern is that the three French populations would all derive from a single original source population. This hypothesis is supported by several phylogeographic studies performed on *Reticulitermes* species, which revealed that the information based on CHC profiles is often consistent with the information obtained with DNA markers (Jenkins et al. 2000; Clément et al. 2001; Copren et al. 2005; Austin et al. 2007). Another explanation which cannot be excluded is that the new habitat in France could present more similar ecological factors, which would have determined the homogenous CHC profiles in all French populations of *R. flavipes*. However, although studies revealed that food, temperature and social environment can affected the composition of CHC profiles (Liang and Silverman 2000; Florane et al. 2004; Dronnet et al. 2006; Torres et al. 2007; Vonshak et al. 2009), we consider this second hypothesis as unlikely to explain our result at this large scale. Phylogeographic studies are now needed to test if the French populations have been founded from one or a few North American source population(s).

Interestingly, concerning the source of the three introduced populations, results based both on CHC profiles and on SDS chemotypes suggest that Louisiana rather than Florida could be the geographical origin of the French populations analyzed. The principal component analysis showed that the CHC profiles of the three populations of Louisiana

were closer to the chemical profiles of the three French populations than those in Florida. The analyses of SDSs showed, for the first time, a similar chemotype in the native and introduced ranges. This chemotype, not previously reported, is composed only of monoterpenes and is detected in France and in Louisiana. The hypothesis that French populations came from of Louisiana also appeared plausible from an historical point of view. During the 17^e and the 18^e century, Louisiana belonged to the “New France” and New Orleans was the main port of exchanges. So, during the different transports per boat of agricultural and forestry productions, the populations of *R. flavipes* would have been accidentally exported toward the France. Interestingly, the first invasion of termite in France was described in two major ports known for their historical implication in the international transports (Rochefort and La Rochelle ports) (Bobe-Moreau 1843; Quatrefages 1853).

The absence of γ -cadinene and aldehyde cadinene compounds in the SDS chemotypes in France raises questions about the caste differentiation system within introduced populations. Little is known about the caste regulation process in termites but the important role of the juvenile hormone in regulating the soldier caste has been demonstrated (Miura 2001; Scharf et al. 2003; Park and Raina 2004). It has been also suggested that SDSs may play a role in the regulation of worker differentiation to soldiers (Henderson 1998). Recent research has revealed that two compounds of SDSs in *R. flavipes*, the γ -cadinene and the γ -aldehyde cadinene, acted in synergy with the juvenile hormone in inducing differentiation of workers in soldiers (Tarver et al. 2009). Thus, the absence of these defensive compounds observed in introduced populations may have disrupted soldier caste differentiation. The juvenile hormone is also thought to play a role in the secondary reproductive differentiation (Elliott and Stay 2007, 2008; Leniaud 2008). Interestingly, in French populations, all colonies exhibited an unexplained high proportion of active secondary reproductives (Vieau 2001; Dronnet et al. 2005). The absence of the two sesquiterpenes (γ -cadinene and aldehyde cadinene) could be one of the causes of the larger proportion of secondary reproductives. By the lack of these two compounds, the differentiation of workers into soldiers could be disadvantaged toward the differentiation into secondary reproductives.

This study illustrates that hydrocarbons can be useful to discriminate different populations of a *Reticulitermes* species. CHCs threw interesting light on the possible origin of introduced French *R. flavipes* populations and on the history and routes of invasion. The cuticular hydrocarbon homogeneity observed within introduced populations seems to be related to particular biological characteristics of introduced populations. Further studies should be carried out into CHC variations correlated with intraspecific aggression.

Acknowledgment

We wish to thank Simon Dupont for his help in collecting samples of *R. flavipes* in France, Ed Vargo and Claudia Husseneder for their help in collecting samples in Louisiana (USA), Michael Scharf and Nan-Yao Su's team for collecting samples in Florida (USA), and Tony Tebby for the English polishing. This work is part of the PhD thesis of E. Perdereau.

References

- AUSTIN, J. W., SZALANSKI, A. L., UVA, P., BAGNERES, A. G. and KENCE, A. 2002. A comparative genetic analysis of the subterranean termite genus *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 95(6):753-760.
- AUSTIN, J. W., SZALANSKI, A. L., SCHEFFRAHN, R. H., MESSENGER, M. T., DRONNET, S. and BAGNERES, A. G. 2005. Genetic evidence for the synonymy of two *Reticulitermes* species: *Reticulitermes flavipes* and *Reticulitermes santonensis*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 98(3):395-401.
- AUSTIN, J. W., BAGNERES, A. G., SZALANSKI, A. L., SCHEFFRAHN, R. H., HEINTSCHEL, B. P., MESSENGER, M. T., CLEMENT, J. L. and GOLD, R. E. 2007. *Reticulitermes malletei* (Isoptera : Rhinotermitidae): a valid nearctic subterranean termite from eastern North America. *Zootaxa* (1554):1-26.
- BAGNÈRES, A.-G., CLÉMENT, J.-C., BLUM, M. S., SEVERSON, R. F., JOULIE, C. and LANGE, C. 1990. Cuticular hydrocarbons and defensive compounds of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *R. santonensis* (Feytaud): polymorphism and chemotaxonomy. *J. Chem. Ecol.* 16(12):3213-3244.
- BAGNÈRES, A.-G. 2006. Recent data on termite invasion and infestation in Western Europe. Proceedings of National Conference on Urban Entomology, Raleigh.
- BAGNÈRES, A.-G. and WICKER-THOMAS, C. 2010. Chemical taxonomy with hydrocarbons, pp. 121-162, in G.J. Blomquist and A.-G. Bagnères (eds). *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology*. Cambridge University Press: Cambridge UK.
- BLOMQUIST, G. J. and BAGNÈRES, A.-G. 2010. *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry, and Chemical Ecology*. 528 p. Cambridge: Cambridge University Press.
- BOBE-MOREAU, J. 1843. Mémoire sur les Termites observés à Rochefort et dans divers autres lieux du département de la Charente-Inférieure. Saintes.
- BRANDT, M., VAN WILGENBURG, E. and TSUTSUI, N. D. 2009. Global-scale analyses of chemical ecology and population genetics in the invasive Argentine ant. *Mol. Ecol.* 18(5):997-1005.
- BROWN, W. V., WATSON, J. A. L., CARTER, F. L., LACEY, M. J., BARETT, R. A. and MCDANIEL, C. A. 1990. Preliminary examination of cuticular hydrocarbons of worker termites as chemotaxonomic characters for some Australian species of *Coptotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* 16:305-328.
- CARLIN, N. F. and HÖLLDOBLER, B. 1986. The kin recognition system of carpenter ants (*Camponotus* spp.) I. Hierarchical cues in small colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 19:123-134.
- CHUAH, C. H. 2005. Interspecific variation in defense secretions of Malaysian termites from the genus *Bulbitermes*. *J. Chem. Ecol.* 31(4):819-827.
- CLÉMENT, J.-L. 1978. L'agression interspécifique et intraspécifique des espèces françaises du genre *Reticulitermes* (Isoptère). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris* 286(D):351-354.
- CLÉMENT, J.-L. 1986. Open and closed societies in *Reticulitermes* termites (Isoptera, Rhinotermitidae): geographic and seasonal variations. *Sociobiology* 11(3):311-323.
- CLÉMENT, J.-L. and BAGNÈRES, A.-G. 1998. Nestmate recognition in termites. In: Vander Meer RK, Breed MD, Espelie KE, Winston ML, editors. *Pheromone Communication in Social Insects. Ants, Wasps, Bees, and Termites*: Westview Press. p 126-155.
- CLÉMENT, J.-L., BAGNÈRES, A.-G., UVA, P., WILFERT, L., QUINTANA, A., REINHARD, J. and DRONNET, S. 2001. Biosystematics of *Reticulitermes* termites in Europe: morphological, chemical and molecular data. *Insectes Soc.* 48:202-215.
- COPREN, K. A., NELSON, L. J., VARGO, E. L. and HAVERTY, M. I. 2005. Phylogenetic analyses of mtDNA sequences corroborate taxonomic designations based on cuticular hydrocarbons in subterranean termites. *Mol. Phylogenet. Evol.* 35(3):689-700.
- DRONNET, S., CHAPUISAT, M., VARGO, E. L., LOHOU, C. and BAGNERES, A. G. 2005. Genetic analysis of the breeding system of an invasive subterranean termite, *Reticulitermes santonensis*, in urban and natural habitats. *Mol. Ecol.* 14(5):1311-1320.
- DRONNET, S., LOHOU, C., CHRISTIDES, J.-P. and BAGNÈRES, A.-G. 2006. Cuticular hydrocarbon composition reflects genetic relationship among colonies of the introduced termite *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *J. Chem. Ecol.* 32(5):1027-1042.
- ELLIOTT, K. L. and STAY, B. 2007. Juvenile hormone synthesis as related to egg development in neotenic reproductives of the termite *Reticulitermes flavipes*, with observations on urates in the fat body. *Gen. Comp. Endocrinol.* 152(1):102-110.
- ELLIOTT, K. L. and STAY, B. 2008. Changes in juvenile hormone synthesis in the termite *Reticulitermes flavipes* during development of soldiers and neotenic reproductives from groups of isolated workers. *J. Insect Physiol.* 54(2):492-500.

- ERRARD, C., DELABIE, J., JOURDAN, H. and HEFETZ, A. 2005. Intercontinental chemical variation in the invasive ant *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera Formicidae): a key to the invasive success of a tramp species. *Naturwissenschaften* 92(7):319-323.
- FEYTAUD, D. J. 1924. Le termite de Saintonge. *Compte-Rendus de l'Académie des Sciences* 171:203-205.
- FLORANE, C. B., BLAND, J. M., HUSSENER, C. and RAINA, A. K. 2004. Diet-mediated inter-colonial aggression in the Formosan subterranean termite *Coptotermes formosanus*. *J. Chem. Ecol.* 30(12):2559-2574.
- GIBBS, A. G., LOUIE, A. K. and AYALA, J. A. 1998. Effects of temperature on cuticular lipids and water balance in a desert *Drosophila*: Is thermal acclimation beneficial? *J. Exp. Biol.* 201(1):71-80.
- GIRAUD, T., PEDERSEN, J. S. and KELLER, L. 2002. Evolution of supercolonies: The Argentine ants of southern Europe. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99:6075-6079.
- GRASSÉ, P. P. 1982. *Termitologia*. Paris: Masson.
- HAVERTY, M. I., NELSON, L. J. and PAGE, M. 1990. Cuticular Hydrocarbons of 4 populations of *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera, Rhinotermitidae) in the United-States - Similarities and origins of introductions. *J. Chem. Ecol.* 16(5):1635-1647.
- HAVERTY, M. I., NELSON, L. J. and PAGE, R. E. 1991. Preliminary investigations of the cuticular hydrocarbons from North American *Reticulitermes* and Tropical and Subtropical *Coptotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) for chemotaxonomic studies. *Sociobiology* 19:51-76.
- HAVERTY, M. I., GRACE, J. K., NELSON, L. J. and YAMAMOTO, R. T. 1996. Intercaste, intercolony, and temporal variation in cuticular hydrocarbons of *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Chem. Ecol.* 22:1813-1834.
- HAVERTY, M. I., COLLINS, M. S., NELSON, L. J. and THORNE, B. L. 1997. Cuticular hydrocarbons of termites of the British Virgin Islands. *J. Chem. Ecol.* 23(4):927-964.
- HAVERTY, M. I., GETTY, G. M., COPREN, K. A. and LEWIS, V. R. 1999. Seasonal foraging and feeding behavior of *Reticulitermes* spp. (Isoptera: Rhinotermitidae) in a wildland and a residential location in Northern California. *Environ. Entomol.* 28(6):1077-1084.
- HAVERTY, M. I., WOODROW, R. J., NELSON, L. J. and GRACE, J. K. 2000. Cuticular hydrocarbons of termites of the Hawaiian Islands. *J. Chem. Ecol.* 26(5):1167-1191.
- HENDERSON, G. 1998. Primer pheromones and possible soldier caste influence on the evolution of sociality in lower termites, pp. 314-330, in R.K. Vander Meer, M.D. Breed, M.L. Winston and K.E. Espelie (eds). *Pheromone communication in social insects: Ants, wasps, bees and termites*. Westview Press.
- HOWARD, K. J., MCDANIEL, C. A. and BLOMQUIST, G. J. 1978. Cuticular hydrocarbons of the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes* (Kollar) (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Chem. Ecol.* 4:233-245.
- HOWARD, R. W. and BLOMQUIST, G. J. 1982. Chemical ecology and biochemistry of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.* 27:149-172.
- HOWARD, R. W., MCDANIELS, C. A., NELSON, D. R., BLOMQUIST, G. J., GELBAUM, L. T. and ZALKOW, L. H. 1982. Cuticular hydrocarbons of *Reticulitermes virginicus* (Banks) and their role as potential species and caste recognition cues. *J. Chem. Ecol.* 8:1227-1239.
- HOWARD, R. W. 1993. Cuticular hydrocarbons and chemical communication, pp. 179-226, in D.W. Stanley-Samuels, D.R. Nelson, (eds). *Insect lipids: chemistry, biochemistry and biology*: University of Nebraska Press.
- HOWARD, R. W. and BLOMQUIST, G. J. 2005. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.* 50:371-393.
- JENKINS, T. M., HAVERTY, M. I., BASTEN, C. J., NELSON, L. J., PAGE, M. and FORSCHLER, B. T. 2000. Correlation of mitochondrial haplotypes with cuticular hydrocarbon phenotypes of sympatric *Reticulitermes* species from the southeastern United States. *J. Chem. Ecol.* 26(6):1525-1542.
- JENKINS, T. M., DEAN, R. E., VERKERK, R. and FORSCHLER, B. 2001. Phylogenetic analyses of two mitochondrial genes and one nuclear intron region illuminate European subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae) gene flow, taxonomy, and introduction dynamics. *Mol. Phylogenet. Evol.* 20(2):286-293.
- KAIB, M., BRANDL, R. and BAGINE, R. K. N. 1991. Cuticular hydrocarbon profiles: a valuable tool in termite taxonomy. *Naturwissenschaften* 78:176-179.
- LENIAUD, L. 2008. Potentialités ontogéniques, différenciation des castes et conséquences sur la structure génétique des termites du genre *Reticulitermes*. PhD Dissertation. University François Rabelais, Tours, 193 p.

- LIANG, D. and SILVERMAN, J. 2000. "You are what you eat": Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften* 87(9):412-416.
- MIURA, T. 2001. Morphogenesis and gene expression in the soldier-caste differentiation of termites. *Insectes Soc.* 48:216-223.
- NEI, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New-York.
- NELSON, L. J., COOL, L. G., FORSCHLER, B. T. and HAVERTY, M. I. 2001. Correspondence of soldier defense secretion mixtures with cuticular hydrocarbon phenotypes for chemotaxonomy of the termite genus *Reticulitermes* in North America. *J. Chem. Ecol.* 27(7):1449-1479.
- NELSON, L. J., COOL, L. G., SOLEK, C. W. and HAVERTY, M. I. 2008. Cuticular Hydrocarbons and soldier defense secretions of *Reticulitermes* in Southern California: A critical analysis of the taxonomy of the genus in North America. *J. Chem. Ecol.* 34(11):1452-1475.
- NOWBAHARI, E., LENOIR, A., CLEMENT, J. L., LANGE, C., BAGNERES, A. G. and JOULIE, C. 1990. Individual, geographical and experimental variation of cuticular hydrocarbons of the ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera, Formicidae) - Their use in nest and subspecies recognition. *Biochem. Syst. Ecol.* 18(1):63-73.
- PAGE, M., NELSON, L. J., FORSCHLER, B. T. and HAVERTY, M. I. 2002. Cuticular hydrocarbons suggest three lineages in *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) from North America. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 131(3):305-324.
- PARK, Y. I. and RAINA, A. K. 2004. Juvenile hormone III titers and regulation of soldier caste in *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Insect Physiol.* 50(6):561-566.
- PERDEREAU, E., DEDEINE, F., DUPONT, S., CHRISTIDÈS, J.-P. and BAGNÈRES, A.-G. 2008. Origin, establishment and expansion strategies of an American termite introduced in France. Proc. European conference of the International Union for the Study of Social Insects, Belgium.
- PISKORSKI, R., HANUS, R., VASICKOVA, S., CVACKA, J., SOBOTNIK, J., SVATOS, A. and VALTEROVA, I. 2007. Nitroalkenes and sesquiterpene hydrocarbons from the frontal gland of three *Prorhinotermes* termite species. *J. Chem. Ecol.* 33(9):1787-1794.
- PISKORSKI, R., HANUS, R., KALINOVA, B., VALTEROVA, I., KRECEK, J., BOURGUIGNON, T., ROISIN, Y. and SOBOTNIK, J. 2009. Temporal and geographic variations in the morphology and chemical composition of the frontal gland in imagoes of *Prorhinotermes* species (Isoptera: Rhinotermitidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 98(2):384-392.
- QUATREFAGES, A. D. 1853. Note sur les termites de La Rochelle. *Annales de la Société Zoologique* 30:16.
- QUELLER, D. C. 1993. Genetic relatedness and its components in polygynous colonies of social insects, pp. 132-151, in L. Keller (ed). Queen number and sociality in insects. Oxford University Press, Oxford.
- QUINTANA, A., REINHARD, J., FAURE, R., UVA, P., BAGNÈRES, A. G., MASSIOT, G. and CLÉMENT, J. L. 2003. Interspecific variation in terpenoid composition of defensive secretions of European *Reticulitermes* termites. *J. Chem. Ecol.* 29(3):639-652.
- SCHARF, M. E., RATLIFF, C. R., HOTELING, J. T., PITTENDRIGH, B. R. and BENNETT, G. W. 2003. Caste differentiation responses of two sympatric *Reticulitermes* termite species to juvenile hormone homologs and synthetic juvenoids in two laboratory assays. *Insectes Soc.* 50(4):346-354.
- SU, N. Y., YE, W. M., RIPA, R., SCHEFFRAHN, R. H. and GIBLIN-DAVIS, R. M. 2006. Identification of Chilean *Reticulitermes* (Isoptera : Rhinotermitidae) inferred from three mitochondrial gene DNA sequences and soldier morphology. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99(2):352-363.
- TAKEMATSU, Y. and YAMAOKA, R. 1999. Cuticular hydrocarbons of *Reticulitermes* (Isoptera : Rhinotermitidae) in Japan and neighboring countries as chemotaxonomic characters. *Appl. Entomol. Zool.* 34(1):179-188.
- TARVER, M. R., SCHMELZ, E. A., ROCCA, J. R. and SCHARF, M. E. 2009. Effects of soldier-derived terpenes on soldier caste differentiation in the termite *Reticulitermes flavipes*. *J. Chem. Ecol.* 35(2):256-264.
- TORRES, C. W., BRANDT, M. and TSUTSUI, N. D. 2007. The role of cuticular hydrocarbons as chemical cues for nestmate recognition in the invasive Argentine ant (*Linepithema humile*). *Insectes Soc.* 54(4):363-373.
- TSUTSUI, N. D., SUAREZ, A. V., HOLWAY, D. A. and CASE, T. J. 2000. Reduced genetic variation in the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* 97:5948-5953.
- UVA, P., CLÉMENT, J.-L. and BAGNÈRES, A.-G. 2004. Colonial and geographical variations in agonistic behaviour, cuticular hydrocarbons and mtDNA of Italian populations of *Reticulitermes lucifugus* (Isoptera, Rhinotermitidae). *Insectes Soc.* 51:163-170.
- VIEAU, F. 2001. Comparison of the spatial distribution and reproductive cycle of *Reticulitermes santonensis* Feytaud and *Reticulitermes lucifugus grassei* Clément (Isoptera, Rhinotermitidae) suggests that they represent introduced and native species, respectively. *Insectes Soc.* 48:57-62.

- VONSHAK, M., DAYAN, T., FOUCAUD, J., ESTOUP, A. and HEFETZ, A. 2009. The interplay between genetic and environmental effects on colony insularity in the clonal invasive little fire ant *Wasmannia auropunctata*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 63(11):1667-1677.
- WATSON, J. A., BROWN, W. V., MILLER, L. R., CARTER, F. L. and LACEY, M. J. 1989. Taxonomy of *Heterotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) in south-eastern Australia: cuticular hydrocarbons of workers, and soldier and alate morphology. *Syst. Entomol.* 14:299-325.
- WILSON, E. O. 1971. The insect societies. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 548 p.
- YE, W., LEE, C.-Y., SCHEFFRAHN, R. H., ALEONG, J. M., SU, N.-Y., BENNETT, G. W. and SCHARF, M. E. 2004. Phylogenetic relationships of nearctic *Reticulitermes* species (Isoptera: Rhinotermitidae) with particular reference to *Reticulitermes arenicola* Goellner. *Mol. Phylogenet. Evol.* 30(3):815-822.
- ZALKOW, L. H., HOWARD, K. J., GELBAUM, L. T., GORDON, D. M., DEUTSCH, H. M. and BLUM, M. 1981. Chemical ecology of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *R. virginicus* (Banks) (Rhinotermitidae): Chemistry of the soldier cephalic secretions. *J. Chem. Ecol.* 7:717-731.

**Etude 4 : Analyse phylogéographique des
populations natives et introduites de *R.*
*flavipes***



Synthèse de l'article 4

Introduction

La reconstruction des routes d'invasion est primordiale pour deux raisons majeures : en premier lieu, connaître l'origine géographique d'une espèce invasive permet de mettre en place une prévention adéquate pour éviter d'autres introductions, la seconde raison est de comprendre l'origine et les conséquences génétiques des populations introduites. En localisant les populations sources, il est alors possible de comparer les populations introduites des natives, de connaître l'écologie des populations natives (entre autres les ennemis naturels et les conditions environnementales) et ainsi de déterminer les mécanismes qui ont favorisé l'invasion dans leur environnement (Ahrens et al. 2005, Facon et al. 2006). Ainsi, **pour avoir une bonne compréhension des mécanismes ayant permis le succès de *R. flavipes* dans l'aire d'introduction, nous avons cherché à localiser les populations sources.**

Les résultats de l'article 3 ont montré que les populations introduites étaient chimiquement (HCs et composés défensifs des soldats) plus proches des populations de Louisiane que de celles de Floride. Cependant, l'étude des hydrocarbures fournit de façon indirecte des informations d'ordre génétique mais également environnementales, leur utilisation en phylogénie ne semble pas être complètement appropriée. Ainsi, une étude utilisant des marqueurs génétiques semble nécessaire.

Pour identifier l'origine de l'invasion de *R. flavipes* en France, nous avons donc effectué une étude phylogéographique à l'aide du marqueur mitochondrial COII et de 15 loci microsatellites. Le choix de la région mitochondriale COII a été fait sur le constat qu'il s'est plusieurs fois révélé informatif chez les *Reticulitermes* (Jenkins et al. 2001, Austin et al. 2002, Kutnik et al. 2004, Ye et al. 2004). Pour cette étude, de nombreux échantillons des populations aux USA, l'aire d'origine, nous ont été envoyés par différents collaborateurs. Rappelons que la distribution naturelle du termite américain *R. flavipes* s'étend du Texas à l'Iowa dans l'Ouest et de la Floride au Massachussets dans l'Est. Au cours de ma thèse, un effort d'échantillonnage plus important a été effectué au niveau de l'état de Floride (Avril 2008) et de Louisiane (Mars 2009). En ce qui concerne les populations introduites, elles ont été collectées en grande majorité en France.

Résultats

Néanmoins, des individus d'Hambourg (Allemagne) et du Chili nous ont été envoyés (respectivement par U. Noldt et A. Cammousseight). L'étude chimique de ces individus a montré des profils d'HCs proches des populations françaises et le même phénotype des composés défensifs des soldats (Clément et al. 2001). Nous avons également eu l'opportunité d'acquiescer un échantillon d'Autriche datant de 1858 (Hagen). Cet échantillon est particulier car les populations de *R. flavipes* ont été éradiquées dans ce pays il y a fort longtemps et qu'il représente un individu de la même population que celui ayant permis la première description de *R. flavipes* faite par Kollar (1837). En effet, 20 ans après Kollar, le scientifique Hagen a confirmé que les individus introduits à Vienne, dans les serres du château de Schönbrunn, étaient véritablement des termites de l'espèce *R. flavipes* originaire des USA (Hagen 1858). Dans cette étude, nous avons également utilisé des séquences de genbank de *R. flavipes* provenant des Bahamas et de Californie, du Canada et d'Uruguay (Su et al. 2006) (toutes ses localités sont des zones où *R. flavipes* a été introduit).

Trois questions majeures ont été développées au cours de cette étude :

- 1) Où est/sont localisée/s la ou les populations sources à partir desquelles ont été fondées les populations introduites ?
- 2) Est-ce que les populations introduites en France présentent des différences de diversité génétique avec les populations provenant des USA ? Les populations introduites ont-elles souffert d'un goulot d'étranglement ?
- 3) Est-ce que les populations introduites sont issues d'une ou de multiples introductions ?

Synthèse des résultats de l'article 4 et discussion

1) Origine des populations introduites

Les premières observations des analyses phylogéographiques (phylogénie et réseau d'haplotypes) révèlent une structuration géographique partielle des populations natives en séparant les populations du sud-est et du nord-est des USA. Tous les échantillons **des**

populations introduites (excepté pour l'échantillon autrichien) **sont groupés avec les populations du sud-est des USA, suggérant que ces populations pourraient être les sources des introductions.** En se focalisant sur les populations françaises, les analyses phylogénétiques basées à la fois sur les marqueurs microsatellites et le marqueur mitochondrial ont mis en évidence **comme origine la plus probable les populations louisianaises.** Parmi **les 11 haplotypes déterminés en France**, 6 sont uniques et 5 sont retrouvés aux USA. **Ces 5 haplotypes sont tous retrouvés seulement dans l'état de Louisiane, avec une grande prévalence** (50% des individus échantillonnés en Louisiane possèdent un de ces 5 haplotypes). **Ainsi, avec notre échantillonnage, les populations françaises auraient comme origine la plus probable les populations louisianaises. Ceci est également supporté par l'arbre phylogénétique basé sur les données microsatellites.**

2) Réduction de la diversité génétique lors de l'introduction ?

Nos analyses ont montré une réduction significative de la diversité haplotypique et nucléotidique dans les populations introduites en France, comparée aux populations américaines. En s'intéressant plus particulièrement à la comparaison entre les populations françaises et louisianaises, les mesures de diversité génétique des données mitochondriales, l'hétérozygotie observée, et le nombre d'allèles, montrent que les populations introduites ont subi une réduction de la diversité génétique modérée mais significative. Nous n'avons pas trouvé de résultat concluant sur un possible goulot d'étranglement avec le logiciel bottleneck. Ces résultats suggèrent que **les populations ont souffert d'un effet de fondation durant l'introduction.**

3) Une ou des multiples introductions ?

Les analyses nous ont permis d'identifier 13 haplotypes présents en Europe, un spécifique à l'Autriche et un second spécifique à l'Allemagne. De ce fait rien ne prouve que les populations de *R. flavipes* en Europe soient issues d'un seul événement d'introduction. En France, les 5 haplotypes partagés avec les USA étant réunis dans un seul état américain (Louisiane), nous ne pouvons pas identifier le nombre d'événements d'introduction mais seulement formuler deux éventuels scénarios. Le premier scénario possible serait qu'un seul événement d'introduction, contenant des fondateurs des cinq

Résultats

différentes lignées mitochondriales, soit à l'origine de toutes les populations françaises. Le second scénario serait que de multiples introductions aient eu lieu à partir des populations louisianaises, ce qui est généralement supposé être une règle plutôt qu'une exception (Novak 2007).

L'ensemble des résultats de l'article 3 sera intégré dans la discussion générale (p.211).

Article 4 : Phylogeographic analyses reveal a Louisiana origin of the *R. flavipes* French populations

En préparation

Perdereau E., Bagnères A.-G., Dronnet S., Zimmermann M., Dupont S., Vargo E. and Dedeine F.

Abstract

Reticulitermes flavipes is a subterranean termite which is presumed to have been introduced into Europe from North America during the 17th or 18th century and has become invasive in several areas of France. The introduced populations in France have undergone particular shifts in social structure: permanent presence of numerous active secondary reproductives, high level of colony fusion, lack of intraspecific aggression and homogeneity of recognition cues. Phylogeographic and population genetic analyses can provide information about the origin and patterns of introduction and help to explain the causes and mechanisms by which introduced species have become successful invaders. To identify source populations and to evaluate genetic diversity in both native and introduced populations, an extensive phylogeographic study was undertaken using the COII region of mtDNA and 15 microsatellite markers. This showed that, in the native range (USA), northern populations appeared well differentiated from those in the southern part of its range, which is the probable origin of nearly all introduced populations. Phylogenetic analysis of both mitochondrial and nuclear markers showed that French populations are likely to have originated from southeastern American populations, more particularly from Louisiana. All haplotypes shared between the USA and France are found in Louisiana. Compared to native populations in Louisiana, introduced populations in France show reduced genetic diversity at both mtDNA and microsatellites markers. These findings suggest a founder effect during the introduction event and are an example of a genetically depauperate founder population that has become successfully established.

Keywords: Invasive species, termite, phylogeography, genetic diversity, founder effect

Introduction

Many organisms have expanded into new habitats as a result of human transport (Vitousek et al. 1997). Organism invasions are now considered to be a major component of large-scale ecological changes owing to the ability to degrade habitats and reduce native biodiversity (Wilcove et al. 1998). It is now recognized that phylogeographic and population genetic analyses can provide valuable insight into patterns of introduction, colonization and spread of invasive taxa, helping to lay the basis for understanding the mechanisms underlying invasion dynamics (Sakai et al. 2001; Lee 2002).

The success of invasive organisms has been attributed to various mechanisms such as the release of biotic pressures, the ability to settle in disturbed habitats and changes in the genetic characteristics of invasive populations (Williamson and Fitter 1996; Holway et al. 2002). More attention is now being paid to the level of genetic diversity within introduced populations as an important factor influencing their survival and adaptive potential (Sakai et al. 2001; Lee 2002; Valliant et al. 2007; Dlugosch and Parker 2008a; Dlugosch and Parker 2008b). It is thought that genetic variability is necessary for an adaptive response by the introduced populations to the invaded environment where this environment is different from the native environment (Allendorf and Lundquist 2003; Frankham 2005; Facon et al. 2006; Elam et al. 2007; Dlugosch and Parker 2008a). Introduced populations present an evolutionary paradox because introductions usually consist of a small number of founders, resulting in lower genetic variability compared to native populations (Nei et al. 1975). Several explanations have been put forward to explain this paradox. Firstly, the introduced populations may not lose genetic diversity: this has been observed when multiple sources of introduction have occurred (Genton et al. 2005) and sometimes the genetic diversity can even appear higher than that in the native range (Kolbe et al. 2004; Facon et al. 2008). However, several studies have shown losses of genetic diversity at various markers (Estoup et al. 2001; Garza and Williamson 2001; Grapputo et al. 2005; Lindholm et al. 2005; Chen et al. 2006; Puillandre et al. 2008; Valade et al. 2009). In such cases, the paradox may be explained by an increase in genetic variation by hybridization (Facon et al. 2008) or by a rapid population expansion after introduction retaining genetic diversity (Zenger et al. 2003). Thirdly, it has been suggested that the disadvantages associated with founding events could be overstated

and that introduced species may have sufficient adaptive potential (Dlugosch and Parker 2008a).

There are many key questions in invasion biology that rely on comparisons between the native range and the introduced range (Hierro et al. 2005). To understand which mechanisms have enabled the introduced populations to become dominant, it is necessary to determine as precisely as possible where the introduced species came from and to evaluate the genetic diversity in both native and invading populations.

The subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Rhinotermitidae) originated from North America. It is widespread from Texas to Iowa in the west and from Florida to Massachusetts in the east. It has been introduced into and established in other US states such the Bahamas and California as well as in several countries in the Americas (Canada, Chile and Uruguay) and in Western Europe (Austria, France and Germany) (Weidner 1937; Harris 1962; Aber 1998; Ripa and Castro 2000; Clément et al. 2001; Austin et al. 2002; Austin et al. 2005; Su et al. 2006). In Europe, *R. flavipes* is widespread throughout France, but in Germany it is only found in Hamburg. For a long time the introduced populations in France were considered to be a European species named *Reticulitermes santonensis* (Feytaud 1924). However, just after the first description of *R. santonensis*, it was suggested that the two species might be synonymous (Feytaud 1924), partly because *R. flavipes* was described earlier in Vienna, Austria, by Kollar (Kollar 1837) and confirmed by Hagen in 1858. After considerable controversy, on the basis of several morphological and chemical similarities (Bagnères et al. 1990) and, more recently, genetic correspondence (Clément et al. 2001; Jenkins et al. 2001; Austin et al. 2002; Austin et al. 2005; Ye et al. 2004; Su et al. 2006) *R. santonensis* populations are now considered to be introduced populations of *R. flavipes*. It is thought that *R. flavipes* may have been introduced through the wood shipping trade between North America and Europe during the 17th or 18th century (Feytaud 1924; Bagnères et al. 1990).

In France, *R. flavipes*, is the most destructive termite species and it has reached high densities in major cities such as Paris and Bordeaux (Vieau 2001). Recently, genetic and behavioral studies have suggested that the introduced populations of *R. flavipes* in France share four particular characteristics leading to their invasion success (Dronnet et

al. 2005, Perdereau et al. 2010 and submitted). The first characteristic is the homogeneity of chemical signature in populations introduced into France compared to native populations (Perdereau et al. submitted). The second is the lack of intraspecific antagonism between non-nestmates in French populations (Perdereau et al. submitted, Clément 1986; Bagnères 1989; Clément and Bagnères, 1998). Thirdly, French colonies appear spatially larger and more populous than American colonies and seem to differ from the great majority of American colonies in their ability to produce a high number of functional secondary reproductives (Vieau 2001; Dronnet et al. 2005; Perdereau et al. 2010). These three attributes contribute to the fourth specific characteristic which is a significant capacity for fusion between different colonies in French populations of *R. flavipes* (Perdereau et al. 2010).

In order to gain a better understanding of the relationship between the invasion success and genetic diversity, this study investigated the genetic variability of American and European populations of *R. flavipes*, and more particularly French populations, using both the cytochrome oxidase II (COII) region of mitochondrial DNA and 15 microsatellite loci. The cytochrome oxidase II was selected as it has been the most successful and most widely used in *Reticulitermes* studies (Miura et al. 1998; Jenkins et al. 2001; Austin et al. 2002; Kutnik et al. 2004; Park et al. 2006). This study focused on more specific questions: Do French populations originate from a single or multiple introductions? Where were the source populations? Are there differences in genetic diversity between introduced and native populations? Is there evidence of a genetic bottleneck?

Materials and methods

Sample collection

R. flavipes samples (workers) were collected and preserved in 90% ethanol prior to DNA extraction. Samples of the introduced termites were taken from 71 localities in Europe (70 in France and one in Austria) (Figure 1). The Austrian sample is of particular interest as it came from the Naturhistorisches Museum in Vienna and is an old sample (Hagen 1856) taken in the population from the glasshouses of the Schönbrunn Castle

before the eradication. Samples were taken from 134 localities in the native range (USA) with particular emphasis on Louisiana/Mississippi and Florida because unpublished works showed that populations of *R. flavipes* in France were closely related to *R. flavipes* populations found in southern USA (Bagnères 2006; Perdereau et al. 2008) (Figures 2, 3 and 4). Other published sequences from introduced populations (Uruguay, Canada, California and the Bahamas) and native populations (Nebraska) were also included in the analyses (see Table 1 for details).

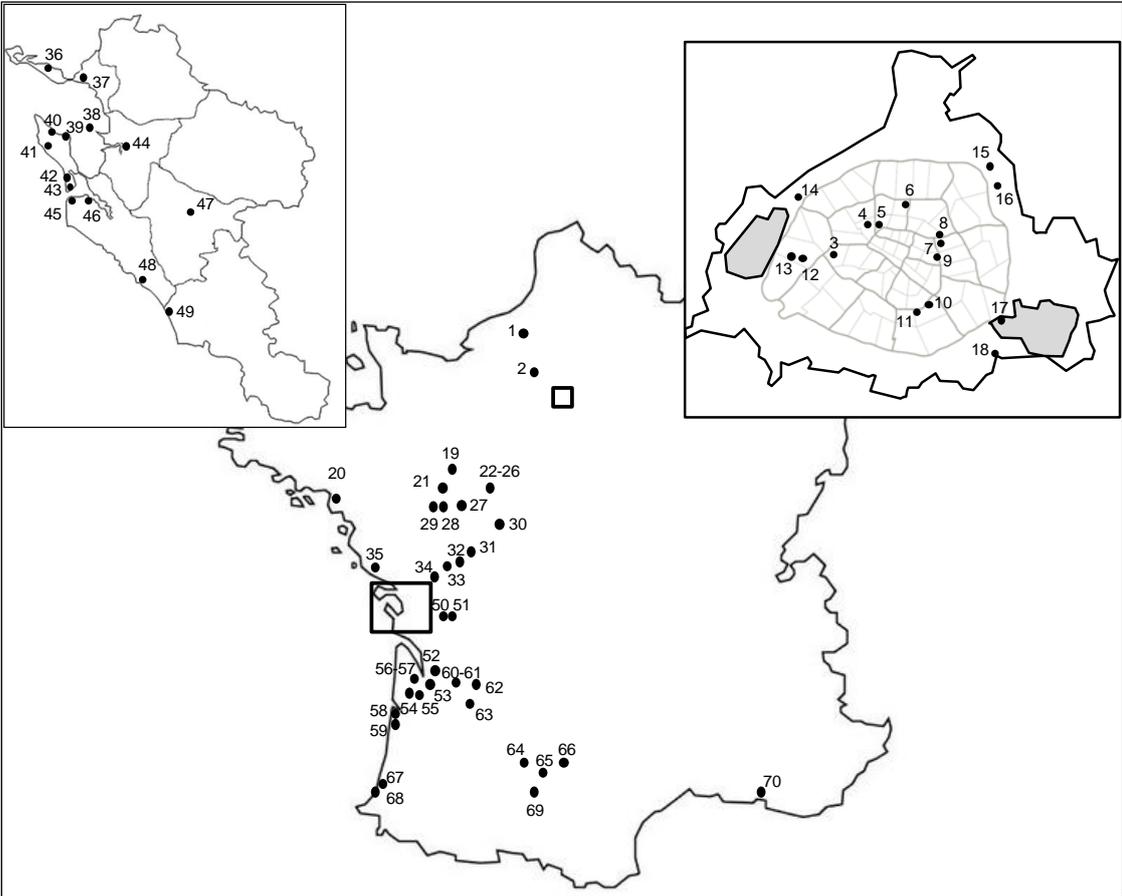


Figure 1. Map showing the 70 locations of *R. flavipes* sampled in France

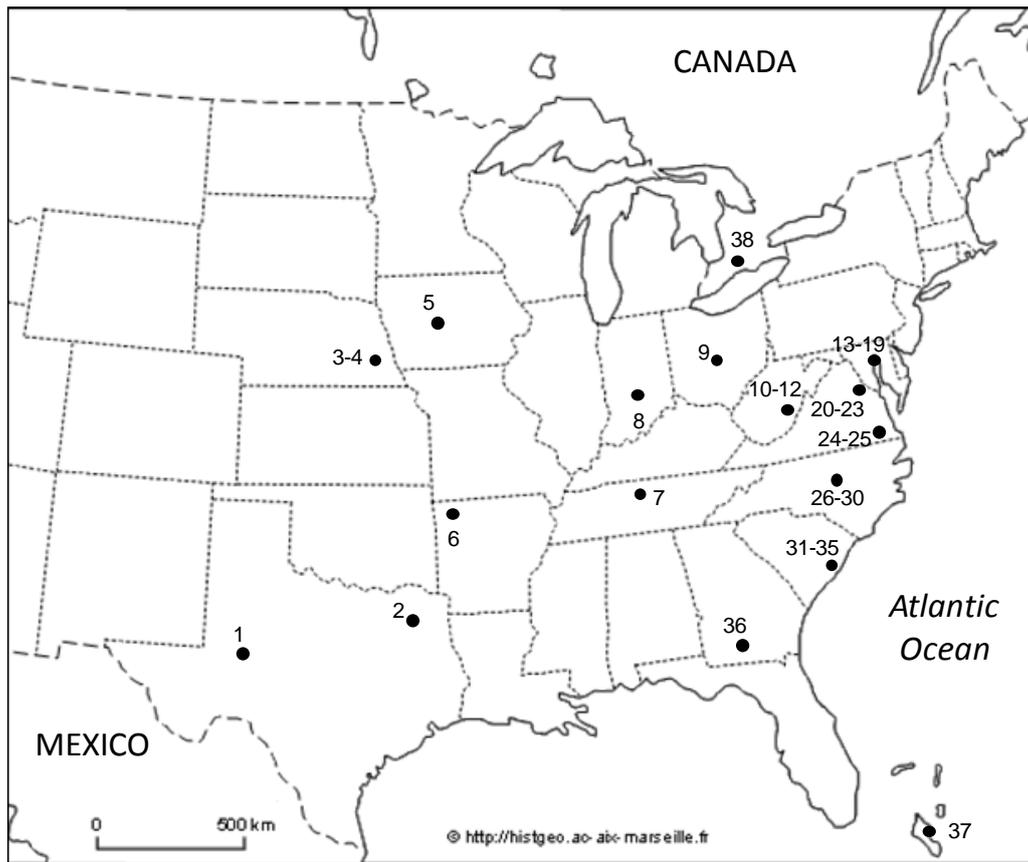


Figure 1. Map showing the 70 locations of *R. flavipes* sampled in France.

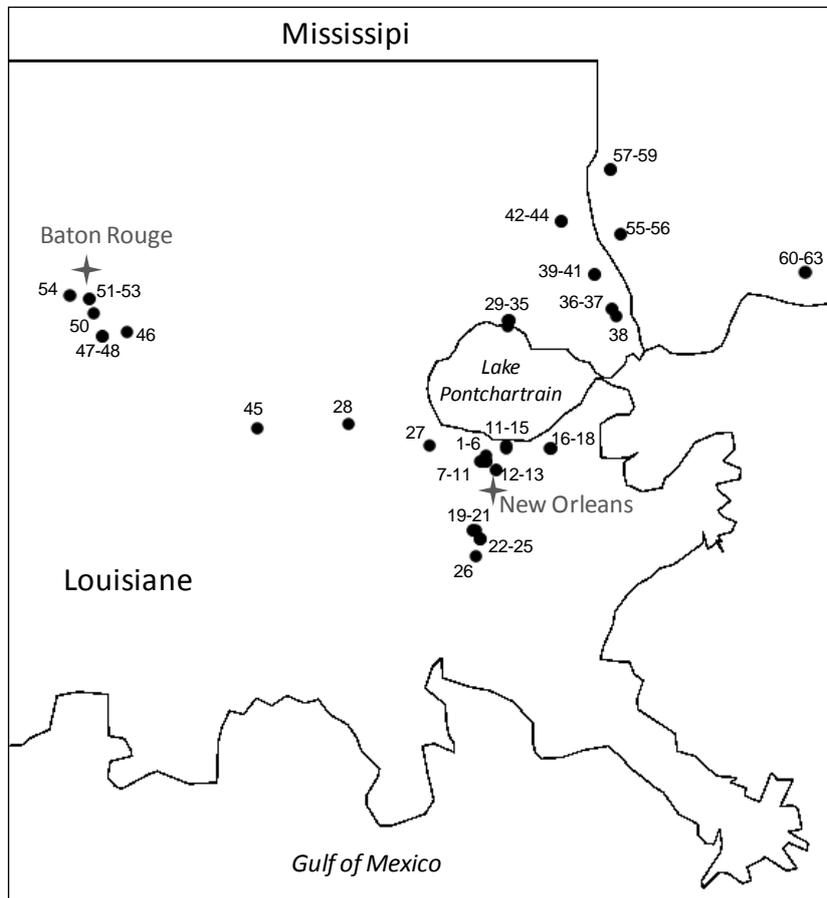


Figure 3. 63 locations of *R. flavipes* sampled in Louisiana and Mississippi

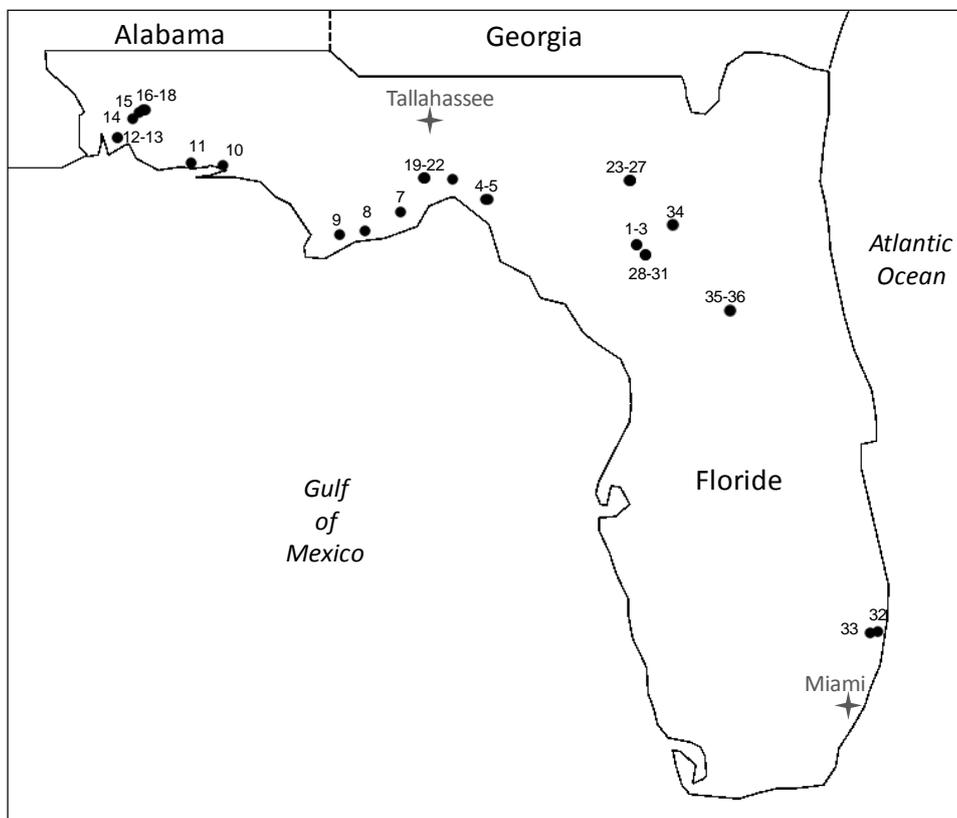


Figure 4. 36 locations of *R. flavipes* sampled in Florida.

Mitochondrial DNA and microsatellites sequencing

Genomic DNA was extracted from one worker per collection for all sampling points using standard phenol-chloroform purification (Sambrook et al. 1989). A portion of the cytochrome oxidase II (COII) gene (680 bp) of the mitochondria was sequenced in one individual per collection point using the primers B-tLys (5'-GTT TAA GAG ACC ATT ACT TA-3') (Simon et al. 1994) and modified A-tLeu (5'-CAG ATA AGT GCA TTG GAT TT-3') (Miura et al. 2000). PCR amplification was performed using a Multiplex PCR Kit (QIAGEN®) and a Biometra 96 T1 with an initial denaturing step at 95°C (15 min), followed by 35 iterations of the following cycles: 94°C (30 sec), 52°C (1 min 30), and 72°C (2 min) and finally an extension step at 72°C (10 min). The reaction mix was a total volume of 25 µL containing about 10 ng DNA template, 1x Qiagen Multiplex PCR Master Mix, 0.6x Qiagen Q-Solution and 1µM of each primer. After purification using the NucleoSpin Extract® II kit (Macherey-Nagel), the PCR templates were sequenced using the Big Dye® Terminator v3.1 cycle sequencing kit and the sequenced products were analyzed using a capillary DNA sequencer (ABI PRISM 3100). By the fact that Austria sample constituted an old sample, extraction methods are being the object to an other paper (Dupont et al. in prep). Sequences were aligned using the ClustalW algorithm (Thompson et al. 1994b) within the Bioedit Sequence Alignment Editor 6.0.7 (Hall 1999) and corrected manually. The sequences were deposited in the GenBank database under the accession numbers shown in Table 1.

The nuclear genetic diversity was analyzed for one worker per collection point with 15 microsatellite loci: Rf1-3, Rf6-1, Rf15-2, Rf21-1, Rf24-2, Rf5-10, Rf11-1, RS1, RS10, RS15, RS43, RS68, RS76, RS78 and RS85 previously described in Vargo et al. (2000) and in Dronnet et al. (2004). A total of 170 individuals from four specific localities in France (51), Florida (35), Louisiana-Mississippi (59) and northern USA (25) were genotyped (see Table 1). Primer sequences and amplification protocols are given in Vargo et al. (2000) and Dronnet et al. (2004).

Identification of source populations

To determine the probable origin of *R. flavipes* populations introduced into Europe, their haplotypes were compared with those of *R. flavipes* from the native range (Table 1 and 2). The relationships between haplotypes were represented as a haplotype network obtained using the statistical parsimony method and TCS version 1.13 (Clement et al. 2000).

Identical haplotypes were recognized and were collapsed for tree construction to improve the chances of recovering fewer optimal trees and reduce computing time. In order to obtain the most robust topology, CO II sequences were analyzed using four different phylogenetic analysis methods: maximum parsimony, neighbor-joining, maximum likelihood and Bayesian analysis. The maximum parsimony (MP) and neighbor-joining (NJ) methods were applied using PHYLO_WIN (Galtier et al. 1996), and the maximum likelihood method used Phyml (Guindon and Gascuel 2003). The maximum parsimony (MP) method was performed using a heuristic search with stepwise-addition options to determine the most parsimonious tree. MrAIC was used to find an appropriate sequence evolution model for the data (Nylander 2004). The HKY85 model of base substitution distance was selected. The neighbor-joining and maximum likelihood analyses were performed using the substitution model and HKY85 as DNA distance. The robustness of the trees was tested using the bootstrap method. All characters were un-ordered and equally weighted. Sites with missing data or gaps were treated as missing characters for all analyses. All bootstrap values were based on 1,000 replicates. Bayesian analyses were also carried out using MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck and Ronquist 2001) running it for 2,500,000 generations. No *a priori* assumptions about tree topology were made and analyses were performed using uniform priors.

As a complementary approach to investigating source populations, microsatellite allele frequencies were used to estimate phylogenetic trees. A neighbor-joining tree was constructed from Nei's genetic distance D_s (Nei 1972) using 1000 bootstrap replicates calculated using POPULATIONS version 1.2.30 (http://www.bioinformatics.org/project/?group_id=84).

Measuring genetic diversity

Haplotype and nucleotide diversity were estimated from mitochondrial data, using ARLEQUIN v 3.0 (Excoffier et al. 2005). Microsatellite data was used to calculate the mean number of alleles per locus (N_a), the number of private alleles, the allelic richness (R_s), and the observed and expected heterozygosity (H_o and H_e) for each locality and also for three specific regions where introduced termite populations were found in France using GENEPOP version 1.2 (Raymond and Rousset 1995) and FSTAT version 2.9.3.2 (Goudet 1995). These programs were also used for each population to test deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) and linkage disequilibrium.

Mitochondrial and microsatellite data were used to determine the partition of genetic variability among and within putative source populations (Florida and Louisiana-Mississippi) and introduced populations (France). The population structure was determined by analysis of molecular variance (AMOVA) by calculating F -statistics from haplotypes with 10,000 permutations using ARLEQUIN software.

Testing for bottlenecks

Populations, whose effective size has recently been reduced, show a reduction in both allele number and gene diversity, but the allele number drops faster than the gene diversity (Cornuet and Luikart 1996). The deviation in observed heterozygosity from that expected under mutation drift equilibrium was assessed using BOTTLENECK version 1.2.02 (Piry et al. 1999) to see whether there was any evidence of recent bottlenecks. The bottleneck tests were performed for the populations introduced into France. To improve results, tests were carried out on three geographically distinct populations in France (North populations, Middle populations and South populations) using the infinite allele model (IAM), the stepwise mutation model (SMM) and the two-phase model (TPM). For the TPM, which is considered to be the most appropriate model for microsatellites (Piry et al. 1999), we used 90% single step mutations and 10% multistep mutations and a variance of 10. The Wilcoxon signed-rank test, which is more powerful than the alternatives when using a number of loci less than 20 (Piry et al. 1999), was used for the statistics reported. Finally, we determined whether there was a

mode shift, which is another sign of a bottleneck population, shown by a shift in allele frequency distribution.

Results

Identification of source populations

The average nucleotide composition for COII among *R. flavipes* samples was 39.2% (A), 23.4% (T), 23.9% (C) and 13.5% (G). As the phylogenies derived using the various methods were generally congruent, only the tree given by robust Bayesian analysis is presented here (Figure 5). Based on the COII gene sequence with *R. virginicus* as the outgroup, two major clades within *R. flavipes* species were apparent. One clade comprised only northern USA populations (clade I). The second clade included mainly southern USA populations (except for samples from Nebraska, Iowa and Indiana) and all introduced populations (except for the sample from Austria). Within this clade, there were two sub-clades: one with only southern USA populations (clade II a) and the second with southern USA populations and populations introduced into America and Europe (clade II b) (one exception being the two samples from Nebraska that are supposed from introduced populations Perdereau et al. 2010). Clade II b had 5 clades, two of which contained numerous samples, all introduced haplotypes (except for the sample from the Bahamas). The sample from Austria and several samples from northern and southern USA were not well resolved and had a basal position.

82 haplotypes distinguished from 67 segregating sites were determined from the 217 individuals analyzed. In the introduced range, 18 haplotypes were found with 13 haplotypes from Europe (more precisely 11 in France, one in Austria and one in Germany) and 5 haplotypes from America (California, the Bahamas, countries in southern and northern America outside the natural distribution of *R. flavipes*) (Table 1 and 2). In the native range, 75 haplotypes were determined with 23 from northern USA and 52 from southern USA (Table 1 and 2). Five haplotypes (A, C, E, H and K) occurred both in France and in the USA in different localities (Louisiana, Florida, Nebraska, Iowa and Indiana). 50% of individuals collected in Louisiana shared an identical DNA sequence with the French haplotypes. Haplotypes A, H, and K were also shared with the

introduced samples from Uruguay, Toronto and California. Haplotype A was the most common haplotype with 33 individuals collected in France, 12 individuals from USA most of which came from Louisiana and one from Uruguay. Haplotype C was the second most common haplotype with 15 individuals from France et one from the USA (Louisiana). Haplotypes E and H were the third most common haplotype with individuals from France, Louisiana, and the sample introduced into California for the haplotype H. Many haplotypes were represented by just a few individuals.

Statistical parsimony network did not connect all mitochondrial haplotypes within the 13 mutational steps permitted under a 95% confidence limit set by TCS, excluding the northern USA haplotypes. The relationships between mitochondrial haplotypes were, therefore, reconstructed by a haplotype network with 90% confidence (Figure 5). The network showed approximately similar haplotype groups as those observed using phylogenetic methods. The relationship between mitochondrial haplotypes revealed mutational steps between French haplotypes and several haplotypes from southern USA. Haplotype A diverged from 4 other French haplotypes (B, F, G and J) by one mutational step and haplotype K diverged from 2 other French haplotypes (D and I) by two mutational steps.

The phylogenetic tree constructed from microsatellite allele frequencies using neighbor-joining with Nei's genetic distance (Figure 6) showed relationships between Florida, Louisiana-Mississippi, northern USA and France. Louisiana-Mississippi is the closest cluster to populations introduced into France, while northern USA populations appear to be the cluster that is most divergent from French populations.



Figure 6. Neighbor-joining tree with Nei's genetic distance (Nei 1972) based on microsatellite allele frequencies. Bootstrap values above 50% for 1000 replicates are indicated.

Location		Haplotypes		<i>n</i>	<i>n</i> Hap.	Hap. diversity	Nuc. diversity
Introduced range	Europe	France	A, B, C, D, E, F, G, H, I, J and K	72	13	0.738 ± 0.043 ^a	0.007 ± 0.004 ^a
		Germany	N				
		Austria	AV				
		Canada	K				
		Chili	BM				
	America	Uruguay	A et BM	10	5	0.583 ± 0.183 ^a	0.003 ± 0.002 ^a
		California	H				
		Bahamas	BH				
		Nebraska	A and BD				
		Iowa	A				
Native range	North USA	Tennessee	AV	32	23	0.968 ± 0.019 ^b	0.017 ± 0.009 ^b
		Indiana	A				
		Ohio	BL				
		West Virginia	W, AA and CB				
		Delaware	BT, BX, BY, BZ and CA				
		Virginia	BT, BX, CC, CD, BU and BT				
		North Carolina	BS, BT, BY, BU and BW				
		South Carolina	BO, BN, BP, BQ and BR				
		Florida	A, L, AC, AK, AL, AM, AN, AO, AP, AQ, AR, AS, AT, AU, AV, AW, AX, AY, AZ, BA, BB, BE, BF and BG				
		Louisiana	A, C, E, H, K, L, M, O, P, Q, R, S, T, U, Z, AB, AC, AD, AE, AF, AG, AH, AI, and AJ				
Mississippi	A, L, V, W, X, Y, AV and AQ						
South USA	Texas	L and BJ	102	52	0.970 ± 0.006 ^b	0.017 ± 0.009 ^b	
	Arkansas	BK					
	Georgia	BI					

Table 2. mtDNA haplotypes obtained in each location within introduced and native ranges, number of individuals sampled (*n*), number of haplotypes (*n* Hap.) and haplotype and nucleotide diversities (Hap. and Nuc.)

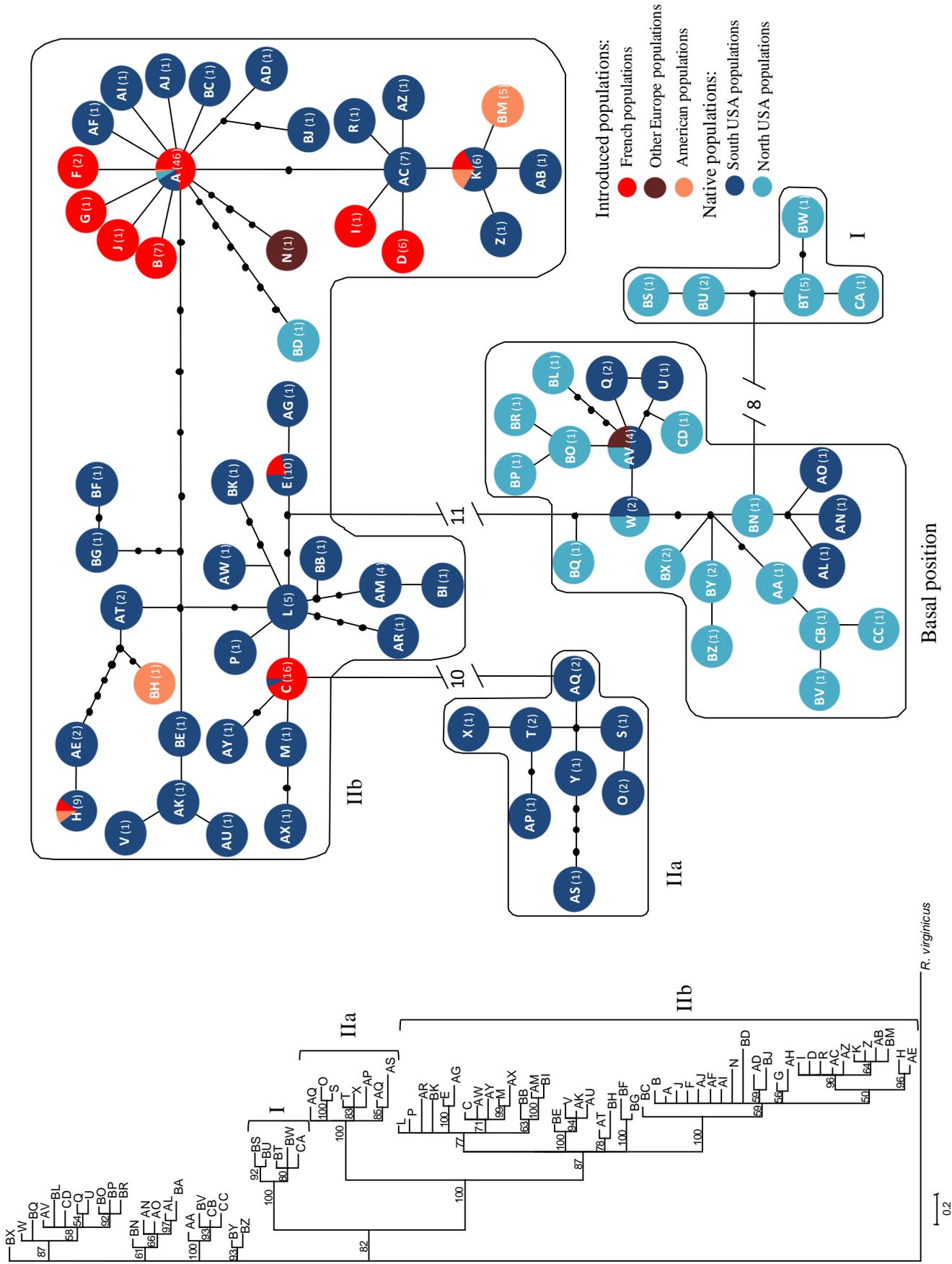


Figure 5. Bayesian phylogenetic tree and minimum spanning network of mtDNA haplotypes from *R. flavipes*. Haplotype locations (introduced and native range) are indicated by colored circles. Color diagram presenting the number of samples found in the various locations and the number of samples for each mtDNA haplotype. The three clades (I, IIa and IIb) and the basal group are linked to their corresponding haplotype clusters.

Measuring genetic diversity

Haplotype diversity within populations ranged from 0.583 to 0.970, while nucleotide diversity ranged from 0.003 to 0.017. Genetic diversity of *R. flavipes* populations was higher in the native range than in the introduced range (Table 2). In northern and southern USA, both haplotype and nucleotide diversity were significantly higher than in the two groups of introduced populations (Europe and America) (Tukey-Kramer multiple comparison tests for haplotype diversity: Europe vs. northern USA, $q = 21.677$, $P < 0.001$; Europe vs. southern USA, $q = 24.510$, $P < 0.001$; America vs. northern USA, $q = 25.455$, $P < 0.001$; America vs. southern USA, $q = 26.993$, $P < 0.001$; and for nucleotide diversity: Europe vs. northern USA, $q = 9.598$, $P < 0.001$; Europe vs. southern USA, $q = 13.113$, $P < 0.001$; America vs. northern USA, $q = 7.725$, $P < 0.001$; America vs. southern USA, $q = 8.383$, $P < 0.001$). A comparison between populations in Louisiana-Mississippi and France showed 31 haplotypes in Louisiana-Mississippi as against 11 in France. The haplotype diversity and nucleotide diversity estimated at 0.951 ± 0.013 and 0.016 ± 0.008 for Louisiana-Mississippi were significantly higher than those observed in France estimated at 0.722 ± 0.043 and 0.006 ± 0.003 (Table 4) (Unpaired t test with Welch correction for haplotype diversity: $t = 16.863$ with 10 df, $P < 0.001$, and unpaired t test with Welch correction for nucleotide diversity: $t = 5.233$ with 37 df, $P < 0.001$).

All 15 microsatellites were polymorphic within all localities. No linkage disequilibrium was observed for any pair of loci after Bonferroni correction. Significant deviation from Hardy Weinberg equilibrium was observed at least any loci analyzed within localities. A high number alleles were found specific to the USA native range. The mean number of alleles per locus (N_a), allelic richness (R_s) and observed heterozygosity (H_o) were relatively low in France compared to Florida, Louisiana-Mississippi and northern USA but only observed heterozygosity comparisons appeared significant between localities (excepted between Louisiana-Mississippi and France) (Table 3) (Kruskal-Wallis Test for comparisons of N_a and R_s : $P > 0.05$; Dunn's multiple comparison test, for all pairs of localities $P > 0.05$, and Tukey-Kramer multiple comparison test for comparison of observed heterozygosity: Florida vs Louisiana-Mississippi $q = 0.379$, $P > 0.05$; Florida vs North of USA, $q = 0.21$, $P > 0.05$; Louisiana-Mississippi vs northern USA, $q = 0.590$, $P > 0.05$; France vs Louisiana-Mississippi, $q = 3.551$, $P > 0.05$; France vs Florida, $q = 3.930$, $P > 0.05$).

< 0.05; France vs northern USA, $q = 4.141$, $P < 0.05$). A comparison between localities in Louisiana-Mississippi and France localities showed a significant difference in the mean number of alleles per loci and observed heterozygosity: the mean number of alleles ranged from 5 to 46 in Louisiana-Mississippi and from 2 to 19 in the French sample (Mann-Whitney Test; $U = 163.50$, $P < 0.05$). Similarly, levels of observed heterozygosity per locus were estimated at 0.53 ± 0.18 in Louisiana-Mississippi as against 0.36 ± 0.14 in France (Un paired t -Test; $t = 3.04$, $df 28$, $P < 0.01$). However, the allelic richness between these localities did not appear significantly different (Mann-Whitney Test, $U = 159$, $P = 0.056$).

Table 4. Comparison of genetic diversity of mtDNA and microsatellites (mean \pm SE) between populations in Louisiana-Mississippi and France, number of individuals analyzed (n) haplotype and nucleotide diversities (Hap. And Nuc.), the mean number of alleles per locus (N_a), allelic richness (R_s) and mean observed heterozygosity (H_o). Comparisons were assessed using Unpaired t -test or Mann-Whitney tests.

	mtDNA			Microsatellites			
	n	Hap. diversity	Nuc. diversity	n	N_a	R_s	H_o
Native range							
Louisiana-Mississippi	63	0.951 ± 0.013	0.016 ± 0.008	59	14.07 ± 3.10	9.16 ± 5.47	0.53 ± 0.18
Introduced range							
France	70	0.722 ± 0.044	0.006 ± 0.003	51	7.40 ± 1.30	5.94 ± 3.21	0.36 ± 0.14
Unpaired t - Test		$P < 0.001$	$P < 0.001$		-	-	$P < 0.01$
Mann-Whitney U		-	-		$P < 0.05$	NS ($P= 0.056$)	-

Sample location	<i>n</i>	<i>N_a</i>	Private alleles	<i>R_s</i>	<i>H₀</i>	<i>H_E</i>	Bottleneck tests			
							Wilcoxon test			Mode-Shift
							IAM	SMM	TPM	
Florida	35	10.47 ± 1.90	18	7.90 ± 4.59	0.55 ± 0.23 ^b	0.70 ± 0.25	-	-	-	-
Louisiana Mississippi	59	14.07 ± 3.10	38	9.16 ± 5.47	0.53 ± 0.18 ^{ab}	0.76 ± 0.16	-	-	-	-
Northern USA	25	8.60 ± 1.30	18	7.36 ± 4.12	0.57 ± 0.22 ^b	0.69 ± 0.26	-	-	-	-
France	51	7.40 ± 1.30	3	5.94 ± 3.21	0.36 ± 0.14 ^a	0.68 ± 0.18	<i>P</i> < 0.01	NS	NS	No
North of France	17	5.67 ± 3.00	1	3.24 ± 1.05	0.34 ± 0.14	0.67 ± 0.21	<i>P</i> < 0.001	NS	NS	No
Middle of France	15	4.29 ± 1.98	0	2.79 ± 0.93	0.41 ± 0.22	0.62 ± 0.18	<i>P</i> < 0.01	NS	NS	Yes
South of France	19	5.4 ± 2.90	0	3.20 ± 0.85	0.34 ± 0.18	0.69 ± 0.15	<i>P</i> < 0.001	NS	NS	No

Table 3. Estimates of genetic variation (mean ± SD) of 15 microsatellite loci at 4 locations (Florida, Louisiana-Mississippi, northern USA and France) and within 3 areas of the introduced range (France), number of individuals (*n*), the mean number of alleles per locus (*N_a*), number of private alleles, allelic richness (*R_s*) and mean observed and expected heterozygosity (*H₀* and *H_E*). Results of bottleneck tests (Sign and Wilcoxon tests) and mode shift.

AMOVA analysis using both mitochondrial and microsatellite data showed that the greatest total variation (87.24% and 92.69%) was explained by differences among individuals within populations (Table 5). The rest of the variation was found for the subdivision between populations. There was, therefore, no significant distinction between the native and introduced populations, suggesting that introduced populations are genetically close to native populations and that introduction was a relatively recent event at the geological time scale.

Table 5. Results of analysis of molecular variance of *R. flavipes* based on mtDNA and microsatellite data. Variation is determined between populations (Florida, Louisiana-Mississippi and France) and within populations.

Source of variation	df	sum of square	variance components	% of variation
mtDNA				
Between populations	2	74.84	0.61	12.76 ***
Within populations	166	693.13	4.17	87.24 ***
microsatellites				
Between populations	2	57.16	0.27	7.31 ***
Within populations	287	969.58	3.38	92.69 ***

Testing for bottlenecks

The overall result of quantifying genetic diversity did not reveal any clear bottlenecks (Table 3). Evidence for a recent bottleneck in France was only found using the IAM model. The three specific populations in France showed evidence of a bottleneck using the IAM model but not using the SMM or TPM models. The fact that few loci seem to follow the strict SMM model may have contributed to the non significance. Only the population from the middle of France showed a shift away from the distribution of allele frequencies.

Discussion

Phylogeography of *R. flavipes* populations

Our mitochondrial DNA analyses showed a partial geographical structure in native populations, populations in northern and southern USA being genetically well differentiated even though some samples of these populations presented an ancestral position. Phylogenetic analyses revealed two clades within *R. flavipes* populations. These include: (1) a portion of populations in northern USA and (2) a portion populations in southern USA and all the introduced populations, with the exception of the historical sample from Austria. These findings are also corroborated by the TCS analyses. The data strongly supports the view that most of the introduced populations of *R. flavipes* (France, Germany, Canada, Chile, Uruguay, the Bahamas and California) derived from populations in southern USA.

Source populations in France

Phylogenetic and TCS analyses identified 13 haplotypes in Europe. From the introduced populations in France, 6 of the 11 current haplotypes were unique to French populations. This result may be explained, firstly; by the fact that some sequence evolution has occurred since introduction. Secondly, in comparison with the haplotype diversity observed in USA, it is also very possible that other haplotypes existed in the country but were not sampled. Thirdly, as there were few mutational steps between the five shared haplotypes and the haplotypes unique to France, it is possible that these latter may be due to a Taq polymerase error.

One of the main results of this study is that both mitochondrial and microsatellite analyses suggested that introduced populations in France appear to have come from Louisiana. The phylogenetic tree based on microsatellites showed that French populations were more closely related to Louisiana-Mississippi populations than the other USA populations. All haplotypes shared between the USA and France populations are found in Louisiana. These five haplotypes (A, C, E, H and K) occur frequently in

Louisiana, 50% of the Louisiana samples had one of these five haplotypes. Furthermore, these haplotypes are found in all the sites sampled. In Florida, however, which was also a major source of samples, only 2 samples had haplotypes that were identical to French samples. The hypothesis that French populations came from Louisiana is also plausible from a historical point of view. During the 17^e and 18^e centuries, Louisiana was part of the “New France”, New Orleans was the main trading port to Europe and populations of *R. flavipes* could have been accidentally exported to France in agricultural and forestry shipments. The first invasions of termites in France were described in Rochefort and La Rochelle, two major ports known for their historical involvement in international transport in the past (Bobe-Moreau 1843; Quatrefages 1853).

It should be noted that samples from Nebraska, Indiana, and Iowa are the only samples from northern USA with a haplotype similar to that found in France. These locations on the extreme limits of the distribution area in the USA (City of New Orleans, http://www.termitesurvey.com/distribution/reticulitermes_flavipes.shtml), could be an indication of introduction events from southern USA. In colonial times, Louisiana was a huge area, extending from the Great Lakes to the Gulf of Mexico, and the Mississippi River was the backbone of the colony. Populations of *R. flavipes* may well have been transported to northern USA on the Mississippi river.

Number of introduction events in France

Mitochondrial DNA is subject to strong genetic drift because of its maternal and haploid mode of inheritance (Avisé et al. 1994) and most of its variation can be lost during introduction bottlenecks (Villablanca et al. 1998). However, it has proved to be informative in the case of multiple sources of invasion (Kolbe et al. 2004). Furthermore, in the case of *Reticulitermes* termites, mitochondrial DNA is particularly revealing as each colony is generally founded by a single diploid pair to whom all progeny are related, inducing the presence of a unique mtDNA in the colony and future queens. However, all the haplotypes shared between France and the USA are only found together one location, making it impossible to determine the number of introduction events and suggesting two scenarios. First, it is possible that a single founder event could be the origin of several haplotypes in France if there were multiple queens of different lineages.

Secondly, multiple introductions may have occurred from a single or several locations. Generally, invading insects show the signature of multiple invasions and a previous study strongly suggested that multiple introductions may be the rule rather than the exception (Novak 2007).

Reduction of genetic diversity and invasion success in France

The loss of genetic diversity during colonization and spread through different continents has been observed in several invading insect pests (Tsutsui et al. 2000; Gasperi et al. 2002; Grapputo et al. 2005; Chen et al. 2006; Puillandre et al. 2008; Valade et al. 2009). As might be expected, the populations introduced into France appear to be genetically less diverse than the native populations. This was true for haplotype diversity as well as nucleotide diversity. Measures of genetic diversity are known to be sensitive to sample size (Muirhead et al. 2008), given the number of samples taken from Florida, Louisiana and France, the results for these populations can be considered more closely. Based on microsatellite data, the French populations appear to have a reduced genetic diversity, particularly in comparison with the most probable source populations (Louisiana-Mississippi). These patterns are in accordance with the expectation that introduced populations suffered a founder effect. However, it is more difficult to establish whether they passed through sequential bottlenecks, because the bottleneck test results were inconclusive.

The success of an invasive species is generally thought to be based on high genetic diversity, which allows them to adapt in the invaded environment (Sakai et al. 2001). The genetic analyses of introduced populations of *R. flavipes* did not show high genetic variability, despite their invasion success in France. Recently, authors have suggested that, given the prevalence of introduced populations that were successfully established even though they showed a reduction in genetic diversity, the disadvantage associated with the reduction of genetic diversity may have been previously over-estimated (Dlugosch and Parker 2008a; Dlugosch and Parker 2008b). As the founder events and bottlenecks do not completely eliminate genetic diversity (Nei et al. 1975), the adaptation of the introduced populations would not seem to be so paradoxical. If the reduced genetic diversity of the invasive populations had undergone a founder effect

and/or bottleneck, this would be have allowed the population to adapt. Consequently, even though introduced populations of *R. flavipes* seem to have suffered a founder effect, the genetic diversity could be sufficient to allow an adaptive response to the new environment.

Another explanation for the paradox of reduced genetic diversity and invasive success of social insects can be considered; the advantages of significant genetic similarity (Tsutsui et al. 2000). In invasive ants, reduced genetic diversity has often been associated with reduced intraspecific aggression and the formation of interspecifically dominant supercolonies that were able to invade successfully (Tsutsui et al. 2003; Fournier et al. 2009; Orivel et al. 2009). This genetic similarity could be beneficial for colonization by introduced populations of *R. flavipes*. In addition to the reduced genetic diversity in French populations, we have recently demonstrated chemical homogeneity (Perdereau et al. submitted), a lack of intraspecific aggression (Perdereau et al. submitted), and a high capacity of colony fusion (Perdereau et al. 2010). In view of this, the genetic similarity associated with the reduced genetic diversity observed could lead to widespread ecological success in introduced populations of *R. flavipes*.

Acknowledgements

We wish to thank Susanne Randolph from the Naturhistorisches Museum in Vienna, Claudia Husseneder for her help in collecting samples in Louisiana (USA) and Michael Scharf and Nan-Yao Su's team for collecting samples in Florida (USA), We should also like to thank Sylvain Guyot for his help with the genetic analyses and Lucille Moriceau. This work is part of the PhD thesis of E. Perdereau.

Table 1. Origin of samples of *R. flavipes* from native and introduced ranges.

	Country	Location	Map references	Genbank Accession No.	mtDNA	nuclearDNA	
Introduced range	Europe	France	Petit Quevilly (Seine-Maritime)	Fr1		A	X
			Pacy sur Eure (Eure)	Fr2		D	
			Paris 7ième Bourdonnais Av (Ile de France)	Fr3		A	
			Paris 8ième Lagarde street (Ile de France)	Fr4		A	
			Paris 8ième Vignon street (Ile de France)	Fr5		A	
			Paris 9ième Gerando street (Ile de France)	Fr6		A	
			Paris 11ième Voltaire 1 Bld (Ile de France)	Fr7		A	X
			Paris 11ième Voltaire 2 Bld (Ile de France)	Fr8		D	X
			Paris 11ième Beaumarchais Bld(Ile de France)	Fr9		A	X
			Paris 13ième V. Auriol Bld (Ile de France)	Fr10		D	
			Paris 13ième Dunois street (Ile de France)	Fr11		A	
			Paris 16ième L. David street (Ile de France)	Fr12		F	
			Paris 16ième Pompe street (Ile de France)	Fr13		A	
			Puteaux (Ile de France)	Fr14		A	X
			Pantin (Ile de France)	Fr15		F	
			Bagnolet (Ile de France)	Fr16		D	X
			Montreuil (Ile de France)	Fr17		D	
			Créteil (Ile de France)	Fr18		D	X
			Lemans (Sarthe)	Fr19		A	
			La Baule-escoublac (Loire-Atlantique)	Fr20		E	X
			Saumur (Maine-et-Loire)	Fr21		K	X
			Tours (Indre-et-Loire)	Fr22		B	
			Tours Bergeronnerie (Indre-et-Loire)	Fr23		B	X
			Joué les Tours 1 (Indre-et-Loire)	Fr24		B	X
			Joué les Tours 2 (Indre-et-Loire)	Fr25		B	X
			Villandry (Indre-et-Loire)	Fr26		B	
			Richelieu (Indre-et-Loire)	Fr27		A	
			St Martin de Macon (Deux-Sèvres)	Fr28		A	X
			Thouars (Deux-Sèvres)	Fr29		A	
			Ciron Château de Romefort (Indre)	Fr30		A	X
			Poitiers (Vienne)	Fr31		A	X
			Jazeneuil (Vienne)	Fr32		A	
			La Couarde (Deux-Sèvres)	Fr33		A	X
			Niort (Deux-Sèvres)	Fr34		A	X
			Olonnes (Vendée)	Fr35		A	
			Ile de Ré (Charente-Maritime)	Fr36		A	
			La Rochelle (Charente-Maritime)	Fr37		A	X
			Ile d'Aix (Charente-Maritime)	Fr38		C	X
			Ile d'Oléron Boyardville (Charente-Maritime)	Fr39		A	X
			Ile d'Oléron Saumonard (Charente-Maritime)	Fr40		C	X
			Ile d'Oléron Sables-Vigniers (Charente-Maritime)	Fr41		C	X
			Ile d'Oléron St Trojan 1 (Charente-Maritime)	Fr42		C	X
			Ile d'Oléron St Trojan 2 (Charente-Maritime)	Fr43		A	
			Rochefort (Charente-Maritime)	Fr44		A	
			La Coubre (Charente-Maritime)	Fr45		C	X
			La Tremblade (Charente-Maritime)	Fr46		C	X
			Saintes (Charente-Maritime)	Fr47		C	X
			St Georges de Didonne (Charente-Maritime)	Fr48		C	X
			Mortagne sur Gironde (Charente Maritime)	Fr49		A	X
			Vindelle (Charente)	Fr50		A	X
			Jarnac (Charente)	Fr51		A	X
			Galgon (Gironde)	Fr52		C	X
			St-Loubes (Gironde)	Fr53		I	X
			Pessac (Gironde)	Fr54		H	X
			Talence (Gironde)	Fr55		A	X
			St-Médard en Jalles 1 (Gironde)	Fr56		C	X
			St-Médard en Jalles 2 (Gironde)	Fr57		C	X
			La Teste-de-Buch (Gironde)	Fr58		C	X
			Arcachon (Gironde)	Fr59		C	X
			St-Michel de Montaigne (Dordogne)	Fr60		A	X
			Castillon-la-Bataille (Gironde)	Fr61		A	X
			Bergerac (Dordogne)	Fr62		J	X
			Eymet (Dordogne)	Fr63		A	X
			Montauban (Tarn-et-Garonne)	Fr64		E	X
			Montans (Tarn)	Fr65		B	X
			Albi (Tarn)	Fr66		B	X
			St Pierre d'Irube (Pyrénées-atlantiques)	Fr67		C	X
			Anglet (Pyrénées-atlantiques)	Fr68		C	X
			Toulouse (Haute-Garonne)	Fr69		G	X
			Martigues (Bouches-du Rhone)	Fr70		A	X
	Germany	Hambourg Germany	Not represented	AF 525323 Austin et al. 2002	N		
	Austria	Vienna Austria	Not represented		AV		
America	Chili	Quillota 1	Not represented		BM		
		Quillota 2	Not represented		BM		
		Limache	Not represented		BM		
		Valparaiso	Not represented		BM		
		Vina del Mar	Not represented		BM		
	Uruguay	Uruguay 1	Not represented	AY808078 Su et al. 2006	BM		
		Uruguay 2	Not represented	AY808080 Su et al. 2006	A		
USA	Bahamas	USA 37	AF525322 Austin et al. 2002	BH			
	Sacramento California	Not represented	AY808087 Su et al. 2006	H			
Canada	Toronto	USA 38	AF525324 Austin et al. 2002	K			

		Country	Location	Map references	Genbank Accession No.	mt DNA	nuclearDNA				
Native range	USA	North USA	Lincoln Nebraska 1	USA 3	AF525325 Austin et al 2002	A					
			Lincoln Nebraska 2	USA 4		BD					
			Iowa city Iowa	USA 5		A					
			Nashville Tennessee	USA 7		AV					
			Fairland Indiana	USA 8		A					
			Columbus Ohio	USA 9		BL					
			West Virginia 1	USA 10		CB	X				
			West Virginia 2	USA 11		W	X				
			West Virginia 3	USA 12		AA	X				
			Delaware WC 1	USA 13		BT	X				
			Delaware WC 2	USA 14		BX	X				
			Delaware WC 3	USA 15		BY	X				
			Delaware LP 1	USA 16		BY	X				
			Delaware LP 2	USA 17		BZ	X				
			Delaware LP 3	USA 18		BT	X				
			Delaware LP 4	USA 19		CA	X				
			North East of Virginia 1	USA 20		BT	X				
			North East of Virginia 2	USA 21		BX	X				
			North East of Virginia 3	USA 22		CC	X				
			North East of Virginia 4	USA 23		CD	X				
			South East of Virginia 1	USA 24		BU	X				
			South East of Virginia 2	USA 25		BT	X				
			North Carolina 1	USA 26		BS	X				
			North Carolina 2	USA 27		BT	X				
			North Carolina 3	USA 28		BV	X				
			North Carolina 4	USA 29		BU	X				
			North Carolina 5	USA 30		BW					
			South Carolina 1	USA 31		BO	X				
			South Carolina 2	USA 32		BN	X				
			South Carolina 3	USA 33		BP	X				
			South Carolina 4	USA 34		BQ	X				
			South Carolina 5	USA 35		BR	X				
			Native range	USA		South USA	Odessa Texas	USA 1	AF525321 Austin et al 2002	BJ	
							Dallas Texas	USA 2		L	
							Fayetteville Arkansas	USA 6		BK	
							Valdosta Georgia	USA 36		BI	
Gainesville Florida 1	FL1	AM			X						
Gainesville Florida 2	FL2	AL			X						
Gainesville Florida 3	FL3	AN			X						
Perry Florida 1	FL4	AC			X						
Perry Florida 2	FL5	AO			X						
Newport Florida	FL6	AW			X						
Sapchoppy Florida	FL7	AU			X						
East Point Florida	FL8	AX			X						
Apalachicola Florida	FL9	AT			X						
Inlet Beach Florida	FL10	AS			X						
Destin Florida	FL11	AV			X						
Milton Florida 1	FL12	AY			X						
Milton Florida 2	FL13	AZ			X						
Milton Florida 3	FL14	AT			X						
Milton Florida 4	FL15	L			X						
Blackriver Kurl Florida 1	FL16	AP			X						
Blackriver Kurl Florida 2	FL17	AQ			X						
Blackriver Kurl Florida 3	FL18	AR			X						
Wakulla spring SP Florida 1	FL19	A			X						
Wakulla spring SP Florida 2	FL20	A			X						
Wakulla spring SP Florida 3	FL21	AC			X						
Wakulla spring SP Florida 4	FL22	AC			X						
Ostulee SP Florida 1	FL23	AM			X						
Ostulee SP Florida 2	FL24	AL			X						
Ostulee SP Florida 3	FL25	AL			X						
Ostulee SP Florida 4	FL26	AL			X						
Ostulee SP Florida 5	FL27	AK			X						
Paynes prairies SP Florida 1	FL28	AL			X						
Paynes prairies SP Florida 2	FL29	BB			X						
Paynes prairies SP Florida 3	FL30	AL			X						
Paynes prairies SP Florida 4	FL31	AM			X						
Secret Wood Florida	FL32	AM			X						
USDA Fort Lauderdale Florida	FL33	BA	X								
Alachua Florida	FL34	BE									
Ocala Florida 1	FL35	BF	X								
Ocala Florida 2	FL36	BG	X								

		Country	Location	Map references	Genbank Accession No.	mtDNA	nuclearDNA
			New Orleans Louisiana 1	LA1		BC	X
			New Orleans Louisiana 2	LA2		H	X
			New Orleans Louisiana 3	LA3		K	X
			New Orleans Louisiana 4	LA4		A	X
			New Orleans Louisiana 5	LA5		E	X
			New Orleans Louisiana 6	LA6		E	X
			New Orleans Louisiana 7	LA7		AE	X
			New Orleans Louisiana 8	LA8		K	X
			New Orleans Louisiana 9	LA9		AG	X
			New Orleans Louisiana 10	LA10		AH	X
			New Orleans Louisiana 11	LA11		A	X
			New Orleans Louisiana 12	LA12		AC	X
			New Orleans Louisiana 13	LA13		AC	X
			New Orleans Louisiana 14	LA14		AF	X
			New Orleans Louisiana 15	LA15		AE	X
			New Orleans Louisiana 16	LA16		E	X
			New Orleans Louisiana 17	LA17		AC	X
			New Orleans Louisiana 18	LA18		H	X
			New Orleans Louisiana 19	LA19		H	X
			Lafitte Louisiana 1	LA20		AI	X
			Lafitte Louisiana 2	LA21		E	X
			Lafitte Louisiana 3	LA22		H	X
			Lafitte Louisiana 4	LA23		AJ	X
			Lafitte Louisiana 5	LA24		E	X
			Lafitte Louisiana 6	LA25		E	X
			Lafitte Louisiana 7	LA26		AC	X
			Kenner Louisiana	LA27		A	X
			Laplace Louisiana	LA28		AD	X
			North Lake Nature Center Louisiana 1	LA29		H	X
			North Lake Nature Center Louisiana 2	LA30		L	X
			North Lake Nature Center Louisiana 3	LA31		M	X
			North Lake Nature Center Louisiana 4	LA32		C	X
			Fontainebleau Park Forest Louisiana 1	LA33		O	X
			Fontainebleau Park Forest Louisiana 2	LA34		L	X
			Fontainebleau Park Forest Louisiana 3	LA35		P	X
			Pearl River Louisiana 1	LA36		Q	X
			Pearl River Louisiana 2	LA37		K	X
			Pearl River Louisiana 3	LA38		U	X
			Pearl River Louisiana 4	LA39		R	X
			Pearl River Louisiana 5	LA40		S	X
			Pearl River Louisiana 6	LA41		T	X
			Blush Louisiana 1	LA42		Q	X
			Blush Louisiana 2	LA43		Z	X
			Blush Louisiana 3	LA44		T	X
			River of Mississippi next to New Orl	LA45		H	X
			St Gabriel Louisiana 1	LA46		A	X
			St Gabriel Louisiana 2	LA47		E	X
			St Gabriel Louisiana 3	LA48		H	X
			St Gabriel Louisiana 4	LA49		E	X
			Baton Rouge Louisiana 1	LA50		H	X
			Baton Rouge Louisiana 2	LA51		K	X
			Baton Rouge Louisiana 3	LA52		A	X
			Baton Rouge Louisiana 4	LA53		AB	X
			Baton Rouge Louisiana 5	LA54		A	X
			Mississippi 1	MI55		V	X
			Mississippi 2	MI56		W	X
			Mississippi 3	MI57		O	X
			Mississippi 4	MI58		X	X
			Mississippi 5	MI59		Y	X
			DeSoto National Forest Mississippi 1	MI60		L	
			DeSoto National Forest Mississippi 2	MI61		A	
			DeSoto National Forest Mississippi 3	MI62		AV	
			DeSoto National Forest Mississippi 4	MI63		AQ	

References

- Aber A (1998) Termite subterranea, xilofaga del Uruguay. *Reticulitermes lucifugus* (Isoptera: Rhinotermitidae), Piracicaba, Brasil
- Allendorf FW, Lundquist LL (2003) Introduction: Population biology, evolution, and control of invasive species. *Conservation Biology* 17:24-30
- Austin JW, Szalanski AL, Scheffrahn RH, Messenger MT, Dronnet S, Bagnères A-G (2005) Genetic evidence for the synonymy of two *Reticulitermes* species: *Reticulitermes flavipes* and *Reticulitermes santonensis*. *Annals of the Entomological Society of America* 98:395-401
- Austin JW, Szalanski AL, Uva P, Bagnères AG, Kence A (2002) A comparative genetic analysis of the subterranean termite genus *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Annals of the Entomological Society of America* 95:753-760
- Avise JC, Nelson WS, Sibley CG (1994) DNA-Sequence Support for a Close Phylogenetic Relationship between Some Storks and New-World Vultures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91:5173-5177
- Bagnères A-G (1989) Les hydrocarbures cuticulaires des insectes sociaux: Détermination et rôle dans la reconnaissance spécifique, coloniale et individuelle. In: Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, Paris, pp 151
- Bagnères A-G (2006) Recent data on termite invasion and infestation in Western Europe. In: National Conference on Urban Entomology, Conference of National Conference on Urban Entomology, Raleigh
- Bagnères A-G, Clément J-C, Blum MS, Severson RF, Joulie C, Lange C (1990) Cuticular hydrocarbons and defensive compounds of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *R. santonensis* (Feytaud): polymorphism and chemotaxonomy. *Journal of Chemical Ecology* 16:3213-3244
- Bobe-Moreau J (1843) Mémoire sur les Termites observés à Rochefort et dans divers autres lieux du département de la Charente-Inférieure. In: Saintes
- Chen YH, Opp SB, Berlocher SH, Roderick GK (2006) Are bottlenecks associated with colonization? Genetic diversity and diapause variation of native and introduced *Rhagoletis completa* populations. *Oecologia* 149:656-667
- Clément J-L (1986) Open and closed societies in *Reticulitermes* termites (Isoptera, Rhinotermitidae): geographic and seasonal variations. *Sociobiology* 11:311-323
- Clément J-L and Bagnères A-G (1998).
- Clément J-L, Bagnères A-G, Uva P, Wilfert L, Quintana A, Reinhard J, Dronnet S (2001) Biosystematics of *Reticulitermes* termites in Europe: morphological, chemical and molecular data. *Insectes sociaux* 48:202-215
- Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9:1657-1659
- Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001-2014
- Dlugosch KM, Parker IM (2008a) Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology* 17:431-449
- Dlugosch KM, Parker IM (2008b) Invading populations of an ornamental shrub show rapid life history evolution despite genetic bottlenecks. *Ecology Letters* 11:701-709
- Dronnet S, Bagnères A-G, Juba TR, Vargo EL (2004) Polymorphic microsatellite loci in the European subterranean termite, *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *Molecular Ecology Notes* 4:127-129
- Dronnet S, Chapuisat M, Vargo EL, Lohou C, Bagnères A-G (2005) Genetic analysis of the breeding system of an invasive subterranean termite, *Reticulitermes santonensis*, in urban and natural habitats. *Molecular Ecology* 14:1311-1320
- Elam DR, Ridley CE, Goodell K, Ellstrandt NC (2007) Population size and relatedness affect fitness of a self-incompatible invasive plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:549-552
- Estoup A, Wilson IJ, Sullivan C, Cornuet JM, Moritz C (2001) Inferring population history from microsatellite and enzyme data in serially introduced cane toads, *Bufo marinus*. *Genetics* 159:1671-1687
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics* 1:47-50
- Facon B, Genton BJ, Shykoff J, Jarne P, Estoup A, David P (2006) A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology & Evolution* 21:130-135

- Facon B, Pointier JP, Jarne P, Sarda V, David P (2008) High genetic variance in life-history strategies within invasive populations by way of multiple introductions. *Current Biology* 18:363-367
- Feytaud de J (1924) Le termite de Saintonge. *Compte-Rendus de l'Académie des Sciences* 171:203-205
- Feytaud de J (1959) L'histoire véridique du termite de Saintonge. *Cahiers de l'Ouest* 30:1-11
- Fournier D, Biseau JC, Aron S (2009) Genetics, behaviour and chemical recognition of the invading ant *Pheidole megacephala*. *Molecular Ecology* 18:186-199
- Frankham R (2005) Invasion biology - Resolving the genetic paradox in invasive species. *Heredity* 94:385-385
- Galtier N, Gouy M, Gautier (1996) SEAVIEW and PHYLO_WIN: two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny *Bioinformatics (Oxford)* 12:543-548
- Garza JC, Williamson EG (2001) Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology* 10:305-318
- Gasperi G, Bonizzoni M, Gomulski LM, Murelli V, Torti C, Malacrida AR, Guglielmino CR (2002) Genetic differentiation, gene flow and the origin of infestations of the medfly, *Ceratitis capitata*. *Genetica* 116:125-135
- Genton BJ, Shykoff JA, Giraud T (2005) High genetic diversity in French invasive populations of common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, as a result of multiple sources of introduction. *Molecular Ecology* 14:4275-4285
- Goudet J (1995) FSTAT (vers 1.2): A computer program to calculate *F*-statistics. *Journal of Heredity* 86:485-486
- Grapputo A, Boman S, Lindstrom L, Lyytinen A, Mappes J (2005) The voyage of an invasive species across continents: genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle populations. *Molecular Ecology* 14:4207-4219
- Guindon S, Gascuel O (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52:696-704
- Hall TA (1999) Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nuclear Acids Symposium Series* 41:95-98
- Harris WV (1962) Termites in Europe. *New Scientist* 13:614-617
- Hierro JL, Maron JL, Callaway RM (2005) A biogeographical approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *Journal of Ecology* 93:5-15
- Holway DA, Lach L, Suarez AV, Tsutsui ND, Case TJ (2002) The causes and consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33:181-233
- Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17:754-755
- Jenkins TM, Dean RE, Verkerk R, Forschler BT (2001) Phylogenetic Analyses of Two Mitochondrial Genes and One Nuclear Intron Region Illuminate European Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae) Gene Flow, Taxonomy, and Introduction Dynamics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20:286-293
- Kolbe JJ, Glor RE, Schettino LRG, Lara AC, Larson A, Losos JB (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* 431:177-181
- Kollar V (1837) *Naturgeschichte des schädlichen Insekten*. *Verb. Landwirtschaft. Ges. Wien*:411-413
- Kutnik M, Uva P, Brinkworth L, Bagnères A-G (2004) Phylogeography of two European *Reticulitermes* (Isoptera) species: the Iberian refugium. *Molecular Ecology*
- Lee CE (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology & Evolution* 17:386-391
- Lindholm AK, Breden F, Alexander HJ, Chan WK, Thakurta SG, Brooks R (2005) Invasion success and genetic diversity of introduced populations of guppies *Poecilia reticulata* in Australia. *Molecular Ecology* 14:3671-3682
- Miura T, Maekawa K, Kitade O, Abe T, Matsumoto T (1998) Phylogenetic relationships among subfamilies in higher termites (Isoptera : Termitidae) based on mitochondrial COII gene sequences. *Annals of the Entomological Society of America* 91:515-523
- Miura T, Roisin Y, Matsumoto T (2000) Molecular phylogeny and biogeography of the nasute termite genus *Nasutitermes* (Isoptera : Termitidae) in the Pacific tropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 17:1-10
- Muirhead JR, Gray DK, Kelly DW, Ellis SM, Heath DD, Macisaac HJ (2008) Identifying the source of species invasions: sampling intensity vs. genetic diversity. *Molecular Ecology* 17:1020-1035
- Nei M (1972) Genetic Distance between Populations. *American Naturalist* 106:283-&
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R (1975) Bottleneck effect and genetic-variability in populations. *Evolution* 29:1-10

- Novak SJ (2007) The role of evolution in the invasion process. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:3671-3672
- Nylander JAA (2004) MrAIC.pl. Program distributed by the author. In: *Evolutionary Biology Centre, Uppsala University*
- Orivel J, Grangier J, Foucaud J, Le Breton J, Andres FX, Jourdan H, Delabie JHC, Fournier D, Cerdan P, Facon B, Estoup A, Dejean A (2009) Ecologically heterogeneous populations of the invasive ant *Wasmannia auropunctata* within its native and introduced ranges. *Ecological Entomology* 34:504-512
- Park YC, Kitade O, Schwarz M, Kim JP, Kim W (2006) Intraspecific molecular phylogeny, genetic variation and phylogeography of *Reticulitermes speratus* (Isoptera : Rhinotermitidae). *Molecules and Cells* 21:89-103
- Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Christidès J-P, Bagnères A-G (2008) Origin, Establishment and Expansion strategies of an American termite introduced in France. In: *International Union for the Study of Social Insects, Conference of International Union for the Study of Social Insects, Belgium*
- Perdereau et al 2010 *Insectes Sociaux*
- Piry S, Luikart G, Cornuet JM (1999) BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity* 90:502-503
- Puillandre N, Dupas S, Dangles O, Zeddam JL, Capdevielle-Dulac C, Barbin K, Torres-Leguizamon M, Silvain JF (2008) Genetic bottleneck in invasive species: the potato tuber moth adds to the list. *Biological Invasions* 10:319-333
- Quatrefages Ad (1853) Note sur les termites de La Rochelle. *Annales de la Société Zoologique* 30:16
- Raymond M, Rousset F (1995) An exact test for population differentiation. *Evolution* 49:1280-1283
- Ripa R, Castro L (2000) Presencia de la termita subterránea *Reticulitermes santonensis* de Feytaud (Isoptera: Rhinotermitidae) en la comuna de Quillota. In: *XXII Chilean Congress of Entomology, La Sociedad Chilena de Entomología edn, Valdivia*
- Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS, Lodge DM, Molofsky J, With KA, Baughman S, Cabin RJ, Cohen JE, Ellstrand NC, McCauley DE, O'Neil P, Parker IM, Thompson JN, Weller SG (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32:305-332
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular Cloning*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Lab Press, Cold Spring Harbor, NY
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P (1994) Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene-sequences and a compilation of conserved polymerase chain-reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America* 87:651-701
- Su NY, Ye WM, Ripa R, Scheffrahn RH, Giblin-Davis RM (2006) Identification of Chilean *Reticulitermes* (Isoptera : Rhinotermitidae) inferred from three mitochondrial gene DNA sequences and soldier morphology. *Annals of the Entomological Society of America* 99:352-363
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994b) Clustal-w - Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific, gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673-4680
- Tsutsui ND, Suarez AV, Grosberg RK (2003) Genetic diversity, asymmetrical aggression, and recognition in a widespread invasive species. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100:1078-1083
- Tsutsui ND, Suarez AV, Holway DA, Case TJ (2000) Reduced genetic variation in the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* 97:5948-5953
- Valade R, Kenis M, Hernandez-Lopez A, Augustin S, Mena NM, Magnoux E, Rougerie R, Lakatos F, Roques A, Lopez-Vaamonde C (2009) Mitochondrial and microsatellite DNA markers reveal a Balkan origin for the highly invasive horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae). *Molecular Ecology* 18:3458-3470
- Valliant MT, Mack RN, Novak SJ (2007) Introduction history and population genetics of the invasive grass *Bromus tectorum* (Poaceae) in Canada. *American Journal of Botany* 94:1156-1169
- Vargo EL (2000) Polymorphism at trinucleotide microsatellite loci in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Molecular Ecology* 9:817-829
- Vieau F (2001) Comparison of the spatial distribution and reproductive cycle of *Reticulitermes santonensis* Feytaud and *Reticulitermes lucifugus grassei* Clément (Isoptera, Rhinotermitidae) suggests that they represent introduced and native species, respectively. *Insectes sociaux* 48:57-62
- Villablanca FX, Roderick GK, Palumbi SR (1998) Invasion genetics of the Mediterranean fruit fly: variation in multiple nuclear introns. *Molecular Ecology* 7:547-560
- Vitousek PM, Dantonio CM, Loope LL, Rejmanek M, Westbrooks R (1997) Introduced species: A significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology* 21:1-16
- Weidner H (1937) Termiten in Hamburg. *Z. Pflanzenkrankh* 47:593

- Wilcove DS, Rothstein D, Dubow J, Phillips A, Losos E (1998) Quantifying threats to imperiled species in the United States. *Bioscience* 48:607-615
- Williamson MH, Fitter A (1996) The characters of successful invaders. *Biological Conservation* 78:163-170
- Ye W, Lee C-Y, Scheffrahn RH, Aleong JM, Su N-Y, Bennett GW, Scharf ME (2004) Phylogenetic relationships of nearctic *Reticulitermes* species (Isoptera: Rhinotermitidae) with particular reference to *Reticulitermes arenicola* Goellner. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30:815-822
- Zenger KR, Richardson BJ, Vachot-Griffin AM (2003) A rapid population expansion retains genetic diversity within European rabbits in Australia. *Molecular Ecology* 12:789-794

PARTIE III
DISCUSSION-CONCLUSION

Au cours de cette thèse, nous avons cherché à déterminer si des variations de l'organisation sociale existaient entre les populations natives et introduites du termite *R. flavipes*, si elles avaient évolué suite à l'introduction et si elles étaient impliquées dans son succès invasif.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de cette thèse confirme que certaines caractéristiques de l'organisation sociale varient entre les populations introduites en France et les populations natives aux USA. Dans cette discussion, nous allons plus particulièrement nous attacher à (i) discuter de l'implication de ces variations sur le succès invasif et (ii) émettre des hypothèses concernant les mécanismes évolutifs à l'origine de celles-ci.

I. Organisation sociale et succès invasif

Nos résultats ont montré que deux aspects principaux de l'organisation sociale varient entre les populations natives et introduites de *R. flavipes* : (i) le manque d'agressivité et la fusion coloniale (Article 1 et 2) et (ii) la présence permanente de nombreux reproducteurs secondaires (néoténiques) fonctionnels au sein des colonies (Article 1).

1. Absence d'agressivité intraspécifique et fusion coloniale : une forme d'unicolonialité chez un termite ?

La fusion coloniale est observée lorsqu'au moins deux colonies non apparentées fusionnent pour devenir une colonie unique. Ce phénomène a été identifiée au cours de l'étude 1 en proportion importante alors qu'il est apparu sous estimé. Ce phénomène de fusion est un résultat majeur : d'une part car il n'avait jamais été décrit dans une population introduite de *R. flavipes*, mais également parce que **la proportion observée dans la population de St Trojan est la plus importante jamais observée dans une population de *Reticulitermes*** (Article 1). La fusion entraînant un mélange des membres de chaque colonie fusionnée, elle a été détectée par la présence de plus de 4 allèles à au moins un loci. Ce critère ne permet pas de savoir si une éventuelle reproduction entre les reproducteurs des différentes colonies existe. Néanmoins, l'analyse de la distribution allélique des colonies fusionnées à St Trojan, ne nous ayant

pas permis de détecter des familles distinctes, suggérait une reproduction entre les reproducteurs de chaque colonie. D'autres études sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

La fusion coloniale peut être associée à un autre caractère spécifique étudié au cours de cette thèse : **l'absence d'agression intraspécifique** (Article 2). En effet, une étape qui semble obligatoire pour qu'il y ait fusion coloniale est l'absence d'agression entre individus, afin d'avoir une acceptation mutuelle des colonies. L'ouverture coloniale permanente des populations introduites de *R. flavipes* en France a été notée dans plusieurs précédentes études (Clément 1978, Clément 1986, Bgnères 1989). Une totale absence d'agression entre colonies n'est pas un phénomène habituel chez les *Reticulitermes* (Thorne and Haverty 1991). Chez de nombreuses espèces de ce genre, même si l'ouverture coloniale est possible, une agressivité entre colonies a toujours été observée avant les périodes d'essaimage (Clément 1978a, Clément 1986). Une agression intraspécifique ayant déjà été notée dans les populations américaines de *R. flavipes* (Polizzi and Forschler 1998, Fisher and Gold 2003), **le manque d'agressivité coloniale apparaît être un caractère particulier des populations introduites de *R. flavipes*** (Article 2). Cette absence d'agressivité dans les populations introduites de *R. flavipes* pourrait être une des causes de l'importante proportion de colonies fusionnées observée.

Nous avons également observé que les colonies des populations introduites sont spatialement vastes pouvant s'étendre sur 600 mètres (la plus grande colonie observée de *Reticulitermes*, mais voir Leniaud et al. 2009) (Article 1). En comparaison, les colonies des populations natives de *R. flavipes* présentent une étendue d'une centaine de mètres au grand maximum, ce qui est également le cas des colonies des autres espèces du genre *Reticulitermes*, que ce soit en Europe ou aux USA (revu dans Vargo et Husseneder 2009). Seules les populations de *R. flavipes* en France font exception. Ainsi, **le capacité des colonies à fusionner entre elles, permettrait l'augmentation de la surface coloniale.**

L'absence totale d'agression entre colonies, l'aptitude des individus à circuler librement et la formation de colonies spatialement étendues trouvées dans les populations introduites de *R. flavipes* sont des caractères rappelant la définition

d'une population unicoloniale. Plusieurs définitions de l'unicolonialité chez les fourmis invasives ont été énoncées. Helanterä et al. (2009) définissent une population unicoloniale comme une population constituée d'une colonie unique contenant plusieurs nids étant tellement éloignés que des interactions directes entre eux sont impossibles. Suarez et al. (2008) donnent comme définition : une absence de comportement agressifs entre les nids d'une population. La définition initiale énoncée par Bourke et Franks (1995) décrit une population unicoloniale comme une population entière contenant plusieurs nids sans frontières nettes où il existe des échanges entre les membres de chacun des nids. Toutes les définitions qui viennent d'être énoncées pour caractériser une population unicoloniale correspondent à la forme d'organisation sociale trouvée pour la population de *R. flavipes* à St Trojan.

Une organisation unicoloniale est observée chez les 5 espèces de fourmis hautement invasives : *Anoplolepis gracilipes*, *Linepithema humile*, *Pheidole megacephala*, *Solenopsis invicta* et *Wasmannia auropunctata*, comme nous l'avons vu précédemment dans la synthèse bibliographique (p.49) (Morel et al. 1990, Le Breton et al. 2004, Drescher et al. 2007, Suarez et al. 2008, Fournier et al. 2009, Orivel et al. 2009, Helanterä 2009, Thomas et al. 2010). Chez les espèces où l'aire native est connue dans le cas de la fourmi d'argentine, *L. humile*, et de la petite fourmi de feu, *W. auropunctata*, les populations invasives montrent uniquement une organisation sociale unicoloniale dans l'aire d'introduction (mais voir Vogel et al. 2009, 2010). De manière similaire, les populations natives de *R. flavipes* possèdent très peu de colonies fusionnées (seulement 3.30% dans les populations américaines) comparé aux populations introduites (31%) dont le nombre est sûrement sous estimées.

Implication de l'absence d'agressivité intraspécifique et de la fusion dans le succès invasif de *R. flavipes*

L'absence d'agression entre les colonies des populations introduites de *R. flavipes* est le premier caractère impliqué dans le succès invasif. En effet, la compétition intraspécifique est un phénomène qui permet la régulation des populations. L'absence des coûts liés à la territorialité permet aux colonies du termite introduit de consacrer plus d'énergie à d'autres activités comme la croissance coloniale, la recherche et la

collection de nourriture (Holway et al. 1998). Cette caractéristique remarquable représente un avantage non négligeable par rapport aux espèces de *Reticulitermes* compétitrices et notamment face aux populations sympatriques de *R. grassei* (Article 2).

Cette forme d'organisation sociale permet de gagner un large territoire (Holway et al. 2002) et favorise la saturation de l'habitat pour les autres espèces compétitrices. Comme il a été démontré chez les fourmis, l'unicolonialité est un moyen d'acquérir une dominance interspécifique en augmentant la densité des ouvriers au sein de la colonie (Holway 1999, Holway et al. 2002). La présence de colonies spatialement plus grandes et denses dans l'aire d'introduction que dans l'aire native est un caractère également retrouvé dans les populations introduites du Bourdon *Bombus terrestris* en Nouvelle Zélande et en Tasmanie (Buttermore 1997) mais également celles du frelon asiatique *Vespa velutina* en France (Darrouzet 2010).

De plus, les tests d'agression révèlent qu'à nombre égal les individus de *R. flavipes* dominaient les individus de l'espèce autochtone *R. grassei* (Article 2). Par conséquent, en plus de la supériorité numérique dans les populations de St Trojan, les individus de *R. flavipes* semble posséder une forte agressivité. La supériorité interspécifique a souvent été citée comme un caractère spécifique des espèces invasives aussi bien animales que végétales (Blossey and Notzold 1995, Holway and Suarez 2004). Elle semble être nécessaire pour pouvoir s'établir avec succès dans les environnements où les niches écologiques visées sont déjà occupées.

L'unicolonialité semble donc être un caractère analogue aux populations de fourmis. Le phénomène de fusion dans les populations introduites de *R. flavipes* pourrait être un mécanisme analogue permettant aux colonies d'atteindre une densité élevée d'ouvriers et une dominance interspécifique dans le nouvel environnement.

2. La néoténie : une augmentation du nombre de reproducteurs

Nous avons pu corroborer au cours de l'étude de l'article 1 que les colonies de *R. flavipes* en France **contenaient toujours des reproducteurs secondaires, en proportion plus élevée que la majeure partie des colonies des populations**

américaines (78.80% de leurs colonies de type étendu ont moins de 10 reproducteurs secondaires fonctionnels) (Vargo and Husseneder 2009). Nous avons noté qu'aucune colonie contenant seulement le couple fondateur n'était observée. Pourtant, ce type familial « simple » correspond à la structure initiale d'une colonie lors de la fondation d'un nouveau nid par des essaimants et est celle la plus fréquemment rencontrée dans les colonies du genre *Reticulitermes* (75% des colonies) (Vargo and Husseneder 2009). La présence constante de nombreux reproducteurs au sein de toutes les colonies françaises et l'absence de familles simples, peuvent être reliées à un seul phénomène : **les individus des colonies françaises auraient une capacité de différenciation en néoténiques fonctionnels plus rapide, dès la fondation de la colonie, que les individus américains**. Dans ce sens, il a récemment été observé que les néoténiques de *R. flavipes* en France semblent se différencier bien plus rapidement que celle de l'espèce européenne *R. grassei* (Pichon et al. 2007, Leniaud 2008, Leniaud et al. in prep).

Les populations de *R. flavipes* en France semblent ne pas être les seules à présenter cette capacité à produire de nombreux reproducteurs secondaires. Plusieurs études faites sur des colonies collectées en dehors ou à la limite de l'aire de répartition naturelle de *R. flavipes* sont composées également de nombreux néoténiques (supérieur à 100 par colonie) (Toronto : Grace et al. 1989, Wisconsin : Esenther 1969, Nebraska : DeHeer and Kamble 2008). Une forte capacité des colonies à produire des néoténiques fonctionnels est également observée chez d'autres populations introduites de termites souterrains du genre *Coptotermes* (i.e *C. lacteus*, *C. acinaformis*, et *C. frenchi*) (Lenz and Barrett, 1982). La production accrue en néoténiques dans les colonies apparaît être un caractère commun aux populations de termites introduites. Néanmoins, une seule exception existe chez *Coptotermes formosanus* : les populations introduites possèdent majoritairement des colonies de type famille simple, et lorsqu'elles sont de type étendu, elles ne contiennent que très peu de néoténiques (Husseneder et al. 2008, Vargo and Husseneder 2009).

La néoténie (capacité des individus à se différencier en reproducteurs secondaires/néoténiques) est un phénomène répandu chez les termites inférieurs, plus de 60% des genres montre cette capacité (Myles 1999). Ils peuvent se différencier à partir d'ouvriers ou de nymphes, et se développer dans deux contextes sociaux : (i) soit

se sont des reproducteurs de remplacement lorsqu'un reproducteur primaire meurt, ou bien à la suite d'un abandon ou d'une fragmentation de la colonie, (ii) soit ils forment des reproducteurs supplémentaires malgré la présence des reproducteurs primaires. Rappelons que la néoténie n'est possible que par le caractère hémimétabole du développement des Isoptères (tous les individus sont des immatures à l'exception des ailés) ; ce sont des mues successives qui permettent la différenciation en néoténiques (Thorne 1996). De ce fait, **la néoténie**, en permettant la présence de plusieurs reproducteurs au sein des colonies, peut être vue comme **une autre forme de polygynie** observée fréquemment chez les Hyménoptères (Thorne 1985). En effet, la polygynie est définie comme la présence de plusieurs reines reproductrices au sein d'une colonie (Passera 1994). Une colonie peut devenir polygyne par plusieurs mécanismes, comme l'adoption de nouvelles reines dans des nids déjà établis, par pléiomérose (fondation d'une colonie par des sœurs), ou par le maintien des filles au nid (Keller and Vargo 1993) (les sociétés d'Hyménoptères étant composés essentiellement de femelles, nous ne parlerons pas de polyandrie, caractérisée par la possibilité pour les reines de s'accoupler avec plusieurs mâles). De nombreuses espèces d'Hyménoptères introduites en dehors de leur aire de répartition naturelle montrent des colonies polygynes. C'est le cas de 147 espèces de fourmis (McGlynn 1999) et de la guêpe *Vespula germanica* introduite en Australie (Donovan et al. 1992), dont les colonies sont toutes polygynes, alors que dans l'aire native elles présentent une forme exclusivement monogyne. Les populations introduites de *R. flavipes* présentent une forme extrême de néoténie, comme ce qui a été reporté chez la guêpe à papier *Polistes dominulus* (Liebert et al. 2008). De même, la fourmi de feu *Solenopsis invicta* présente des colonies polygynes nord-américaines pouvant contenir plus de 200 reines (Ross and Keller 1995). Chez une autre espèce de termite, *Reticulitermes urbis*, la présence d'une forme extrême de néoténie a également été suggérée dans les populations introduites en France (Leniaud 2008, Leniaud et al. 2009).

Implication de la néoténie dans le succès invasif de *R. flavipes*

L'accroissement de la population passe principalement par la reproduction bien que l'immigration puisse aussi renforcer l'effectif des populations (Ricklefs and Miller 2005). Ainsi, le premier avantage apporté par le nombre élevé de reproducteurs

secondaires fonctionnels, de 10 à 300, au sein de toutes les colonies des populations introduites de *R. flavipes*, est d'augmenter considérablement le taux de reproduction, en comparaison à une colonie composée seulement des reproducteurs primaires (Howard and Haverty 1980). La conséquence directe à cette augmentation de la reproduction est l'accélération de la croissance coloniale (Vargo and Fletcher 1989). Nos observations sur le terrain ont pu confirmer cette importante croissance coloniale. Toutes les colonies de *R. flavipes* sur l'île d'Oléron présentent une densité élevée d'individus et sont spatialement très étendues en comparaison avec celles de *R. grassei*. La présence de nombreux néoténiques, en maximisant la croissance coloniale, favoriserait la survie et l'expansion de la population.

La présence de nombreux néoténiques présente un autre avantage, celui d'augmenter la dispersion. A l'inverse de la reproduction classique par essaimage, la néoténie permet une dispersion de proche en proche par bouturage donnant naissance à des nids satellites. Il est souvent assumé que les vastes surfaces de fourragement atteintes dans les colonies de certaines espèces du genre *Reticulitermes*, sont dues à de nombreux reproducteurs néoténiques (Grube and Forschler 2004). Tout comme la fusion coloniale, la forme extrême de néoténie des populations introduites de *R. flavipes* permet une grande expansion territoriale des colonies. Cependant, il est possible que les nids satellites se dessoudent de la colonie principale (Myles and Nutting 1988). Dans ce cas, une capacité accrue à se différencier en reproducteurs secondaires permet la survie du nid.

Un autre atout majeur apporté par la néoténie est l'augmentation des chances de s'établir de façon permanente dans d'autres milieux, et notamment lors de la propagation par l'homme. Il semblerait que la capacité à produire des reproducteurs secondaires ait joué un rôle principal dans la dispersion et l'expansion de *R. flavipes* (Vieau 2001). En effet, *R. flavipes* se trouve essentiellement réparti dans des zones urbaines et près des aires anthropisées dans les milieux forestiers (maison forestières, parking). Cette répartition en patch met en évidence une dispersion non aléatoire, influencée principalement par les activités humaines. En France, *R. flavipes* est l'espèce retrouvée la plus communément dans les villes (Figure 10 p.75). Elle est presque la seule à occuper le nord du pentagone, aire située en dehors de la répartition naturelle

des *Reticulitermes* en Europe (localisée essentiellement sur le pourtour méditerranéen, Figure 7 p.72). Ce succès de colonisation urbaine apparaît essentiellement dû à la capacité à se différencier rapidement en reproducteurs secondaires. Une étude a montré que, chez les *Reticulitermes*, seul un petit nombre d'ouvriers (30) suffisait pour que des néoténiques se différencient, assurant ainsi la pérennité d'un groupe fragmenté (Pichon et al. 2007). L'étude d'une population du termite *R. urbis* introduit en France illustre un bel exemple du rôle de la néoténie dans la survie et la dispersion de portions de colonies. En effet, Leniaud et al. (2009) ont mis en évidence qu'une seule entité génétique existait dans la ville de Domène (Isère) sur 7 Ha. Cette entité composée de différents nids non connectés, mais génétiquement indifférenciés, révèle comment, à partir d'une seule colonie, une ville peut être infestée via l'homme, grâce à la survie de groupes d'individus dispersés et par la différenciation en reproducteurs secondaires. *R. flavipes* semble s'être installé avec succès dans de nombreuses villes françaises par la capacité des individus à se différencier rapidement en de nombreux néoténiques fonctionnels lors de transports de morceaux de colonies (transport de bois, humus, pots de fleurs). Néanmoins, la reproduction par les néoténiques pourrait avoir aussi un sérieux désavantage, celui d'entraîner une dépression de consanguinité (DeHeer and Vargo 2006), connue pour avoir des effets néfastes sur les populations (Keller and Waller 2002).

Tout comme les populations invasives de *R. flavipes*, de nombreuses études chez des espèces végétales et animales introduites montrent que des changements opèrent sur des caractères de dispersion, croissance et développement des organismes en les augmentant (Huey et al. 2000, Phillips et al. 2006a, Lavergne and Molofsky 2007, Dlugosch and Parker 2008b). Ces modifications favoriseraient la survie et une expansion rapide des populations invasives.

La forme extrême de polygynie dans les populations introduites des termites du genre *Reticulitermes* semble également être un caractère analogue à celles des Hyménoptères sociaux. Un nombre important de reproducteurs dans les colonies des populations introduites de *R. flavipes* semble avoir favorisé son établissement en France.

3. Unicolonialité et polygynie chez les insectes sociaux introduits

Comme il a été remarqué chez les insectes sociaux (Chapman and Bourke 2001), les caractéristiques de l'organisation sociale dans les populations introduites semblent être responsables du succès invasif de *R. flavipes*. Ils engendrent un avantage, au moins à court terme, pour coloniser l'aire d'introduction. **Le manque d'agression associé à la capacité à fusionner**, ainsi que la supériorité interspécifique, révèlent comment les populations introduites de *R. flavipes* se sont installées avec succès dans le nouvel environnement, tout en étant parfois en compétition avec une espèce indigène. **La forme extrême de néoténie** montre comment les populations introduites ont pu se disperser efficacement et envahir notre pays.

Ces deux modifications de l'organisation sociale des populations françaises de *R. flavipes* semblent être analogues à ceux des Hyménoptères sociaux introduits. Alors que l'eusocialité est apparue indépendamment chez les termites et les fourmis, l'acquisition de ces mêmes caractères pourrait illustrer un bel exemple de **convergence évolutive** (Annexe 1. Lexique p.241) à travers le phénomène d'invasion biologique.

II. Comment expliquer les variations observées entre les populations natives et introduites ?

Au cours de cette thèse, nous avons montré que des variations de l'organisation sociale existaient entre les populations du termite *R. flavipes*. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer ces variations.

1. Hybridation interspécifique

Après l'événement d'introduction, l'évolution de caractères adaptés au nouvel environnement dans les populations introduites peut se faire par hybridation avec les espèces locales (Abbott et al. 2003). Un exemple qui peut être cité pour illustrer ce phénomène d'hybridation est celui du croisement entre une abeille européenne (*Apis mellifera ligustica* ou *iberiensis*) et l'abeille africaine (*Apis mellifera scutellata*) qui a donné naissance à un hybride viable plus agressif, dénommé l'abeille tueuse (Schneider et al. 2004). L'hybridation chez les *Reticulitermes* a été démontrée entre la sous espèce *Reticulitermes lucifugus corsicus* et l'espèce italienne *R. lucifugus* dans la région provençale. Cette sous espèce serait issue en premier d'une différenciation de *R. lucifugus* au début du Pléistocène lors de la formation des îles Tyrrhéniennes, puis de croisements trans-tyrrhéniens multiples, induits indirectement par l'homme, suivies d'hybridations introgressives (Lefebvre et al. 2008). Les modifications observées dans les populations introduites de *R. flavipes* pourraient résulter d'une hybridation avec une espèce locale. Par vigueur hybride (la supériorité pour de nombreux caractères de l'individu hybride résultant du brassage des différents allèles des différentes espèces), une lignée hybride possédant les allèles impliqués dans la capacité à fusionner et à produire de nombreux néoténiques aurait pu être sélectionnée. Par la répartition des populations introduites de *R. flavipes*, une seule possibilité d'hybridation est possible, celle avec *R. grassei*. Or, aucune donnée génétique et chimique ne montre d'hybridation à Oléron, zone où les deux espèces coexistent et auraient pu potentiellement se croiser. Ainsi, l'hypothèse d'une hybridation avec une espèce locale de *Reticulitermes* apparaît peu probable.

2. Plasticité phénotypique

Une autre hypothèse serait que les variations de l'organisation sociale soient le résultat de la plasticité phénotypique (Annexe 1. Lexique p.241). Sous l'influence de

nouveaux facteurs environnementaux, les colonies des populations introduites en France exprimeraient une forme extrême de néoténie et de capacité à fusionner. Cette hypothèse semble également peu plausible, car la variation des facteurs écologiques existant entre les populations américaines, devrait faire apparaître des variations phénotypiques associées. Cependant, les populations de *R. flavipes* aux USA, de l'état du Massachusetts à celui de la Caroline du Sud, montre une variation graduelle seulement au niveau de la proportion de colonies contenant des reproducteurs secondaires, celle-ci étant plus importante dans le Nord (59% de colonies sont de types familles étendues dans la population du Massachusetts) (Vargo and Husseneder 2009). Même si les facteurs environnementaux semblent être hautement variable entre les populations de ces états aux USA, le degré de variations de l'organisation sociale observé sur la néoténie n'a rien à voir avec celles trouvées dans les populations introduites en France. Il est difficile d'envisager ainsi que les variations observées dans les populations françaises soient la seule réponse à des conditions écologiques locales. De plus, contrairement aux plantes, les variations de caractères biologiques suite à des événements d'introduction chez les animaux sont rarement attribuées au seul résultat de la plasticité phénotypique (Facon et al. 2006, Dlugosch and Parker 2008b)

3. Effet fondateur

Il est également possible que les populations sources des françaises en France possédaient déjà de fortes capacités à produire des néoténiques fonctionnels et à fusionner. Cette supposition semble également peu probable car bien que nombreuses études aient été faites sur les populations américaines (Vargo and Husseneder 2009) aucune ne présente de telles caractéristiques. Par ailleurs, l'étude 4 (Article 4) a révélé que les populations françaises avaient subi une perte de diversité génétique significative bien que modérée suggérant de multiples introductions probablement en provenance de Louisiane. Par le fait que les populations du Sud des USA possèdent des colonies composées majoritairement de familles simples, cette hypothèse apparaît peu probable.

Aucun des trois processus ne semble pouvoir expliquer les variations de l'organisation sociale des populations introduites de *R. flavipes*. Par conséquent, il semblerait que **l'organisation sociale ait évolué suite à l'introduction des**

populations. Ce scénario de l'invasion de *R. flavipes* constitue un des trois modèles théoriques d'invasions biologiques déterminés par Facon et al (2006), tels que nous l'avons vu dans l'introduction et correspond à celui où un changement évolutif permet aux populations invasives de s'installer définitivement dans l'environnement envahi (scénario 3, Figure 2 p.38).

III. Evolution de l'organisation sociale suite à l'introduction

Aujourd'hui de nombreuses études tentent de comprendre quels processus évolutifs sont à l'origine des variations observées dans les populations introduites (Reznick and Ghalambor 2001, Dlugosch and Parker 2008a, Xu et al. 2010). Une des prédictions des invasions biologiques est que les populations introduites souffriraient d'une réduction de diversité génétique sous l'effet d'un événement de fondation réduisant fortement leur potentialité à s'adapter (Allendorf and Lundquist 2003, Frankham 2005). Cependant, des auteurs ont récemment suggéré que les événements de fondations, n'éliminant pas toute la variation génétique (Nei et al. 1975), l'adaptation des populations introduites pourrait être possible (Dlugosch et Parker 2008a et b). Par conséquent, même si les populations de *R. flavipes* en France ont souffert d'un **effet de fondation durant l'introduction**, il semble possible que l'évolution de l'organisation sociale de *R. flavipes* soit sous l'influence de **la sélection naturelle** et ce malgré la réduction de diversité génétique observée.

Dans les paragraphes suivants nous allons nous intéresser **aux mécanismes physiologiques et génétiques pouvant être impliqués dans les modifications observées entre les colonies natives et introduites**. Puis, nous allons discuter **des différentes forces évolutives pouvant être à l'origine de l'évolution de l'organisation sociale des populations de *R. flavipes***.

1. Evolution du manque d'agression et de la fusion coloniale

Au cours de cette thèse, il a été déterminé des variations dans des caractères pouvant être impliqués dans l'évolution du manque d'agression et de la fusion coloniale. Nous avons en effet mis en évidence que les profils des hydrocarbures cuticulaires (HCs) au sein des populations introduites de *R. flavipes* étaient très homogènes comparés à ceux des populations de *R. grassei* et des populations américaines de *R. flavipes* (Article 2 et 3). Récemment, une telle homogénéité chimique au sein de populations introduites a été détectée chez les fourmis unicellulaires *W. auropunctata* et *L. humile* (Errard et al. 2005, Brandt et al. 2009). Ainsi, l'homogénéité chimique semblant être seulement

présente dans les populations introduites, l'événement d'introduction dans le nouvel environnement serait responsable de cette variation.

Chez les insectes sociaux, il est supposé que la reconnaissance est sous l'influence des hydrocarbures cuticulaires (Blomquist and Bagnères 2010). **L'uniformité chimique** observée dans les populations introduites de *R. flavipes* pourrait être la cause de la perte d'agression entre colonies et ainsi de la fusion coloniale. L'absence d'agression intercoloniale, ou plutôt l'acceptation d'individus étrangers à la colonie, peut se faire par une reconnaissance des individus comme « non-étrangers », mais également par une perte de la capacité à reconnaître des individus étrangers. *R. flavipes* présentant une agressivité envers l'espèce de *R. grassei* en France suggère néanmoins que les individus sont capables de distinguer de fortes variations des facteurs de reconnaissance. Néanmoins, il est aussi envisageable que l'homogénéité chimique soit la conséquence de l'absence d'agressivité. Le manque d'agression entre colonies au sein d'une population pourrait induire une homogénéisation par un mélange des signatures chimiques coloniales.

L'ensemble de nos résultats nous permet de formuler une hypothèse sur l'origine de l'importante capacité à fusionner dans les populations introduites de *R. flavipes*. Suite à un effet de fondation au cours de l'introduction, la diversité des allèles impliquée dans la détermination des facteurs de reconnaissance (éventuellement celle des hydrocarbures cuticulaires) aurait été réduite, induisant ensuite une absence d'agression coloniale et la capacité à fusionner.

Cette hypothèse rappelle celle du « genetic bottleneck » qui a été initialement énoncée par Tsutsui et al. (2000) pour expliquer l'organisation unicoloniale chez la fourmi d'Argentine. Cependant, ce scénario général peut être précisé, grâce à une étude récente portant sur la fusion coloniale des populations américaines de *R. flavipes* (DeHeer and Vargo 2008). Lors de cette étude, les auteurs ont observé que les colonies fusionnées des populations américaines de *R. flavipes* avaient, à quelques bases près le même haplotype mitochondrial (CO II), conjugué à un faible apparentement génétique avec les marqueurs microsatellites. Ces auteurs ont alors supposé que la fusion coloniale était basée sur des facteurs hérités maternellement. Similairement à cette étude, nous

avons identifié un unique haplotype mitochondrial (CO II) dans nos colonies fusionnées, et seulement 2 haplotypes dans la population de St Trojan (Article 1). Si la capacité à fusionner est basée sur une similarité génétique de facteurs hérités maternellement, le fait que seul 2 haplotypes soient présents dans la population de St Trojan augmente considérablement la probabilité d'une colonie de rencontrer une deuxième avec le même haplotype et ainsi de fusionner. Les populations introduites en France ayant subi une perte de diversité mitochondriale (article 4), cette hypothèse expliquerait pourquoi le taux de fusion serait probablement plus important dans ces populations introduites.

Ainsi, il est envisageable que l'absence d'agression et la capacité élevée de fusion entre colonies soient simplement la **conséquence d'une haute similarité génétique**.

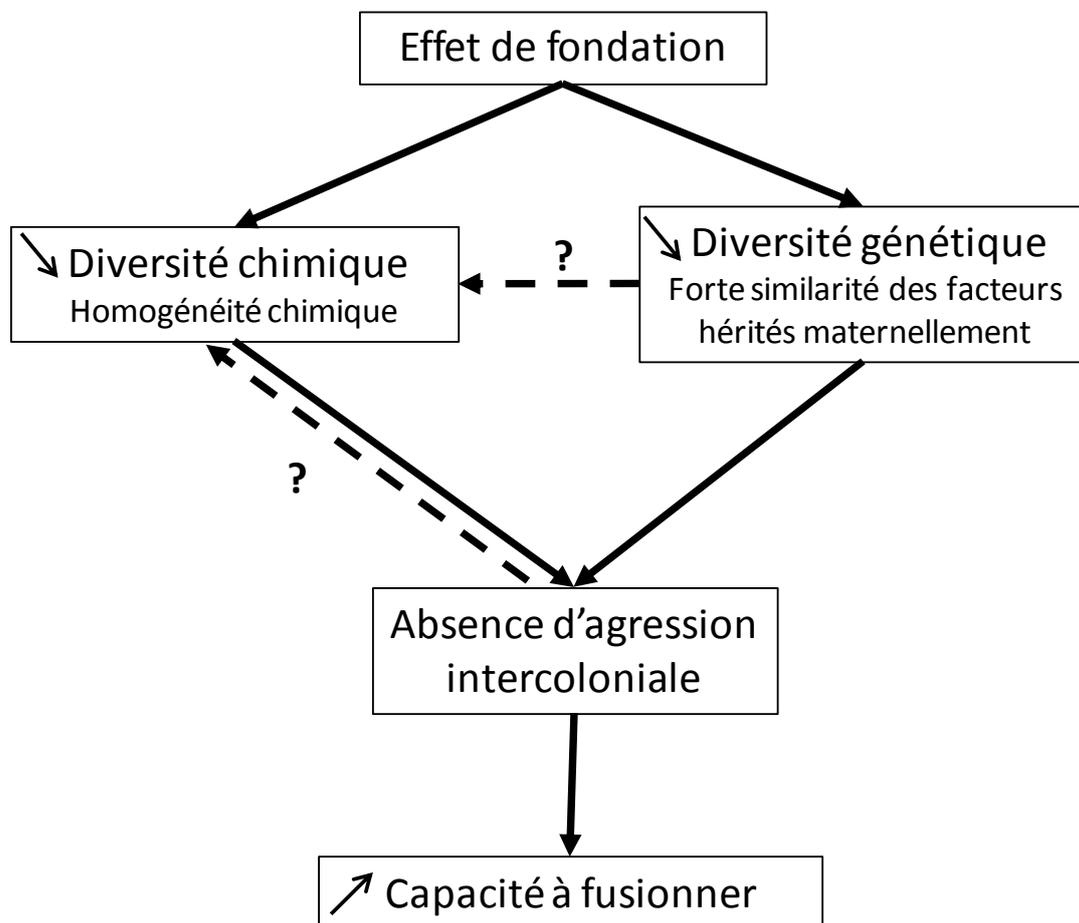


Figure 15. Mécanismes possibles à l'origine de l'importante capacité à fusionner dans les populations introduites de *R. flavipes*

2. Evolution du système de différenciation des néoténiques

Nous avons vu précédemment que les colonies des populations introduites de *R. flavipes* en France contenaient toujours des reproducteurs secondaires fonctionnels en nombre élevé (Dronnet et al. 2005, Perdereau et al. Article 1). Il est difficile de savoir quels sont les facteurs qui ont pu maintenir ou favoriser une production accrue en néoténiques dans les populations introduites, car on ignore la nature des facteurs (environnementaux ou génétiques) qui induisent un individu, aussi bien nymphe qu'ouvrier, à se différencier en néoténique. Cependant, comme nous l'avons vu dans la présentation du modèle d'étude (p.62), il semblerait que l'hormone juvénile joue un rôle important dans la différenciation des ouvriers en soldats (Miura 2001, Scharf et al. 2003, Park and Raina 2004) et en néoténiques (Elliot and Stay 2007 et 2008, Leniaud et al. in prep) : une haute concentration en hormone juvénile donnant des néoténiques et une concentration encore plus élevée induirait des soldats. Une protéine nommée hexamerine semble également jouer un rôle dans la différenciation en reproducteurs secondaires, probablement en modulant la disponibilité d'hormone juvénile dans l'hémolymphe (Scharf et al. 2005).

Hypothèse de la primer pheromones

Il a été émis un modèle général sur le contrôle social chez les insectes sociaux (revu par Monnin 2006) où les reines et/ou les rois inhibent le développement de reproducteurs potentiels au sein de la colonie via une phéromone inhibitrice. Par exemple, chez l'abeille *Apis mellifera*, le rétrocontrôle négatif sur la différenciation des reproductrices est assuré par une phéromone nommée QMP (Queen Mandibular Pheromone) (Slessor et al. 1988). Chez les termites, il a été suggéré que la reine jouerait un rôle dans la production des néoténiques (Grassé 1982, Lüscher 1961). Notamment dans le genre *Zootermopsis*, il a été démontré que le couple fondateur produisait des phéromones inhibitrices (Thorne 1997). Chez les *Reticulitermes*, il n'existe encore aucune évidence de l'action d'une phéromone royale sur la formation des néoténiques, néanmoins plusieurs auteurs ont identifié des molécules pouvant jouer ce rôle : les hydrocarbures cuticulaires (Liebig et al. 2009, Weil et al. 2009) ou des protéines (Hanus et al. 2010). En admettant que la différenciation en néoténique soit sous l'influence

d'une primer phéromone émise par le couple primaire, une des hypothèses concernant l'évolution du nombre de néoténiques au sein des colonies des populations introduites de *R. flavipes* serait que la phéromone des reproducteurs primaires est devenue inactive. Il n'y aurait ainsi aucun contrôle sur la régulation de la différenciation en néoténiques. Une expérience, en cours au laboratoire, a effectué plusieurs couples de reproducteurs primaires après un essaimage de colonies de *R. flavipes* (Dedeine et al. in prep). Afin d'éclaircir cette hypothèse de lever de l'inhibition royale, il serait intéressant de voir si des reproducteurs secondaires se différencient rapidement après la fondation de la colonie.

Une phéromone émise par d'autres castes que celle des reproducteurs primaires pourrait également influencer le développement des néoténiques. Henderson, en 1998, a émis l'hypothèse que les soldats interviendraient dans la régulation de la différenciation des ouvriers en d'autres castes. Récemment, il a été démontré que deux composés des glandes défensives des soldats, le γ -cadinène et l'aldéhyde cadinène, agissaient en synergie avec l'hormone juvénile dans la différenciation des ouvriers en soldat chez l'espèce *R. flavipes* (Tarver et al. 2009). Dans l'article 4, nous avons identifié deux phénotypes de composés défensifs des soldats au sein des populations françaises mais aucun des deux ne présentent le γ -cadinène et son aldéhyde alors que ce sont des composés prépondérants dans les chemotypes des soldats américains (Nelson et al. 2001). L'absence de ces composés dans les populations introduites pourrait avoir perturbé la différenciation des ouvriers en soldats. Il peut alors être envisagé qu'en l'absence du γ -cadinène et de l'aldéhyde cadinène, la différenciation des ouvriers en soldats pourrait être désavantagée au profit de la différenciation des ouvriers en néoténiques. Par le manque de γ -cadinène et de son aldéhyde, l'élévation de l'hormone juvénile n'étant pas toujours assez importante pour induire le développement des soldats, les individus se différencieraient en contre partie en reproducteurs secondaires. Pour éclaircir cette hypothèse, il serait intéressant de comparer le ratio des soldats présent dans les colonies des populations américaines et françaises.

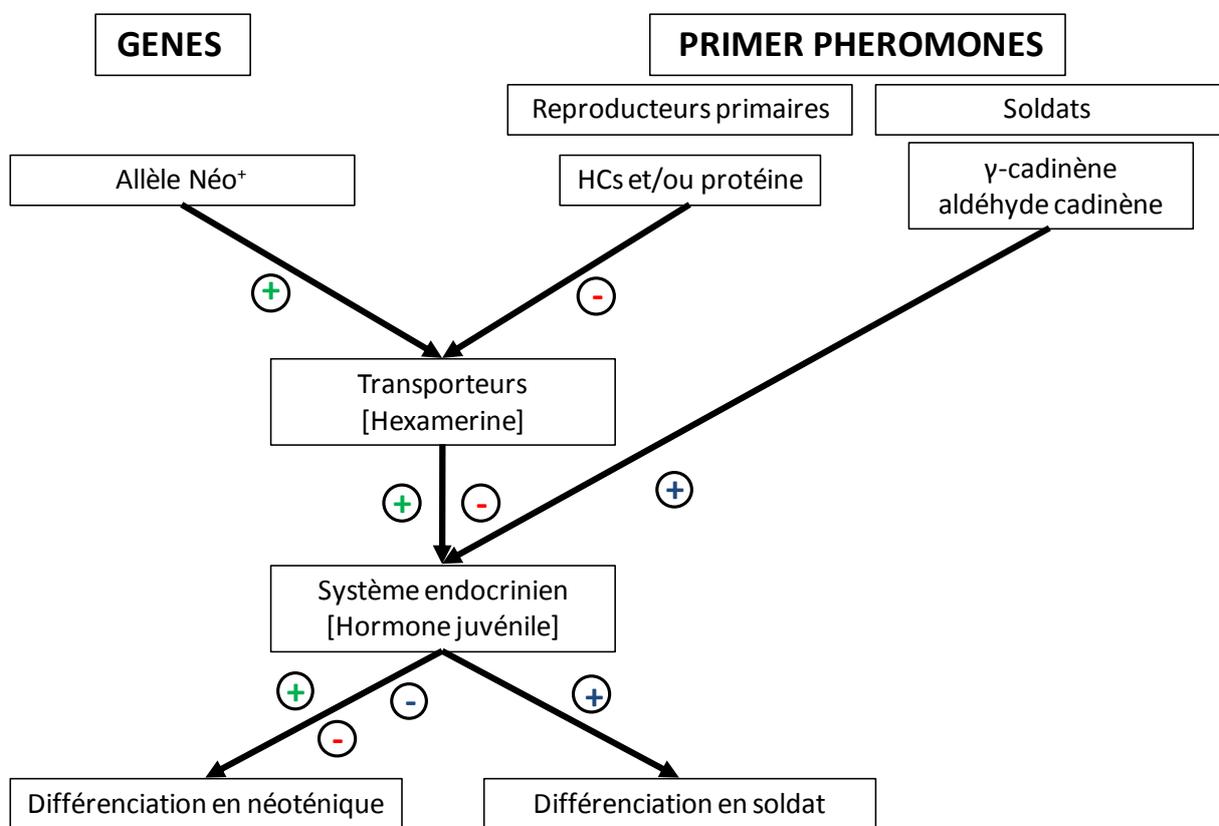


Figure 16. Mécanismes possibles impliqués dans la différenciation en néoténique

Déterminisme génétique

Bien que de nombreuses études ont montré une détermination environnementale dans le développement des castes chez l'ensemble des insectes sociaux, aujourd'hui une accumulation d'exemples mettent en évidence les effets de facteurs génétiques chez divers taxa (Schwander et al. 2010). Chez une espèce de *Reticulitermes*, il a été reporté que les reproducteurs secondaires étaient déterminés génétiquement. Cette étude a démontré que les néoténiques femelles étaient issues de parthénogénèse chez le termite asiatique *R. speratus*, leurs gènes ne comprenant que des allèles provenant de la reine (Matsuura et al. 2004, Matsuura et al. 2009). De ce fait, il pourrait être envisagé que la différenciation en néoténiques chez *R. flavipes* soit déterminée génétiquement. Si cela est le cas, quelle est la force évolutive ayant permis de maintenir la production accrue en néoténiques ?

La capacité à produire de nombreux reproducteurs au sein des colonies des populations introduites aurait pu se faire sous l'influence de la **dérive génétique** par la fixation des allèles des gènes impliqués dans le développement surnuméraire des néoténiques. Cependant la dérive génétique étant un phénomène aléatoire, si plusieurs échantillonnages d'une population sont effectués, ces échantillons en dérivant indépendamment n'élimineront, ni ne fixeront les mêmes allèles. Or une forte capacité à faire des néoténiques est observée dans une population de *R. flavipes* introduite au Canada (Toronto : Grace et al. 1989) mais également dans deux autres populations situées à la limite de l'aire de répartition de *R. flavipes* et suspectées introduites (Wisconsin : Esenther 1969, Nebraska : DeHeer and Kamble 2008).

L'évolution du système de reproduction de *R. flavipes* dans l'aire d'introduction semble être sous influence de facteurs sélectifs. Cependant, connaître les facteurs sélectifs qui auraient pu augmenter la fréquence allélique des gènes impliqués dans le développement des néoténiques reste difficile à élucider. Plusieurs hypothèses vont être énoncées ci-après.

- La fréquence allélique de ces gènes aurait pu être augmentée par des pressions de sélection exercées par les activités anthropisées, comme il a été supposé pour l'évolution du système de reproduction clonale chez la fourmi *W. auropunctata* (Foucaud et al.

2009, Orivel et al. 2009). Les populations de cette fourmi présentent en milieu perturbé par l'homme, que ce soit dans l'aire native et introduite, une organisation unicoloniale avec une reproduction principalement clonale. Néanmoins cette hypothèse semble peu probable, car une étude de populations américaines en Caroline du Nord montre que sur les 167 colonies récoltées dans et autour d'habitations infestées, 86.80% d'entre elles ne présentent pas de reproducteurs secondaires (145 colonies de types familles simples) (Parman and Vargo 2008).

- Les populations de *R. flavipes* en France ayant souffert d'une importante réduction de la diversité génétique, la fréquence allélique des gènes impliqués dans le développement des néoténiques aurait pu être augmentée pour éviter de trop longues dispersions par essaimage. En effet, il a été noté que des événements de trop longues dispersions des populations introduites pouvaient accentuer la perte de diversité génétique par des séries de goulots d'étranglements (Estoup et al. 2001, Estoup and Clegg 2003). Dans ce sens, il a été observé que la dispersion à courte distance de certaines espèces invasives étaient privilégiée par rapport à des événements plus rare de dispersion à longue distance (Shigesada and Kawasaki 2002, Hastings et al. 2005).

- La forme extrême de néoténie aurait pu également être sélectionnée sous l'influence de facteurs environnementaux particuliers au nouvel environnement. Aux USA, chez les *Reticulitermes* le type de structure familiale majoritairement rencontré est la famille simple (Vargo and Husseneder 2009). Cependant, lorsqu'on s'intéresse exclusivement à l'Europe, les quelques autres espèces étudiées de termites (*R. grassei* et *R. banyulensis*) semblent être formées en grande partie de colonies contenant, en plus du couple de reproducteurs primaires, des reproducteurs secondaires (famille étendue) (Tableau 3). Chez le termite *R. urbis*, que ce soit au sein des populations introduites ou natives (populations des Balkans), les colonies sont toutes de type famille étendue (Leniaud et al. 2010). Lorsqu'on s'intéresse aux populations d'un autre genre de termite souterrain, *Coptotermes formosanus*, les populations introduites aux USA présentent de nombreuses colonies sans néoténiques (Tableau 3). A l'inverse la population étudiée dans son aire native, en Chine, possède que des colonies avec quelques reproducteurs secondaires. Néanmoins, la tendance est inversée pour les populations de ce termite introduites au Japon.

Il semblerait ainsi qu'aux USA les populations des différentes espèces de termites présentent des colonies majoritairement de type famille simple, alors que pour les populations européennes, les colonies possèdent principalement de nombreux néoténiques fonctionnels. Ces données suggèrent que d'intenses pressions de sélections liées à l'environnement en Europe aurait induit une forte augmentation des fréquences alléliques des gènes impliqués dans le développement des néoténiques par une évolution « rapide » des populations introduites de *R. flavipes*.

Espèces	STRUCTURES DE REPRODUCTION				
	Nb de colonies	Familles simples	Familles étendues	Nb de néo.	Familles mixtes
USA					
<i>R. hageni</i>	36	91%	9%	< 10	0%
<i>R. mallei</i>	13	54%	46%	< 10	0%
<i>R. virginicus</i>	12	88%	13%	< 10	0%
<i>R. hesperus</i>	30	73%	27%	< 10	0%
<i>C. formosanus</i> (populations invasives)	98	52%	48%	68% < 10 28% 10-100 4% > 100	0%
<i>R. flavipes</i> (populations natives)	366	74%	23%	79% < 10 21% > 100	3%
EUROPE					
<i>R. flavipes</i> (populations invasives)	26	0%	90%	100% 10-300	10%
<i>R. grassei</i>	104	24%	74%	33% < 10 66% 10-300	2%
<i>R. banyulensis</i>	50	14%	86%	< 10	0%
<i>R. urbis</i> (populations introduites et natives)	18	0%	100%	ND	0%
<i>R. balkanensis</i>	ND	ND	ND	ND	ND
<i>R. lucifugus lucifugus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
<i>R. lucifugus corsicus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
<i>R. lucifugus subsp. novo.</i>	ND	ND	ND	ND	ND
ASIE					
Japon <i>C. formosanus</i> (populations invasives)	30	90%	10%	100% > 100	0%
Chine <i>C. formosanus</i> (populations natives)	12	0%	100%	100% < 10	0%

Tableau 3. Variations de l'organisation sociale entre espèces et entre continents observées chez les termites du genre *Reticulitermes* et chez le termite *Coptotermes formosanus*. (D'après Bulmer et al. 2001, Vargo 2003a et b, Copren 2004, DeHeer and Vargo 2004, DeHeer et al. 2005, Dronnet et al. 2005, Vargo and Carlson 2006, Vargo et al. 2006, Limousin 2007, Marchand 2008, Parman and Vargo 2008, Nobre et al. 2008, Husseneder et al. 2008, DeHeer and Kamble 2008, Vargo and Husseneder 2009, Leniaud et al. 2009, 2010)

3. Fusion coloniale et néoténie : évolution indépendante ou effet pléiotrope ?

L'évolution de la néoténie et de la capacité à fusionner semblent être dissociées. Sous l'effet de différents facteurs, deux expressions indépendantes auraient induit les deux phénotypes de l'organisation sociale observés dans les populations introduites. Néanmoins, il peut être envisagé que l'évolution de ces deux caractères soit liée par un effet pléiotrope. La pléiotropie se définit lorsque le produit d'un gène influe sur plusieurs caractères (Ayroles et al. 2009). Ainsi, la néoténie et la capacité à fusionner pourraient être déterminées par un groupe de gènes, et sous l'influence d'un même facteur les deux phénotypes de l'organisation sociale auraient été exprimés dans les populations introduites.

Dans ce contexte, nous avons pu noter une synergie entre la production de nombreux néoténiques et la fusion entre colonies. Il semble que lorsque des colonies fusionnées sont présentes, il existe au sein de la population de *R. flavipes* des colonies avec des reproducteurs secondaires fonctionnels en nombre élevé. Au sein de 2 populations localisées à la limite ou en dehors de l'aire de répartition de *R. flavipes* (Massachusetts et Nebraska), là où la proportion de fusion coloniale des populations américaines est la plus forte, les colonies possèdent également de nombreux néoténiques (Bulmer et al. 2001, DeHeer and Kamble 2008). Il peut être envisagé que la présence de nombreux néoténiques, étant probablement responsables des colonies spatialement larges dans les populations introduites (Article 1), augmentent la probabilité de rencontres entre elles et ainsi celle de la fusion coloniale. La fusion coloniale pourrait être la conséquence de l'excès de néoténiques. Plusieurs études ont mis en évidence les effets néfastes de la consanguinité au sein des populations (Keller and Waller 2002). Comme nous l'avons vu précédemment, la reproduction par les reproducteurs secondaires au sein des colonies de *Reticulitermes* entraîne une augmentation de la consanguinité (Dronnet et al. 2005, DeHeer et Vargo 2006, Perdereau et al. Article 1). La fusion coloniale induisant un mélange d'individus non apparentés, cela pourrait être un mécanisme en réponse à l'excès de reproducteurs secondaires pour rafraîchir le pool génétique au sein des colonies. La dépression de consanguinité étant extrême, par le bénéfice génétique apporté, les individus d'une colonie accepteraient des individus « étrangers » à leur colonie.

IV. Histoire d'une invasion

L'hypothèse selon laquelle *R. flavipes* aurait été introduit par bateau lors de transport de matériaux entre l'Amérique du Nord et l'Europe durant le 17^{ème} ou 18^{ème} siècle anciennement énoncé (Feytaud 1924, Bagnères et al 1990) semble tout à fait plausible d'un point de vue génétique et historique. De 1534 à 1763, la France possède de nombreuses colonies en Amérique du Nord, s'étendant du Canada au delta du fleuve Mississippi. De ce territoire nommée « la Nouvelle France » de nombreux échanges transatlantiques ont eu lieu (Büchner, 1881). La côte Est des USA appartenant aux anglais, ces échanges partaient et arrivaient des Antilles, de la Louisiane et du Canada. Les analyses phylogéographiques des populations natives et introduites de *R. flavipes* ont révélé que la grande majorité des populations introduites sur le continent américain et en Europe proviennent du sud-est des USA (Article 4). Les résultats ont également montré que les populations introduites au Canada sont plus proches génétiquement des populations du sud-est des USA que celles du nord. Le fleuve Mississippi étant un axe d'échange majeur au sein de la Nouvelle France, il peut être envisagé que les populations du Canada auraient été introduites lors des transports de vivres et de matériaux par bateau. En Europe, les analyses nous ont permis d'identifier 13 haplotypes, un spécifique à l'Autriche et un second spécifique à l'Allemagne. De ce fait, il semble plus probable que les populations de *R. flavipes* en Europe soient issues de plusieurs événements d'introduction. Dans ce sens, la littérature révèle que l'introduction des populations de *R. flavipes* en Autriche a été induite par une demande précise du château de Schönbrunn afin d'embellir les serres en important des pots de plantes exotiques supposant ainsi une introduction unique (Kollar 1937). Pour faire parvenir ces pots des USA en Autriche, l'hypothèse la plus vraisemblable est que l'importation ait eu lieu par l'Allemagne (port de Hambourg). Ainsi, il est possible que l'introduction en Allemagne et en Autriche soit issue d'un même événement d'introduction, mais aucuns fait historique ne les lie aux introductions en France.

Un des résultats majeurs de l'article 4 est que les 5 haplotypes mitochondriaux des populations françaises partagés avec les populations des USA sont réunis dans un seul état, celui de Louisiane, suggérant fortement cet état comme source des populations introduites en France. Sous l'empire colonial, l'état de Louisiane était un territoire de la nouvelle France et la Nouvelle-Orléans était un des principaux ports d'échanges. Dans la

littérature, sous l'empire colonial de nombreux échanges entre la France et la Louisiane ont été reportés (Anonyme 1888). On peut noter que les premières invasions de ce termite en France ont été décrites dans deux des principaux ports de la côte Atlantique, les ports de Rochefort et de la Rochelle, connus pour leur implication dans les transports internationaux, fréquents avec les colonies (Bobe-Moreau 1843, Quatrefages 1853), mais également comme arsenaux de la marine (construction et réparation des navires). Lors des différents transports par bateau de productions agricoles et forestières, les populations de *R. flavipes* aurait été accidentellement exportées vers la France. Dans ce sens, il a été noté que l'exploitation de la forêt n'avait qu'un intérêt local au début de l'établissement des colonies françaises. Néanmoins, quelques années plus tard, à l'époque de la Compagnie des Indes, il y eut des envois de cargaisons de bois vers la métropole (Saadani 2008). Durant ces années, un bois de Louisiane (le Cyprès Chauve ou Cyprès de Louisiane, *Taxodium distichum*) était fréquemment utilisé pour le bordage des bateaux (Perrier 1882). Même si cet arbre est réputé résistant aux insectes, l'aubier est couramment occupé par de nombreuses espèces de termites (Duryea 2006).

Au cours de l'étude 4, le nombre d'introductions n'a pas été estimé, mais la perte de diversité génétique étant modérée, et les événements d'introduction unique étant plutôt rares (Novak 2007), il semble plus probable que les populations françaises soient issues de multiples introductions. L'hypothèse de l'introduction à partir des ports français pourrait expliquer la répartition actuelle des populations de *R. flavipes*, anciennement *R. santonensis* ou termite de Saintonge (Feytaud 1924), sur le territoire. Rappelons que ce termite en milieu forestier se restreint à une portion de la côte ouest, en Charente (Saintonge) et en Vendée, mais qu'il possède une aire de répartition en zone urbaine plus vaste contenue majoritairement dans la moitié ouest de la France, de la Normandie aux Pyrénées atlantiques.

V. Conclusions et perspectives

Au cours de cette thèse nous avons pu mettre en évidence deux caractéristiques déterminantes de l'organisation sociale au sein des colonies du termite *R. flavipes* introduit en France : **la forme extrême de néoténie** et **l'importante capacité à fusionner**. Ces variations semblent directement responsables du **succès invasif** des populations introduites, en leurs ayant permis de passer les filtres de l'invasion (prélèvement, transport, et les barrières écologiques et reproductives), et d'avoir une supériorité compétitive face à un termite autochtone.

Nous avons également démontré que les variations de l'organisation sociale des populations introduite de ce termite étaient **analogues à l'unicolonialité et la polygynie (au sens large) rencontrées chez les Hyménoptères sociaux invasifs**. Ces variations de l'organisation sociale communes dans les populations invasives d'insectes sociaux peuvent illustrer un bel exemple de convergence évolutive à travers le phénomène d'invasions biologiques. Alors qu'aucun profil type des invasions biologiques n'est bien établi, l'hypothèse d'un schéma général d'invasion biologique chez les fourmis et les termites peut éventuellement être évoquée, avec pour exception l'invasion du termite *C. formosanus* (Vargo and Husseneder 2009)

Au cours de la discussion de cette thèse nous avons exploré différentes hypothèses sur l'origine de ces variations. L'ensemble de nos résultats révèle que des **processus évolutifs sont à l'origine des variations de l'organisation sociale** des populations de *R. flavipes* introduites en France. Cependant, la nature des forces évolutives et les facteurs y étant impliqués restent difficiles à élucider. Alors que la haute proportion de fusion coloniale pourrait être la conséquence d'une forte similarité génétique, la forme extrême de néoténie semblerait avoir évolué sous l'influence de facteurs sélectifs liés au nouvel environnement.

Ce travail de thèse a permis d'améliorer notre compréhension de l'histoire et des processus qui ont régi l'invasion de *R. flavipes* en France, ainsi que sur les mécanismes qui ont permis cette invasion. Ce termite engendrant de nombreux dommages et étant

établi dans de nombreux pays devrait être répertorié comme une espèce hautement invasive.

Aujourd'hui des questions restent en suspend et des études futures sont nécessaires pour éclaircir différents points.

Un des premiers travaux en perspective serait de confirmer le changement d'organisation sociale entre populations introduites et natives. Nous avons supposé que le système de reproduction observé sur l'ensemble des études des populations américaines (366 de colonies référencées) était représentatif de celui des populations natives. Maintenant qu'il est fortement suggéré une origine louisianaise aux populations introduites en France, il semble nécessaire de déterminer le système de reproduction et la structure coloniale de ces populations à l'aide de marqueurs microsatellites. Dans ce contexte, il semble également important de confirmer les résultats obtenus sur les populations introduites en France en s'intéressant à l'organisation sociale d'autres populations. Que ce soit pour l'étude des populations louisianaises comme pour celle d'une autre population française, celle-ci pourra se faire rapidement par le fait que les collectes ont déjà été réalisées durant ma thèse (échantillons de Louisiane (Article 4) et échantillons de la Forêt d'Olonnes en octobre 2009 (Article 3)). Il serait également intéressant d'étudier des populations introduites de ce termite sur d'autres continents (Chili, Uruguay, Canada, Bahamas ou Allemagne), afin de déterminer si les mêmes caractéristiques des populations françaises sont observables.

La compétition interspécifique aboutit au bout d'une période plus ou moins longue, à l'exclusion d'une des deux espèces. La supériorité compétitive de populations invasives est également souvent évoquée comme un trait associé au déplacement de populations indigènes (Holway and Suarez 1999). Ainsi, par la supériorité interspécifique et les autres avantages compétitifs observés dans cette étude pour *R. flavipes*, nous pouvons supposer que les populations de ce termite pourraient à long terme déplacer les populations de *R. grassei* sur l'île d'Oléron. Pour tester cette hypothèse, il serait nécessaire de suivre l'évolution des populations sur l'île d'Oléron sur plusieurs années.

Un point qui serait intéressant à éclaircir serait également de connaître si la différenciation en néoténiques est déterminée génétiquement ou sous l'influence de facteurs environnementaux. Comprendre ce système nous permettrait de comprendre les facteurs sélectifs par lesquels les populations introduites de *Reticulitermes* se sont mises à en produire profusément, mais également de saisir pourquoi l'autre espèce de termite hautement invasive, *C. formosanus*, ne présente pas cette modification (Vargo and Husseneder 2009). Dans ce contexte, le termite *R. speratus* étant capable de se reproduire par parthénogénèse (Matsuura et al. 2004, Matsuura et al. 2009), il serait intéressant de vérifier si un tel système de reproduction existe chez *R. flavipes*. Ce travail pourrait se faire similairement à celui de Matsuura, en génotypant des nymphes, des ouvriers, et des néoténiques (les reproducteurs primaires étant difficiles à trouver), mais également très rapidement par le fait que des échantillons de toutes ces castes au sein de différentes colonies sont présents au laboratoire (collecte ANR, F. Dedeine).

Au cours de cette thèse, il a été montré que les populations introduites en France se comportaient de façon similaire aux populations unicoloniales de fourmis invasives. Une des caractéristiques essentielles des populations unicoloniales est le manque d'agression (Helanterä et al. 2009). Il serait intéressant de tester le manque d'agression des populations de *R. flavipes* à grande échelle, à l'aide de tests d'agression similaires à ceux utilisés dans l'étude 2, et de colonies provenant de Paris, de la Forêt d'Olonnes (Vendée), des Forêts de St Trojan et des Saumonards (l'île d'Oléron).

La reconnaissance permettant l'agression (ou non) est connue comme étant basée essentiellement sur les hydrocarbures cuticulaires. Néanmoins, peu de choses sont connues sur la régulation de ces composés : leur part de déterminisme génétique et environnemental. Il a également été supposé que d'autres facteurs comme les bactéries intestinales (Matsuura 2001) jouaient un rôle dans la reconnaissance entre colonies. Ainsi, pour mieux comprendre les mécanismes qui ont pu engendrer l'absence d'agression dans les populations invasives de *R. flavipes*, clarifier les facteurs jouant un rôle dans la reconnaissance coloniale comme leurs régulations serait nécessaire.

Finalement, les mécanismes à l'origine des modifications de l'organisation sociale des populations invasives de *R. flavipes* restent encore floues. Afin de distinguer les

changements associés à la dérive ou à la sélection, une approche Q_{st}/F_{st} (mesure de la structuration génétique quantitative/ mesure de la structuration génétique neutre) devrait être développée : la comparaison entre le Q_{st} et le F_{st} permettant de différencier l'évolution phénotypique stochastique de la réponse à la sélection.



ANNEXES

Annexe 1. LEXIQUE

→ Caractérisation d'une espèce :

Native/Indigène/Autochtone : espèce présente dans sa répartition naturelle passée ou présente.

Endémique : espèce restreinte à une région ou localité.

Envahissante : espèce native présentant une croissance et une multiplication rapide dans son aire de répartition naturelle.

Invasive : espèce introduite en dehors de sa répartition naturelle, définie après le Pléistocène, présentant une expansion rapide et qui provoque de nombreux problèmes sanitaires, socio-économiques, et/ou entraînent une perte de biodiversité

Exotique/Introduite/Non-indigène/Non-native : espèce importée volontairement ou non par l'homme dans une aire se situant en dehors de sa zone de répartition naturelle.

Naturalisée : espèce importée dans une aire se situant en dehors de sa zone de répartition naturelle et qui est capable de se reproduire sans l'aide de l'homme. Une espèce naturalisée n'est pas nécessairement invasive.

→ Les forces évolutives :

Elles sont au nombre de quatre et nommées : la dérive génétique, la sélection naturelle, la mutation et la migration. Elles s'exercent sur les populations et sont susceptibles de modifier la fréquence des génotypes. Elles peuvent modifier des caractères morphologiques, physiologiques et comportementaux.

La dérive génétique : mécanisme de fluctuation aléatoire de la fréquence des gènes au cours des générations. Elle est à l'origine de la fixation, au hasard, de certains allèles et son impact est inversement proportionnel à la taille de l'échantillon.

La sélection naturelle : processus de tri entre la variabilité existante dans une population en fonction de la capacité à survivre et à produire une descendance fertile. Il y a sélection quand différents génotypes ne participent pas de façon égale à la constitution génotypique de la génération suivante (avantage sélectif).

La mutation : Elle résulte d'un changement aléatoire touchant une séquence d'acide nucléique ou affectant l'agencement ou le nombre des gènes. Le changement survient lors de la réplication, et sa fréquence d'apparition reste relativement faible par

génération. A elle seule, la mutation n'est pas un facteur évolutif entraînant de rapides variations alléliques.

La migration : Elle correspond au flux de gènes existants entre les sous populations d'une même espèce, par le biais de déplacements entre individus.

→ **Les mécanismes pouvant opérer sur les populations invasives :**

Effet de fondation : Variation d'échantillonnage affectant la composition génétique d'une population, en une occasion particulière unique. Un premier exemple d'effet fondateur est celui qui touche la scission d'une population.

Goulot d'étranglement/ bottleneck : Exemple d'un effet de fondation où une population subit un abaissement brutal de son effectif n'étant plus représentatif de la population d'origine. Avant que la population récupère une taille efficace il peut y avoir quelques générations de dérive génétique.

Plasticité phénotypique : Capacité d'un génotype à produire différents phénotypes en réponse à des facteurs environnementaux. Ces changements de caractéristiques d'un individu se fait au cours de son développement en réponse à des modifications du milieu.

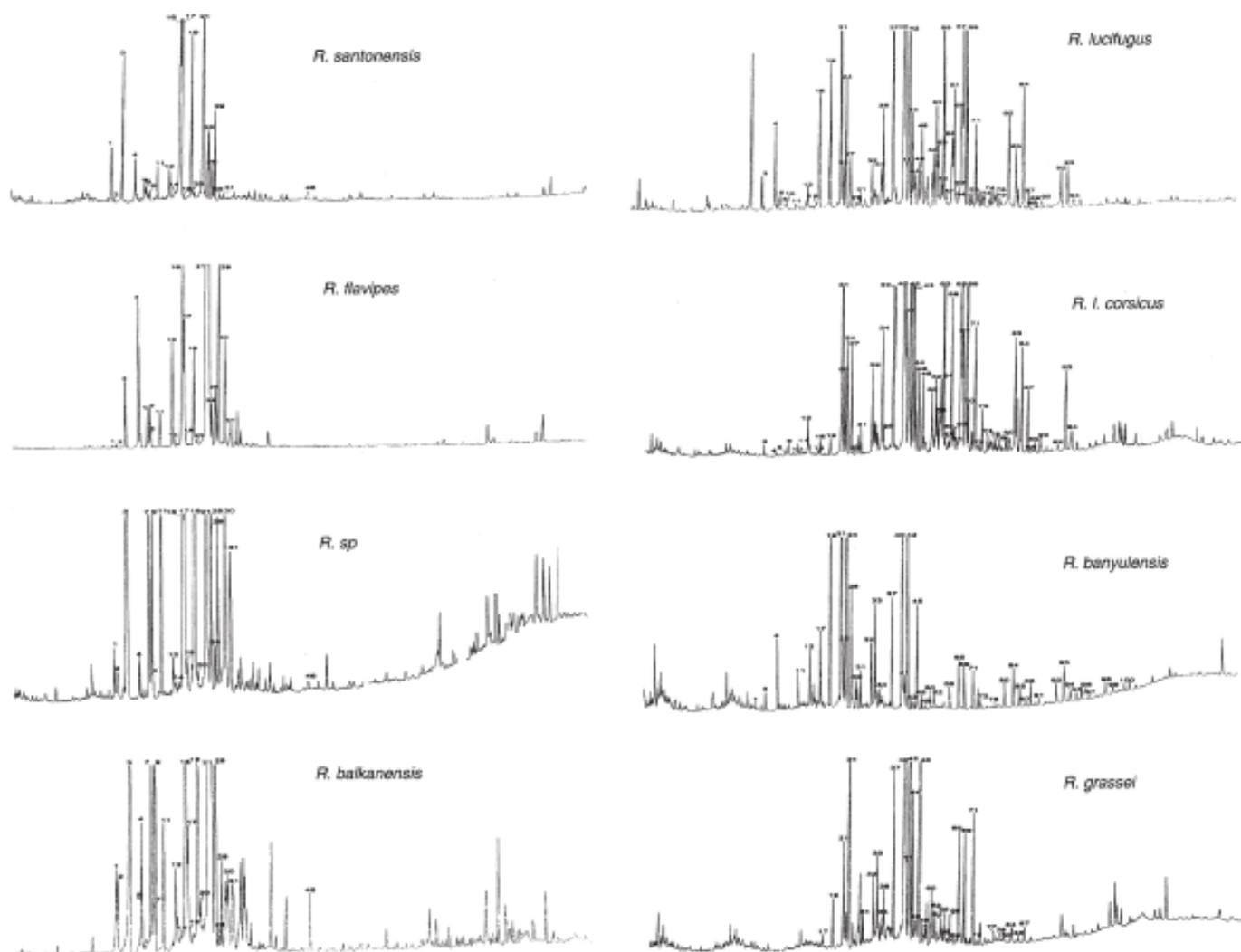
Hybridation : Production d'une descendance viable après reproduction entre 2 espèces distinctes

Introgression : Incorporation de gènes d'une espèce à une autre par mouvement de matériel génétique lors de croisement répétés entre elles.

convergence évolutive : Phénomène où plusieurs espèces acquièrent des adaptations semblables, en réponse à de mêmes contraintes environnementales, et ce de manière indépendante.

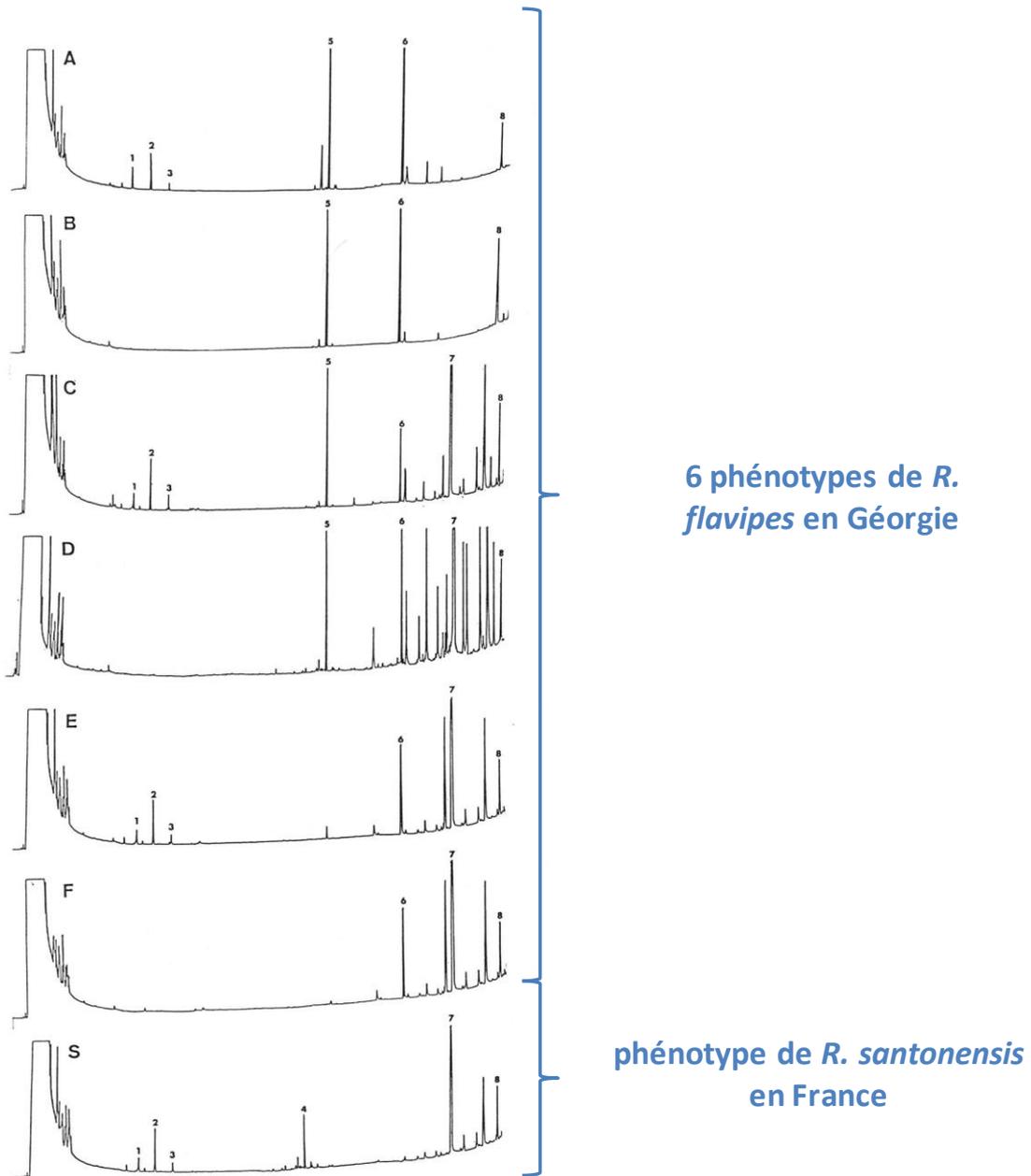
(D'après Richardson et al. 2000, Sandlund et al. 2001, Falk-Petersen et al. 2006, Pysek et al. 2008)

Annexe 2. Profils cuticulaires des *Reticulitermes* européens



Chromatographes des hydrocarbures cuticulaires pour chaque espèce de *Reticulitermes* Européens et pour l'espèce américaine *R. flavipes* (Clément et al. 2001)

Annexe 3. Profils des composés défensifs des soldats chez *R. flavipes*



Chromatogrammes de A à F sont des extraits fait à partir de soldats de Georgie aux USA et le chromatogramme S est fait à partir de soldat français. Composé 1 : α -pinène, 2 : β -pinène, 3 : limonène, 4 : sesquiterpène inconnu, 5 : γ -cadinène, 6 : aldéhyde cadinène, 7 : geranylinalol, 8 : n-C23. (Bagnères et al. 1990)

Annexe 4. Curriculum vitae

Elfie PERDEREAU

2 rue de Chinon - 37000 TOURS
Née le 02/01/82 à Romorantin (41)
06.70.56.45.40

elfie.perdereau@free.fr

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI)
UMR CNRS 6035

Université de Tours, Faculté des Sciences et Techniques
Parc Grandmont, Avenue Monge
37200 TOURS – France

perdereau@univ-tours.fr



SITUATION ACTUELLE

2009 / 2010 Doctorante en Biologie et Attaché Temporaire à l'Enseignement et la Recherche dans l'équipe Insectes Sociaux et Ecologie Chimique.

2006 / 2009 Doctorante en Biologie et Monitrice dans l'équipe Insectes Sociaux et Ecologie Chimique.

Directeur de thèse : Anne-Geneviève Bagnères et Co-encadrant : Franck Dedeine

EXPERIENCES

Stages:

2005/2006 : Cemagref de Nogent sur Vernisson (stage de 6 mois de Master 2).

Sujet : Impact des modalités d'exploitations et des microhabitats sur la diversité des Coléoptères carabiques dans les parcelles touchées par les chablis 1999 en Brie.

2004/2005 : Université d'Orléans (stage de 2 mois de Master 1).

Sujet : Valeurs entomologiques des jachères jouxtant les grandes cultures

2003/2004 : Université d'Orléans (stage volontaire de 1 mois).

Sujet : Détermination de l'entomofaune des grandes cultures

Enseignement à l'Université des Sciences et Techniques de Tours 2006/2010 (376 heures):

-Travaux pratiques d'Ecologie- Ethologie « découverte et détermination entomologique et floristique »

-Travaux pratiques de Biologie du Développement « Etude des appareils urinaires et génitaux chez un Amphibien, la grenouille verte, *Rana esculenta* »

-Travaux pratiques de Biologie des Organismes « Etude des plans d'organisation des Vertébrés : exemple du Gardon et de la Grenouille verte »

-Travaux pratiques de Biologie des Organismes « Etude comparée du système nerveux central »

Encadrements d'étudiants 2006/2009 :

- Encadrement de 4 étudiants de Licence en éthologie et génétique des populations.

- Encadrement d'1 étudiant de Master 1 en génétique des populations

- Co-Encadrement d'1 étudiant de Master 2 en écologie chimique.

Mission de terrain : Mission d'échantillonnage de termites en France (Ile d'Oléron) et à l'étranger (Floride et Louisiane).

Associations :

- Membre de la Section Française de l'Union Internationale pour l'Etude des Insectes Sociaux
- Membre de l'Ecole doctorale Européenne « Insect Science and Biotechnology ».
- Membre de la Société d'Etude, de Protection et d'Aménagement de la Nature en Touraine.

Emploi saisonnier 2003 / 2005 : Vendeuse de prêt-à-porter pour homme.

COMPETENCES

Mise en place de protocole et Manipulations :

- *Biologie moléculaire :* Extraction d'ADN, PCR, génétique des populations (microsatellites et séquences mitochondriales).
- *Chimie analytique :* Extraction des hydrocarbures cuticulaires et de composés volatils chez les termites, chromatographie en phase gazeuse et en spectrométrie de masse.
- *Entomologie / Terrain :* Dispositif de confrontations intra et inter spécifique chez les termites, stratégies d'échantillonnage et de recherche de colonies de termites, mise en place de dispositifs de piégeage : pièges Barber, tente Méléze et piège jaune.

Analyses et Traitements informatiques de données :

- *Génétique des populations :* GeneProfiler, Genepop, Structure, F-STAT, BioEdit et MEGA.
- *Acquisition et traitements des données de chromatographie :* Galaxie (Logiciel Varian).
- *Statistiques :* R gui, Winbugs, StatGraphics, Uniwin plus.
- *Bureautique :* Word, Excel, PowerPoint, Endnote.

Synthèse et Communication des résultats:

- Rédaction de rapport d'activité, présentation écrite et orale des résultats lors de congrès Nationaux et Européens.
- *Langues :* Anglais scientifique parlé, lu et écrit et notions d'Espagnol.

Enseignement et Encadrement d'étudiants:

- Transmission de techniques et de connaissances à des étudiants de Sciences.
- Prise en charge d'étudiants lors de leur stage universitaire.

FORMATION

Diplômes :

2004/2006 : Master Ecosystème Terrestre et Action de l'Homme. Mention Bien (rang : 3^{ième} /14)

2003/2004 : Licence Biologie des Organismes. Mention Assez Bien (rang : 3^{ième} /42)

2001/2003 : Deug Sciences de la Vie . Mention Assez Bien (rang : 27^{ième} /127)

Formations professionnelles :

- *Formations du monitorat :* Pédagogie interactive ; Prise de parole en public ; Structures de l'université et métiers ; Animation de réunions et groupe de travail ; et Déontologie de l'enseignement supérieur.
- *Formations de l'Ecole Doctorale :* Formation des risques professionnels : Manipulations de produits chimiques ; Les rayonnements ionisants ; Médecine de prévention et Sensibilisation au secourisme et Insertion professionnelle.

PUBLICATIONS

- **Perdereau E, Dedeine F, Zimmermann M., Dupont S, Vargo E. L. and Bagnères A-G.** *Phylogeographic analyses reveal a Louisiana origin of the Reticulitermes flavipes French population.* En préparation
- **Perdereau E, Dedeine F, Christides J-P, Dupont S and Bagnères A-G.** *Competition between invasive and indigenous species: an insular case study of subterranean termites.* Soumis à *Biological Invasions*
- **Perdereau E, Dedeine F, Christides J-P and Bagnères A-G.** *Variations of cuticular hydrocarbons and defensive secretions within introduced and native populations of the invasive termite Reticulitermes flavipes.* Soumis à *Journal of Chemical Ecology*
- **Perdereau E, Bagnères A-G, Dupont S and Dedeine F, 2010.** *High occurrence of colony fusion in a European population of the American termite Reticulitermes flavipes.* Publié dans *Insectes Sociaux*.
- **Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Bagnères A-G, 2008.** *Expansion strategies of an American termite introduced in France.* In: Proceedings of the 6th International Conference on Urban Pests (ICUP) in Budapest, Hungary, p 449-454.
- **Gosselin F, Bergès L, Bouget Ch, Perdereau E, Thuault F, Dumas Y, Goujon G, Moliard C, Legoff G, 2009.** *Réponse de la biodiversité aux chablis en Brie: influence de l'exploitation et de la taille des trouées.* In Forêt-entreprise n°183, dossier Réseaux "reconstitution après tempête", p. 28-32.

COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Communications orales :

- **Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Bagnères A-G,** *Fusion colonial dans une population introduite du termite Reticulitermes flavipes.* Colloque annuel de la section française de l'UIEIS, **Bondy 2-4 septembre 2009.**
- **Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Bagnères A-G,** *Origin, Establishment and Expansion strategies of an American termite introduced in France,* 4th European Meeting of the International Union for the Study of Social Insects (IUSSI) in La Roche-en-Ardenne, Belgium, **30 August-4 September 2008.**
- **Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Bagnères A-G,** *Expansion strategies of an American termite introduced in France,* 6th International Conference on Urban Pests (ICUP) in Budapest, Hungary, **13-16 July 2008.**
- **Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Bagnères A-G,** *Biogéographie et organisation sociale d'un termite américain introduit en France,* groupe de travail du REID « **Theidolb** », Biologie de l'invasion et lutte biologique par acclimatation, Gif-sur-Yvette, **9-10 novembre 2006.**
- **Dedeine F, Dronnet S, Perdereau E, Dupont S, Vargo EL, Bagnères A-G,** *Mécanismes évolutifs à l'origine des variations phénotypiques observées entre populations natives et introduites chez le termite Reticulitermes flavipes,* PPD, 29^{ème} rencontre du groupe français de Biologie et génétique des populations, **Poitiers, 27-30 aout 2007.**

Communications affichées :

- **Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Bagnères A-G**, *Community Ecology and Invasion Biology in Reticulitermes termites : Case of the Introduced R. santonensis versus the endemic R. grassei species*, Forum de l'Ecole Doctorale Santé, Science et Technologie de Tours, Tours, **12 juin 2008**.

- **Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Bagnères A-G**, *Biologie d'invasion d'un termite américain en France*, 5ème Journées de l'IFB « Changement global, biodiversité et écosystèmes : vers quels services écologiques ? » Tours, **3-6 décembre 2007**.

- **Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Bagnères A-G**, *Conséquences sur l'introduction d'un termite américain en France sur une espèce native et Origine géographique*, Colloque annuel de la section française de l'UIEIS, Toulouse, **3-5 septembre 2007**.

- **Perdereau E, Dedeine F, Dupont S, Bagnères A-G**, *Introduction d'un termite américain en France : Origine géographique et conséquences sur une espèce native* » PPD, 29^{ème} rencontre du groupe français de Biologie et génétique des populations, Poitiers, **27-30 aout 2007**.

- **Labédan M., Landré X, Perdereau E, Darrouzet E, Christides J-P and Bagnères A-G**, *Evolution de la signature chimique des castes et stades larvaires chez le termite Reticulitermes santonensis*. Colloque annuel de la section française de l'UIEIS, Bondy **2-4 septembre 2009**.

- **Labédan M., Landré X, Perdereau E, Darrouzet E, Christides J-P and Bagnères A-G**, *Evolution of the chemical signature of caste and larval stages of the termite Reticulitermes santonensis*. Meeting of International Society of Chemical Ecology (ISCE), Neuchatel **August 2009**.

- **Landré X, Perdereau E, Darrouzet E, Christides J-P and Bagnères A-G**, *Caste and larval stage odors in termites : is it a fixed or a dynamic process ?* 4th European Meeting of the International Union for the Study of Social Insects (IUSSI) in La Roche-en-Ardenne, Belgium, **30 August-4 September 2008**.

Annexe 5. Proceedings of International Conference on Urban Pests

Proceedings of the Sixth International Conference on Urban Pests
William H Robinson and Dániel Bajomi (editors), 2008
Printed by OOK-Press Kft., H-8200 Veszprém, Pápai út 37/a, Hungary

EXPANSION STRATEGIES OF A NORTH AMERICAN TERMITE SPECIES INTRODUCED IN FRANCE (ISOPTERA: RHINOTERMITIDAE)

**E. PERDEREAU, F. DEDEINE, S. DUPONT,
AND A-G. BAGNERES**

IRBI UMR 6035 CNRS University of Tours. Faculté Des Sciences-UMR
CNRS 6035 Parc de Grandmont 37200 Tours, France
e-mail: perdereau@univ-tours.fr

Abstract *Reticulitermes santonensis* (Rhinotermitidae) is a subterranean termite that infests urban areas in France where it causes serious economic damages. It is largely accepted that French populations of *R. santonensis* have been founded by the introduction of a North American species, *R. flavipes*. Understanding the expansion strategies of an introduced species in a new environment is important to improve its population control. In this study, we performed a comparative analysis of the social structure of *R. santonensis* with an endemic species, *R. grassei*. All samples were collected on the island of Oléron where the two species live in sympatry. We are presenting three main results: (1) Using behaviour tests, we show that colonies of *R. santonensis* often fuse during intraspecific encounters, and seem to dominate colonies of *R. grassei*. By contrast, *R. grassei* colonies show a strong intraspecific aggressiveness and consequently do not fuse. (2) Chemical analysis of the cuticular hydrocarbons indicates that *R. santonensis* colonies possess a chemical homogeneity, whereas the chemical signature of *R. grassei* colonies presents important variations within populations. (3) Preliminary genetic analyses reveal that *R. santonensis* colonies are vast and possess more than two reproductives. These results show that the social structure of native and introduced species strongly differs, and suggest that *R. santonensis* presents some advantages over *R. grassei* to spread in its environment.

Key Words Biological invasion, *Reticulitermes*, chemical signature

INTRODUCTION

In termites, the genera *Coptotermes* and *Reticulitermes* are prominent groups of subterranean termite pests (Rhinotermitidae) that cause extensive damages in human habitats (Su and Scheffrahn, 2000). *Reticulitermes santonensis* (Feytaud) is a subterranean termite that invades urban areas in France (22 departments) and causes important damages in large cities such as Paris and Bordeaux. Its limited distribution in natural environments and its essentially urban presence suggest that *R. santonensis* is particularly well adapted to reach and spread within urban areas. It is now largely accepted that *R. santonensis* was introduced from North America two or three hundred years ago from one or several populations of *R. flavipes* (Kollar) (Bagnères et al., 1990); (Dronnet, 2004). The arrival of a new species in an environment often leads to biological modifications that allow introduced populations to become more dominant than the endemic species (Chapman and Bourke, 2001). In social insects, the successful spread of invasive species mainly depends on their social structure (Holway et al., 2002). In Hymenoptera, such modifications are well documented, while they remain relatively unknown in Isoptera. In order to limit the expansion of introduced termites, we must understand the biological modifications they may have undergone after introduction, and determine whether such modifications enhance the ability to spread in their new environment.

We have located an insular environment (Oléron island, Charente-Maritime) where *R. santonensis* lives in sympatry with a native termite species of Europe, *R. grassei* (Clément). The main goal of our project is to lead a multi-disciplinary study comparing the population biology, social structure and competition level of the two species in this particular environment. In the present study, we will focus on three characteristics of the social structure of colonies: colonial behaviour, chemical signature, and breeding system. (1) Performing several behavioural tests, we determined colonial aggressiveness at both intra- and inter-specific levels. (2) Using Gas Chromatography (GC), we determined and compared the chemical signature (hydrocarbons present on the insect cuticle) of colonies from the two termite species. The chemical signature of species

depends on the qualitative differences, and the signature of each colony depends mainly on the relative proportions of some cuticular hydrocarbons that compose the specific mixture (Howard et al., 1982; Bagnères et al., 1991; Clément and Bagnères, 1998). The chemical signature plays a major role in both intra- and inter-colony recognition. (3) By genotyping five microsatellite loci, we identified boundaries of colonies and infer their breeding system.

MATERIALS AND METHODS

Sample Collection

All colony samples were collected in a forest of pines (1898 Ha with 80% of *Pinus maritima*) of the Oléron island (Charente-Maritime, France), where *R. santonensis* and *R. grassei* live in sympatry. We collected 50 samples of *R. santonensis* and 63 samples of *R. grassei* from wood fragments or wood stumps. For each collection point, we collected twenty workers, which served for gas chromatographic (GC) analysis of cuticular hydrocarbons, before to be used for DNA analyses. Behavioural tests were performed on four colonies (two for each species) that were brought to the laboratory and maintained in their wood fragment until the experiment started.

Behavioural Tests

Behavioural tests were performed using a system of micro-nests connected to a neutral arena with a piece of wood. 50 termites from a colony of *R. santonensis* or *R. grassei* were mixed with 50 termites of another colony of one of these two species, after acclimatization of 24 hours in their respective micro-nest (2 series of intra-specific tests and 4 series of inter-specific tests). Five replicates for each experiment were carried out (500 termites were used for each series of test) and encounters between individuals from the same colony were considered as controls. Colonies of termites were differentiated by a coloration using two filter papers impregnated with Nile blue (200 ppm). During behavioural tests, repartition in the arena and number of dead individuals were counted during 24 hours. The differences between the proportions of dead termites at the end of experiments were tested using a Kruskal-Wallis or a Mann-Whitney *U* test. All the analyses were performed with the software RGui v.2.2.0 (Ihaka and Gentleman, 1996).

Gas Chromatographic Analysis of Cuticular Hydrocarbons

Cuticular hydrocarbons were extracted by rising 20 individuals in 500 µl of pentane for 5 min. Following extraction, termites were placed in 95% ethanol for later genetic analysis. After evaporation of pentane, extracted hydrocarbons were redissolved in 200 µl pentane and 10 µl of 10^{-7} g/ml of *n*-eicosane were used as internal standard. Samples were analyzed on a Delsi 300 GC with flame ionization detector (FID) equipped with a fused silica capillary column CP Sil 5 (WCOT) Chrompack (ID 0.25 mm × 25 m). Injection mode was splitless (15 sec) and the carrier gas was Helium. Temperature programming was from 70°C to 150°C at 30°C/min and 150°C (isothermal 5 min) to 320°C at 5°C/min. Compound identification was based on previous analyses of the cuticular hydrocarbons by coupled GC-MS (Bagnères et al., 1990 and 1991). To allow analysis of the 113 hydrocarbon profiles, areas of peaks were integrated by GC software then relative proportions of each peak were calculated. To visualize chemical relationships among every point collected, relative proportions were subjected to principal component analysis (PCA) using the STATGRAPHICS software v.4.0 (StatPoint, Inc., Herndon, VA, USA) and UNIWIN PLUS v.3.0 (SIGMA PLUS, Levallois-Perret, France).

Microsatellite Analysis

Genomic DNA was extracted from twenty individuals from 9 collection points belonging to *R. santonensis* species using standard phenol-chloroform purification (Sambrook et al., 1989). Five microsatellite markers previously developed for *R. flavipes* (Vargo, 2000) or for *R. santonensis* (Dronnet et al., 2004) were used: Rf11-1, Rf1-3, RS15, RS10 and RS85. Polymerase chain reaction (PCR) amplifications were performed as described in Dronnet et al. (2004). PCR products were separated by electrophoresis on 6% polyacrylamide gels run on a LI-COR 4000 sequencer. Analysis of gels was performed using GeneProfiler™ (Scanalytics, Inc.). Allele size was determined by comparison with standards. *R. grassei* sequencing analyses results are in

process. We first examined whether or not the collection points belonged to the same colony. We compared the genotypic frequencies between all pairs of collection points by test differentiation using the program GENEPOP on the Web (Raymond and Rousset, 1995). A Bonferroni correction was applied to account for multiple comparisons. Once colony boundaries were defined, we investigated the breeding system of each colony using the same computer program. We classified colonies as simple or extended families by comparing the observed genotypes of workers within colonies with the genotypes expected in these types of societies by using standard criteria for termites (Bulmer et al., 2001); (Vargo, 2000); (DeHeer and Vargo, 2004) : 1) Colonies are classified as ‘simple families’ when workers had genotypes consistent with being the direct offspring of one pair of reproductives, and when the observed frequencies of the genotypes did not differ significantly from those expected under Mendelian segregation of alleles from two parents. 2) Or colonies are considered as ‘extended’ families when the genotype distributions within colonies were not consistent with being produced by a single pair of reproductives (e.g. more than four genotypes at a locus or three or more homozygote genotypes), or genotype frequencies deviating significantly from those expected in simple families.

RESULTS AND DISCUSSION

Behavioural Tests

After intra-specific pairings, the number of dead termites was scored for each replicate (Figure 1). In *R. santonensis*, the number of dead individuals from inter-colony and intra-colony confrontations was not significantly different (Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$). On the contrary, we noted an agonistic behaviour between *R. grassei* colonies. We counted on average 31.5 dead individuals from inter-colony confrontations, which differed significantly from the number of dead individuals counted from intra-colony confrontations (Kruskal-Wallis test, $p < 0.001$). Examination of inter-specific pairings provided significant differences in the number of dead individuals between the two termite species : In *R. grassei*, the number of dead individuals was greater than in *R. santonensis* (31.5 ± 2.87 dead vs 17.25 ± 1.72 , p -value < 0.001 Mann-Whitney test) (Figure 2). A social insect colony is defined as “open” when members tolerate conspecific individuals from another colony, and “closed” when members of this colony act aggressively toward members of neighbouring colonies (Wallace, 1963). Previous studies have shown that *R. santonensis* colonies are all open whereas in *R. grassei* and other European species, colonies are open or closed according to the season and the location of the colonies (Clément, 1986); (Bagnères et al., 1990). Ours results corroborate these previous studies and show that, even collected within a same area, neighbouring colonies of *R. grassei* and *R. santonensis* are mutually aggressive. Furthermore, our results revealed for the first time that *R. santonensis* systematically dominate *R. grassei* in inter-species confrontations, suggesting that *R. santonensis* is a better competitor than *R. grassei*.

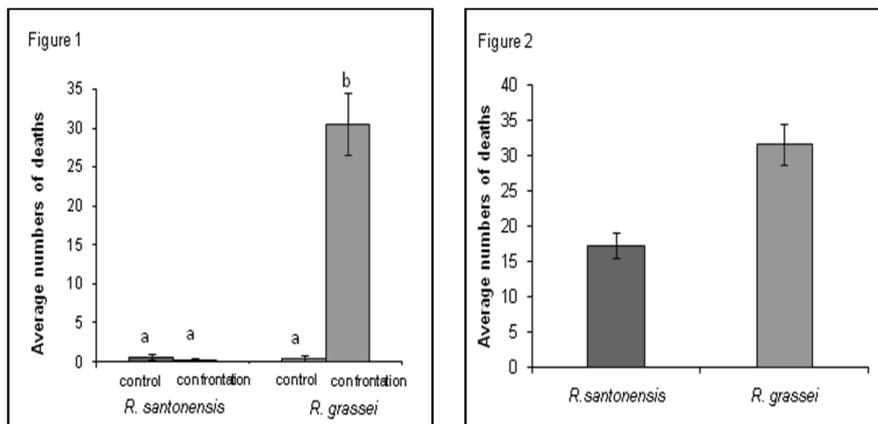


Figure 1. Average number (\pm DS) of dead individuals of *R. santonensis* and *R. grassei* after intra-specific confrontations (a, b: significantly different modalities; $p < 0.001$, Kruskal-Wallis test). **Figure 2.** Average number (\pm DS) of dead individuals of *R. santonensis* and *R. grassei* after inter-specific confrontations (17.25 ± 1.72 vs. 31.5 ± 2.87 , p -value < 0.001 , Mann-Whitney test)

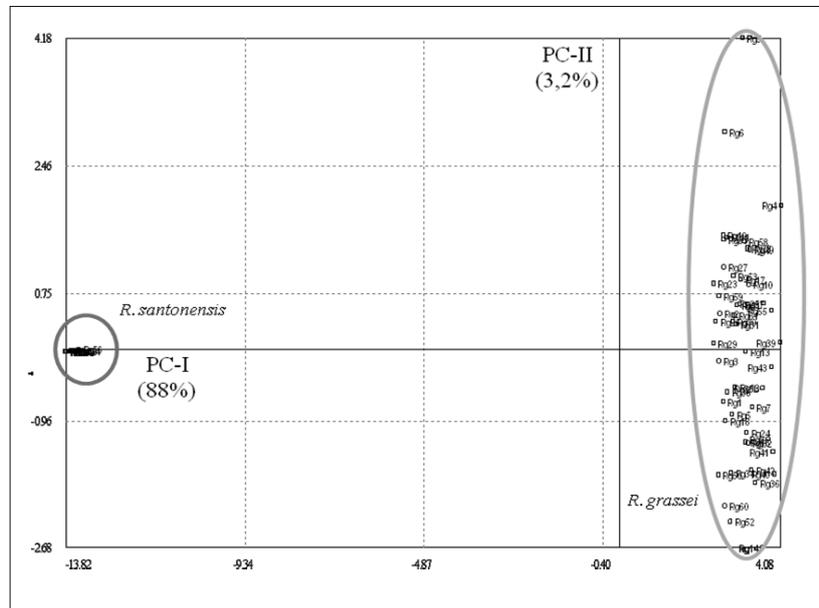


Figure 3. Principal component analysis (PCA) of the cuticular hydrocarbons profiles of *R. santonensis* (left) and *R. grassei* (right).

Gas Chromatographic Analysis of Cuticular Hydrocarbons

Principal component analysis between collection points revealed that the two first axes (PC-I and PC-II) accounted for 91.2% of the variation (Figure 3). The first axis, PC-I, explains the major part of the chemical variation (88%), separating the two species (Figure 3). The second axis accounts for the chemical variation between collection points for each species. In the multivariate plot, the distinction between collection points was relatively clear for *R. grassei*. In many social insects, colony members are able to recognize nestmates and distinguish them from other conspecific colonies or members of other species. The strong chemical variability of *R. grassei* seems to be one of the factors explaining the intraspecific aggression occurring in this species. Conversely, the chemical homogeneity of *R. santonensis* would permit tolerance between conspecific colonies, which could allow colonial fusion.

Microsatellite Analysis

All microsatellite loci were polymorphic in *R. santonensis*, with 2 to 5 alleles per locus (Table 1). We identified three colonies. The first colony regrouped two collection points extended about 40 m². The second colony contained three collection points, representing a total surface of about 3500 m². The third colony was composed by the last four collection points, and may extend more than 11 000 m². These three colonies were included in the analysis of the breeding system. Results showed that all colonies possessed more than 4 genotypes for at least one locus (Table 1), clearly indicating that each of the colonies possesses more than two functional reproductives. Our results are in accordance with previous studies on the breeding system of *R. santonensis* (Dronnet, 2004; Dronnet et al., 2005), which showed that all colonies are extended families (i.e., colonies lead by multiple related reproductives which are the descendants of the original founding pair) (DeHeer and Vargo, 2004). However, more loci would need to be genotyped and analysed.

Table 1. Number total of alleles, number of alleles, number of genotypes and expected heterozygosity (He) per colony (C) at each locus in the *R. santonensis* investigated.

Locus	Number total of alleles	Number of alleles per colony			Number of genotypes			He		
		C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
Rf 1-3	5	3	3	3	5	5	4	0.58	0.44	0.36
Rf 11-1	2	1	2	2	1	3	3	0	0.51	0.52
Rs 10	4	2	4	4	2	8	9	0.24	0.66	0.71
Rs 15	4	3	3	4	4	4	8	0.26	0.48	0.47
Rs 85	4	2	3	3	2	3	3	0.22	0.21	0.17
Mean (\pmSD)		2.2 ± 0.87	3 ± 0.71	3.2 ± 0.87	Overall			0.26	0.46	0.45

Together, these preliminary results demonstrate that the two species, *R. santonensis* and *R. grassei*, present important differences in their social structure, and suggest that *R. santonensis* colonies might be more efficient than those of *R. grassei* for invading their environment. The capacity of *R. santonensis* for fusion and its dominance over *R. grassei* during inter-specific encounters may cause strong local dynamics and favour its territorial expansion. Such peaceful behaviour between conspecific colonies of *R. santonensis* has already been observed in invasive ants, like the Argentine ant (*Linepithema humile*) and the Fire ant (*Solenopsis invicta*), which form vast and dominant colonies (Tsutsui et al., 2000); (Holway et al., 2002). Furthermore, a lack of available discriminative cues on the cuticle, reflected by chemical similarity among *R. santonensis* colonies, prohibits an effective differentiation. This phenomenon is a key for the invasive success of introduced species. The introduced populations of the invasive ant *Wasmannia auropunctata* show a chemical uniformity allowing them to become ecologically dominant (Errard et al., 2005). Cuticular hydrocarbon variations may depend on both genetic and environmental factors (Dronnet et al., 2006); (Foitzik et al., 2007). The two species, *R. grassei* and *R. santonensis*, living in the same ecosystem and having the same diet (pine wood) are probably subjected to similar environmental conditions. Thus, the loss of chemical variation from *R. santonensis* may be explained by the loss of genetic variation that occurred during the introduction event(s) (Dronnet et al., 2006). Such a phenomenon has been studied on invasive ants in which authors have concluded that the loss of genetic diversity associated with founder effects impedes nestmate recognition (Holway et al., 1998); (Tsutsui and Suarez, 2003).

The presence of secondary reproductives has often been cited as a main condition for colony foundation by budding, whereby workers and replacement reproductives (neotronics) initiate new colonies close to their natal nest (Thorne et al., 1999). Previous studies revealed that 100% of the French colonies of *R. santonensis* (synonym to *R. flavipes*) possess functional neotronics whereas only 25% of the North American colonies possess such reproductives. The reason(s) for such modification in the introduced populations of *R. santonensis* is unknown. However, it is believed that the capability of the French colonies to produce neotronics favours their local dynamics, and increases their chance to reach and spread within urban areas.

In conclusion, these studies demonstrate that two species living in the same ecosystem and subjected to the same environmental factors possess different expansion strategies. Furthermore, the invasive characteristics of *R. santonensis*: its high number of secondary reproductives, capacity to merge, superiority in inter-specific confrontations, and its chemical homogeneity, are trump cards facilitating its territorial expansion in comparison with the endemic species. In addition, the same characteristics would allow *R. santonensis* to reach and develop effectively in human habitats.

ACKNOWLEDGMENTS

I am grateful to Y. Bourgeois and C.E. Imbert for their help in behavioural tests and microsatellite analyses. I thank the members of my team for their fruitful discussions. This study is mainly funded by a Ph.D. scholarship from French Ministry for education.

REFERENCES CITED

- Bagnères, A.-G., Clément, J.-C., Blum, M.S., Severson, R.F., Joulie, C., Lange, C., 1990.** Cuticular hydrocarbons and defensive compounds of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *R. santonensis* (Feytaud): polymorphism and chemotaxonomy. *Journal of Chemical Ecology* 16, 3213-3244.
- Bulmer, M. S., Adams, E.S., Traniello, J.F.A. 2001.** Variation in colony structure in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 49, 236-243.
- Chapman, R. E. and Bourke, A. F. G., 2001.** The influence of sociality on the conservation biology of social insects. *Ecology Letters* 4, 650-662.
- Clément, J.-L., 1986.** Open and closed societies in *Reticulitermes* termites (Isoptera, Rhinotermitidae): geographic and seasonal variations. *Sociobiology* 11: 311-323.
- DeHeer, C. J. and Vargo, E. L., 2004.** Colony genetic organization and colony fusion in the termite *Reticulitermes flavipes* as revealed by foraging patterns over time and space. *Molecular Ecology* 13 : 431-441.
- Dronnet, S. 2004.** Structure reproductrice, distances génétiques et variations chimiques, inter- et intra-coloniales, chez le termite souterrain *Reticulitermes santonensis* (Feytaud). University of Paris 6 (Pierre et Marie Curie), Paris
- Dronnet, S., Bagnères, A.-G., Juba, T.R., Vargo, E.L., 2004.** Polymorphic microsatellite loci in the European subterranean termite, *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *Molecular Ecology Notes* 4 : 127-129.
- Dronnet, S., Chapuisat, M., Vargo, E.L., Lohou, C., Bagnères, A.G., 2005.** Genetic analysis of the breeding system of an invasive subterranean termite, *Reticulitermes santonensis*, in urban and natural habitats. *Molecular Ecology* 14: 1311-1320.
- Dronnet, S., Lohou, C., Christides, J.-P., Bagnères, A.-G., 2006.** Cuticular Hydrocarbon Composition Reflects Genetic Relationship Among Colonies of the Introduced Termite *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *Journal of Chemical Ecology* 32: 1027-1042.
- Errard, C., Delabie, J., Jourdan, H., Hefetz, A. 2005.** Intercontinental chemical variation in the invasive ant *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera Formicidae): a key to the invasive success of a tramp species. *Naturwissenschaften* 92: 319-323.
- Foitzik, S., Sturm, H., Pusch, K., D'Ettoire, P., Heinze, J. 2007.** Nestmate recognition and intraspecific chemical and genetic variation in *Temnothorax* ants. *Animal Behaviour* 73: 999-1007.
- Holway, D. A., Lach, L., Suarez, A.V., Case, T.J. 1998.** Loss of intraspecific aggression in the success of a widespread invasive social insect. *Science* 282: 949-952.
- Holway, D. A., Lach, L., Suarez, A.V., Tsutsui, N.D., Case, T.J. 2002.** The causes and consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 181-233.
- Ihaka, R. and Gentleman, R., 1996.** R: a language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 5, 299-314.
- Raymond, M. and Rousset, F., 1995.** An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280-1283.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. 1989.** *Molecular Cloning*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Lab Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Su, N.-Y. and Scheffrahn, R. H., Termites as Pests of Buildings. 2000.** In: T. Abe, et al., eds.), *Termites, Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht
- Thorne, B. L., Traniello, J.F.A., Adams, E.S., Bulmer, M., 1999.** Reproductive dynamics and colony structure of subterranean termites of the genus *Reticulitermes* (Isoptera Rhinotermitidae): a review of the evidence from behavioral, ecological and genetic studies. *Ethology Ecology and Evolution* 11: 149-169.
- Tsutsui, N. D. and Suarez, A. V., 2003.** The colony structure and population biology of invasive ants. *Conservation Biology* 17: 48-58.
- Tsutsui, N. D., Suarez, A.V., Holway, D.A., Case, T.J. 2000.** Reduced genetic variation in the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* 97, 5948-5953.
- Vargo, E. L., 2000.** Polymorphism at trinucleotide microsatellite loci in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Molecular Ecology* 9, 817-829.
- Wallace, D. I. 1963.** Aggression in social insects In: J. D. Carthy, F. J. Ebling, (eds.), *Natural History of Aggression*. Academic Press London

BIBLIOGRAPHIE

- Abbott R.J., James J.K., Milne R.I. and Gillies A.C.M. 2003. Plant introductions, hybridization and gene flow. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **358**: 1123-1132.
- Ahrens M.E., Ross K.G. and Shoemaker D.D. 2005. Phylogeographic structure of the fire ant *Solenopsis invicta* in its native South American range: Roles of natural barriers and habitat connectivity. *Evolution* **59**: 1733-1743.
- Allendorf F.W. and Lundquist L.L. 2003. Introduction: Population biology, evolution, and control of invasive species. *Conserv. Biol.* **17**: 24-30.
- Anonyme 1888. La France coloniale: histoire, géographie, commerces. *Bibliothèque nationale de France*: 12-28.
- Ashley M.V. and Dow B.D. (1994) The use of microsatellite analysis in population biology: Background, methods and potential applications. In: *Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications*, (Schierwater, B., Streit, B., Wagner, G. P. & DeSalle, R., eds.). pp. 185-201. Birkhauser Verlag Basel, Switzerland.
- Atkinson L. and Adams E.S. 1997. The origins and relatedness of multiple reproductives in colonies of the termite *Nasutitermes corniger*. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **264**: 1131-1136.
- Austin J.W., Szalanski A.L., Uva P., Bagnères A.G. and Kence A. 2002. A comparative genetic analysis of the subterranean termite genus *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **95**: 753-760.
- Austin J.W., Szalanski A.L., Scheffrahn R.H., Messenger M.T., Dronnet S. and Bagnères A.G. 2005. Genetic evidence for the synonymy of two *Reticulitermes* species: *Reticulitermes flavipes* and *Reticulitermes santonensis*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **98**: 395-401.
- Ayres D.R., Garcia-Rossi D., Davis H.G. and Strong D.R. 1999. Extent and degree of hybridization between exotic (*Spartina alterniflora*) and native (*S. foliosa*) cordgrass (Poaceae) in California, USA determined by random amplified polymorphic DNA (RAPDs). *Mol. Ecol.* **8**: 1179-1186.
- Ayroles J.F., Carbone M.A., Stone E.A., Jordan K.W., Lyman R.F., Magwire M.M., Rollmann S.M., Duncan L.H., Lawrence F., Anholt R.R.H. and Mackay T.F.C. 2009. Systems genetics of complex traits in *Drosophila melanogaster*. *Nat. Genet.* **41**: 299-307.
- Bagnères A.-G. (1989) Les hydrocarbures cuticulaires des insectes sociaux: Détermination et rôle dans la reconnaissance spécifique, coloniale et individuelle. pp. 151. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, Paris.
- Bagnères A.-G., Clément J.-C., Blum M.S., Severson R.F., Joulie C. and Lange C. 1990. Cuticular hydrocarbons and defensive compounds of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *R. santonensis* (Feytaud): polymorphism and chemotaxonomy. *J. Chem. Ecol.* **16**: 3213-3244.
- Bagnères A.-G., Killian A., Clément J.-L. and Lange C. 1991. Interspecific recognition among termites of the genus *Reticulitermes*: evidence for a role for the cuticular hydrocarbons. *J. Chem. Ecol.* **17**: 2397-2420.
- Bagnères A.-G., Rivière G. and Clément J.-L. 1998. Artificial neural network modeling of caste odor discrimination based on cuticular hydrocarbons in termites. *Chemoecology* **8**: 201-209.
- Bagnères A.-G. and Wicker-Thomas C. (2010) Chemical taxonomy with hydrocarbons. In: *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology*. pp. 121-162. Cambridge University Press, Cambridge.

- Bagnères A.G., Lange C., J.-L. C. and Joulie C. 1988. Les hydrocarbures cuticulaires des Reticulitermes français: variations spécifiques et coloniales. *Actes Colloque Insectes Sociaux* **4**: 34-42.
- Barr K., Moller H., Christmas E., Lyver P. and Beggs J. 1996. Impacts of introduced common wasps (*Vespula vulgaris*) on experimentally placed mealworms in a New Zealand beech forest. *Oecologia* **105**: 266-270.
- Baumel A., Ainouche M.L. and Levasseur J.E. 2001. Molecular investigations in populations of *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poaceae) invading coastal Brittany (France). *Mol. Ecol.* **10**: 1689-1701.
- Becker R. 1970. *Reticulitermes* in Mittel and West Europa. *Z. angew Entomol.* **65**: 263-278.
- Begon M., Harper J.L. and Townsend C.R. 1990. Ecology: individuals, populations and communities. Blackwell Scientific, Boston.
- Blair A.C. and Wolfe L.M. 2004. The evolution of an invasive plant: An experimental study with *Silene latifolia*. *Ecology* **85**: 3035-3042.
- Blomquist G.J. and Bagnères A.-G. 2010. Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry, and Chemical Ecology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Blossey B. and Notzold R. 1995. Evolution of Increased Competitive Ability in Invasive Nonindigenous Plants - a Hypothesis. *J. Ecol.* **83**: 887-889.
- Bobe-Moreau J. (1843) Mémoire sur les Termites observés à Rochefort et dans divers autres lieux du département de la Charente-Inférieure. pp., Saintes.
- Bourke A.F.G. and Francks N.R. (Eds.) (1995) *Social Evolution in Ants*, Princeton Univ. Press, Princeton.
- Brandt M., Van Wilgenburg E. and Tsutsui N.D. 2009. Global-scale analyses of chemical ecology and population genetics in the invasive Argentine ant. *Mol. Ecol.* **18**: 997-1005.
- Buchli H. 1958. L'origine des castes et les potentialités ontogénique des Termites européens du genre *Reticulitermes*. *Ann. Sci. nat. Zool.-Biol. anim.* **11**: 263-429.
- Büchner 1881. La vie psychique des bêtes. Ouvrage traduit de l'allemand par le Dr Letourneau. source gallica.bnf.fr. *Bibliothèque nationale de France Chapitre XIV*: 291.
- Bulmer M.S., Adams E.S. and Traniello J.F.A. 2001. Variation in colony structure in the subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **49**: 236-243.
- Bulmer M.S. and Traniello J.F.A. 2002. Lack of aggression and spatial association of colony members in *Reticulitermes flavipes*. *J. Insect Behav.* **15**: 121-126.
- Buttermore R.E. 1997. Observations of successful *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae) colonies in southern Tasmania. *Aust. J. Entomol.* **36**: 251-254.
- Carlin N.F. and Hölldobler B. 1986. The kin recognition system of carpenter ants (*Camponotus* spp.) I. Hierarchical cues in small colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **19**: 123-134.
- Cassey P. 2003. A comparative analysis of the relative success of introduced land birds on islands. *Evol. Ecol. Res.* **5**: 1011-1021.
- Chapman R.E. and Bourke A.F.G. 2001. The influence of sociality on the conservation biology of social insects. *Ecol. Lett.* **4**: 650-662.
- Clapperton B.K., Moller H. and Sandlant G.R. 1989. Distribution of social wasps (Hymenoptera: Vespidae) in New Zealand in 1987. *N. Z. J. Zool.*
- Clément J.-L. 1977. Ecologie des Reticulitermes (Holmgren) français (Isoptères); Position systématique des populations. *Bull. Soc. Zool. Fr.* **102**: 169-185.
- Clément J.-L. 1978a. Nouveaux critères taxonomiques dans le genre *Reticulitermes* (Holmgren) [Isoptera], description de nouveaux taxons français. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* **14**: 131-141.

- Clément J.-L. 1978b. L'agression interspécifique et intraspécifique des espèces françaises du genre *Reticulitermes* (Isoptère). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris* **286**: 351-354.
- Clément J.-L., Lange C., Blum M., Howard R.W. and Lloyd H.S. 1985. Chimiosystematique du genre *Reticulitermes* (Isoptères) aux USA et en Europe. *Actes Coll. Insectes Sociaux* **2**: 123-131.
- Clément J.-L. 1986. Open and closed societies in *Reticulitermes* termites (Isoptera, Rhinotermitidae): geographic and seasonal variations. *Sociobiology* **11**: 311-323.
- Clément J.-L., Howard R.W., Blum M. and Lloyd H.S. 1986. L'isolement spécifique des termites du genre *Reticulitermes* (isoptera) du sud-est des Etats-unis. mise en évidence grâce à la chimie et au comportement d'une espèce jumelle de *R. virginicus* = *R. mallei* sp. nov et d'une semi-species de *R. flavipes*. *Compte-Rendus de l'Académie des Sciences* **302**: 67-70.
- Clément J.-L., Lemaire M., Nagnan P., Escoubas P., Bagnères A.-G. and Joulie C. 1988. Chemical ecology of European termites of the genus *Reticulitermes*. Allomones, pheromones and kairomones. *Sociobiology* **14**: 165-173.
- Clément J.-L. and Bagnères A.-G. (1998) Nestmate recognition in termites. In: *Pheromone Communication in Social Insects. Ants, Wasps, Bees, and Termites*, (Vander Meer, R. K., Breed, M. D., Espelie, K. E. & Winston, M. L., eds.). pp. 126-155. Westview Press.
- Clément J.-L., Bagnères A.-G., Uva P., Wilfert L., Quintana A., Reinhard J. and Dronnet S. 2001. Biosystematics of *Reticulitermes* termites in Europe: morphological, chemical and molecular data. *Insectes Soc.* **48**: 202-215.
- Colautti R.I. and MacIsaac H.J. 2004. A neutral terminology to define 'invasive' species. *Divers. Distrib.* **10**: 135-141.
- Copren K.A. (2004) Variation in nestmate recognition behavior in the western subterranean termite, *Reticulitermes hesperus* (Isoptera: Rhinotermitidae). pp. UC Davis, Davis.
- Corn M.L., Buck E.H., Rawson J. and Fischer E. (1999) Harmful Non-Native Species: Issues for Congress. . In: *Congressional Research Service*, (Congress, L. o., ed.). pp., Washington, DC.
- Crozier R.H. and Dix M.W. 1979. Analysis of two genetic models for the innate components of colony odor in social Hymenoptera. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **4**: 217-224.
- Crozier R.H. and Pamilo P. 1996. Sympatric speciation - One into two will go. *Nature* **383**: 574-575.
- Darrouzet E. (2010) Le frelon tueur d'abeilles. In: *Nuisibles et parasites information*, Vol. 63. pp. 23-24.
- Davis M.A. 2001. *Invasion Biology* Oxford.
- DeHeer C.J. and Vargo E.L. 2004. Colony genetic organization and colony fusion in the termite *Reticulitermes flavipes* as revealed by foraging patterns over time and space. *Mol. Ecol.* **13**: 431-441.
- DeHeer C.J., Kutnik M., Vargo E.L. and Bagnères A.G. 2005. The breeding system and population structure of the termite *Reticulitermes grassei* in Southwestern France. *Heredity* **95**: 408-415.
- DeHeer C.J. and Vargo E.L. 2006. An indirect test of inbreeding depression in the termites *Reticulitermes flavipes* and *Reticulitermes virginicus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **59**: 753-761.
- DeHeer C.J. and Kamble S.T. 2008. Colony genetic organization, fusion and inbreeding in *Reticulitermes flavipes* from the Midwestern U.S. *Sociobiology* **51**: 307-325.

- DeHeer C.J. and Vargo E.L. 2008. Strong mitochondrial DNA similarity but low relatedness at microsatellite loci among families within fused colonies of the termite *Reticulitermes flavipes*. *Insectes Soc.* **55**: 190-199.
- Desprez-Loustau M.L., Courtecuisse R., Robin C., Husson C., Moreau P.A., Blancard D., Selosse M.A., Lung-Escarmant B., Piou D. and Sache I. 2010. Species diversity and drivers of spread of alien fungi (sensu lato) in Europe with a particular focus on France. *Biol. Invasions* **12**: 157-172.
- Dlugosch K.M. and Parker I.M. 2008a. Invading populations of an ornamental shrub show rapid life history evolution despite genetic bottlenecks. *Ecol. Lett.* **11**: 701-709.
- Dlugosch K.M. and Parker I.M. 2008b. Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Mol. Ecol.* **17**: 431-449.
- Donovan B.J., Howie A.M.E., Schroeder N.C., Wallace A.R. and Read P.E.C. 1992. Comparative Characteristics of Nests of *Vespula-Germanica* (F) and *Vespula-Vulgaris* (L) (Hymenoptera, Vespinae) from Christchurch-City, New-Zealand. *N. Z. J. Zool.* **19**: 61-71.
- Drescher J., Bluthgen N. and Feldhaar H. 2007. Population structure and intraspecific aggression in the invasive ant species *Anoplolepis gracilipes* in Malaysian Borneo. *Mol. Ecol.* **16**: 1453-1465.
- Dronnet S. (2004) Structure reproductrice, distances génétiques et variations chimiques, inter- et intra-coloniales, chez le termite souterrain *Reticulitermes santonensis* (Feytaud). pp. 276. University of Paris 6 (Pierre et Marie Curie), Paris.
- Dronnet S., Bagnères A.-G., Juba T.R. and Vargo E.L. 2004. Polymorphic microsatellite loci in the European subterranean termite, *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *Mol. Ecol. Notes* **4**: 127-129.
- Dronnet S., Chapuisat M., Vargo E.L., Lohou C. and Bagnères A.G. 2005. Genetic analysis of the breeding system of an invasive subterranean termite, *Reticulitermes santonensis*, in urban and natural habitats. *Mol. Ecol.* **14**: 1311-1320.
- Dronnet S., Lohou C., Christides J.-P. and Bagnères A.-G. 2006. Cuticular hydrocarbon composition reflects genetic relationship among colonies of the introduced termite *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *J. Chem. Ecol.* **32**: 1027-1042.
- Duryea L.D. 2006. Landscape Mulches: Will Subterranean Termites Consume Them? *School of Forest Resources and Conservation, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida*.
- Elliott K.L. and Stay B. 2007. Juvenile hormone synthesis as related to egg development in neotenic reproductives of the termite *Reticulitermes flavipes*, with observations on urates in the fat body. *Gen. Comp. Endocrinol.* **152**: 102-110.
- Elliott K.L. and Stay B. 2008. Changes in juvenile hormone synthesis in the termite *Reticulitermes flavipes* during development of soldiers and neotenic reproductives from groups of isolated workers. *J. Insect Physiol.* **54**: 492-500.
- Ellstrand N.C. and Schierenbeck K.A. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**: 7043-7050.
- Elton C. 1958. The ecology of invasions by animals and plants. Methuen, London, UK.
- Errard C., Delabie J., Jourdan H. and Hefetz A. 2005. Intercontinental chemical variation in the invasive ant *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera Formicidae): a key to the invasive success of a tramp species. *Naturwissenschaften* **92**: 319-323.
- Esenher G.R. 1969. Termites in Wisconsin. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **62**: 1275-1284.
- Estoup A., Wilson I.J., Sullivan C., Cornuet J.M. and Moritz C. 2001. Inferring population history from microsatellite and enzyme data in serially introduced cane toads, *Bufo marinus*. *Genetics* **159**: 1671-1687.

- Estoup A. and Clegg S.M. 2003. Bayesian inferences on the recent island colonization history by the bird *Zosterops lateralis lateralis*. *Mol. Ecol.* **12**: 657-674.
- Facon B., Genton B.J., Shykoff J., Jarne P., Estoup A. and David P. 2006. A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends Ecol. Evol.* **21**: 130-135.
- Facon B., Pointier J.P., Jarne P., Sarda V. and David P. 2008. High genetic variance in life-history strategies within invasive populations by way of multiple introductions. *Curr. Biol.* **18**: 363-367.
- Falk-Petersen J., Bohn T. and Sandlund O.T. 2006. On the numerous concepts in invasion biology. *Biol. Invasions* **8**: 1409-1424.
- Fan Y., Schal C., Vargo E.L. and Bagnères A.G. 2004. Characterization of termite lipophorin and its involvement in hydrocarbon transport. *J. Insect Physiol.* **50**: 609-620.
- Faucheux M.J. (2006) Glandular pores and perforated plaques of the tergal and sternal abdominal glands in *Reticulitermes lucifugus* Rossi (Isoptera: Rhinotermitidae). In: *Bulletin de la Société des sciences naturelles de l'Ouest de la France* Vol. 28. pp. 244-248 Société des sciences naturelles de l'Ouest de la France, Nantes, FRANCE
- Fenner F. and Fantini B. (1999) Biological control of vertebrate pests: the history of Myxomatosis. In: *An experiment in Evolution*. pp. CABI Publishing, Oxford.
- Feytaud d.J. 1924. Le termite de Saintonge. *Compte-Rendus de l'Académie des Sciences* **171**: 203-205.
- Feytaud d.J. 1959. L'histoire véridique du termite de Saintonge. *Cahiers de l'Ouest* **30**: 1-11.
- Fisher M.L. and Gold R.E. 2003. Intercolony aggression in *Reticulitermes flavipes* (Isoptera : Rhinotermitidae). *Sociobiology* **42**: 651-661.
- Foucaud J., Jourdan H., Le Breton J., Loiseau A., Konghouleux D. and Estoup A. 2006. Rare sexual reproduction events in the clonal reproduction system of introduced populations of the little fire ant. *Evolution* **60**: 1646-1657.
- Foucaud J., Fournier D., Orivel J., Delabie J.H.C., Loiseau A., Le Breton J., Kergoat G.J. and Estoup A. 2007. Sex and clonality in the little fire ant. *Mol. Biol. Evol.* **24**: 2465-2473.
- Foucaud J., Orivel J., Fournier D., Delabie J.H.C., Loiseau A., Le Breton J., Cerdan P. and Estoup A. 2009. Reproductive system, social organization, human disturbance and ecological dominance in native populations of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*. *Mol. Ecol.* **18**: 5059-5073.
- Fournier D., Estoup A., Orivel J., Foucaud J., Jourdan H., Le Breton J. and Keller L. 2005. Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature* **435**: 1230-1234.
- Fournier D., Biseau J.C. and Aron S. 2009. Genetics, behaviour and chemical recognition of the invading ant *Pheidole megacephala*. *Mol. Ecol.* **18**: 186-199.
- Frankham R. 2005. Invasion biology - Resolving the genetic paradox in invasive species. *Heredity* **94**: 385-385.
- Fritts T.H. and Rodda G.H. 1998. The role of introduced species in the degradation of island ecosystems: A case history of Guam. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **29**: 113-140.
- Gause G.F. 1934. The struggle for existence. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Gay F.J. (1969) Species introduced by man. In: *Biology of termites*, Vol. 1 (Krishna, K. & Weesner, F. M., eds.). pp. 459-494. Academic Press, New-York and London.
- Genton B.J., Shykoff J.A. and Giraud T. 2005. High genetic diversity in French invasive populations of common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, as a result of multiple sources of introduction. *Mol. Ecol.* **14**: 4275-4285.
- Giraud T., Pedersen J.S. and Keller L. 2002. Evolution of supercolonies: The Argentine ants of southern Europe. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**: 6075-6079.
- Gomi T. 2007. Seasonal adaptations of the fall webworm *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera : Arctiidae) following its invasion of Japan. *Ecol. Res.* **22**: 855-861.

- Grace J.K., Abdallay A. and Farr K.R. 1989. Eastern subterranean termite (isoptera: Rhinotermitidae) foraging territories and populations in Toronto. *The Canadian Entomologist* **121**: 551-556.
- Grace J.K. 1996. Absence of overt agonistic behavior in a northern population of *Reticulitermes flavipes* (Isoptera : Rhinotermitidae). *Sociobiology* **28**: 103-110.
- Grassé P.P. 1954. Origine et répartition géographique des Termites français. *Annales de l'Ecole Nationale d'Horticulture de Montpellier* **24**: 1-10.
- Grassé P.P. 1982. Termitologia. Masson, Paris.
- Gray A.J. 1986. Do Invading Species Have Definable Genetic-Characteristics. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **314**: 655-674.
- Grube S. and Forschler B.T. 2004. Census of monogyne and polygyne laboratory colonies illuminates dynamics of population growth in *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **97**: 466-475.
- Hacker M., Kaib M., Bagine R.K.N., Epplen J.T. and Brandl R. 2005. Unrelated queens coexist in colonies of the termite *Macrotermes michaelseni*. *Mol. Ecol.* **14**: 1527-1532.
- Hagen H.A. 1858. Monographic der Termites, II. *Linea Entomological* **12**: 1-461.
- Hamilton W.D. 1964. The genetic evolution of social behaviour. *J. Theor. Biol.* **71**: 1-52.
- Hanus R., Vrkoslav V., Hrdy I., Cvacka J. and Sobotnik J. 2010. Beyond cuticular hydrocarbons: evidence of proteinaceous secretion specific to termite kings and queens. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **277**: 995-1002.
- Harris W.V. 1962. Termites in Europe. *New Sci.* **13**: 614-617.
- Hartel S., Neumann P., Kryger P., von der Heide C., Moltzer G.J., Crewe R.M., van Praagh J.P. and Moritz R.F.A. 2006. Infestation levels of *Apis mellifera* scutellata swarms by socially parasitic Cape honeybee workers (*Apis mellifera capensis*). *Apidologie* **37**: 462-470.
- Hastings A., Cuddington K., Davies K.F., Dugaw C.J., Elmendorf S., Freestone A., Harrison S., Holland M., Lambrinos J., Malvadkar U., Melbourne B.A., Moore K., Taylor C. and Thomson D. 2005. The spatial spread of invasions: new developments in theory and evidence. *Ecol. Lett.* **8**: 91-101.
- Haverty M.I., Forschler B.T. and Nelson L.J. 1996a. An assessment of the taxonomy of *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) from the southeastern United States based on cuticular hydrocarbons. *Sociobiology* **28**: 287-318.
- Haverty M.I., Grace J.K., Nelson L.J. and Yamamoto R.T. 1996b. Intercaste, intercolony, and temporal variation in cuticular hydrocarbons of *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Chem. Ecol.* **22**: 1813-1834.
- Haverty M.I., Collins M.S., Nelson L.J. and Thorne B.L. 1997. Cuticular hydrocarbons of termites of the British Virgin Islands. *J. Chem. Ecol.* **23**: 927-964.
- Haverty M.I., Getty G.M., Copren K.A. and Lewis V.R. 1999. Seasonal foraging and feeding behavior of *Reticulitermes* spp. (Isoptera: Rhinotermitidae) in a wildland and a residential location in Northern California. *Environ. Entomol.* **28**: 1077-1084.
- Hayashi Y., Lo N., Miyata H. and Kitade O. 2007. Sex-linked genetic influence on caste determination in a termite. *Science* **318**: 985-987.
- Hee J.J., Holway D.A., Suarez A.V. and Case T.J. 2000. Role of propagule size in the success of incipient colonies of the invasive Argentine ant. *Conserv. Biol.* **14**: 559-563.
- Helanterä H., Strassmann J.E., Carrillo J. and Queller D.C. 2009. Uniclonal ants: where do they come from, what are they and where are they going? *Trends Ecol. Evol.* **24**: 341-349.
- Henderson G. (1998) Primer pheromones and possible soldier caste influence on the evolution of sociality in lower termites. In: *Pheromone communication in social insects: Ants*,

- wasps, bees and termites*, (Vander Meer, R. K., Breed, M. D., Winston, M. L. & Espelie, K. E., eds.). pp. 314-330. Westview Press.
- Hoffmann B.D., Andersen A.N. and Hill G.J.E. 1999. Impact of an introduced ant on native rain forest invertebrates: *Pheidole megacephala* in monsoonal Australia. *Oecologia* **120**: 595-604.
- Hoffmann B.D. and Parr C.L. 2008. An invasion revisited: the African big-headed ant (*Pheidole megacephala*) in northern Australia *Biol. Invasions* **10**: 1171-1181.
- Hölldobler B. and Wilson E.O. 1990. The ants. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Holway D.A., Lach L., Suarez A.V. and Case T.J. 1998. Loss of intraspecific aggression in the success of a widespread invasive social insect. *Science* **282**: 949-952.
- Holway D.A. 1999. Competitive mechanisms underlying the displacement of native ants by the invasive Argentine ant. *Ecology* **80**: 238-251.
- Holway D.A., Lach L., Suarez A.V., Tsutsui N.D. and Case T.J. 2002. The causes and consequences of ant invasions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **33**: 181-233.
- Holway D.A. and Suarez A.V. 2004. Colony-structure variation and interspecific competitive ability in the invasive Argentine ant. *Oecologia* **138**: 216-222.
- Howard R.W. and Haverty M.I. 1980. Reproductives in mature colonies of *Reticulitermes flavipes*: abundance, sex-ratio, and association with soldiers. *Environ. Entomol.* **9**: 458-460.
- Howard R.W. and Blomquist G.J. 1982. Chemical ecology and biochemistry of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.* **27**: 149-172.
- Howard R.W. (1993) Cuticular hydrocarbons and chemical communication. In: *Insect lipids: chemistry, biochemistry and biology*, (Stanley-Samuels, D. W. & Nelson, D. R., eds.). pp. 179-226. University of Nebraska Press.
- Howard R.W. and Blomquist G.J. 2005. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.* **50**: 371-393.
- Huey R.B., Gilchrist G.W., Carlson M.L., Berrigan D. and Serra L. 2000. Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. *Science* **287**: 308-309.
- Hulme P.E., Pysek P., Nentwig W. and Vila M. 2009. Will Threat of Biological Invasions Unite the European Union? *Science* **324**: 40-41.
- Husseneder C., Powell J.E., Grace J.K., Vargo E.L. and Matsuura K. 2008. Worker size in the Formosan subterranean termite in relation to colony breeding structure as inferred from molecular markers. *Environ. Entomol.* **37**: 400-408.
- Husseneder C. and Simms D.M. 2008. Size and heterozygosity influence partner selection in the Formosan subterranean termite. *Behav. Ecol.* **19**: 764-773.
- Jenkins T.M., Haverty M.I., Basten C.J., Nelson L.J., Page M. and Forschler B.T. 2000. Correlation of mitochondrial haplotypes with cuticular hydrocarbon phenotypes of sympatric *Reticulitermes* species from the southeastern United States. *J. Chem. Ecol.* **26**: 1525-1542.
- Jenkins T.M., Dean R.E., Verkerk R. and Forschler B.T. 2001. Phylogenetic Analyses of Two Mitochondrial Genes and One Nuclear Intron Region Illuminate European Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae) Gene Flow, Taxonomy, and Introduction Dynamics. *Mol. Phylogenet. Evol.* **20**: 286-293.
- Kaib M., Brandl R. and Bagine R.K.N. 1991. Cuticular hydrocarbon profiles: a valuable tool in termite taxonomy. *Naturwissenschaften* **78**: 176-179.
- Kaib M., Franke S., Francke W. and Brandl R. 2002. Cuticular hydrocarbons in a termite: phenotypes and a neighbour-stranger effect. *Physiol. Entomol.* **27**: 189-198.

- Kambhampati S. and Eggleton P. (2000) Taxonomy and phylogeny of termites. In: *Termites, Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*, Vol. 1 (Abe, T., Bignell, D. & Higashi, M., eds.). pp. 1-23. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- Kasper M.L., Reeson A.F. and Austin A.D. 2008. Colony characteristics of *Vespula germanica* (F.) (Hymenoptera, Vespidae) in a Mediterranean climate (southern Australia). *Aust. J. Entomol.* **47**: 265-274.
- Kaufman L. 1992. Catastrophic Change in Species-Rich Fresh-Water Ecosystems. *Bioscience* **42**: 846-858.
- Keane R.M. and Crawley M.J. 2002. Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends Ecol. Evol.* **17**: 164-170.
- Keller L. and Vargo E.L. (1993) Reproductive structure and reproductive roles in colonies of eusocial insects. In: *Queen Numbers and Sociality in Insects*, (Keller, L., ed.). pp. 439. Oxford Science Publications.
- Keller L. and Ross K.G. 1999. Major gene effects on phenotype and fitness: the relative roles of Pgm-3 and Gp-9 in introduced populations of the fire ant *Solenopsis invicta*. *J. Evol. Biol.* **12**: 672-680.
- Keller L.F. and Waller D.M. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends Ecol. Evol.* **17**: 230-241.
- Kenis M., Rabitsch W., Auger-Rozenberg M.A. and Roques A. 2007. How can alien species inventories and interception data help us prevent insect invasions? *Bull. Entomol. Res.* **97**: 489-502.
- Kenis M., Auger-Rozenberg M.A., Roques A., Timms L., Pere C., Cock M., Settele J., Augustin S. and Lopez-Vaamonde C. 2009. Ecological effects of invasive alien insects. *Biol. Invasions* **11**: 21-45.
- King J.A. 1973. The ecology of aggressive behavior. *Ann. Rev. Ecol. System.* **4**: 117-138.
- Kolar C.S. and Lodge D.M. 2001. Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends Ecol. Evol.* **16**: 199-204.
- Kolbe J.J., Glor R.E., Schettino L.R.G., Lara A.C., Larson A. and Losos J.B. 2004. Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* **431**: 177-181.
- Kollar V. 1837. Naturgeschichte des schädlichen Insekten. *Verb. Landwirtsch. Ges. Wien*: 411-413.
- Kondo N.I., Yamanaka D., Kanbe Y., Kunitake Y.K., Yoneda M., Tsuchida K. and Goka K. 2009. Reproductive disturbance of Japanese bumblebees by the introduced European bumblebee *Bombus terrestris*. *Naturwissenschaften* **96**: 467-475.
- Kutnik M. (2004) Evolution, génétique et structure coloniale du termite souterrain *Reticulitermes grassei* (Clément). pp. 306. University of Tours (François Rabelais), Tours.
- Kutnik M., Uva P., Brinkworth L. and Bagnères A.-G. 2004. Phylogeography of two European *Reticulitermes* (Isoptera) species: the Iberian refugium. *Mol. Ecol.*
- Lande R. 2009. Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. *J. Evol. Biol.* **22**: 1435-1446.
- Lash J.H. 1952. A new species of *Reticulitermes* (Isoptera) from Jerusalem. *Am. Mus. Novitates* **1575**: 1-7.
- Lavergne S. and Molofsky J. 2007. Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**: 3883-3888.
- Le Breton J., Chazeau J. and Jourdan H. 2003. Immediate impacts of invasion by *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera : Formicidae) on native litter ant fauna in a New Caledonian rainforest. *Austral. Ecol.* **28**: 204-209.

- Le Breton J., Delabie J.H.C., Chazeau J., Dejean A. and Jourdan H. 2004. Experimental evidence of large-scale unicoloniality in the tramp ant *Wasmannia auropunctata* (Roger). *J. Insect Behav.* **17**: 263-271.
- Lee C.E. 2002. Evolutionary genetics of invasive species. *Trends Ecol. Evol.* **17**: 386-391.
- Lefebvre T. (2004) Redéfinition de la sous-espèce de termite corse *Reticulitermes lucifugus corsicus* : étude multidisciplinaire centrée sur la phylogéographie. pp. Université François-Rabelais, Tours.
- Lefebvre T., Chaline N., Limousin D., Dupont S. and Bagnères A.-G. 2008. From speciation to introgressive hybridization: the phylogeographic structure of an island subspecies of termite, *Reticulitermes lucifugus corsicus*. *BMC Evol. Biol.* **8**.
- Leniaud L. (2008) Potentialités ontogéniques, différenciation des castes et conséquences sur la structure génétique des termites du genre *Reticulitermes*. pp. 193. University of Tours Tours.
- Leniaud L., Pichon A., Uva P. and Bagnères A.G. 2009. Unicoloniality in *Reticulitermes urbis*: a novel feature in a potentially invasive termite species *Bull. Entomol. Res.* **99**: pp 1-10
- Leniaud L., Dedeine F., Pichon A., Dupont S. and Bagnères A.-G. 2010. Geographical distribution, genetic diversity and social organization of a new European termite, *Reticulitermes urbis* (Isoptera: Rhinotermitidae) *Biol. Invasions*: 1573-1464 (Online)
- Lenz M. and Barrett R.A. 1982. Neotenic formation in field colonies of *Coptotermes lacteus* (Froggatt) in Australia, with comments on the roles of neotenic in the genus *Coptotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* **7**: 47-59.
- Liebert A.E., Gamboa G.J., Stamp N.E., Curtis T.R., Monnet K.M., Turillazzi S. and Starks P.T. 2006. Genetics, behavior and ecology of a paper wasp invasion: *Polistes dominulus* in North America. *Ann. Zool. Fenn.* **43**: 595-624.
- Liebert A.E., Hui J., Nonacs P. and Starks P.T. 2008. Extreme polygyny: Multi-seasonal "hypergynous" nesting in the introduced paper wasp *Polistes dominulus*. *J. Insect Behav.* **21**: 72-81.
- Liebig J., Eliyahu D. and Brent C.S. 2009. Cuticular hydrocarbon profiles indicate reproductive status in the termite *Zootermopsis nevadensis*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **63**: 1799-1807.
- Limousin D. (2007) Structure coloniale et système de reproduction chez le termite *Reticulitermes banyulensis* (Isoptera : Rhinotermitidae) en milieu naturel et urbain pp. Rapport de Master 2 Université de Tours.
- Lockwood J.L. 1999. Using taxonomy to predict success among introduced avifauna: Relative importance of transport and establishment. *Conserv. Biol.* **13**: 560-567.
- Lockwood J.L., Cassey P. and Blackburn T. 2005. The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends Ecol. Evol.* **20**: 223-228.
- Lodge D.M. 1993. Biological Invasions - Lessons for Ecology. *Trends Ecol. Evol.* **8**: 133-137.
- Long C.E., Vargo E.L., Thorne B.L. and Juba T.R. 2006. Genetic analysis of breeding structure in laboratory-reared colonies of *Reticulitermes flavipes* (Isoptera : Rhinotermitidae). *Fla. Entomol.* **89**: 521-523.
- Lowe S., Browne M., Boudjelas S. and De Poorter M. (2001) 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database In: *Species Survival Commission, World Conservation Union*. pp., Auckland, New Zealand.
- Luchetti A., Trenta M., Mantovani B. and Marini M. 2004. Taxonomy and phylogeny of north mediterranean *Reticulitermes* termites (Isoptera, Rhinotermitidae): A new insight. *Insectes Soc.* **51**: 117-122.

- Lüscher (1961) Social control of polymorphism in termites. In: *Insect polymorphism*, (Kennedy, J. S., ed.). pp. 57-67. Royal Entomological Society of London, London.
- Marchand G. (2008) Structure génétique des colonies de termites souterrains de l'espèce *Reticulitermes banyulensis* (Isoptera Rhinotermitidae). pp. 25. Rapport de Master 2 Université de Tours.
- Marini M. and Mantovani B. 2002. Molecular Relationships among European Samples of *Reticulitermes* (Isoptera, Rhinotermitidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **22**: 454-459.
- Matsuura K. 2001. Nestmate recognition mediated by intestinal bacteria in a termite, *Reticulitermes speratus*. *Oikos* **92**: 20-26.
- Matsuura K., Fujimoto M. and Goka K. 2004. Sexual and asexual colony foundation and the mechanism of facultative parthenogenesis in the termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera, Rhinotermitidae). *Insectes Soc.* **51**: 325-332.
- Matsuura K., Vargo E.L., Kawatsu K., Labadie P.E., Nakano H., Yashiro T. and Tsuji K. 2009. Queen Succession Through Asexual Reproduction in Termites. *Science* **323**: 1687-1687.
- Mayr E. 1963. Animal Species, Evolution, and Geographic Isolation - Reply. *Syst. Zool.* **12**: 204-206.
- McGlynn T.P. 1999. The worldwide transfer of ants: geographical distribution and ecological invasions. *J. Biogeogr.* **26**: 535-548.
- Meimberg H., Hammond J.I., Jorgensen C.M., Park T.W., Gerlach J.D., Rice K.J. and McKay J.K. 2006. Molecular evidence for an extreme genetic bottleneck during introduction of an invading grass to California. *Biol. Invasions* **8**: 1355-1366.
- Mergeay J., Verschuren D. and De Meester L. 2006. Invasion of an asexual American water flea clone throughout Africa and rapid displacement of a native sibling species. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **273**: 2839-2844.
- Michener C.D. 1969. Comparative social behavior of bees. *Annu. Rev. Entomol.* **14**: 299-342.
- Miura T., Roisin Y. and Matsumoto T. 2000. Molecular phylogeny and biogeography of the nasute termite genus *Nasutitermes* (Isoptera : Termitidae) in the Pacific tropics. *Mol. Phylogenet. Evol.* **17**: 1-10.
- Miura T. 2001. Morphogenesis and gene expression in the soldier-caste differentiation of termites. *Insectes Soc.* **48**: 216-223.
- Moller H. 1996. Lessons for invasion theory from social insects. *Biol. Conserv.* **78**: 125-142.
- Mooney H.A. and Cleland E.E. (2000) The evolutionary impact of invasive species. In: *National-Academy-of-Sciences Colloquium on the Future of Evolution*. pp. 5446-5451. Natl Acad Sciences, Irvine, California.
- Morel L., Vandermeer R.K. and Lofgren C.S. 1990. Comparison of nestmate recognition between monogyne and polygyne populations of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera, Formicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **83**: 642-647.
- Moritz C., Heideman A., Geffen E. and McRae P. 2003. Genetic population structure of the Greater Bilby *Macrotis lagotis*, a marsupial in decline. *Mol. Ecol.* **6**: 925-936.
- Myles T.G. and Nutting W.L. 1988. Termite eusocial evolution: a re-examination of Bartz's hypothesis and assumptions. *The Quarterly Review of Biology* **63**: 1-23.
- Myles T.G. 1999. Review of secondary reproduction in termites (Insecta: Isoptera) with comments on its role in termite ecology and social evolution. *Sociobiology* **33**: 1-43.
- Nagamitsu T. and Yamagishi H. 2009. Nest density, genetic structure, and triploid workers in exotic *Bombus terrestris* populations colonized Japan. *Apidologie* **40**: 429-440.
- Nei M., Maruyama T. and Chakraborty R. 1975. Bottleneck effect and genetic-variability in populations. *Evolution* **29**: 1-10.

- Nelson D.R. (1993) Methyl-branched lipids in insects. In: *Insects Lipids: Chemistry, Biochemistry and Biology*, (Stanley-Samuelson, D. W. & Nelson, D. R., eds.). pp. 271-? University of Nebraska Press, Lincoln.
- Nelson D.R. and Blomquist G.J. (1995) Insect waxes. In: *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*, (Hamilton, R. J. & Christie, W. W., eds.). pp. 1-90. The Oily Press, Ltd. England.
- Nelson L.J., Cool L.G., Forschler B.T. and Haverty M.I. 2001. Correspondence of soldier defense secretion mixtures with cuticular hydrocarbon phenotypes for chemotaxonomy of the termite genus *Reticulitermes* in North America. *J. Chem. Ecol.* **27**: 1449-1479.
- Nelson L.J., Cool L.G., Solek C.W. and Haverty M.I. 2008. Cuticular Hydrocarbons and Soldier Defense Secretions of *Reticulitermes* in Southern California: A Critical Analysis of the Taxonomy of the Genus in North America. *J. Chem. Ecol.* **34**: 1452-1475.
- Nobre T., Nunes L. and Bignell D.E. 2008. Colony interactions in *Reticulitermes grassei* population assessed by molecular genetic methods. *Insectes Soc.* **55**: 66-73.
- Noirot C. 1982. La caste des ouvriers, élément majeur du succès évolutif des termites. *Rivista di biologia* **75**: 157-195.
- Novak S.J. 2007. The role of evolution in the invasion process. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**: 3671-3672.
- O'Dowd D.J., Green P.T. and Lake P.S. 2003. Invasional 'meltdown' on an oceanic island. *Ecol. Lett.* **6**: 812-817.
- Ohkuma M., Yuzawa H., Amornsak W., Sornnuwat Y., Takematsu Y., Yamada A., Vongkalueang C., Sarnthoy O., Kirtibutr N. and Noparatnaraporn N. 2004. Molecular phylogeny of Asian termites (Isoptera) of the families Termitidae and Rhinotermitidae based on mitochondrial COII sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **31**: 701-710.
- Orivel J., Grangier J., Foucaud J., Le Breton J., Andres F.X., Jourdan H., Delabie J.H.C., Fournier D., Cerdan P., Facon B., Estoup A. and Dejean A. 2009. Ecologically heterogeneous populations of the invasive ant *Wasmannia auropunctata* within its native and introduced ranges. *Ecol. Entomol.* **34**: 504-512.
- Park Y.I. and Raina A.K. 2004. Juvenile hormone III titers and regulation of soldier caste in *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Insect Physiol.* **50**: 561-566.
- Parker I.M., Rodriguez J. and Loik M.E. 2003. An evolutionary approach to understanding the biology of invasions: Local adaptation and general-purpose genotypes in the weed *Verbascum thapsus*. *Conserv. Biol.* **17**: 59-72.
- Parman V. and Vargo E.L. 2008. Population density, species abundance, and breeding structure of subterranean termite colonies in and around infested houses in central North Carolina. *J. Econ. Entomol.* **101**: 1349-1359.
- Parmesan C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **37**: 637-669.
- Pascal M., Lorvelec O. and Vigne J.-D. 2006. Invasions biologiques et extinctions, 11000 ans d'histoire des vertébrés en France, Quae ed.
- Passera L. (1994) Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species. In: *Characteristics of tramp species.*, (Williams, D. F., ed.). pp. 23-43. Westview Press, CO.
- Pedersen J.S., Krieger M.J.B., Vogel V., Giraud T. and Keller L. 2006. Native supercolonies of unrelated individuals in the invasive Argentine ant. *Evolution* **60**: 782-791.
- Pejchar L. and Mooney H.A. 2009. Invasive species, ecosystem services and human well-being. *Trends Ecol. Evol.* **24**: 497-504.

- Perrard A., Haxaire J., Rowtais A. and Villemant C. 2009. Observations on the colony activity of the Asian hornet *Vespa velutina* Lepeletier 1836 (Hymenoptera: Vespidae: Vespinae) in France. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* **45**: 119-127.
- Perrier 1882. Les principaux types d'êtres vivants des cinq parties du monde. source gallica.bnf.fr. *Bibliothèques nationale de France*: 257.
- Perrings C., Dehnen-Schmutz K., Touza J. and Williamson M. 2005. How to manage biological invasions under globalization. *Trends Ecol. Evol.* **20**: 212-215.
- Phillips B.L., Brown G.P., Webb J.K. and Shine R. 2006a. Invasion and the evolution of speed in toads. *Nature* **439**: 803-803.
- Phillips B.L. and Shine R. 2006b. An invasive species induces rapid adaptive change in a native predator: cane toads and black snakes in Australia. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **273**: 1545-1550.
- Pichon A., Kutnik M., Leniaud L., Darrouzet E., Chaline N., Dupont S. and Bagnères A.G. 2007. Development of experimentally orphaned termite worker colonies of two *Reticulitermes* species (Isoptera : Rhinotermitidae). *Sociobiology* **50**: 1015-1034.
- Pimentel D., Lach L., Zuniga R. and Morrison D. 2000. Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *Bioscience* **50**: 53-65.
- Pimentel D., McNair S., Janecka J., Wightman J., Simmonds C., O'Connell C., Wong E., Russel L., Zern J., Aquino T. and Tsomondo T. 2001. Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. *Agric. Ecosyst. Environ.* **84**: 1-20.
- Pimentel D. 2002. Biological Invasions: Economic and Environmental Costs of Alien Plant, Animal, and Microbe Species. CRC Press.
- Pimentel D., Zuniga R. and Morrison D. 2005. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecol. Econ.* **52**: 273-288.
- Plateaux L. and Clément J.-L. 1984. La spéciation récente des termites *Reticulitermes* du complexe *lucifugus*. *Revue de la Faculté des Sciences de Tunis* **3**: 179-206.
- Polizzi J.M. and Forschler B.T. 1998. Intra- and interspecific agonism in *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *R. virginicus* (Banks) and effects of arena and group size in laboratory assays. *Insectes Soc.* **45**: 43-49.
- Porter S.D. and Savignano D.A. 1990. Invasion of polygyne fire ants decimates native and disrupts arthropod community. *Ecology* **71**: 2095-2106.
- Pysek P., Richardson D.M., Pergl J., Jarosik V., Sixtova Z. and Weber E. 2008. Geographical and taxonomic biases in invasion ecology. *Trends Ecol. Evol.* **23**: 237-244.
- Quatrefages A.d. 1853. Note sur les termites de La Rochelle. *Annales de la Société Zoologique* **30**: 16.
- Queller D.C. (1993) Genetic relatedness and its components in polygynous colonies of social insects. In: *Queen number and sociality in insects*, (Keller, L., ed.). pp. 132-151. Oxford University Press, Oxford. 439 p.
- Quintana A., Reinhard J., Faure R., Uva P., Bagnères A.G., Massiot G. and Clément J.L. 2003. Interspecific variation in terpenoid composition of defensive secretions of European *Reticulitermes* termites. *J. Chem. Ecol.* **29**: 639-652.
- Rejmanek M., Richardson D.M., Barbour M.G., Crawley M.J., Hrusa G.F., Moyle P.B., Randall J.M., Simberloff D. and Williamson M. 2002. Biological Invasions: Politics and the Discontinuity of Ecological Terminology *Bull. Ecol. Soc. Am.* **83**: 131-133.
- Reznick D.N. and Ghelambor C.K. 2001. The population ecology of contemporary adaptations: what empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. *Genetica* **112**: 183-198.

- Ricciardi A., Neves R.J. and Rasmussen J.B. 1998. Impending extinctions of North American freshwater mussels (Unionoida) following the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) invasion. *J. Anim. Ecol.* **67**: 613-619.
- Rice K.J. (2006) After the bottleneck: rapid adaptation of an invasive grass to serpentine soil habitats. In: *Proceedings of An evolutionary perspective of biological invasions*, (Müller-Schärer H., S. T., Guisan A. & Gigord L., ed.). pp., Fribourg, Switzerland.
- Richardson D.M., Pysek P., Rejmanek M., Barbour M.G., Panetta F.D. and West C.J. 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Divers. Distrib.* **6**: 93-107.
- Ripa R. and Castro L. (2000) Presencia de la termita subterránea *Reticulitermes santonensis* de Feytaud (Isoptera: Rhinotermitidae) en la comuna de Quillota. In: *XXII Chilean Congress of Entomology*. pp., Valdivia.
- Robinet C., Roques A., Pan H.Y., Fang G.F., Ye J.R., Zhang Y.Z. and Sun J.H. 2009. Role of Human-Mediated Dispersal in the Spread of the Pinewood Nematode in China. *Plos One* **4**.
- Roisin Y., Everaerts C., Pasteels J.M. and Bonnard O. 1990. Caste-dependant reactions to soldier defensive secretion and chiral alarm/recruitment pheromone in *Nasutitermes princeps*. *J. Chem. Ecol.* **16**: 2865-2875.
- Ross K.G. and Keller L. 1995. Ecology and Evolution of Social-Organization - Insights from Fire Ants and Other Highly Eusocial Insects. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **26**: 631-656.
- Ross K.G., Vargo E.L. and Keller L. 1996. Social evolution in a new environment: The case of introduced fire ants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **93**: 3021-3025.
- Rossi P. 1792. *Mantissa Insectorum*.
- Saadani K. 2008. La Louisiane française dans l'impasse : 1731-1743 Broché.
- Sakai A.K., Allendorf F.W., Holt J.S., Lodge D.M., Molofsky J., With K.A., Baughman S., Cabin R.J., Cohen J.E., Ellstrand N.C., McCauley D.E., O'Neil P., Parker I.M., Thompson J.N. and Weller S.G. 2001. The population biology of invasive species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **32**: 305-332.
- Sandlund O.T., Schei P.J. and Viken A. 2001. *Invasive Species and Biodiversity Management* Kluwer academic publisher.
- Savidge J.A. 1987. Extinction of an Island Forest Avifauna by an Introduced Snake. *Ecology* **68**: 660-668.
- Sax D.F. and Brown J.H. 2000. The paradox of invasion. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **9**: 363-371.
- Sax D.F. and Gaines S.D. 2008. Species invasions and extinction: The future of native biodiversity on islands. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**: 11490-11497.
- Scharf M.E., Ratliff C.R., Hotelling J.T., Pittendrigh B.R. and Bennett G.W. 2003. Caste differentiation responses of two sympatric *Reticulitermes* termite species to juvenile hormone homologs and synthetic juvenoids in two laboratory assays. *Insectes Soc.* **50**: 346-354.
- Scharf M.E., Ratliff C.R., Wu-Scharf D., Zhou X., Pittendrigh B.R. and Bennett G.W. 2005. Effects of juvenile hormone III on *Reticulitermes flavipes*: Changes in hemolymph protein composition and gene expression. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **35**: 207-215.
- Schmitz D.C. and Simberloff D. 1997. Biological invasions: A growing threat. *Issues in Science and Technology* **13**: 33-40.
- Schneider S.S., Hoffman G.D. and Smith D.R. 2004. The African honey bee: Factors contributing to a successful biological invasion. *Annu. Rev. Entomol.* **49**: 351-376.
- Schofield P.J. and Chapman L.J. 1999. Interactions between Nile perch, *Lates niloticus*, and other fishes in Lake Nabugabo, Uganda. *Environ. Biol. Fishes* **55**: 343-358.
- Schwander T., Lo N., Beekman M., Oldroyd B.P. and Keller L. 2010. Nature versus nurture in social insect caste differentiation. *Trends Ecol. Evol.* **25**: 275-282

- Sexton J.P., McKay J.K. and Sala A. 2002. Plasticity and genetic diversity may allow saltcedar to invade cold climates in North America. *Ecol. Appl.* **12**: 1652-1660.
- Shea K. and Chesson P. 2002. Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends Ecol. Evol.* **17**: 170-176.
- Shellman-Reeve J.S. (1997) The spectrum of eusociality in termites. In: *The evolution of social behavior in Insects and Arachnids*, (Choe, J. C. & Crespi, B. J., eds.). pp. 52-93. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Shelton T.G., Hu X.P., Appel A.G. and Wagner T.L. 2006. Flight speed of tethered *Reticulitermes flavipes* (Kollar) (Isoptera: Rhinotermitidae) alates. *J. Insect Behav.* **19**: 115-128.
- Shigesada N. and Kawasaki K. (2002) Invasion and the range expansion of species: effects of long-distance dispersal. In: *Dispersal Ecology*, (Bullock, J. M., Kenward, R. E. & Hails, R. S., eds.). pp. 350-373.
- Slessor K.N., Kaminski L.A., King G.G.S., Borden J.H. and Winston M.L. 1988. Semiochemical Basis of the Retinue Response to Queen Honey Bees. *Nature* **332**: 354-356.
- Stockwell C.A., Hendry A.P. and Kinnison M.T. 2003. Contemporary evolution meets conservation biology. *Trends Ecol. Evol.* **18**: 94-101.
- Su N.-Y. and Scheffrahn R.H. (2000) Termites as pests of buildings. In: *Termites, Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*, (Abe, T., Bignell, D. & Higashi, M., eds.). pp. 437-453. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- Su N.Y. 2002. Novel technologies for subterranean termite control. *Sociobiology* **40**: 95-101.
- Su N.Y., Ye W.M., Ripa R., Scheffrahn R.H. and Giblin-Davis R.M. 2006. Identification of Chilean *Reticulitermes* (Isoptera : Rhinotermitidae) inferred from three mitochondrial gene DNA sequences and soldier morphology. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **99**: 352-363.
- Suarez A.V. and Case T.J. 2002. Bottom-up effects on persistence of a specialist predator : Ant invasions and horned lizards. *Ecol. Appl.* **12**: 291-298.
- Suarez A.V., Holway D.A. and Tsutsui N.D. (2008) Genetics and behavior of a colonizing species: The invasive argentine ant. In: *Symposium of the American-Society-of-Naturalists*. pp. S72-S84. Univ Chicago Press, Christchurch, NEW ZEALAND.
- Tarver M.R., Schmelz E.A., Rocca J.R. and Scharf M.E. 2009. Effects of Soldier-Derived Terpenes on Soldier Caste Differentiation in the Termite *Reticulitermes flavipes*. *J. Chem. Ecol.* **35**: 256-264.
- Thomas M.L., Becker K., Abbott K. and Feldhaar H. 2010. Supercolony mosaics: two different invasions by the yellow crazy ant, *Anoplolepis gracilipes*, on Christmas Island, Indian Ocean. *Biol. Invasions* **12**: 677-687.
- Thorne B.L. (1985) Termite polygyny: the ecological dynamics of queen mutualism. In: *Experimental Behavioral Ecology and Sociobiology*, (Hölldobler, B. & Lindauer, M., eds.). pp. 325-342. Fischer Verlag, G., Stuttgart.
- Thorne B.L. and Haverty M.I. 1991. A review of intracolony, intraspecific, and interspecific agonism in termites. *Sociobiology* **19**: 115-145.
- Thorne B.L. 1996. Termite Terminology. *Sociobiology* **28**: 253-263.
- Thorne B.L. 1997. Evolution of eusociality in termites. *Annual Reviews in Ecology and Systematics* **28**: 27-54.
- Thorne B.L. (1998) Biology of subterranean termites. In: *NPCA Research Report on Subterranean Termites*. pp. 1-30. National Pest Control Association, Virginia.
- Thorne B.L., Traniello J.F.A., Adams E.S. and Bulmer M. 1999. Reproductive dynamics and colony structure of subterranean termites of the genus *Reticulitermes* (Isoptera Rhinotermitidae): a review of the evidence from behavioral, ecological and genetic studies. *Ethol. Ecol. Evol.* **11**: 149-169.

- Tsutsui N.D., Suarez A.V., Holway D.A. and Case T.J. 2000. Reduced genetic variation in the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* **97**: 5948-5953.
- Uva P. (2002) Relations phylogénétiques chez les termites du genre *Reticulitermes* en Europe. Description d'une nouvelle espèce. pp. 216. Université François Rabelais, Tours.
- Uva P., Clement J.L., Austin J.W., Aubert J., Zaffagnini V., Quintana A. and Bagnères A.G. 2004. Origin of a new *Reticulitermes* termite (Isoptera, Rhinotermitidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA data. *Mol. Phylogenet. Evol.* **30**: 344-353.
- Valery L., Fritz H., Lefeuvre J.C. and Simberloff D. 2008. In search of a real definition of the biological invasion phenomenon itself. *Biol. Invasions* **10**: 1345-1351.
- Vander Meer K.R. and Morel L. (1998) Nestmate recognition in ants. In: *Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees and termites*, (Vander Meer, R. K., Breed, M. D., Winston, M. & Espelie, C., eds.). pp. 79-103. Westview Press, Boulder, CO.
- Vargo E.L. and Fletcher D.J.C. 1989. On the Relationship between Queen Number and Fecundity in Polygyne Colonies of the Fire Ant *Solenopsis-Invicata*. *Physiol. Entomol.* **14**: 223-232.
- Vargo E.L. 2003a. Hierarchical analysis of colony and population genetic structure of the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes*, using two classes of molecular markers. *Evolution* **57**: 2805-2818.
- Vargo E.L. 2003b. Genetic structure of *Reticulitermes flavipes* and *R. virginicus* (Isoptera : Rhinotermitidae) colonies in an urban habitat and tracking of colonies following treatment with hexaflumuron bait. *Environ. Entomol.* **32**: 1271-1282.
- Vargo E.L., Husseneder C. and Grace J.K. 2003. Colony and population genetic structure of the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*, in Japan. *Mol. Ecol.* **12**: 2599-2608.
- Vargo E.L. and Carlson J.R. 2006. Comparative study of breeding systems of sympatric subterranean termites (*Reticulitermes flavipes* and *R. hageni*) in Central North Carolina using two classes of molecular genetic markers. *Environ. Entomol.* **35**: 173-187.
- Vargo E.L., Juba T.R. and DeHeer C.J. 2006. Relative abundance and comparative breeding structure of subterranean termite colonies (*Reticulitermes flavipes*, *Reticulitermes hageni*, *Reticulitermes virginicus*, and *Coptotermes formosanus*) in a South Carolina lowcountry site as revealed by molecular markers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **99**: 1101-1109.
- Vargo E.L. and Husseneder C. 2009. Biology of Subterranean Termites: Insights from Molecular Studies of *Reticulitermes* and *Coptotermes*. *Annu. Rev. Entomol.* **54**: 379-403.
- Vellend M., Harmon L.J., Lockwood J.L., Mayfield M.M., Hughes A.R., Wares J.P. and Sax D.F. 2007. Effects of exotic species on evolutionary diversification. *Trends Ecol. Evol.* **22**: 481-488.
- Verlaque M. 1994. Checklist of Introduced Plants in the Mediterranean - Origins and Impact on the Environment and Human Activities. *Oceanologica Acta* **17**: 1-23.
- Vieau F. 1993. Le termite de Saintonge *Reticulitermes santonensis* Feytaud: termite urbain. *Bull. Soc. Zool. Fr.* **118**: 125-133.
- Vieau F. 1999. Biologie comparée de *Reticulitermes santonensis* Feytaud et *Reticulitermes lucifugus* Rossi (Isoptera, Rhinotermitidae) en France: différences morphologiques entre les soldats, modes d'implantation urbaine et forestière, cycles reproducteurs. *Actes Colloques Insectes Sociaux* **12**: 151-158.

- Vieau F. 2001. Comparison of the spatial distribution and reproductive cycle of *Reticulitermes santonensis* Feytaud and *Reticulitermes lucifugus grassei* Clément (Isoptera, Rhinotermitidae) suggests that they represent introduced and native species, respectively. *Insectes Soc.* **48**: 57-62.
- Vila M., Basnou C., Pysek P., Josefsson M., Genovesi P., Gollasch S., Nentwig W., Olenin S., Roques A., Roy D. and Hulme P.E. 2009. How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment* **8**: 135-144.
- Vogel V., Pedersen J.S., d'Ettorre P., Lehmann L. and Keller L. 2009. Dynamics and genetic structure of Argentine ant supercolonies in their native range. *Evolution* **63**: 1627-1639.
- Vogel V., Pedersen J.S., Giraud T., Krieger M.J.B. and Keller L. 2010. The worldwide expansion of the Argentine ant. *Divers. Distrib.* **16**: 170-186.
- Walther G.R., Roques A., Hulme P.E., Sykes M.T., Pysek P., Kuhn I., Zobel M., Bacher S., Botta-Dukat Z., Bugmann H., Czucz B., Dauber J., Hickler T., Jarosik V., Kenis M., Klotz S., Minchin D., Moora M., Nentwig W., Ott J., Panov V.E., Reineking B., Robinet C., Semchenko V., Solarz W., Thuiller W., Vila M., Vohland K. and Settele J. 2009. Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends Ecol. Evol.* **24**: 686-693.
- Weidner H. 1937. Termiten in Hamburg. *Z. Pflanzenkrankh* **47**: 593.
- Weil T., Hoffmann K., Kroiss J., Strohm E. and Korb J. 2009. Scent of a queen-cuticular hydrocarbons specific for female reproductives in lower termites. *Naturwissenschaften* **96**: 315-319.
- Wilcove D.S., Rothstein D., Dubow J., Phillips A. and Losos E. 1998. Quantifying threats to imperiled species in the United States. *Bioscience* **48**: 607-615.
- Wiles G.J., Bart J., Beck R.E. and Aguon C.F. 2003. Impacts of the brown tree snake: Patterns of decline and species persistence in Guam's avifauna. *Conserv. Biol.* **17**: 1350-1360.
- Williamson M.H. and Fitter A. 1996. The characters of successful invaders. *Biol. Conserv.* **78**: 163-170.
- Wilson E.O. 1971a. The insect societies. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Wilson E.O. 1971b. Social insects. *Science* **172**: 406.
- Wright S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* **19**: 395-420.
- Xie B.Y., Cheng X.Y., Shi J., Zhang Q.W., Dai S.M., Cheng F.X. and Luo Y.Q. 2009. Mechanisms of invasive population establishment and spread of pinewood nematodes in China. *Science in China Series C-Life Sciences* **52**: 587-594.
- Xu C.Y., Julien M.H., Fatemi M., Girod C., Van Klinken R.D., Gross C.L. and Novak S.J. 2010. Phenotypic divergence during the invasion of *Phyla canescens* in Australia and France: evidence for selection-driven evolution. *Ecol. Lett.* **13**: 32-44.
- Ye W., Lee C.-Y., Scheffrahn R.H., Aleong J.M., Su N.-Y., Bennett G.W. and Scharf M.E. 2004. Phylogenetic relationships of nearctic *Reticulitermes* species (Isoptera: Rhinotermitidae) with particular reference to *Reticulitermes arenicola* Goellner. *Mol. Phylogenet. Evol.* **30**: 815-822.
- Zenger K.R., Richardson B.J. and Vachot-Griffin A.M. 2003. A rapid population expansion retains genetic diversity within European rabbits in Australia. *Mol. Ecol.* **12**: 789-794.

.



Elfie PERDEREAU

**BIOLOGIE DE L'INVASION D'UN TERMITE AMERICAIN
EN FRANCE**



**Evolution de l'organisation sociale et conséquences sur
le succès invasif**

Résumé

L'augmentation des problèmes liés aux invasions biologiques nécessite une meilleure compréhension des mécanismes permettant le succès invasif d'une espèce. Chez les insectes sociaux invasifs, les études se sont focalisées sur les Hyménoptères, et ont montré que l'organisation sociale des populations introduites présentait des caractères propres. L'objectif principal de cette thèse est de caractériser l'organisation sociale des populations introduites chez les termites (Isoptères) à travers l'étude de l'invasion de *Reticulitermes flavipes* en France. L'ensemble des résultats révèle que (i) l'organisation sociale des populations introduites varie de celle des populations natives en présentant une forme extrême de néoténie et une forte capacité à fusionner ; (ii) ces variations semblent résulter d'une évolution suite à l'introduction et (iii) avoir favorisé l'installation et l'expansion de ce termite en France, similairement à l'unicolonialité et la polygynie des Hyménoptères sociaux introduits. Les possibles origines évolutives des variations observées entre les populations natives et introduites de *R. flavipes* sont discutées.

Mots-clés : Invasions biologiques, Insectes sociaux, Organisation sociale, Unicolonialité, Système de reproduction, Termites, Néoténie, Fusion, Phylogéographie, Compétition, Diversité génétique, Hydrocarbures Cuticulaires, Microsatellites.

Abstract

The increasing of ecological and economical problems linked to biological invasion phenomenon necessitate a better understanding of mechanisms allowing an invasive success. In social insects, studies are mainly focused on social Hymenoptera, and has demonstrated that social organization of introduced populations presented particular characters allowing their invasive success. The principal objective of my PhD is to characterize the social organization of the introduced populations in Isoptera through the study of the American termite *Reticulitermes flavipes* introduced in France. The overall of results reveals (i) strong variations of social organization between native and introduced populations presenting an extreme form of neoteny and a strong capacity to colonial fusion; (ii) these variations seem to have evolved after its introduction in France, and (iii) to allow the establishment and expansion of *R. flavipes* in France, similarly to unicoloniality and polygyny observed in the social invasive Hymenoptera. The possible evolutionary origins of the observed variations between native and introduced populations of *R. flavipes* are discussed.

Key-words : Biological invasions, Social Insects, Social organisation, Unicoloniality, Breeding system, Termites, Neoteny, Fusion, Phylogeography, Competition, Genetic diversity, Cuticular Hydrocarbons, Microsatellites.